

Introdução

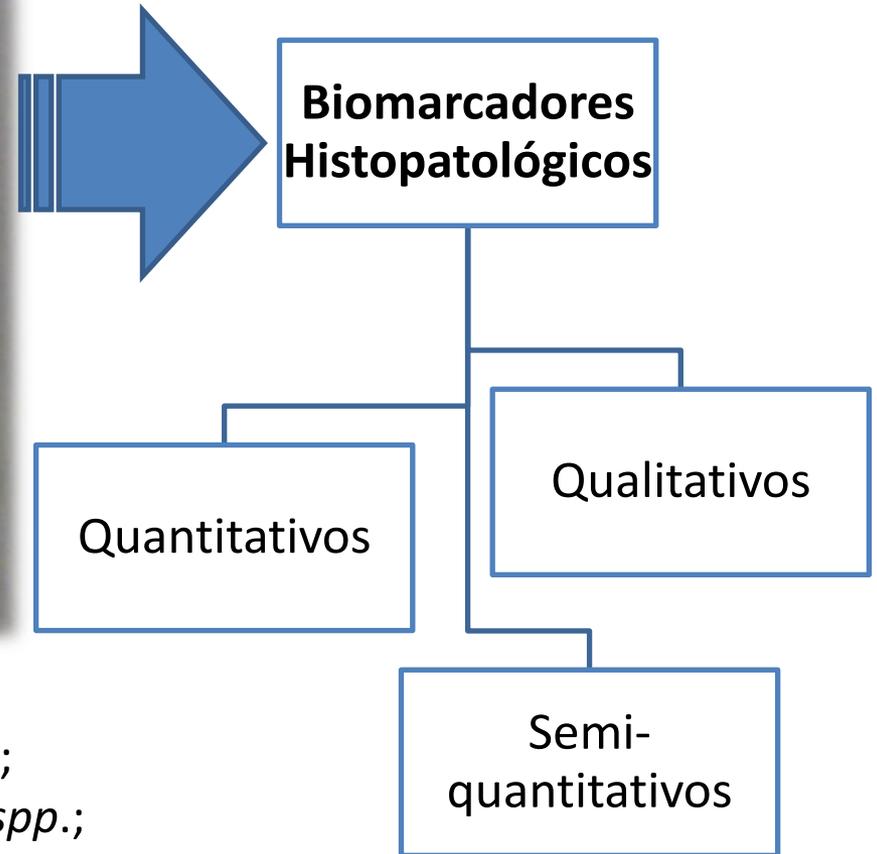
Sinvastatina

- É um fármaco comum usado no tratamento da hiperlipidemia.
- Responsável pela inibição da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase.
- Contribui para o decréscimo da actividade da acil-coenzima A aciltransferase (ACAT).
- Em mamíferos, é metabolizada no fígado com tendência para aí bioacumular.
- Em grandes doses ou combinada com outras substâncias pode aumentar o risco de miopatia.
- Em crustáceos, pode afectar a produção de hormonas que regulam a muda, o crescimento e a reprodução.

Desager, D.J.P., Horsmans, Y., 1996. Clinical pharmacokinetics of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. Clin. Pharmacokinet. 31, 348–371.

Introdução

Anfípode – *Gammarus locusta*



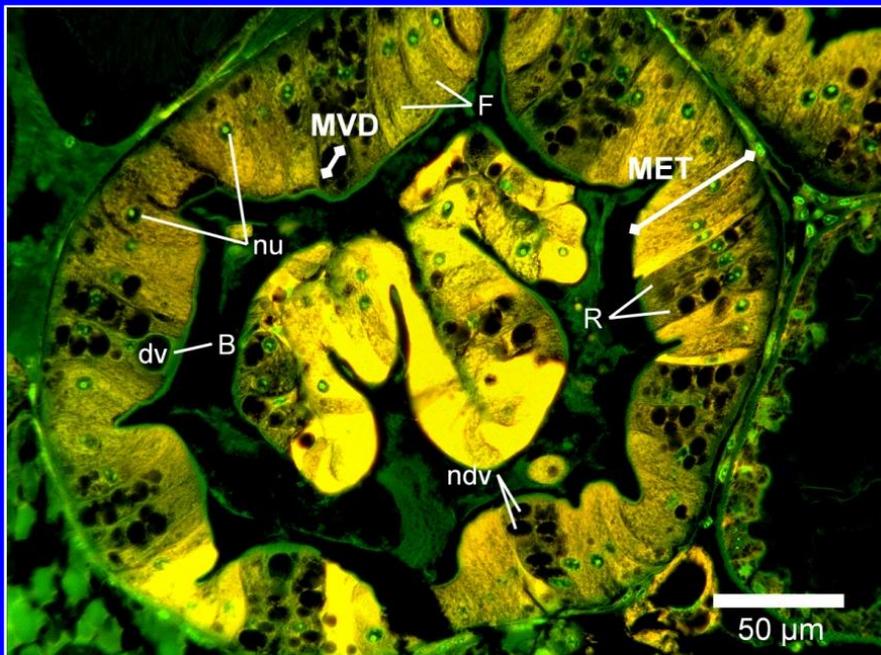
- Habitat: Zona intertidal;
- Distribuição: Sistemas costeiros Europeus;
- Alimentação: *Ulva spp.* e *Enteromorpha spp.*;
- Alta relevância ecológica e sensibilidade para contaminantes.

