

VI Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología
XXI Jornadas de Investigación Décimo Encuentro de Investigadores en
Psicología del MERCOSUR. Facultad de Psicología - Universidad de Buenos
Aires, Buenos Aires, 2014.

El tratamiento post-asfixia con oleoiletanolamida se asociaría a un mejoramiento en la actividad motora exploratoria.

Herrera, María Inés.

Cita:

Herrera, María Inés (2014). *El tratamiento post-asfixia con oleoiletanolamida se asociaría a un mejoramiento en la actividad motora exploratoria. VI Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología XXI Jornadas de Investigación Décimo Encuentro de Investigadores en Psicología del MERCOSUR. Facultad de Psicología - Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.*

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/000-035/466>

ARK: <https://n2t.net/ark:/13683/ecXM/vad>

Acta Académica es un proyecto académico sin fines de lucro enmarcado en la iniciativa de acceso abierto. Acta Académica fue creado para facilitar a investigadores de todo el mundo el compartir su producción académica. Para crear un perfil gratuitamente o acceder a otros trabajos visite: <https://www.aacademica.org>.

EL TRATAMIENTO POST-ASFIXIA CON OLEOILETANOLAMIDA SE ASOCIARÍA A UN MEJORAMIENTO EN LA ACTIVIDAD MOTORA EXPLORATORIA

Herrera, María Inés

Instituto de Investigaciones Cardiológicas Profesor Doctor Taquini y Centro de Investigaciones de Psicología y Psicopedagogía, Universidad Católica Argentina

RESUMEN

La asfixia perinatal (AP), caracterizada por la suspensión en el suministro de oxígeno alrededor del nacimiento, continúa siendo un determinante de mortalidad y discapacidad en niños. En el presente estudio se evaluaron las consecuencias conductuales de un compuesto neuroprotector en asfixia perinatal (AP). El compuesto utilizado fue un agonista endocanabinoide conocido como oleoiletanolamida (OEA), cuyo mecanismo neuroprotector consistiría en una acción anti-inflamatoria. Se utilizó una muestra de 24 ratas, que se dividió en 4 grupos: ratas asfícticas (AP20), ratas asfícticas sometidas a tratamiento con OEA (AP20 OEA10), control de parto por cesárea (C+), control de parto por cesárea sometido a tratamiento con OEA (C+ OEA10). El método de inducción de AP empleado consistió en un baño térmico a 37° C por 20 minutos (asfixia severa). La dosis de OEA administrada fue de 10 mg/kg. Se evaluaron los efectos del tratamiento con OEA en los niveles de ansiedad y en la actividad motora exploratoria por medio de la prueba Laberinto Elevado en Cruz. Los resultados reflejaron una mejoría en la actividad motora exploratoria en el grupo AP20 OEA10 respecto del grupo AP20, presentando el primer grupo un desempeño similar a los controles. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a los niveles de ansiedad.

Palabras clave

Asfixia perinatal (AP), Mecanismo neuroprotector, Laberinto Elevado en Cruz, Oleo

ABSTRACT

THE POST-ASPHYCTIC TREATMENT WITH OLEYLETHANOLAMIDE WOULD BE ASSOCIATED WITH AN IMPROVEMENT IN EXPLORATORY LOCOMOTION

Perinatal asphyxia (PA), characterized by the suspension in the oxygen supply around birth remains a determinant of mortality and disability in children. In the present study the behavioral consequences of a neuroprotective compound in perinatal asphyxia (PA) were evaluated. The compound used was an endocannabinoid agonist known as oleoylethanolamide (OEA), whose neuroprotective mechanism would consist of an anti-inflammatory action. The sample consisted of 24 rats which were divided into 4 groups: Asphyctic rats (PA20), asphyctic rats subjected to treatment with OEA (PA20 OEA10), control of cesarean delivery (C +), control of cesarean delivery undergoing treatment with OEA (C+ OEA10). The AP induction method employed was a water bath at 37 ° C for 20 minutes (severe asphyxia). OEA dose administered was 10 mg / kg. The effect of treatment with OEA level on anxiety levels and exploratory locomotion were evaluated in the Elevated Plus Maze test. The results showed an improvement in exploratory motor acti-

ty in asphyctic rats subjected to treatment with OEA with respect to PA20 group, the first group presenting a similar performance to controls. No significant differences among the groups in terms of anxiety levels were observed.

