

Efecto del aceite de chía (*Salvia hispánica*) sobre la excitabilidad neuronal en ratas macho

Effect of chia oil (*Salvia hispanica*) on neuronal excitability in male rats

Leopoldo Eduardo Flores Mancilla, Dora Elena Benavides Haro,
Pedro Martínez Arteaga, José de Jesús Martínez Raudales

Correo electrónico: mansieduas@hotmail.com

Resumen

La epilepsia presenta alta incidencia y prevalencia, aproximadamente 5-10% de la población abierta experimentará una crisis epiléptica a través de su vida, los fármacos se utilizan como terapia pero suele presentarse fármaco-resistencia. Urgen alternativas no farmacológicas, el consumo de grasas omega-3 (ω -3) se ha asociado a efectos benéficos en la salud, pero se desconoce el efecto del aceite de chía (con alto contenido de ω -3) sobre crisis convulsivas. **Objetivo.**- Evaluar las convulsiones inducidas por ácido 3-mercaptopropiónico (3-mpa) en dos grupos de ratas suplementados con aceite de chía. Los valores obtenidos se compararon con los de otro grupo suplementado con aceite mineral y un grupo control. **Resultados.**- El grupo que recibió mayor dosis de aceite de Chía (40mg/kg peso) mostró significativamente menor severidad en el proceso convulsivo al comparar con los otros grupos ($p < 0.05$). **Conclusión.**- Se sugiere que el aceite de la semilla de chía posee propiedades neuroprotectoras dosis dependientes.

Palabras clave: omega-3, epilepsia, aceite de chía, ratas, aceite mineral, convulsiones.

Overview

Epilepsy has high incidence and prevalence, approximately 5-10% of the general population will experience a seizure through his life, medicine is used as therapy but drug resistance is usually present. Non-pharmacological alternatives are in urgent need, the consumption of omega-3 (ω -3) has been associated with beneficial health effects, but the effect of chia oil (high in ω -3) on seizures is unknown. **Objective.**- Evaluate the induced convulsions by 3-mercaptopropionic acid (3-MPA) in two groups of rats supplemented with chia oil. The values obtained were compared with another group mineral oil supplemented and a control group. **Results.**-The group that received higher doses of chia oil (40mg / kg) showed significantly less severe in the seizure process when compared to the other groups ($p < 0.05$). **Conclusion.**- It is suggested that the oil of chia seed has dose-dependent neuroprotective properties.

Keywords: omega-3, epilepsy, chia oil, rats, mineral oil, seizures.

Introducción

La epilepsia es una alteración neurológica que presenta las más altas tasas de incidencia y prevalencia en el mundo. Más de 40 millones de personas padecen epilepsia, de ellas el 80% viven en países en desarrollo. Se ha propuesto que aproximadamente el 5-10% de la población experimentará una crisis epiléptica a lo largo de su vida y 20% probablemente sean diagnosticados epilépticos con crisis recurrentes (Medina-Malo C., 2004). Las crisis son trastornos de hiperexcitabilidad neuronal que se caracterizan por convulsiones asociadas a movimientos involuntarios estereotipados, espontáneos y recurrentes, sobrevienen en el momento que las redes neuronales escapan al control inhibitorio de la excitación neuronal (Brailowsky S y Silva-Barrat C., 1991). Los fármacos anti-epilépticos constituyen la primera línea de acción para el tratamiento, actúan principalmente sobre los canales iónicos al favorecer la inhibición de la excitación del tejido nervioso y así evitar o prevenir las crisis. Los fármacos que actúan inhibiendo la apertura de los canales del sodio estabilizan la membrana neuronal, evitan la potenciación posttetánica, limitan el desarrollo de la actividad epiléptica máxima y reducen la progresión de las crisis; sin embargo, se ha reportado que aproximadamente 30% de los pacientes presentan efectos adversos y fármaco-resistencia (French J.A., 2007), el problema ha propiciado el surgimiento de alternativas, en especial no farmacológicas. En múltiples estudios se ha explorado el efecto atenuador de nutrientes y de ciertas dietas sobre las convulsiones, estudios en las áreas de inmunología (Calder P.C., 20019) y neurofisiología (Chalon S. et al., 2001) entre otras, han mostrado que el consumo de grasas polinsaturadas ω -3 como el ácido docosahexanoico (DHA) y eicosapentanoico (EPA) se asocia a una mejora en la salud. Al respecto se ha mostrado que la suplementación de productos de origen marino como el aceite de pescado (alto contenido de DHA y EPA) atenuó la actividad convulsiva en ratas (Flores-Mancilla L.E. et al., 2014). Sin embargo

