



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**COMPUESTOS
FARMACÉUTICOS EN
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS:
EVIDENCIAS DE SU TOXICIDAD
EN EL ORGANISMO MODELO
*DAPHNIA MAGNA***

Alumno/a: Rodríguez Andújar, Ana Belén

Tutor/a: Prof. D. M^a Gema Parra Anguita

Dpto: Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología

Octubre, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**COMPUESTOS
FARMACÉUTICOS EN
ECOSISTEMAS ACUÁTICOS:
EVIDENCIAS DE SU TOXICIDAD
EN EL ORGANISMO MODELO
*DAPHNIA MAGNA***

Alumno/a: Rodríguez Andújar, Ana Belén

Tutor/a: Prof. D. M^a Gema Parra Anguita

Dpto: Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología

Octubre, 2020

ÍNDICE

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Introducción | 1-9 |
| 1.1. Compuestos farmacéuticos en ecosistemas acuáticos..... | 1-3 |
| 1.2. Analgésicos..... | 3-7 |
| 1.2.1. Definición..... | 3 |
| 1.2.2. Paracetamol..... | 3-5 |
| 1.2.3. Ibuprofeno..... | 5-7 |
| 1.3. Cinética medioambiental..... | 7 |
| 1.4. <i>Daphnia magna</i> como organismo modelo en ecotoxicología..... | 8-9 |
| 1.5. Metodología estandarizada para la realización de análisis ecotoxicológicos.. | 9 |
| 2. Justificación del trabajo | 9-10 |
| 2.1. Hipótesis..... | 10 |
| 3. Objetivos | 10 |
| 3.1. Objetivos generales..... | 10 |
| 3.2. Objetivos específicos..... | 10 |
| 4. Materiales y métodos | 11-18 |
| 4.1. Procedimiento de revisión sistemática..... | 11-15 |
| 4.1.1. Metodología..... | 11-15 |
| 4.1.2. Tratamiento gráfico de los datos..... | 15 |
| 4.2. Experimentos de exposición en laboratorio..... | 15-18 |
| 4.2.1. Lugar de realización del estudio y organismos vivos utilizados..... | 15-16 |
| 4.2.2. Ensayo de toxicidad aguda..... | 17-18 |
| 4.2.3. Tratamiento estadístico de los datos..... | 18 |

| | |
|---------------------------------------------------------------|-------|
| 5. Resultados | 19-48 |
| 5.1. Resultados de la revisión bibliográfica..... | 19-46 |
| 5.2. Resultados de los ensayos de toxicidad aguda..... | 47-48 |
| 6. Discusión | 48-52 |
| 6.1. Revisión bibliográfica..... | 48-52 |
| 6.2. Estudios experimentales..... | 52-54 |
| 7. Conclusiones | 54 |
| 8. Bibliografía | 54-60 |
| 9. Asignaturas estudiadas | 60-61 |
| 10. Currículum | 62 |

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICOS

Figuras

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Figura 1.</i> Origen y destino de los productos farmacéuticos..... | 2 |
| <i>Figura 2.</i> Fármacos más comúnmente encontrados en el medio ambiente..... | 2 |
| <i>Figura 3.</i> Estructura química del paracetamol..... | 3 |
| <i>Figura 4.</i> Estructura química del ibuprofeno..... | 5 |
| <i>Figura 5.</i> <i>Daphnia magna</i> spp..... | 8 |
| <i>Figura 6.</i> Reproducción asexual (a) y reproducción sexual (b) de <i>D. magna</i> | 8 |
| <i>Figura 7.</i> Simbología e interfaz del buscador científico “Scopus”..... | 12 |
| <i>Figura 8.</i> Estudio 1 de mortalidad..... | 18 |
| <i>Figura 9.</i> Estudio 2 de mortalidad..... | 18 |
| <i>Figura 10.</i> Proceso de búsqueda..... | 19 |