Key words

Elevated Plus Maze, Neuroprotective mechanism, Oleoylethanolamide (OEA), Perinatal asphy

1. INTRODUCCIÓN

La *asfixia* perinatal (AP) es un síndrome clínico caracterizado por la suspensión del suministro de oxígeno antes, durante o después del nacimiento (Adcock & Papile, 2008; Hill & Volpe, 1981). La incidencia estimada de AP es de 1 cada 1000 nacimientos a término en países desarrollados y de 5 a 10 cada 1000 nacimientos a término en países en vías de desarrollo (McGuire, 2006). Dentro de este grupo, muchos recién nacidos mueren durante el período neonatal. Entre aquellos que sobreviven, un 20-30% presentarán secuelas neurológicas, las cuales se observarán a corto o largo plazo bajo las formas de parálisis cerebral, epilepsias, retraso mental y trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Nelson & Grether, 1998; Paneth, 1993; Rice, Vannucci, Brierley, 1981; Romero Esquiliano, Méndez Ramírez, Tello Valdés & Torner Aguilar, 2004; Titomanlio et al., 2011). En otras palabras, la asfixia perinatal continúa siendo un determinante de mortalidad y morbilidad neonatal (Sajjad ur Rahman, 2011; Weitzdoerfer, Pollak, Lubec, 2004).

Etimológicamente, asfixia significa falta de aire o respiración. Se habla de asfixia perinatal ya que ésta puede ocurrir antes del nacimiento, durante el embarazo, el trabajo de parto y el parto, como también después del nacimiento (González, 2000). Las complicaciones más comunes asociadas a la asfixia perinatal son la compresión del cordón umbilical, el desprendimiento de la placenta, y el fracaso del recién nacido para comenzar a respirar (De Haan et al., 2006).

La disminución de oxígeno por sí sola no basta para diagnosticar asfixia perinatal. Existen para ello 4 requisitos formulados por la Asociación Americana de Ginecología y Obstetricia (ACOG), es decir, 4 componentes o indicadores de asfixia perinatal:

Acidosis metabólica (pH < 7.00), puntaje de Apgar 0-3 después del 5^o minuto, signos neurológicos en el período neonatal (hipotonía, convulsiones, coma, etc.), y complicaciones sistémicas en diferentes órganos en el período neonatal (sistema nervioso central, renal, pulmonar, cardiovascular, gastrointestinal, metabólico y hematológico) (Ramírez Benítez & Novoa González, 2008, p. 163)

Por el momento no hay ninguna forma de tratamiento establecida para la asfixia perinatal. La neuroprotección se presenta como una alternativa terapéutica que intenta rescatar neuronas que de otro modo morirían (López Gómez, Castro, Bernardo, Megías y Blanco, 2000). Así, por ejemplo, la terapia con estradiol y la hipotermia han generado resultados favorables (Muñiz et al., 2014; Saraceno et al., 2010). Sin embargo, los tratamientos neuroprotectores aún continúan en fase de experimentación animal (López Gómez et al.). Continuando la experimentación en esta línea, en el presente estudio se evaluaron las consecuencias conductuales de un tratamiento neuroprotector en un modelo experimental de asfixia perinatal, tomando un compuesto que sería neuroprotector por presentar propiedades anti-inflamatorias: *Oleoiletanolamida* (OEA) (Galán Rodríguez et al., 2009; Lo Verme et al., 2005; Sun et al., 2007). Se aplicó un modelo inducido de asfixia perinatal en ratas, que produce alteraciones celulares, subcelulares bioquímicas y moleculares con consecuencias en diferentes parámetros comportamentales (Bjelke, Andersson, Ogren & Bolme, 1991; Capani et al., 2009). La prueba conductual utilizada fue el *Laberinto Elevado en Cruz*, midiéndose la ansiedad y la actividad motora exploratoria.

2. MATERIALES Y MÉTODO

2.1. Muestra

Se utilizaron 8 ratas preñadas *Sprague Dawley* obtenidas del Biotorio Central de la Escuela de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

La muestra se dividió en 4 grupos: ratas asfícticas (AP20), ratas asfícticas sometidas a tratamiento con OEA (AP20 OEA10), control de parto por cesárea (C+), control de parto por cesárea sometido a tratamiento con OEA (C+ OEA10).