existen vegetales terrestres como la linaza, soya, canola y chía (entre otras) cuyas semillas poseen alto contenido de ω -3, principalmente el ácido α -linolénico, asimismo las semillas terrestres son componentes nutricionales frecuentes en la dieta del humano, de fácil adquisición y almacenamiento con menor proclividad a cambios oxidativos que las grasas ω -3 de productos marinos. Chía o chan es un vocablo náhuatl que agrupa varias especies botánicas de los géneros *Salvia*, *hyptis*, *Amaranthus* y *Chenopodium*, el conocimiento de estas plantas se originó desde la época prehispánica (Gillet H., 1981), actualmente se ha reportado que el consumo de la fibra de chía resultó ser una alternativa valiosa que mejoró la formación del bolo fecal y la correcta evacuación de las heces, ayudó también a prevenir la obesidad, el cáncer de colon, así como elevados niveles de colesterol y glucosa (Mostad I.L., et al., 2006), recientemente se observó que la suplementación de 35 g diarios de planta de chía por 12 semanas, redujo los niveles de estrés oxidativo y valores de presión sanguínea en individuos hipertensos (Toscano L.T., et al., 2014); sin embargo, se desconoce el efecto de la semilla de chía y particularmente de su aceite sobre el sistema nervioso y específicamente sobre su hiperexcitabilidad, por lo tanto el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la suplementación de aceite de chía sobre las convulsiones de origen cerebral en un modelo murino.

Material y Métodos

Enfoque experimental, prospectivo, factorial, se utilizaron cuatro grupos de ratas, un grupo control, un grupo suplementado con aceite mineral, un grupo suplementado con aceite de chía (dosis de 20mg/kg de peso) y otro grupo suplementado con aceite de chía (dosis de 40mg/kg de peso). En el estudio la variable independiente fue el tratamiento y la variable dependiente fue la evaluación de las convulsiones mediante la determinación de latencia para la primera convulsión, número, duración

y severidad de las convulsiones. Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante un análisis de varianza de un factor considerando un índice de confianza de $P < 0.05$

Obtención de los sujetos experimentales.- Aleatoriamente se formaron cuatro grupos de ratas macho de la cepa Wistar con peso de entre 50-60 g o 44 días de edad. El grupo (Ch40) estuvo constituido por 10 ratas que fueron alimentadas ad libitum con dieta comercial en pellets (Chow-5001 Purina®USA) y diariamente se les dio un suplemento de aceite de chia a una dosis de 40 mg/kg de peso, obtenido directamente de las semillas de chia por el método Soxhlet al cual se le determinó el perfil de GD-3 (Ortiz-Sandoval A.D., 2014), el grupo (Ch20) constituido por 10 ratas que se alimentaron ad libitum con la dieta comercial y diariamente se les suplementó el aceite de chia a una dosis de 20 mg/kg de peso, el grupo control vehículo oleoso o grupo (CoMin) fue constituido por 10 ratas que se alimentaron ad libitum con la dieta comercial y diariamente se les administró 0.2ml de aceite mineral, y el grupo con vehículo no oleoso grupo (Ctrl) constituido por 10 ratas que se alimentaron ad libitum con la dieta comercial y diariamente se les suministró 0.2ml de agua destilada. Al total de los animales se les suministraron diariamente (entre las 18-20 hrs) sus respectivos tratamientos por vía intragástrica desde los 44 días y hasta los 150 días de edad, fecha en que se les sometió a crisis convulsivas.