Tablas

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Tabla 1.</i> Características físico-químicas del paracetamol..... | 4 |
| <i>Tabla 2.</i> Características físico-químicas del ibuprofeno..... | 6 |
| <i>Tabla 3.</i> Palabras obtenidas de la cuestión..... | 13 |
| <i>Tabla 4.</i> Términos centrales de la revisión..... | 14 |
| <i>Tabla 5.</i> Condiciones de mantenimiento de <i>D. magna</i> | 16 |
| <i>Tabla 6.</i> Vitaminas..... | 16 |
| <i>Tabla 7.</i> Concentraciones utilizadas en el estudio 1 y 2 ($\mu\text{g/L}$)..... | 17 |

Gráficos

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Gráfico 1.</i> Proporción de participación de los países en los artículos científicos..... | 20 |
| <i>Gráfico 2.</i> Año de publicación de los artículos científicos..... | 20 |
| <i>Gráfico 3.</i> Revistas..... | 21 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Gráfico 4.</i> Proporción de estudio de ibuprofeno, paracetamol y codeína..... | 22 |
| <i>Gráfico 5.</i> Proporción de organismos utilizados en los estudios..... | 22 |
| <i>Gráfico 6.</i> Porcentaje de mortalidad total en cada concentración del estudio 1..... | 47 |
| <i>Gráfico 7.</i> Porcentaje de mortalidad total en cada concentración del estudio 2..... | 48 |

RESUMEN

En la actualidad existe un gran interés por conocer las consecuencias de los distintos productos farmacéuticos, ya que suponen un importante riesgo ambiental por su elevado consumo, su persistencia y su distribución en el agua.

Existen diversos estudios que han documentado productos farmacéuticos en las aguas naturales, entre los cuales destacan dos analgésicos: el paracetamol y el ibuprofeno. Por tanto... ¿Existen efectos demostrados en organismos acuáticos que afirmen la toxicidad del paracetamol y del ibuprofeno para el medio acuático y los seres vivos? Para dar respuesta a esta cuestión, en el presente trabajo fin de máster se ha realizado una revisión bibliográfica sistemática y se han llevado a cabo dos ensayos agudos de toxicidad exponiendo a neonatos del organismo *Daphnia magna* a dosis crecientes de paracetamol durante 24 horas.

La metodología utilizada y los criterios de búsqueda seleccionados para la búsqueda bibliográfica han permitido recopilar 21 artículos científicos, de los cuales se ha recuperado y analizado su información mediante síntesis narrativa, concluyendo que existen efectos adversos derivados de la exposición a paracetamol e ibuprofeno, tanto a niveles ambientalmente realistas como a concentraciones altas, de organismos modelo, como *D. magna*.

Con relación a los ensayos de toxicidad aguda, éstos se realizaron en el laboratorio del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Jaén siguiendo la directriz número 202 de la OCDE, y finalmente se concluyó que los datos obtenidos no fueron estadísticamente significativos, por tanto, se propone como línea de investigación realizar estudios con mayor número de muestras, mayor duración y un rango más amplio de concentraciones, de tal forma que puedan estudiarse distintos efectos subletales y pueda observarse la mortalidad.

Palabras clave: paracetamol, ibuprofeno, efectos, toxicología, *D. magna*.

ABSTRACT

At present, there is great interest in knowing the environmental consequences of different pharmaceutical products, which suppose a significant environmental risk due to their great consumption, persistence and distribution in water.

There are several studies that have documented pharmaceutical products in natural waters, among which two analgesics we find: paracetamol and ibuprofen. Therefore, a question arises: Are there proven effects in aquatic organisms that confirm the toxicity of paracetamol and ibuprofen in the aquatic environment and the organisms? In order to answer this question, in the present master's degree work a systematic bibliographic review has been carried out and two acute toxicity tests were conducted exposing *Daphnia magna* neonates to increasing doses of paracetamol for 24 hours.