Objectivos

1. Identificação de biomarcadores qualitativos e quantitativos;
2. Identificação de alterações histopatológicas quantitativas no hepatopancreas dos anfípodas, *Gammarus locusta*, expostos ao fármaco sinvastatina;
3. Observação de uma potencial relação dose-resposta entre concentração de exposição e os resultados dos biomarcadores analisados;
4. Levantamento de potenciais diferenças, no que respeita ao modo de reacção aos contaminantes, entre machos e fêmeas;
5. Contribuição para descrição histológica do anfípode *Gammarus locusta*.

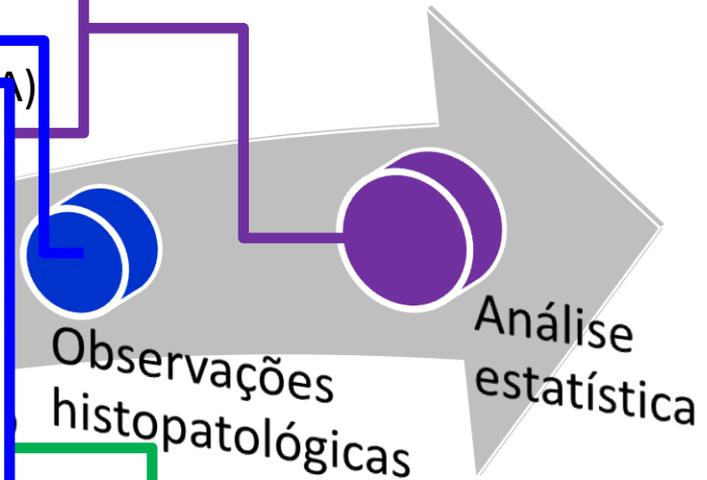
Materiais e Métodos

- Teste U de Mann-Whitney
- Correlações de Spearman



Legenda:

- MVD – Média do diâmetro de vacúolos não-digestivos
- MET – Média da espessura do epitélio
- ndv – Vacúolo não-digestivo
- dv – Vacúolo digestivo
- nu – Núcleo
- R, F, B – Células R, F e B



cas por teste

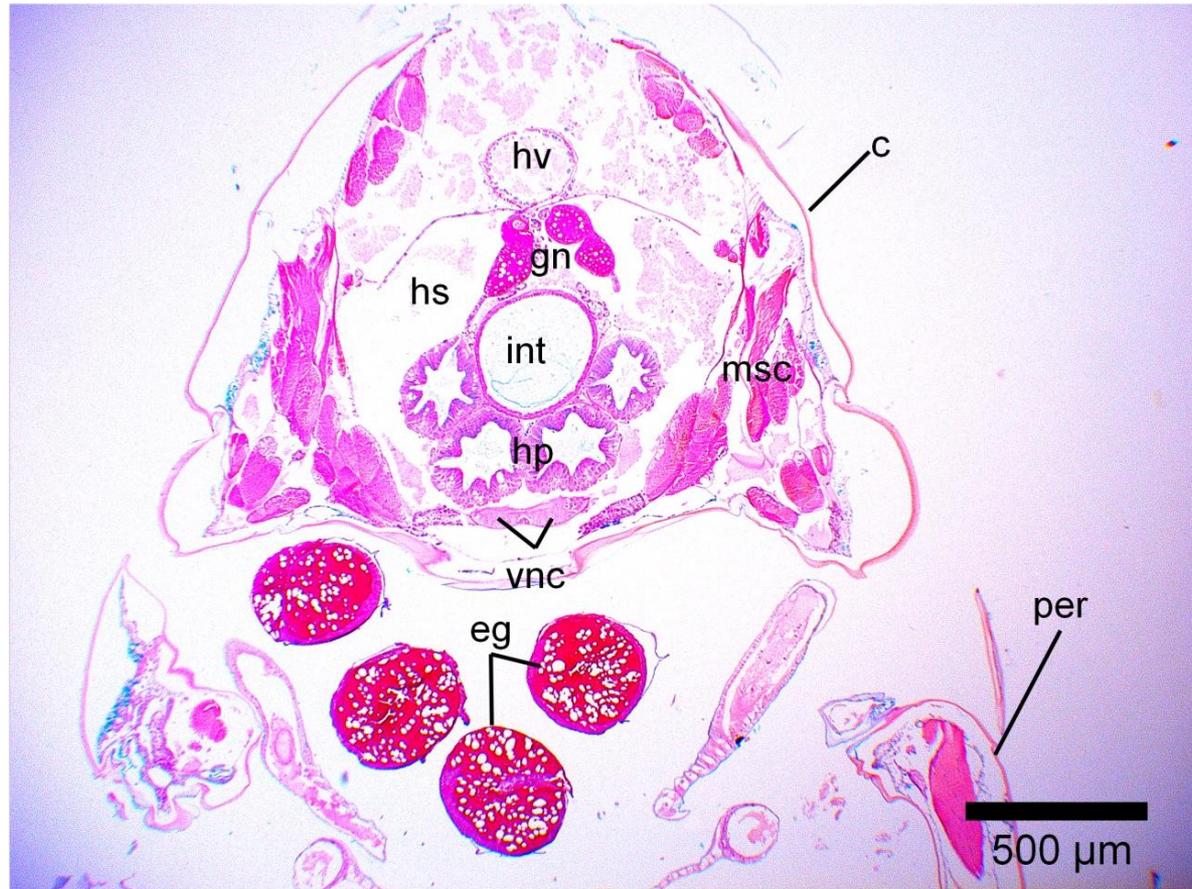
Hollande e Carnoy

parafina

de 5μm de espessura

reativos (recentes nascidos)