Inducción de crisis convulsivas.- Un día previo al experimento, cada uno de los sujetos fueron trasladados hacia un cuarto con temperatura ambiente controlada (20-23°C) y previo registro de su peso corporal, el animal fue colocado durante 30 min en una cámara de observación de acrílico transparente (60X50X20cm) con objeto de que se habituara, al término del periodo se regresó a su jaula. Al día siguiente (día de prueba) se procedió a evaluar su conducta espontánea durante treinta minutos, inmediatamente después, se sacó el

sujeto de la cámara y se le aplicó por vía intraperitoneal una dosis única (25mg/kg de peso) de ácido 3-mpa (sustancia que bloquea la glutamato Descarboxilasa reduciendo en gran medida la producción de ácido gama-aminobutírico, el mayor neurotransmisor inhibitorio a nivel cerebral) (Netopilova M., 1997) y se procedió a su observación conductual por 30 min. Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- a) Latencia de la primera convulsión
- b) Duración de la primera convulsión
- c) Número de eventos convulsivos
- d) Severidad de las convulsiones de acuerdo a la escala de Racine (Racine R.J., 1972)

Durante la fase experimental se registró diariamente el peso de cada sujeto y la conducta desplegada durante las convulsiones, la cual fue grabada en video para su análisis posterior. El cuidado de los animales así como todos los procedimientos en los que participaron, fueron sometidos a la aprobación por el Comité Local de Ética del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Zacatecas, institución que sigue los lineamientos descritos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission LifeScience, National Research Council, 1996) de los Estados Unidos de Norteamérica.

Para el análisis de los datos utilizó el programa IBM SPSS Statistics 22.0, mediante el cual se realizó un análisis de varianza de un factor, y en el caso de diferencias significativas se realizaron pruebas a posteriori por la prueba de Tukey (5%), se consideró un intervalo de confianza de $P < 0.05$.

Resultados

Al evaluar el efecto de los distintos tratamientos sobre el peso corporal en los distintos grupos se encontró que los grupos, 40Ch, 20Ch y CoMin,

registraron significativamente mayor peso que el grupo Ctrl ($F= (3,5) 2618.36 P<0.05$) (ver Figura 1). Se determinó también el perfil lipídico de G-3 contenido en la dieta Chow-5001 Purina®USA y en el Ach (ver Tabla 1). Por otro lado, al analizar los datos obtenidos durante la inducción de convulsiones se encontró que el grupo 40Ch mostró significativamente mayor latencia para experimentar la primera crisis convulsiva con respecto a los grupos 20Ch, CoMin y Ctrl ($F= (3,28) 19.56, P<0.05$), y el grupo CoMin, mostró latencia significativamente menor respecto a los grupos 20Ch y Ctrl, ($F= (3,28) 19.56, P<0.05$) (ver Figura 2).

Nombre	Forma	Ancho de diente	Dieta base
Mirido	C149	—	—
Palafico	C149	6.68	13.83
Estadio	C188	2.58	4.42
Oleto	C181	6.88	13.46
o-Linoleo	C182	18.68	31.4
EPA	C22-5 (n-3)	—	4.58
DHA	C22-6 (n-3)	—	6.2

Tabla 1. Principales ácidos grasos contenidos en el aceite de chita y en la dieta comercial proporcionada a los grupos experimentales (g/100g de ácidos grasos).

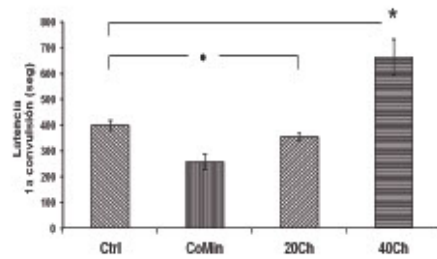


Fig. 2. Media \pm ES de la latencia para experimentar la primera crisis convulsiva, el grupo 40Ch muestra un promedio de latencia significativamente mayor que los 20Ch, CoMin y Ctrl. El grupo CoMin muestra un promedio de latencia significativamente menor respecto a los grupos 20Ch y Ctrl. * $P=0.005$ 40Ch vs 20Ch, CoMin y Ctrl, * $P=0.005$ CoMin vs 20Ch y Ctrl.