The methodology used and the search criteria selected for the bibliographic search have allowed the collection of 21 scientific articles, of which their information has been recovered and analyzed through narrative synthesis, concluding that there are adverse effects derived from exposure to paracetamol and ibuprofen, both from environmentally realistic levels and at high concentrations, in model organisms, such as *D. magna*.

Regarding the acute toxicity tests, these were carried out in the Department of Animal Biology, Plant Biology and Ecology laboratory at the University of Jaén following guideline number 202 of the OECD. The results obtained were not statistically significant, therefore, it is proposed as a future research line to carry out studies with a greater number of samples, longer duration and with a wider range of concentrations, so that different sublethal effects can be studied and the effects (mortality) can also be observed.

Key words: paracetamol, ibuprofen, effects, toxicology, *D. magna*.

1. Introducción

1.1. Compuestos farmacéuticos en ecosistemas acuáticos

La contaminación de los distintos compartimentos ambientales es uno de los problemas más importantes que afectan a nuestro planeta actualmente. Desde hace mucho tiempo, las sustancias contaminantes se dispersan y transportan a través de los recursos naturales, modificando así, sus características originales y, en muchas ocasiones, afectando a la calidad de vida de los seres vivos que los habitan (Barceló y López, 2008).

Actualmente existe un interés creciente por conocer las consecuencias que tendrían los compuestos orgánicos de origen antrópico en el medio ambiente. Concretamente, al medio acuático llegan gran cantidad de productos químicos elaborados por el ser humano, de tal forma que, el agua es considerada una fuente de contaminación de estos compuestos para los seres vivos (Becerril, 2012). Si bien es cierto que el agua es un bien que pertenece a toda la sociedad, muchas veces no se tiene en cuenta y a los ríos acaban llegando toneladas y toneladas de compuestos químicos que acaban destruyendo los ecosistemas acuáticos. Dentro de estos compuestos encontramos los productos farmacéuticos, los cuales no se consideraron inicialmente como contaminantes ambientales debido al desconocimiento sobre su acumulación y transformación en el medio ambiente y en tejidos animales y vegetales. Es por ello que la concentración de estos productos en el medio ambiente, y concretamente en ecosistemas acuáticos, era indeterminada, y no fue hasta los años 90 cuando se comenzaron a cuantificar en las aguas (Cartagena, 2011).

Los ecosistemas acuáticos se han visto afectados en gran medida por los residuos provenientes de diversos compuestos farmacéuticos, que no sólo afectan a los procesos biológicos que se utilizan en el tratamiento de aguas residuales, sino que también sobrepasan los límites de la potabilización (Tejada *et al*, 2014). Estos residuos suponen un importante riesgo ambiental por su persistencia y distribución en el agua, además, por el amplio uso hospitalario, veterinario, industrial y doméstico produce un aumento de sus descargas (Cartagena, 2011) (*Figura 1*).

Los productos farmacéuticos que llegan al medio acuático acabarán siendo transportados y distribuidos dependiendo de varios factores, como pueden ser sus propiedades físico-químicas, el volumen de descarga y las propias características del sistema acuático receptor. Así, existen numerosos estudios que han documentado la presencia en el medio ambiente de un gran número de compuestos farmacéuticos pertenecientes a distintos tipos farmacéuticos (Peñate *et al*, 2009) (*Figura 2*).

Aunque en distintos estudios se ha documentado la presencia de gran variedad de compuestos farmacéuticos en ecosistemas acuáticos, el presente trabajo de fin de máster va a centrarse en los analgésicos, concretamente, en el ibuprofeno y el paracetamol, debido a que son dos medicamentos muy ampliamente utilizados en todo el mundo.

1.2. Analgésicos

1.2.1. Definición

La palabra “analgésico” proviene etimológicamente el prefijo a-/an- (carencia) y algos (dolor) (Esteva, 2008), por tanto, los analgésicos o antiálgicos son medicamentos que poseen la capacidad de suprimir o aliviar la sensación de dolor (Divins, 2015).

