Estudio de la miotoxicidad de la simvastatina en juveniles de *Solea senegalensis*

Amparo González-Mira[1], Elena Bote[1], Laura de Miguel[1], Montserrat Solé[2], Inmaculada Varó[3], Amparo Torreblanca[1*]

[1]Dpto. Biología Funcional y Antropología Física. Universitat de València. Dr. Moliner 50, Burjassot 46100 València, Spain.
[2]Institut de Ciencies del Mar (ICM-CSIC). Passeig marítim de la Barceloneta 37-49 08003, Barcelona, Spain.
[3]Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), 12595 Ribera de Cabanes, (Castellón), Spain.
[*]Corresponding Author: torrebla@uv.es

RESUMEN

La presencia de compuestos farmacéuticos en los ecosistemas acuáticos costeros ha ido en aumento en las últimas décadas y, aunque sus concentraciones rara vez superen los ng/l, son biológicamente muy activos y se desconocen los efectos que podrían ocasionar en los organismos que habitan dichas áreas. La simvastatina (SV) forma parte de ese amplio grupo de compuestos cuya presencia podría suponer un problema ambiental. Este estudio tiene como objetivo identificar posibles daños musculares a través de la determinación de marcadores enzimáticos, en juveniles de *Solea senegalensis*, tras una exposición aguda a SV mediante inyección intraperitoneal (IP; 10 mg/kg). Las muestras de tejido muscular fueron recogidas tras 20, 26 y 44 horas de exposición a SV. Se han determinado los niveles de diferentes transaminasas (gamma-glutamil transferasa (γ – GT) y aspartato aminotransferasa (GOT)), al igual que los niveles de lactato deshidrogenasa (LHD) como indicadores de daño muscular.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los xenobióticos presentes en las costas son resultado de la combinación entre las aguas fluviales, donde se unen las aguas de escorrentía, los efluentes procedentes de las estaciones depuradoras próximas al río y la aportación de los emisarios submarinos. Aunque estos emisarios están diseñados para favorecer la dilución de la pluma contaminante, la energía de dicha zona no siempre tiene el potencial de dispersarla.

La detección y cuantificación de un número cada vez mayor de sustancias en el agua ha sido posible gracias al avance de las técnicas químicas analíticas. La presencia de sustancias farmacológicas en las aguas procedentes de plantas depuradoras se ha incrementado exponencialmente durante las últimas décadas, lo que lo convierte en un problema medioambiental (Andreu *et al.*, 2016 [1], Boix *et al.*, 2016 [2]).

Las estatinas, entre ellas la simvastatina (SV), son un grupo de fármacos diseñados para el tratamiento de la hipercolesterolemia y la prevención de riesgos cardiovasculares derivados de la misma. Estos reguladores lipídicos se encuentran entre los fármacos más prescritos en los países de Europa Occidental y, debido a su baja tasa de eliminación en las plantas de tratamiento de aguas residuales, sus concentraciones en los ecosistemas acuáticos han ido en aumento en las últimas décadas (Walley *et al.*, 2005 [3]). A pasar de su uso generalizado todavía se desconocen muchas de sus propiedades toxicológicas en los organismos acuáticos, que se ven expuestos a través del medio (Santos *et al.*, 2016 [4]). La SV es administrada como prodroga en su forma lactona, generalmente más tóxica para el organismo debido a su capacidad de difundirse de manera pasiva a través de las membranas, y una vez en el organismo sufre una biotransormación a su forma ácida, con actividad farmacológica (Skottheim *et al.*, 2008 [5]). Diversos estudios clínicos han demostrado que la miotoxicidad es un efecto secundario frecuente debido al uso de estatinas (Taha *et al.*, 2014 [6]). Por ello, cualquier organismo acuático expuesto a dichos compuestos podría sufrir problemas musculares que dificultarían su desarrollo y funcionamiento. Algunos de los marcadores enzimáticos más usados para determinar miotoxicidad en humanos incluyen la determinación de transaminasas, de lactato deshidrogenasa (LDH) y de creatina kinasa (CK) (Taha et al, 2014).