En la presente investigación se decidió no incluir el grupo *control de parto vaginal (CTL)*, ya que en estudios previos no se encontraron diferencias significativas entre C+ y CTL (Galeano et al., 2011). Por lo tanto, por una cuestión de ética, al no justificarse la utilización de un mayor número de animales para el grupo CTL, se decidió eliminar este grupo. Se optó por el grupo C+, ya que el procedimiento del parto por cesárea es mucho más similar al procedimiento del grupo AP20, que el procedimiento de parto vaginal.

2.2. Inducción de asfixia perinatal

Las crías fueron sometidas a asfixia severa (20 minutos) luego del nacimiento por cesárea utilizando procedimientos desarrollados originalmente por Bjelke y sus colaboradores (Bjelke, Andersson, Ogren & Bolme, 1991) y luego modificados (Capani et al., 2009).

El día esperado del parto, las ratas preñadas son individualmente observadas y cuando no más de dos crías han nacido, el proceso se inicia inmediatamente por decapitación de las madres, y las trompas del útero son rápidamente apartadas a través de una incisión abdominal. Luego, una de las trompas es rápidamente abierta, las crías son extraídas, el líquido amniótico es retirado, y el cordón umbilical es ligado (Galeano et al., 2011). La otra trompa del útero es sumergida en un baño a 37°C durante 20 minutos, generándose así una asfixia severa (Capani et al., 2009). Inmediatamente después que la asfixia ha ocurrido, antes de ligar el cordón umbilical, las crías son estimuladas a respirar a través de estimulación táctil intermitente por pocos minutos hasta que la respiración regular es establecida (Galeano et al.).

2.3. Tratamiento

El tratamiento respectivo se efectuó dentro de la primera hora de vida, por administración subcutánea. El vehículo utilizado fue 1:1:9 DMSO, Tween 80 y NaCl. La dosis de OEA administrada fue de 10 mg/kg.

2.4. Evaluación conductual

La prueba conductual realizada fue el Laberinto Elevado en Cruz (Pellow, Chopin, File & Briley, 1985). El aparato consiste en una plataforma central cuadrada negra de melamina (11 cm. x 11 cm.) de la cual irradian cuatro brazos negros de melamina (50 cm. x 11 cm.) separados a 90° de cada uno. Dos de estos brazos se denominan *protegidos o cerrados* porque tienen una pared (40 cm. de alto) alrededor de su perímetro pero no en la entrada. Los otros dos brazos, en cambio, se conocen como *desprotegidos o abiertos* porque no tienen estas paredes. Se considera *entrada al brazo* cuando la rata introduce sus cuatro extremidades en un brazo del aparato. El laberinto es elevado a 1 m. del piso por cinco patas, uno debajo hacia el final de cada brazo y otro debajo de la plataforma cuadrada central. La intensidad de la luz en los brazos abiertos es de 85-90 lux (Galeano et al., 2011).

La prueba se realizó a los 30 días post-natales (P30). Cada rata fue colocada sobre la plataforma central mirando hacia un brazo abierto y se le permitió explorar libremente el laberinto por 5 minutos. Después de cada sesión, el aparato fue limpiado con 70% etanol y secado. Las variables dependientes fueron: tiempo en brazos abiertos (índice de ansiedad) y tiempo en brazos cerrados (índice de actividad motora exploratoria). El tiempo fue medido en segundos.

3. RESULTADOS

Los resultados se expresaron como medias \pm ETM (error típico de la media). Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) y luego el estadístico Fisher Post Hoc (DMS). La homocedasticidad fue previamente testeada. Se utilizó el programa SPSS 17.0 para el análisis estadístico.

3.1. Actividad motora exploratoria

Se registraron diferencias significativas entre los grupos en cuanto al tiempo en brazos cerrados ($F_{(3,20)}=4.949$; $p=0.01$).

Tabla 1.

Resultados de Anova. Tiempo en brazos cerrados.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	14685,653	3	4895,218	4,949	,010
Intra-grupos	19780,972	20	989,049		
Total	34466,625	23			

Los análisis post-hoc revelaron que el tiempo de exploración de las ratas asfícticas fue significativamente menor que en el resto de los grupos.

Tabla 2.