Como se ha explicado en puntos anteriores, en el presente trabajo se abordará el estudio ecotoxicológico de dos analgésicos, el paracetamol y el ibuprofeno, los cuales serán clasificados y descritos en los apartados sucesivos.

1.2.2. Paracetamol

- Propiedades físico-químicas

El paracetamol, acetaminofén o acetaminofeno ($C_8H_9NO_2$) (Figura 3) es uno de los medicamentos más utilizados en todo el mundo, clasificado como antipirético, analgésico no opioide y antiinflamatorio no esteroideo (AINE) (Chiam et al, 2015).

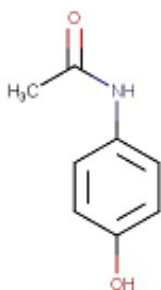


Figura 3. Estructura química del Paracetamol (REACH)

El paracetamol es una sustancia sólida, de color blanco, inodora y cuyo peso molecular es de 151,7 uma. En cuanto a su punto de fusión, este tiene un valor de 169°C y, con relación a su punto de inflamación, hay que destacar que el acetaminofén no es inflamable. Se trata, además, de un compuesto soluble, cuya solubilidad es de 1,4g/100 mL de agua (a 20°C) aunque también se disuelve en etanol, metanol y dimetilformamida. Tiene una constante de disociación (pKa) de 9,5, lo cual indica que es un ácido débil debido a su grupo hidroxilo aromático. En cuanto a su síntesis, ésta tiene lugar mediante la reacción entre p-aminofenol y anhídrido acético que produce la acetilación del p-aminofenol y obteniendo paracetamol y ácido acético. En la siguiente tabla (Tabla 1) se resumen sus propiedades físicas y químicas:

| | |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Forma | Sólido |
| Color | Blanco |
| Olor | Inodora |
| Peso molecular | 151,7 uma |
| Punto de fusión | 169°C |
| Punto de inflamación | No es una sustancia inflamable |
| Solubilidad | A 20°C es de 1,4g/100 mL de agua, pero también es soluble en etanol, metanol y dimetilformamida |
| Constante de disociación, pKa | 9,5 |
| Síntesis | |

Tabla 1. Características físico-químicas del paracetamol. PubChem

- Origen y usos

El paracetamol fue sintetizado por Morse en el año 1878 y utilizado clínicamente como analgésico en 1886 por Von Mering. Más tarde, los estudios realizados por Brodie y Axelrod permitieron el redescubrimiento de este fármaco y fue comercializado en Estados Unidos como reemplazo de la fenacetina, la cual provocaba efectos adversos. Así, el acetaminofén es un medicamento con una historia de más de 129 años de uso prácticamente en todo el mundo. En 1970 llegó a ser el analgésico más popular, de tal forma que la comunidad médica lo recetaba y era autoadministrado por los ciudadanos (Hernández-Cortez, 2016).

Este fármaco, considerado uno de los más utilizados, sirve para tratar la fiebre y el dolor, concretamente cuando éstos tienen una intensidad de baja a moderada, aunque, si se combina con otros principios activos, puede utilizarse para tratar síntomas más severos (Prescott, 2000). De forma general, el paracetamol puede aliviar el dolor de afecciones articulares, cefaleas, dolores odontológicos, neuralgias, etc.

- Mecanismo de acción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el acetaminofén es el primer escalón en el tratamiento del dolor e incluso complementa la analgesia en los demás escalones (Ortiz-Pereda *et al*, 2007). Como se ha explicado anteriormente, el acetaminofén es un medicamento que alivia el dolor y reduce la fiebre. Para producir estos efectos en el organismo, el paracetamol inhibe las prostaglandinas a nivel del sistema nervioso central, es decir, produce antipiresis por la inhibición en la regulación del calor del hipotálamo, de tal forma que se provoca una vasodilatación periférica y un aumento en la disipación del calor corporal (Bertolini *et al*, 2006).