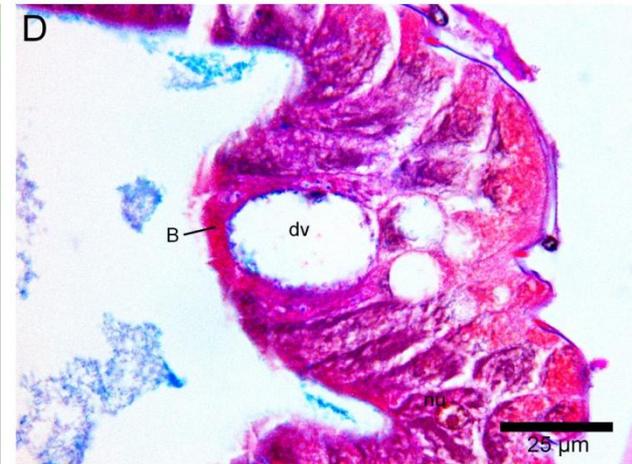
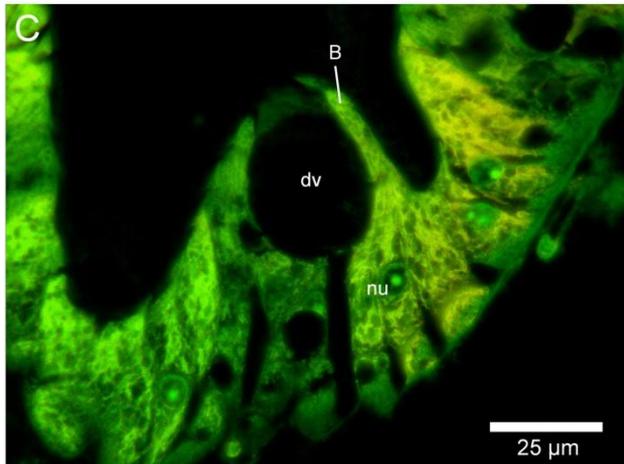
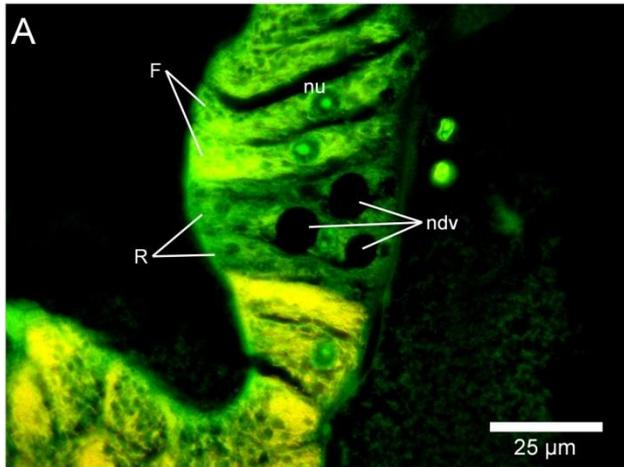
Descrição Histológica



Legenda:

- hp – Hepatopancreas
- int – Intestino
- gn - Gónadas
- msc – Músculo
- hs – Espaço hemal
- hv – Vaso hemolinfático
- vnc – Cordões nervosos
- eg – Ovos
- per – Pereiópodes
- c – Exosqueleto

Descrição Histológica (2)

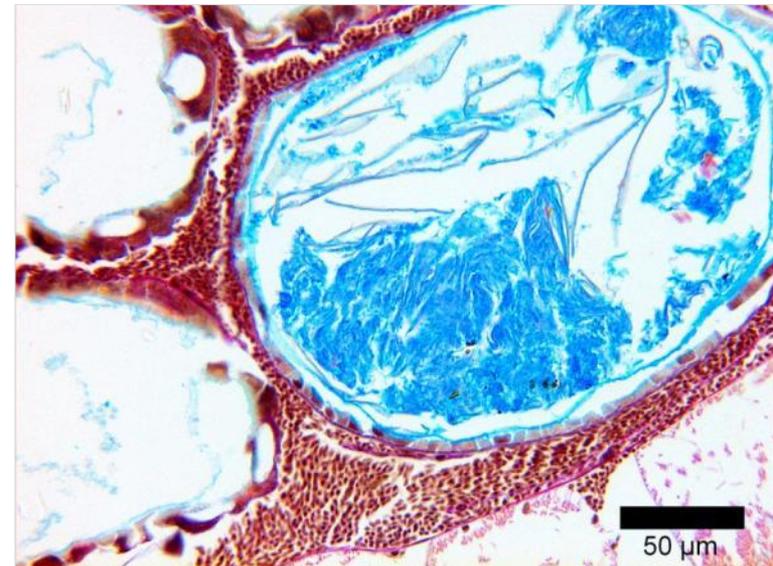
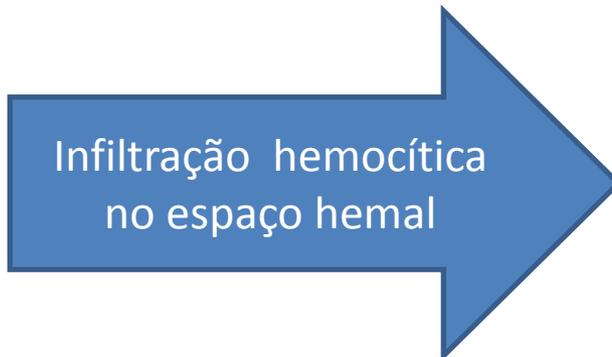
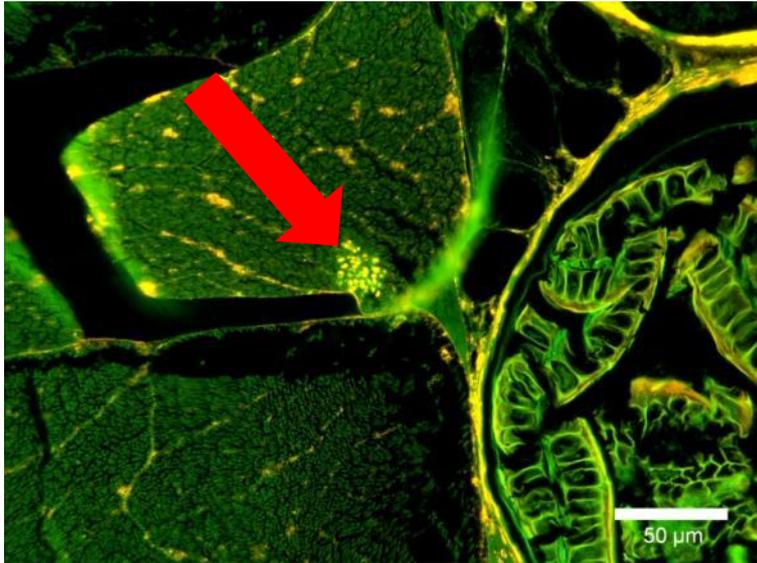