Este estudio tiene como objetivo identificar posibles daños musculares a través de la determinación de marcadores enzimáticos, en juveniles de *Solea senegalensis*, tras una exposición aguda a SV mediante inyección intraperitoneal (IP; 10 mg/kg).

MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento número 2015/VSC/PEA/00148 tipo 2 fue solicitado y La Dirección General de Agricultura, Ganadería y Pesca lo autorizó con fecha 28 de julio de 2015. Se aclimataron 28 individuos juveniles de *Solea senegalensis* a las condiciones de la Planta de Acuarios de la Universitat de València tras lo cual se procedió a la exposición aguda a SV. Se establecieron dos tipo de tratamiento consistentes en la inyección intraperitoneal (IP) de SV con una dosis de 10 mg/kg utilizando aceite de

girasol como excipiente. Los animales pertenecientes al grupo control fueron inyectados únicamente con el excipiente. Los peces fueron sacrificados de acuerdo con el procedimiento aprobado y las muestras de tejido muscular fueron recogidas tras 20, 26 y 44 horas de exposición. Se han determinado los niveles de diferentes transaminasas (gamma-glutamil transferasa (γ – GT) y aspartato aminotransferasa (GOT)), al igual que los niveles de lactato deshidrogenasa (LHD) como indicadores de daño muscular tal como se describe en González-Mira et al (2016) [7].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares obtenidos no muestran un efecto claro del tratamiento sobre los enzimas determinados. Una de las posibles razones es que la forma de simvastatina utilizada requiere ser previamente biotransformada para que tenga una actividad farmacológica sobre el músculo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencias e Innovación de España (ref: CTM2010-16611), y por la Generalitat Valenciana (ref: GV-2014/085-PROMETEO-II). Nuestros agradecimientos para S. Piñeiro y L. Cabrera de la Planta de Acuarios-SCSIE de la Universitat de València por el mantenimiento de los peces.

REFERENCIAS

1 - Andreu, V., Gimeno-García, E., Pascual, J. A., Vazquez-Roig, P., & Picó, Y. 2016. Presence of pharmaceuticals and heavy metals in the waters of a Mediterranean coastal wetland: Potential interactions and the influence of the environment. *Sci. Total Environ.* 540, 278-286.

2 - Boix, C., Ibáñez, M., Sancho, J. V., Parsons, J. R., Voogt, P. & Hernández, F. 2016. Biotransformation of pharmaceuticals in surface water and during waste water treatment: Identification and occurrence of transformation products. *J. Hazard. Mater.* 302, 175-187.

3 - Walley, T. Folino-Gallo, P. Stephens, P. & Van Ganse, E. 2005. Trends in prescribing and utilization of statins and other lipid lowering drugs across Europe 1997–2003. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 60:5, 543–551.

4 – Santos, M.M., Ruivo, R., Lopes-Marques, M., Torres, T., de los Santos, C. B., Castro, L. F. C., & Neuparth T. 2016. Statins: An undesirable class of aquatic contaminants? *Aquat. Toxicol.*174, 1-9.

5 - Skottheim, I. B., Gedde-Dahl, A., Hejazifar, S., Hoel, K. & Asberg, A. 2008. Statin induced myotoxicity: The lactone forms are more potent than the acid forms in human skeletal muscle cells *in vitro*. *Eur. J. Pharm. Sci.* 33, 317-325.

6 - Taha, D. A., De Moor, C. H., Barrett, D. A., & Gershkovich, P. 2016. Translational insight into statin-induced muscle toxicity: from cell culture to clinical studies. *Transl Res.* 164(2), 85-109.

7 - González-Mira, A., Varó, I., Solé, M., & Torreblanca, A. Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature dependent manner. Submitted for publication March 2016.