En cuanto a la duración de la primera convulsión se observó que el grupo 40Ch registró significativamente menor tiempo que los grupos

20Ch, CoMin y Ctrl ($F= (3,28) 2.98 P<0.05$), y no se encontraron diferencias entre éstos últimos (ver Figura 3). Al comparar los resultados que se obtuvieron sobre el número de eventos convulsivos se encontró que los grupos 40Ch y 20Ch presentaron un número de eventos significativamente menor que los grupos CoMin y Ctrl ($F= (3,28) 5.21 P<0.05$), y no se encontraron diferencias significativas entre el grupo CoMin y el grupo Ctrl (ver Figura 4).

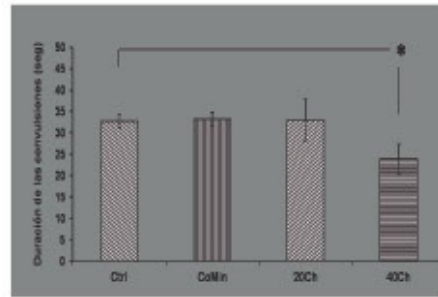


Fig. 3. Media \pm ES de la duración en segundos de la primera crisis convulsiva, el grupo 40Ch registró significativamente menor tiempo en la convulsión que los grupos 20Ch, CoMin y Ctrl. * $P=0.05$ 40Ch vs 20Ch, CoMin y Ctrl.

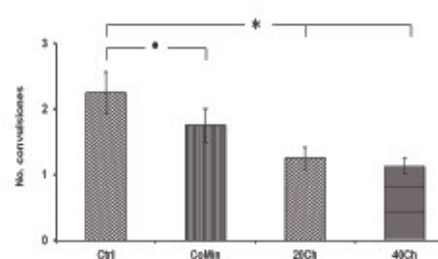


Fig. 4. Media \pm ES del número de convulsiones, los grupos 40Ch mostraron significativamente menor número de eventos convulsivos que los grupos CoMin y Ctrl, de entre estos últimos grupos CoMin mostró significativamente un menor número de convulsiones que el grupo Ctrl. * $P=0.05$ 40Ch y 20 Ch vs CoMin y Ctrl.

Respecto a la severidad de las convulsiones evaluada mediante la escala de Racine (Racine R.J., 1972) se encontró que el 100% de los sujetos de los distintos grupos mostraron la fase II y Fase III. Mientras que en la fase IV un 75%

de los sujetos pertenecientes al grupo CoMin mostraron la postura de canguro en comparación con un 62.5% de los sujetos de los grupos 40Ch, 20Ch, y Ctrl, en cuanto a la pérdida de la postura y crisis convulsivas generalizadas se observó que 75% de los sujetos del grupo CoMin mostraron esta fase en comparación con un 62.5% de los grupos Ctrl y 20Ch, y con el grupo 40Ch en el cual solamente el 50% de los sujetos mostraron esta fase (ver **Tabla 2**).

Grupo (N=10)	Fase I Gulfo del ojo Ipsilateral	Fase II Movimientos de cabeza y masticación	Fase III Mieloclonia de miembros anteriores	Fase IV Postura de canguro	Fase V Pérdida del tono postural y crisis convulsiva generalizada
Grupo Ctrl	NR	100%	100%	62.5%	62.5%
Grupo CoMin	NR	100%	100%	75%	75%
Grupo 20Ch	NR	100%	100%	62.5%	62.5%
Grupo 40Ch	NR	100%	100%	50%	50%

Tabla 2. clasificación de la severidad de las convulsiones en cada uno de los grupos de animales a la escala de Racine, se observa el porcentaje de animales que presentaron cada una de las distintas fases.