1.2.3. Ibuprofeno

- Propiedades físico-químicas

El ibuprofeno o ácido 2- [4-(2-metilpropil) fenil] propanoico ($C_{13}H_{18}O_2$) (Figura 4) es un medicamento clasificado como antiinflamatorio no esteroideo y analgésico no opiáceo (Barbagallo y Sacerdote, 2019) que posee fuertes propiedades analgésicas (Forniés *et al*, 2007).

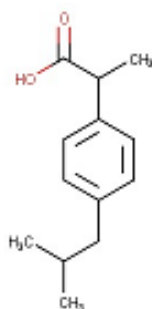


Figura 4. Estructura química del Ibuprofeno (REACH)

El ibuprofeno es una sustancia sólida, de color blanco, de olor característico y cuyo peso molecular es de 206,29 uma. En cuanto a su punto de fusión, este tiene un valor de 75-78°C y, con relación a su punto de inflamación, hay que destacar que, al igual que el paracetamol, el ibuprofeno no es inflamable. Se trata, además, de un compuesto curiosamente insoluble en agua, teniendo, por tanto, un valor de solubilidad inferior a 1 mg/mL de agua. Su constante de disociación (pKa) tiene un valor de 4,91. En cuanto a su síntesis, ésta tiene lugar mediante dos posibles reacciones; la primera es su síntesis original la cual se inicia con la acilación del isobutilbenceno mediante Friedel-Crafts, después la reacción con cloroacetato de etilo dio lugar a α,β -epoxiéster, que es descarboxilado e hidrolizado hacia el aldehído. Finalmente, la reacción con hidroxilamina da lugar a la oxima, que se convierte en nitrilo y se hidroliza. La segunda reacción, una síntesis mejorada por Bausch Health Companies (BHC), consiste en que, tras una acilación similar a la anterior, se realiza la

hidrogenación con níquel Raney dando lugar a alcohol, que por carbonilación y catalización del paladio produce el compuesto. En la siguiente tabla (*Tabla 2*) se resumen sus propiedades físicas y químicas:

| | |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Forma | Sólido |
| Color | Blanco |
| Olor | Característico |
| Peso molecular | 206,29 uma |
| Punto de fusión | 75-78°C |
| Punto de ebullición | 157 °C |
| Punto de inflamación | El producto no es inflamable |
| Solubilidad | Insoluble en agua (< 1mg/mL de agua) y soluble en solventes orgánicos como el etanol o el hexano |
| Constante de disociación, pKa | 4,91 |
| Síntesis | |

Tabla 2. Características físico-químicas del ibuprofeno. PubChem.

- Origen y usos

El origen del ibuprofeno ocurrió hace medio siglo aproximadamente, en un laboratorio de Nottingham (Inglaterra). Fue descubierto en el año 1961 por el Dr. Stewart Adams y colaboradores de la farmacéutica Boots Group cuando hallaron propiedades antiinflamatorias del ibuprofeno. Años más tarde, en 1966, empezaron los primeros ensayos clínicos para que el producto pudiera ser lanzado. Así, comenzó a comercializarse en Reino Unido en 1969 como tratamiento para la artritis reumatoidea, y en el resto del mundo se comercializó a partir de 1974. Como anécdota curiosa, hay que mencionar que el propio Dr. Stewart Adams probó por primera vez el ibuprofeno durante una resaca (Barrios et al, 2019).

El ibuprofeno es uno de los medicamentos que la OMS ha catalogado como esenciales. Se utiliza para el tratamiento de estados dolorosos acompañados de inflamación, como pueden ser de distintas afecciones como la artritis reumatoide, la tendinitis, el alivio de cefaleas, dolor dental, esguinces, alteraciones musculoesqueléticas, etc (Cuesta, 2014).

- Mecanismo de acción

Tal y como se ha mencionado anteriormente, el ibuprofeno es un medicamento antiinflamatorio considerado por la OMS como esencial que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Este fármaco reduce el dolor y, de forma general, mejora la calidad de vida gracias a su eficacia, la cual es debida a la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2, ya que se genera una competencia entre el propio medicamento y los derivados del ácido araquidónico (Cuesta, 2014).

