

“Evaluación de la toxicidad del aceite de lobo marino (*Otaria flavescens*)”

Integrantes: Ibáñez G, Mazú A, Miranda C, Traub C, Triantafilo Y.

Tutores: Conget P, Bruna F, Urrutia C.

Antecedentes:

- El aceite de lobo marino común es utilizado por la población chilena de distintas maneras.
- O. flavescens* acumula a lo largo del tiempo cantidades considerables de compuestos organoclorados.^{[1],[2]}
- Se ha demostrado que los PCB tienen efectos neurotóxicos y se asocian a alteraciones cognitivas frente a su exposición pre y postnatal en animales y seres humanos.^{[3],[4]}
- Estos datos sugieren que el uso del aceite de *O. flavescens* es tóxico, lo que se contrapone a la normativa chilena que establece que el producto debe ser inocuo.^[5]
- Dado que todo lípido o sustancia liposoluble se metaboliza en el hígado, creemos que el aceite de *O. flavescens* posee un efecto hepatotóxico.

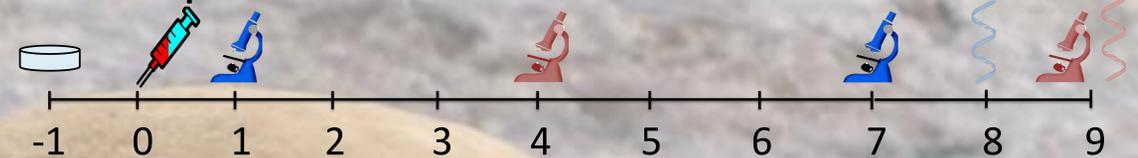
Hipótesis

El aceite de lobo marino *O. flavescens* Sudamericano en los niveles biodisponibles después de su ingesta como suplemento alimenticio es hepatotóxico y/o neurotóxico.

Objetivos específicos:

En líneas celulares HepG2 en cultivo, expuestos a aceite de lobo marino *O. flavescens* Sudamericano en los niveles biodisponibles después de su ingesta como suplemento alimenticio determinar **mortalidad, lisis celular, funcionalidad y proliferación.**

Diseño Experimental



Siembra de 8 placas p4 (Toxicidad aguda y crónica para experimento de viabilidad)
Siembra de 8 placas p35 (Toxicidad aguda y crónica para extracción de mRNA)

Exposición al aceite de lobo marino

Recuento celular en cámara de Neubauer (T. Aguda)

Recuento celular en cámara de Neubauer (T. Crónica)

Extracción mRNA (T. Aguda)

Extracción mRNA (T. Crónica)

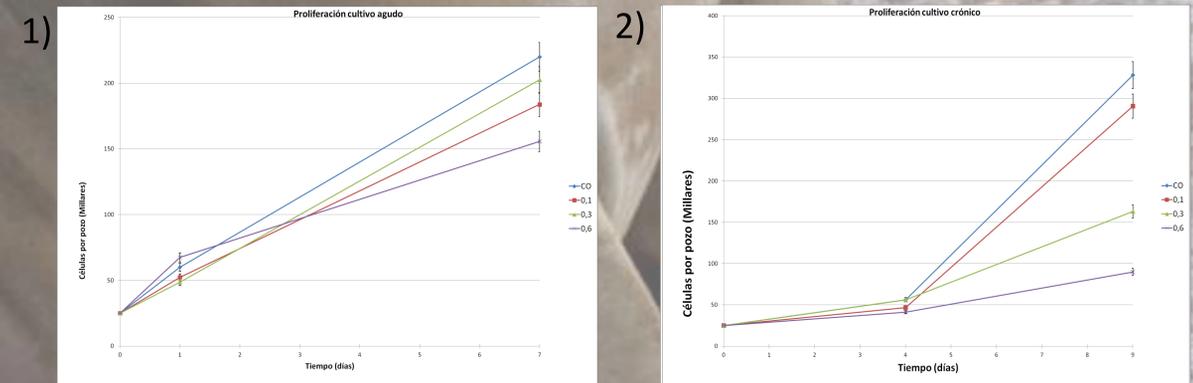
* Se hizo cambio de medio todos los días al grupo de T. Crónica