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que el suministro de aceite de chía (Ach), obtenido de la semilla por el método Soxhlet y administrado crónicamente a ratas como suplemento alimenticio, se asoció a una mayor latencia, menor duración, menor número y menor severidad de las crisis convulsivas inducidas por el 3-mpa. Respecto al efecto de los tratamientos sobre el peso corporal, se observó que los grupos con suplementación de aceite de chía a las concentraciones de 40 y 20mg/Kg, y el grupo CoMin, registraron mayor peso con respecto al grupo Ctrl, una posible explicación a lo anterior es que, la cantidad de ácidos grasos saturados, palmítico y esteárico contenidos en el aceite de chía y en la dieta y unidos al vehículo oleoso que fue el aceite mineral, incrementaron el peso corporal debido a la estructura química, particularmente por el tipo de cadenas de carbonos que se encuentran unidas por enlaces sencillos (Graham T.W., 1998). Se han encontrado mayores depósitos de grasas saturadas que de no saturadas en ganglios linfáticos mesentéricos, hígado, bazo y tejido adiposo humano después

de un tratamiento con aceite mineral (Boitnott J.K. y Margolis S., 1970), resultados similares en cuanto a incremento de peso corporal se ha observado al administrar aceite mineral como vehículo en un modelo experimental de epilepsia inducida por pentilentetrazol (Taha A.Y., et al., 2009). En el presente estudio hubo la necesidad de realizar diluciones del Ach en un vehículo oleoso carente de Ω -3 como el aceite mineral, la justificación fue que (en nuestro conocimiento), se desconoce en la literatura científica la dosis del Ach a la cual se presentan cambios neurofisiológicos en el cerebro. En este contexto, se observó que el grupo al que se le suplementó crónicamente mayor concentración de aceite de chía (40Ch) registró una mayor latencia para experimentar la primera convulsión, así como menor duración, también menor número de convulsiones y menor severidad. Una posible explicación puede ser que el aceite de chía contiene cantidades considerables del Ω -3, ácido α -linolénico, el cual dentro del organismo vivo actúa como un precursor del DHA (Carrie I., et al., 2000), molécula que forma parte de aproximadamente 37% de los fosfolípidos de la membrana neuronal (Innis S.M., 1991; Sastry P.S., 1985), probablemente la acción del 3-mpa hubiese removido el DHA circulante y también el que se desplazo desde el hígado y el tejido adiposo al cerebro a través del plasma (Taha A.Y., et al., 2009), propiciando que estas moléculas interfirieran sobre el proceso de sobreexcitación neuronal inhibiendo los canales de Na^+ y Ca^{2+} (Xiao Y. y Li X., 1999; Vreugdenhil M., et al., 1996) permitiendo mayor permeabilidad al canal de potasio (Borjesson S.I., et al., 2008), mecanismos que pudieran estar implicados en el efecto atenuador de las convulsiones observado en el grupo 40Ch. Al respecto se ha reportado que, la aplicación de DHA y EPA en ratas, promueven la estabilidad de la membrana neuronal mediante la supresión de los canales iónicos de Na^+ y Ca^{2+} voltaje-dependiente, y por consiguiente el efecto hiperpolarizante promovido por la entrada de iones K^+ a la neurona de bloquea el disparo del potencial de

acción (Xiao Y.F., et al., 1997; Xiao Y.F., et al., 1995). En otros experimentos se ha visto que el DHA actúa sobre los canales de K⁺, promoviendo la corriente de iones hacia el exterior contribuyendo a la inhibición de la despolarización, especialmente por interacción directa con el dominio exterior del canal (Boland L.M., et al., 2009; Poling J.S., et al., 1996). El presente estudio concluye que el aceite de chía posee propiedades neuroprotectoras y sugiere que éstas dependen de la dosis, es necesario llevar a cabo estudios adicionales para evaluar la suplementación de Ach con concentraciones más altas y sin algún vehículo oleoso.