1.3. Cinética medioambiental

Para determinar los efectos de los medicamentos en el medio ambiente es necesario realizar estudios de transporte y distribución de las sustancias, así como de ecotoxicidad aguda, a medio y largo plazo, utilizando distintas especies representativas de los diferentes niveles tróficos tanto de ecosistemas acuáticos como terrestres (Zaira y Ruiz, 2016). Así, el paracetamol y el ibuprofeno, clasificados como analgésicos no opiáceos, presentan una movilidad elevada en suelos pobres en materia orgánica, mientras que en suelos con un elevado contenido de arcilla se favorece la degradación de estos compuestos (Pal *et al*, 2010; Ruiz y Font, 2011; Carter *et al*, 2014; Zaira y Ruiz, 2016). Con relación a su toxicidad, se ha demostrado que existe en distintos niveles tróficos y que ésta es mayor en ecosistemas acuáticos que en terrestres, además, son persistentes a la fotólisis, hidrólisis y biodegradación (Zaira y Ruiz, 2016).

1.4. *Daphnia magna* como organismo modelo en ecotoxicología

Daphnia magna Straus (Cladocera Crustacea) (Figura 5) es un crustáceo de pequeñas dimensiones, transparente, de forma ovalada y con un exoesqueleto que vive en agua dulce (Burga *et al*, 2009). Además, posee seis apéndices torácicos mantenidos en el interior del exoesqueleto y mediante los cuales *D. magna* se alimenta por filtración ya que estos apéndices generan corrientes de agua que llevan alimento y oxígeno a la boca y tórax del organismo (Elenbaas, 2013). Se ha observado que existe dimorfismo sexual ya que las hembras pueden alcanzar hasta 6 mm de longitud y los machos tan solo 2 mm.

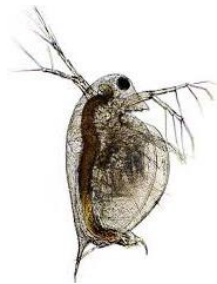


Figura 5. *Daphnia magna* spp.

En cuanto a su crecimiento, este tiene lugar mediante un proceso llamado ecdisis que consiste en la muda periódica del exoesqueleto; y en cuanto a su reproducción, *D. magna* tiene dos fases que se alternan: fase asexual y fase sexual (Figura 6) (Navis *et al*, 2018). De forma general y en condiciones favorables, se reproduce de forma asexual mediante partenogénesis (Castiglioni, *et al* 2010) mientras que si las condiciones son adversas se reproducirán de forma sexual. Cuando se reproducen por partenogénesis, los organismos alcanzan a los 6-8 días y suelen tener de 6 a 10 óvulos partenogénicos (Heckmann, 2007) los cuales se incuban en una bolsa que se encuentra debajo del caparazón y los embriones se desarrollan directamente. Sin embargo, cuando se reproducen sexualmente es porque en condiciones desfavorables se han producido machos cuyos espermatozoides van a fecundar los ovocitos de las hembras para formar un epítopo o quiste de resistencia. Estos huevos son capaces de sobrevivir durante décadas y eclosionarán para convertirse en juveniles cuando las condiciones ambientales sean adecuadas (Campos *et al*, 2018) ya que el retraso de la eclosión es una estrategia de supervivencia para afrontar condiciones desfavorables, siendo, por tanto, crucial para la supervivencia de las poblaciones de *D. magna* (Navis *et al*, 2018).