Legenda:

- F – Células F
- R – Células R
- B – Células B

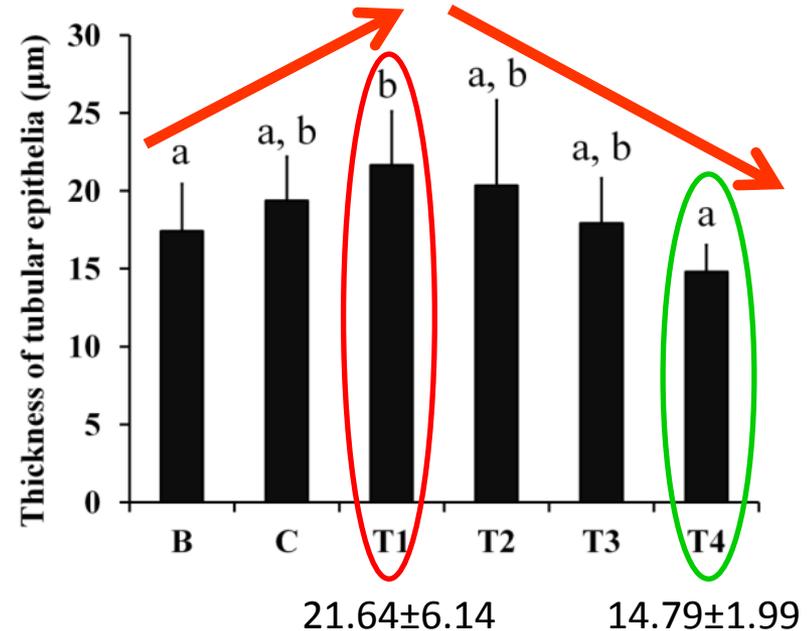
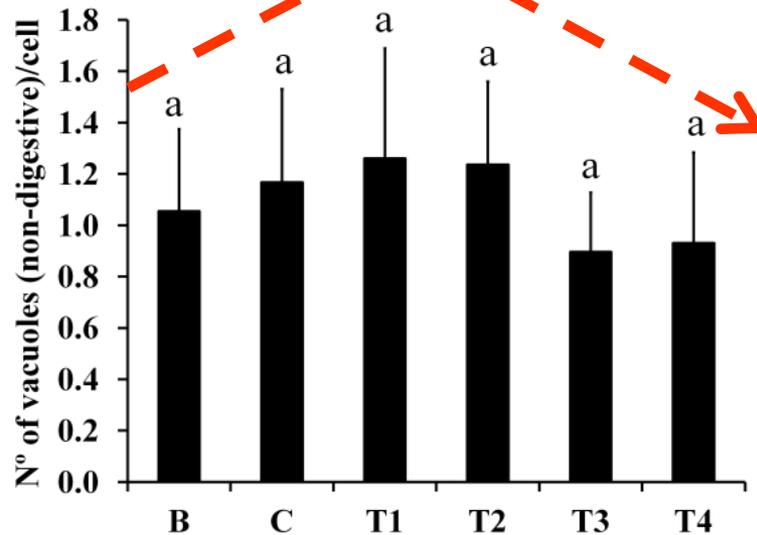
- dv – Vacúolo digestivo
- ndv – Vacúolo não-digestivo
- nu – Núcleo

Avaliação Histopatológica Qualitativa



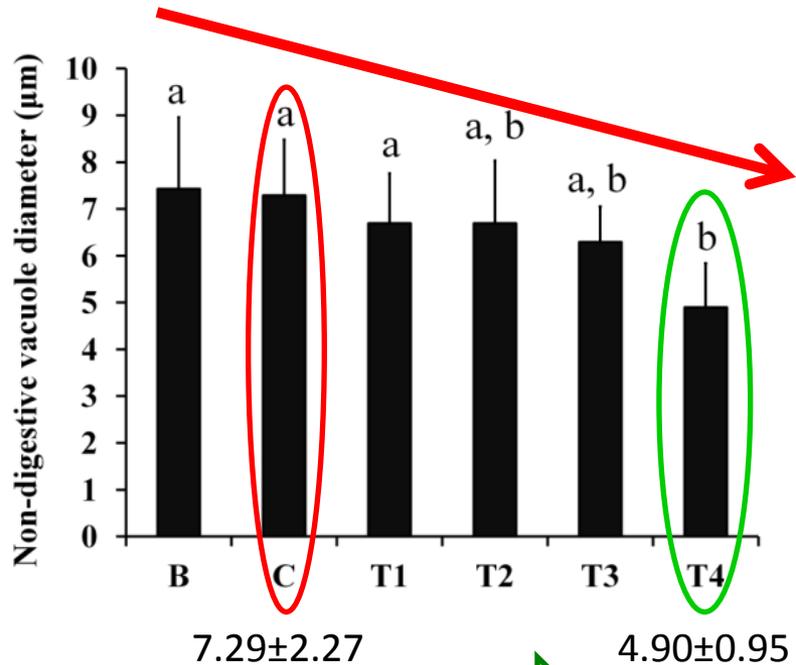
Avaliação Histopatológica Quantitativa

Curva dose-resposta não linear para a espessura média do epitélio do hepatopâncreas.