Comparaciones post-hoc de Fisher (DMS). Tiempo en brazos cerrados

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
DMS C+	AP 20	65,111*	17,541	,001	28,52	101,70
	C+ OEA 10	7,444	16,575	,658	-27,13	42,02
	AP 20 OEA 10	16,861	18,899	,383	-22,56	56,28
AP 20	C+	-65,111*	17,541	,001	-101,70	-28,52
	C+ OEA 10	-57,667*	19,043	,007	-97,39	-17,94
	AP 20 OEA 10	-48,250*	21,097	,033	-92,26	-4,24
C+ OEA 10	C+	-7,444	16,575	,658	-42,02	27,13
	AP 20	57,667*	19,043	,007	17,94	97,39
	AP 20 OEA 10	9,417	20,300	,648	-32,93	51,76
AP 20 OEA 10	C+	-16,861	18,899	,383	-56,28	22,56
	AP 20	48,250*	21,097	,033	4,24	92,26
	C+ OEA 10	-9,417	20,300	,648	-51,76	32,93

3.2. Ansiedad

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto al tiempo en brazos abiertos ($F_{(3,20)}=1.554$; $p=0.232$).

Tabla 3.

Resultados de Anova. Tiempo en brazos abiertos.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1940,492	3	646,831	1,554	,232
Intra-grupos	8325,133	20	416,257		
Total	10265,625	23			

4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

El episodio de AP estaría asociado a una disminución en la actividad exploratoria sin modificaciones en los niveles de ansiedad. Estos resultados, ya obtenidos en estudios previos de nuestro laboratorio (Galeano et al., 2011) a los 90 días post-natales (P90) fueron observados tempranamente (P30) en el presente trabajo. Estas modificaciones conductuales a los 30 días post-natales asociadas a AP podrían estar relacionadas con los cambios en el citoesqueleto del neocórtex de F-actina registrados en ratas asfícticas en el mismo momento evolutivo (P30), los cuales estarían involucrados en el proceso de muerte neuronal inducido por AP (Saraceno et al., 2012). Sin embargo, el principal hallazgo del presente estudio tiene que ver con el mejoramiento en la actividad motora exploratoria asociado al tratamiento con OEA (en una dosis de 10 mg/kg). Estos resultados podrían vincularse con la aparente acción anti-inflamatoria del compuesto, que sería neuroprotectora (Galán Rodríguez et al., 2009; Lo Verme et al., 2005; Sun et al., 2007). De hecho, en un estudio reciente de nuestro laboratorio, se encontró que la OEA podría prevenir la neuroinflamación en las ratas asfícticas (Blanco et al., 2014). Estos resultados sugieren que el tratamiento con OEA podría constituir una posible herramienta terapéutica para AP.