Figura 6. Reproducción asexual (a) y reproducción sexual (b) de *D. magna* (Zhang *et al*, 2016)

Los invertebrados acuáticos son muy buenos bioindicadores y se utilizan para evaluar la calidad de los ecosistemas acuáticos. Así, *D. magna* es uno de los crustáceos planctónicos más utilizados en los bioensayos de ecotoxicología ya que tiene un ciclo de vida corto, su cultivo es de fácil manejo (Castiglioni *et al*, 2010), tiene una alta sensibilidad al estrés ambiental producido por sustancias químicas o alteraciones en los parámetros del medio en el que habita, produce un alto número de crías, existe una uniformidad genética y supone una alternativa a los bioensayos con mamíferos (Iannacone *et al*, 2012). Además, el hecho de que sea un organismo transparente facilita la visualización de sus estructuras anatómicas internas y de las posibles alteraciones en ellas.

1.5. Metodología estandarizada para la realización de análisis ecotoxicológicos

Para realizar la evaluación toxicológica de sustancias químicas es necesario seguir distintos protocolos estandarizados y, tanto la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), como a nivel europeo, el Reglamento 440/2008 de la Comisión, por el que se establecen metodologías de ensayo según el Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de sustancias y preparados químicos (REACH), indican instrucciones de ensayo en las que se utiliza a *D. magna* como organismo modelo. En la OCDE encontramos las directrices N° 202 “*Daphnia sp*, Prueba de inmovilización aguda” y N° 211 “Prueba de reproducción en *D. magna*” y en el Reglamento 440/2008 encontramos el apartado C.2. Ensayo de Inmovilización aguda de *D. magna* y C.20. Ensayo de Reproducción en *D. magna*. Además, con relación a los ensayos de inmovilización de *D. magna*, la Organización Internacional de Normalización (ISO) establece una serie de normas para la realización de estudios de evaluación de riesgo de sustancias químicas, como UNE-EN ISO 6341:1996: Calidad de agua. Determinación de la inhibición de la movilidad de *D. magna Straus* (Cladocera Crustacea).

2. Justificación del trabajo.

En el entorno globalizado y frenético en el que vivimos hoy en día, y, por tanto, en el que se mueve la ciencia, el concepto de “bibliografía” ha evolucionado desde una idea primitiva de agrupación y selección de un conjunto de textos sobre un tema hacia un término mucho más complejo (Gálvez, 2002). La obtención de bibliografía relevante es fundamental para la investigación de un tema, así, realizar una revisión bibliográfica es una etapa fundamental en todo proyecto de investigación y debe garantizar que la información que se obtiene es la más significativa (Gómez-Luna *et al*, 2014).

Además, suponen una forma de investigación que recopila y proporciona un resumen sobre un tema concreto, estando orientadas a responder a una pregunta concreta (Aguilera, 2014).

2.1. Hipótesis.

Desde que los productos farmacéuticos se comenzaron a cuantificar en las aguas superficiales en los años 90, se empezó a tener conciencia sobre su impacto en los ecosistemas acuáticos y en las comunidades biológicas. No obstante, a día de hoy se detectan concentraciones de distintos medicamentos. Entre ellos, dos de los más utilizados por la sociedad: el paracetamol y el ibuprofeno, han sido objeto de estudios toxicológicos. Estos compuestos generan distintos efectos adversos en organismos acuáticos y es por ello que es necesario tener un mayor conocimiento sobre los efectos tóxicos y el riesgo ambiental, para así diseñar actuaciones futuras efectivas. Así, la revisión de la bibliografía científica publicada sobre la ecotoxicidad del paracetamol y del ibuprofeno, y la experiencia de laboratorio realizada para la observación de la mortalidad del organismo *D. magna* por exposición a paracetamol proporcionará al presente trabajo evidencias científicas para respaldar las afirmaciones comentadas anteriormente.

3. Objetivos

3.1. Objetivos generales.

- Realizar una revisión bibliográfica sistemática sobre los efectos de distintos productos farmacéuticos, concretamente paracetamol e ibuprofeno, en el organismo modelo *D. magna*.
- Identificar la resistencia al paracetamol de la población de *D. magna* establecida en el laboratorio del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de Jaén.