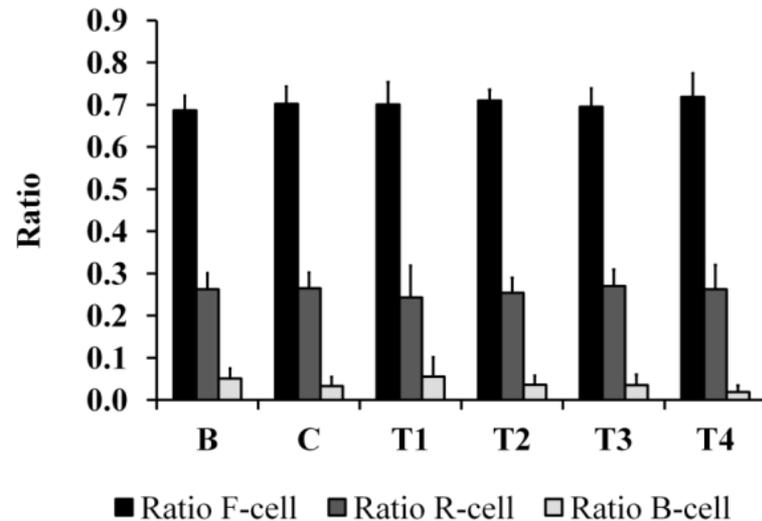
Tendência para uma curva dose-resposta não linear no número médio de vacúolos não-digestivos.

Avaliação Histopatológica Quantitativa (2)



Curva dose-resposta linear no diâmetro médio dos vacúolos não-digestivos.

Respostas não significativas para os três rácios. Predominância das células F no epitélio.

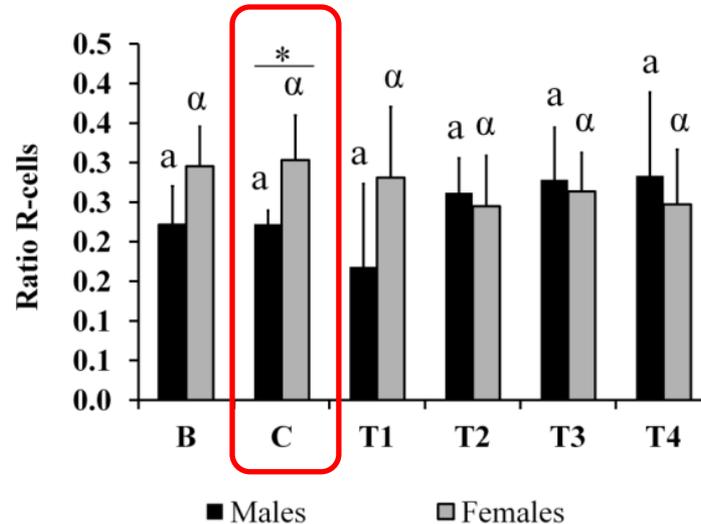
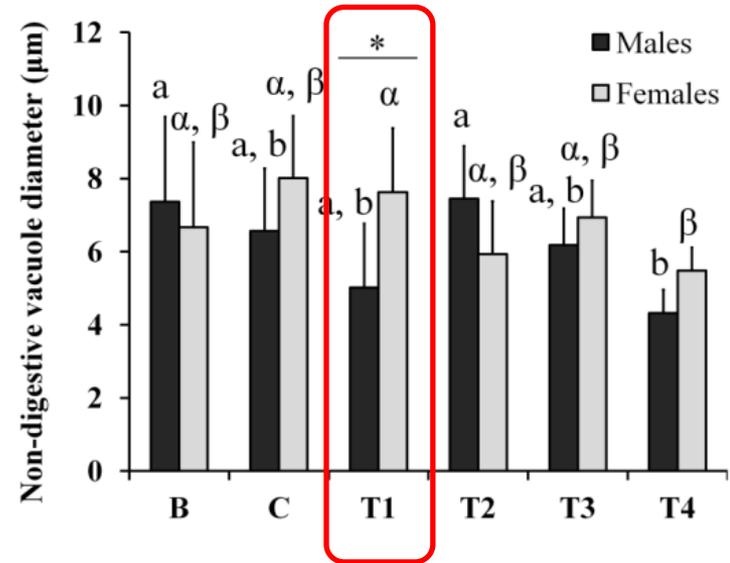
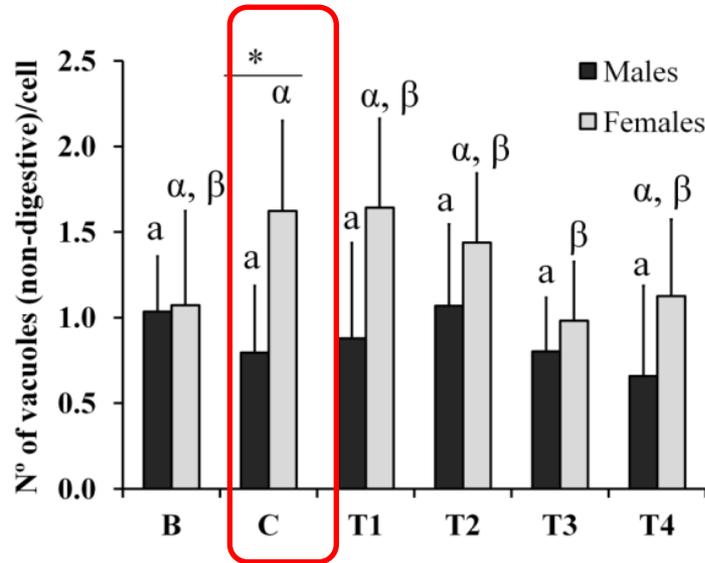