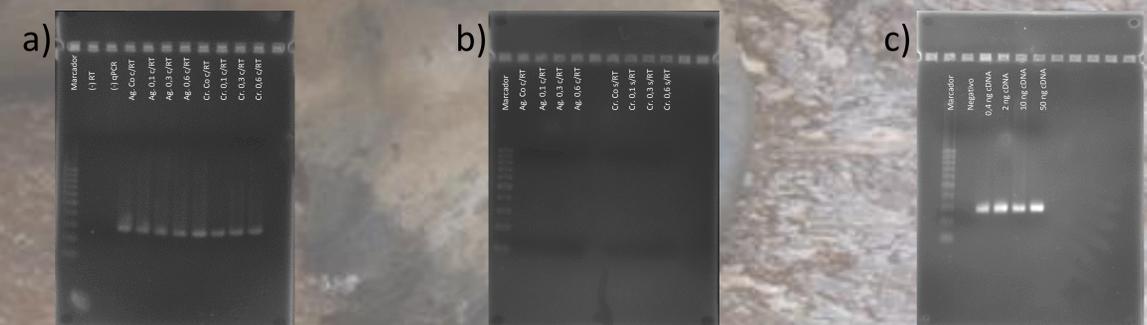
La extracción de mRNA se realizó para ser utilizada en qPCR en tiempo real.

Discusión y resultados

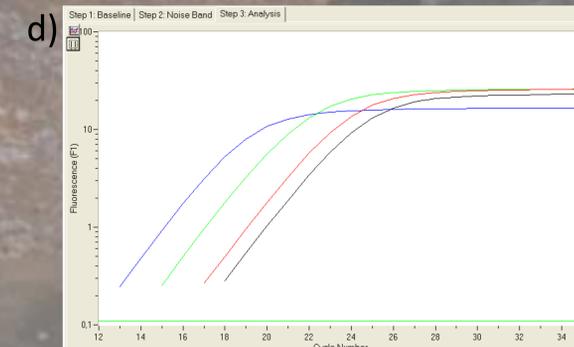
Figuras:



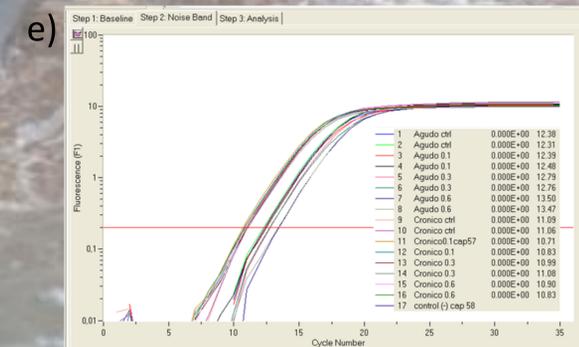
Electroforesis



Curva estándar



Cuantificación de GAPDH en muestras



La exposición aguda al aceite de lobo marino (fig. 1) provoca inicialmente (día 1) pequeñas diferencias en la proliferación celular, la cual es menor a mayores concentraciones del aceite. Dichas diferencias se ven acentuadas a lo largo del tiempo (día 7).

La exposición crónica al aceite (fig. 2), presenta los mismos efectos anteriormente descritos, pero más acentuados, también se aprecia una disminución en la población celular el día 7 en los grupos con una mayor dosis (0,3 y 0,6 µg/ml)

Los conteos efectuados, si bien no muestran una relación lineal en el transcurso de los días, sugieren en sus resultados finales una influencia de la intervención sobre la muestra, al corresponder los pozos control a los conteos más altos y los pozos sometidos a las concentraciones más altas de aceite a los conteos más bajos (figuras 1 y 2), lo cual se condice con las inferencias realizadas a partir de la investigación bibliográfica. Considerando las limitaciones experimentales a los que se expone una cuantificación, es más acertado considerar los resultados a largo plazo sobre los de corto plazo, lo que permite que la proliferación y el efecto del aceite de *O. flavescens* sobre ella se exprese mejor aumentando las diferencias entre los distintos grupos. Las PCR's y las electroforesis demostraron que la muestra de mRNA obtenida fue bien extraída y exitosamente traducida a cDNA, ya que se expresa el gen constitutivo hGAPDH y es de esperar que presenten también el gen de la albúmina. Además, se pudo observar que los negativos no estaban contaminados y las muestras expresaban todas correctamente el producto.

Conclusiones:

La proliferación celular en los cultivos de células HepG2 para las intervenciones agudas y crónicas se redujo, lo que indicaría que el aceite de lobo marino (*O. flavescens*) puede tener un efecto hepatotóxico en seres humanos.

Limitaciones y proyecciones:

Debido a la falta de repetitividad del presente estudio, no es posible afirmar con seguridad que el aceite de lobo marino (*O. flavescens*) tiene un efecto hepatotóxico en seres humanos, sino que los resultados obtenidos sugieren un efecto tal.

Además, falta aún el desarrollo completo del análisis de mRNA para la proteína albúmina, para determinar si la disminución en la proliferación de las células involucra también una pérdida de funcionalidad en las que permanecen vivas.

Como proyección de nuestro trabajo, podría estudiarse si el aceite de lobo marino tiene algún efecto neurotóxico, dados los compuestos anteriormente descritos que contiene y los efectos de estos sobre el sistema nervioso.