Referencias Bibliográficas

- Boitnott J.K., Margolis S., (1970). Saturated hydrocarbons in human tissues. 3 Oil droplets in the liver and spleen. *Johns Hopkins Med J*, 127(2), 65-78.
- Boland L.M., Drzewiecki M.M., Timoney G., Casey E., (2009). Inhibitory effects of polyunsaturated fatty acids on Kv4/KChIP potassium channels. *Am J Physiol Cell Physiol*, 296, 1003-1014.
- Borjesson S.I., Hammarstrom S., Elinder F., (2008). Lipoelectric modification of ion channel voltage gating by polyunsaturated fatty acids. *Biophys J*, 95, 2242-2253.
- Brailowsky S., Silva-Barrat C., (1991). *Epilepsia Experimental*. México: Series en Neurología, 2:295.
- Calder P.C., (2001). Omega 3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *World Rev Nutr Diet*, 88, 109-116.
- Carrie, I., Clement M., Javel D., Frances H., Bourre J.M., (2000). Phospholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *J Lipid Res*, 41, 473-480.
- Chalon S., Vancassel S., Zimmer L., Guilloteau D., Durand G., (2001). Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids*, 36(9), 937-944.
- Flores-Mancilla L. E., Hernández-González M., Guevara M.A., Benavides-Haro D.E., Martínez-Arteaga P., (2014). Long-term fish oil supplementation attenuates seizure activity in the amygdala induced by 3-mercaptopropionic acid in adult male rats. *Epilepsy Behav*, 33:126-134.
- French J.A., (2007). Refractory epilepsy: a clinical overview. *Epilepsy*, 48(1), 3-7.
- Gillet H., (1981). Le chia, graine mucilageuse mexicaine, fait son apparition en France. *J. Agric. Trad. Bot. Appl*, 28, 183-187.
- Graham T.W., (1998). Fundamentos de química orgánica. Editorial Limusa. 2a Edición. Pp 85. Capítulo 2.
- Innis S.M., (1991). Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res*, 30, 39-103.
- Medina-Malo C., (2004). *Epilepsia: aspectos clínicos y psicosociales*. Bogotá: Ed. Médica Panamericana. 1(2), pp 1203-1211.
- Mostad I.L., Bjerve K.S., Bjorgaas M.R., Lydersen S., Grill V., (2006). Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation. *Am J Clin Nutr*, 84(3), 540-550.
- Netopilova M., Drsata J., Haugvicoba R., Kuvová H., Mares P., (1997). Inhibition of glutamate decarboxylase activity by 3-mercaptopropionic acid different in time course in the immature and adult rat brain. *Neuroscience Letters*, 226, 68-70.
- Ortiz-Sandoval A.D. (2014). *Efecto del aceite de chia sobre las convulsiones inducidas por hipertermia experimental en ratas de cinco días de edad*. Tesis experimental para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo. Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, Zac., México.
- Poling J.S., Vicini S., Rogawski M.A., Salem N. Jr., (1996). Docosahexaenoic acid block of neuronal voltage-gated K⁺ channels: subunit selective antagonism by zinc. *Neuropharmacol*, 35, 969-982.

- Racine R.J., (1972). Modification of Seizure Activity by Electrical Stimulation. II Motor Seizure. *Electroencepha Clin Neurophysiol*, 32, 281-294.
- Sastry P.S., (1985). Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res* 24, 169-176.
- Taha A.Y., Alizadeh S., Zeng Q.H., Filo E., McPherson J.P., Burnham W.M., (2009). Assessing the metabolic and toxic effects of anticonvulsant doses of polyunsaturated fatty acids on the liver in rats. *J Toxicol Environ Health A*, 72(19), 1191-1200.
- Toscano L.T., da Silva C.S., Toscano LT, de Almeida A.E., da Cruz Santos A., Silva A.S. (2014). Chia flour supplementation reduces blood pressure in hypertensive subjects. *Plant Foods Hum Nut.* 69(4), 392-398.
- Vreugdenhil M., Bruehl C., Voskuyl R.A., Kang J.X., Leaf A., Wadman W.J., (1996). Polyunsaturated fatty acids modulate sodium and calcium currents in CA1 neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93,12559-12563.
- Xiao Y., Li X., (1999). Polyunsaturated fatty acids modify mouse hippocampal neuronal excitability during excitotoxic or convulsant stimulation. *Brain Res*, 846(1), 112-121.
- Xiao Y.F., Gomez A.M., Morgan J.P., Lederer W.J., Leaf A., (1997). Suppression of voltage-gated L-type Ca²⁺ currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 4182-4187.
- Xiao Y.F., Kang J.X., Morgan J.P., Leaf A., (1995). Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92, 11000-11004.