REFERENCIAS

- Adcock, L.M., Papile, L.A. (2008) Perinatal asphyxia. En Cloherty, J.P., Eichenwald, E.C., Stark, A.R. (Ed.), *Manual of Neonatal Care*; Lippincott, Williams, Wilkins. Philadelphia, PA, USA. 518-528.
- Bjelke, B., Andersson, K., Ogren, S.O. & Bolme, P. (1991). Asphyctic lesion: proliferation of tyrosine hydroxylase-immunoreactive nerve cell bodies in the rat substantia nigra and functional changes in dopamine neurotransmission. *Brain Res.* 543, 1-9.
- Blanco, E., Herrera, I., Romero, J.I., Giraldez, L., Santos, G., Rivera, P., Suárez, J., Galeano, P., Rodríguez de Fonseca, F., Capani, F. (2014, Marzo). The effect of oleoylethanolamide administration in neuroinflammatory response after post-asphyctic brain injury. Trabajo presentado en 3er Congreso Argentino de Microscopía. Asociación Argentina de Microscopía (SAMIC). Mendoza.
- Capani, F., Saraceno, G.E., Botti, V., Aon-Bertolino, L., de Oliveira, D.M., Barreto, G. et al. (2009). Protein ubiquitination in postsynaptic densities after hypoxia in rat neostriatum is blocked by hypothermia. *Exp. Neurol.* 219, 404-413.
- De Haan, M., Wyatt, J.S., Roth, S., Vargha-Khadem, F., Gadian, D., Mishkin, M. (2006) Brain and cognitive-behavioral development after asphyxia at term birth. *Dev. Sci.* 9, 350-358.
- Hill, A. & Volpe, J. (1981). Seizures, hypoxic-ischemic brain injury, and intraventricular hemorrhage in the newborn. *Ann Neurol.* 10, 2, 109-21.
- Galan-Rodríguez, B., Suarez, J., Gonzalez-Aparicio, R., Bermudez-Silva, F.J., Maldonado, R., Robledo, P., Rodríguez de Fonseca, F., Fernández-Espejo, E. (2009). Oleoylethanolamide exerts partial and dose-dependent neuroprotection of substantia nigra dopamine neurons. *Neuropharmacology* 56, 3, 653-64.
- Galeano, P., Blanco Calvo, E., Madureira de Oliveira, D., Cuenya, L., Kamenetzky, G.V., Mustaca, A.E. et al. (2011). Long-lasting effects of perinatal asphyxia on exploration, memory and incentive downshift. *International Journal of Development Neuroscience* 29, 609-619.
- González, H. (2000). Asfixia perinatal. *Manual de Neonatología*, 1-3.
- López Gómez, L., Castro, P., Bernardo, A.B., Megías, A. & Blanco, D. (2000). Evaluación precoz en la hipoxia perinatal. Marcadores pronósticos. *Revista de Neurología* 31, 1142-1143.
- Lo Verme, J., Fu, J., Astarita, G., La Rana, G., Russo, R., Calignano, A., Piomelli, D. (2005) The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. *Mol Pharmacol.* 67, 15-19.
- McGuire, W. (2006). Perinatal asphyxia. *Clin. Evid.* 511-519.
- Muñiz, J., Romero, J., Holubiec, M., Barreto, G., González, J., Saint-Martin, M., Blanco, E., Cavicchia, J.C., Castilla, R., Capani, F. (2014). Neuroprotective effects of hypothermia on synaptic actin cytoskeletal changes induced by perinatal asphyxia. *Brain Res.* 1563, 81-90.
- Nelson, K.B., Grether, J.K. (1998). Potentially asphyxiating conditions and spastic cerebral palsy in infants of normal birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 179, 507-13.
- Paneth, N. (1993). The causes of cerebral palsy. Recent evidence. *Clin Invest Med.* 16, 95-102.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E. & Briley, M. (1985). Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14, 3, 149-167.
- Ramírez Benítez, Y. & Novoa González, M. (2008). Estudio neuropsicológico en niños de 6 años con antecedente de hipoxia perinatal. *Arch Neurociencias* 13, 3, 162-169.
- Rice, J.E., Vannucci, R.C., Brierley, J.B. (1981). The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann Neurol* 9, 2, 131-141.
- Romero Esquiliano, G., Méndez Ramírez, I., Tello Valdés, A & Torner Aguilar, C. A. (2004). Daño neurológico secundario a hipoxia isquemia perinatal.

Arch. Neurocién. 9, 3.

Sajjad ur Rahman. (2011). Neuroprotection in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: Therapeutic hypothermia and beyond. *JPMI* 5, 1, 1-3.

Saraceno, G.E., Bertolino, M.L., Galeano, P., Romero, J.I., García Segura, L.M., Capani, F. (2010). Estradiol therapy in adulthood reverses glial and neuronal alterations caused by perinatal asphyxia. *Exp Neurol*. 223, 615-622.

Saraceno, G., Ayala, M., Badorrey, M., Holubiec, M., Romero, J., Galeano, P. et al. (2012). Effects of perinatal asphyxia on rat striatal cytoskeleton. *Synapse*. 66, 1, 9-19.

Sun, Y, Alexander, S.P., Garle, M.J., Gibson, C.L., Hewitt, K., Murphy, S.P., Kendall, D.A., Bennett, A.J. (2007). Cannabinoid activation of PPAR alpha: a novel neuroprotective mechanism. *Br J Pharmacol*. 152, 5, 734-43.

Titomanlio, L., Kavelaars, A., Dalous, J., Mani, S., El Ghouzzi, V., Heijnen, C., Baud, O., Gressens, P. (2011). Stem cell therapy for neonatal brain injury: Perspectives and Challenges. *Ann Neurol*. 70, 698-712.

Weitzdoerfer, R., Pollak, A., Lubec, B. (2004). Perinatal asphyxia in the rat has lifelong effects on morphology, cognitive functions and behavior. *Semin Perinatol* 28, 249-256.