Análise Multivariada - Correlação de Spearman

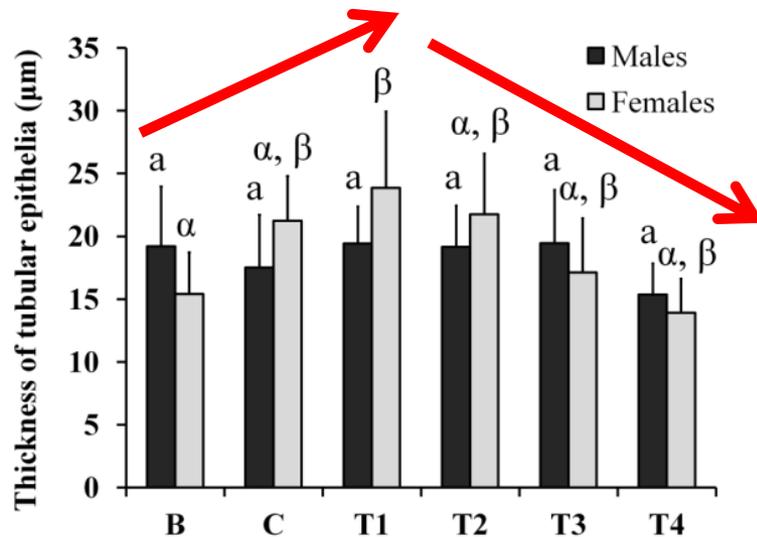
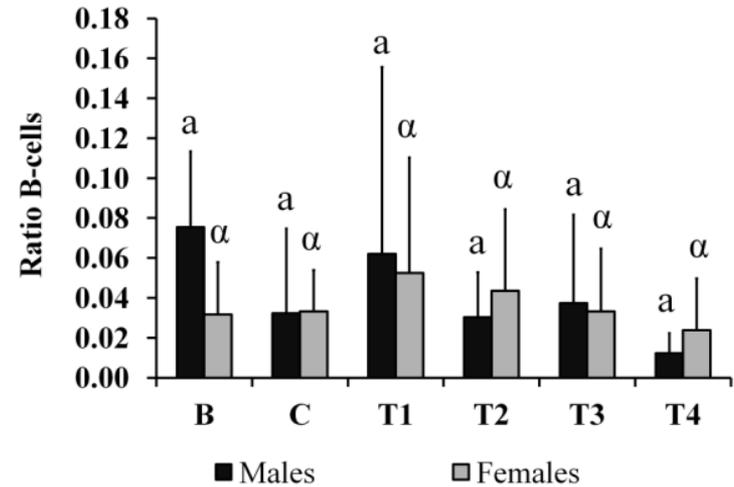
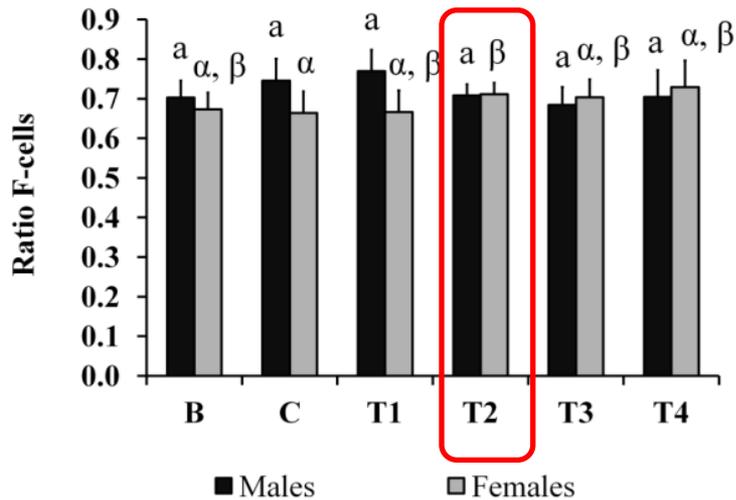
| | MET | MVD | MVN | R-ratio | B-ratio | F-ratio |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| MET | 1.0000 | | | | | |
| MVD | 0.4121 | 1.0000 | | | | |
| MVN | 0.4348 | 0.3438 | 1.0000 | | | |
| R-ratio | 0.2126 | 0.1843 | 0.3184 | 1.0000 | | |
| B-ratio | -0.1500 | 0.1702 | 0.0358 | -0.2869 | 1.0000 | |
| F-ratio | -0.1088 | -0.2722 | -0.3007 | -0.8527 | -0.1461 | 1.0000 |

- Os rácios R e F apresentam uma forte correlação negativa, tal como esperado.
- A espessura e o número de vacúolos apresentam uma correlação positiva significativa, o que demonstra a ligação entre os dois biomarcadores.

Machos versus Fêmeas



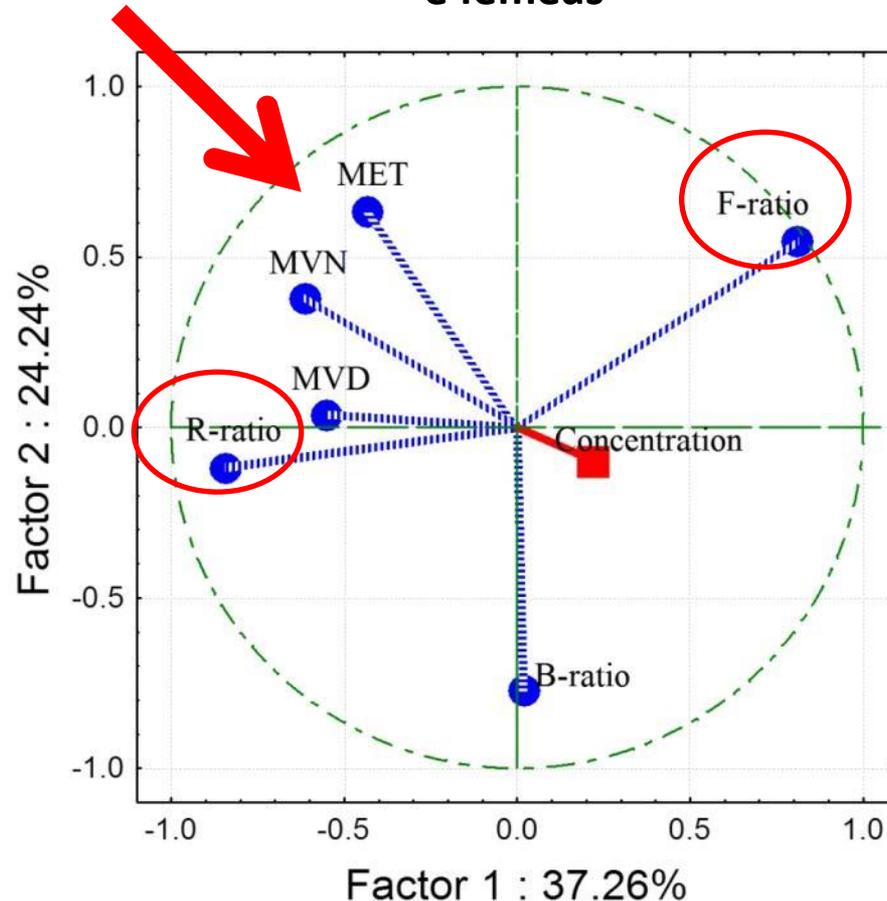
Machos versus Fêmeas



A espessura média do epitélio nas fêmeas apresenta uma variação não-linear enquanto que os machos não apresentam variações significativas.

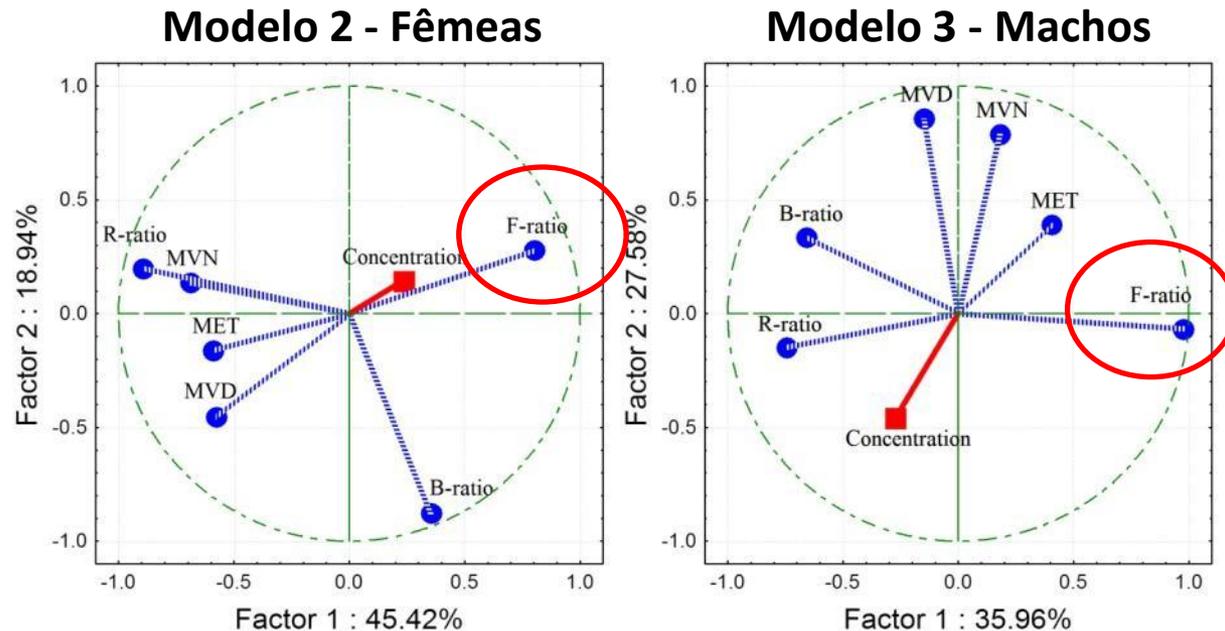
Análise de Componentes Principais (PCA)

Modelo 1 - Combinação de machos e fêmeas



- O rácio das células F está positivamente correlacionado com a concentração, o que pode indicar um acréscimo da actividade enzimática.
- O rácio das células R está negativamente correlacionado com a concentração, o que pode estar associado à depleção lipídica.

Análise de Componentes Principais (PCA)



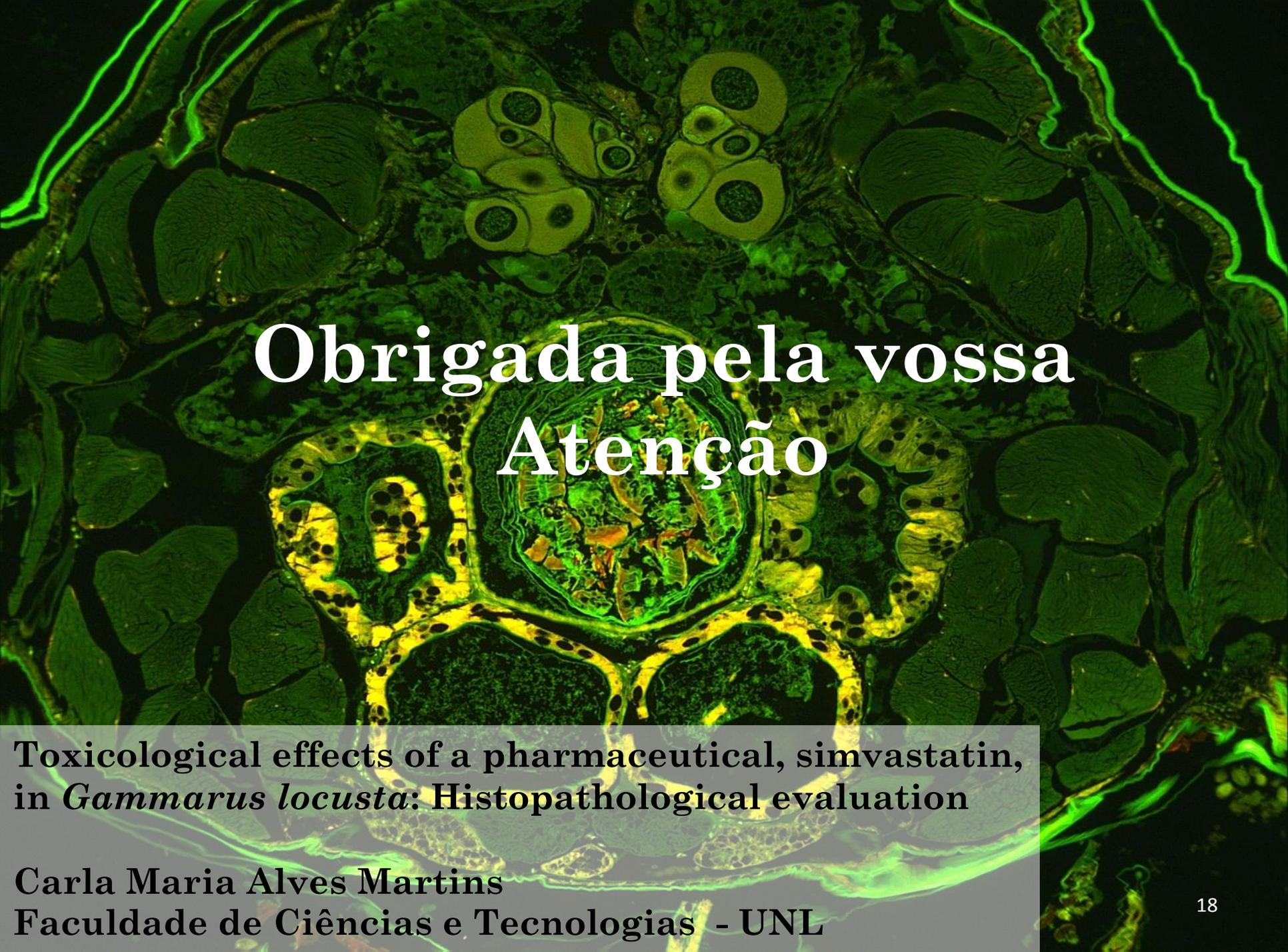
- A correlação positiva entre o rácio das células F e a concentração de sinvastatina nas fêmeas pode revelar uma maior defesa antioxidante e maior capacidade de eliminação de contaminantes destas ao contrário dos machos.

Considerações Finais

- A sinvastatina induziu alterações fisiológicas e metabólicas dose-dependentes da concentração de fármaco, no *Gammarus locusta*, não se tendo verificado lesões histopatológicas ou alterações morfológicas severas.
- Curvas dose-resposta bitónicas que apresentam uma resposta positiva até certa concentração seguida de uma resposta negativa associada à desregulação metabólica com alterações ao nível histopatológico.
- O hepatopâncreas, sendo homólogo ao fígado dos mamíferos, é o principal órgão afectado.

Considerações Finais (2)

- A simvastatina afecta o metabolismo de hidratos de carbono do *Gammarus locusta*, com consequências ao nível das reservas de lípidos.
- Alterações na produção enzimática, com variações no desenvolvimento do reticulo endoplasmático.
- Fêmeas apresentam uma maior capacidade de resposta às situações de stress toxicológico do que os machos.
- O dimorfismo sexual está provavelmente associado às maiores reservas de energia e ao grande esforço energético das fêmeas durante a maturação.

A histological section of the crustacean Gammarus locusta, stained with hematoxylin and eosin (H&E). The image shows a cross-section of the body wall and internal organs. The central region displays significant cellular damage, including necrosis and inflammation, which is the focus of the study. The surrounding tissue shows various cellular structures, including muscle fibers and connective tissue.

Obrigada pela vossa Atenção

**Toxicological effects of a pharmaceutical, simvastatin,
in *Gammarus locusta*: Histopathological evaluation**

**Carla Maria Alves Martins
Faculdade de Ciências e Tecnologias - UNL**