3.2. Objetivos específicos.

- Identificar y analizar los efectos del paracetamol y el ibuprofeno sobre los organismos bioindicadores más utilizados.
- Extraer conclusiones sobre dichos efectos y establecer una comparativa entre ambos fármacos.
- Describir, explicar y analizar la experiencia de laboratorio realizada con paracetamol y *D. magna*.
- En base a la información obtenida y las lagunas de conocimiento detectadas, proponer líneas de investigación futuras.

4. Materiales y métodos

Para la realización del presente trabajo fin de máster se ha realizado una revisión bibliográfica sistemática sobre artículos científicos centrados en ensayos ecotoxicológicos de organismos modelo, especialmente *D. magna*, expuestos a ibuprofeno y paracetamol, y se ha llevado a cabo el mantenimiento de una población de *D. magna* y su exposición a distintas concentraciones de paracetamol.

A continuación, se describen ambos procedimientos, es decir, la forma en la que se ha efectuado la revisión bibliográfica y cómo se ha llevado a cabo la experimentación.

4.1. Procedimiento de revisión sistemática

4.1.1. Metodología

El procedimiento de revisión sistemática que se ha realizado para el presente trabajo fin de máster se basa en las instrucciones que Rafael del Pino y José Ramón Martínez Riera muestran en su manual titulado “Manual para la elaboración y defensa del trabajo de fin de grado en ciencias de la salud” (Pino y Martínez, 2016). A continuación, se muestran y describen los pasos seguidos para la realización de la revisión:

1) Formulación de la pregunta de búsqueda

Una duda o una cuestión puede expresarse de muchas formas, pero para realizar una revisión es muy importante transformarla en una pregunta que defina la necesidad de información (Gálvez, 2002). Por tanto, el primer paso es formular una pregunta de búsqueda concreta para determinar el tipo de información que se pretende conseguir. Dicha pregunta debe de hacer referencia al tema previamente planteado (Pino y Martínez, 2016) y debe de ser lo suficientemente clara para responder a las necesidades del investigador o investigadora, de forma que se permita la retroalimentación de la investigación (Gómez-Luna *et al*, 2014).

Una vez identificado el tema de investigación o laguna que se pretende contestar y formulada la pregunta, se deducirá el título, los objetivos y las palabras clave precisos para realizar la búsqueda y obtener la información deseada (Refoyo y Peláez, 2020).

Así, en este estudio se pretende indagar sobre la toxicidad producida por el paracetamol, el ibuprofeno y la codeína en distintos organismos acuáticos con cualidad bioindicadora, de tal forma, que la pregunta a la que se pretende responder con la presente revisión bibliográfica es la siguiente:

Dado que los compuestos farmacéuticos más detectados en las aguas naturales son paracetamol, ibuprofeno y codeína... ¿Existen efectos demostrados en organismos acuáticos que afirmen su toxicidad para el medio acuático y los seres vivos que lo habitan?

2) Elección de buscadores bibliográficos

El segundo paso es seleccionar el buscador o buscadores bibliográficos que se utilizarán para consultar la información necesaria para la investigación sobre el tema elegido, el cual debe de proporcionar diferentes ideas fundamentadas y de actualidad (Pino y Martínez, 2016).

Para la presente revisión bibliográfica sistemática se utilizó el buscador “Scopus” (Figura 7) que es una base de datos bibliográficos online donde encontramos un gran volumen de artículos científicos de todo el mundo. Así, numerosos autores lo recomiendan, entre ellos Burnham, (2006), quien destaca una serie de ventajas derivadas del uso de dicha base de datos, entre las cuales se encuentran:

- Se trata de un buscador bibliográfico fácil de utilizar.
- Consta de un sistema de búsqueda muy intuitivo.
- Su carácter multidisciplinario permite que el/la investigador/a busque fácilmente fuera de su disciplina.
- Los títulos de acceso abierto se incluyen en el índice.
- Cuenta con vínculos a documentos citados.
- Ofrece información precisa al cliente sobre estadísticas de su uso.
- Funciona igual de bien con Internet Explorer, Google Chrome, Firefox y Netscape.

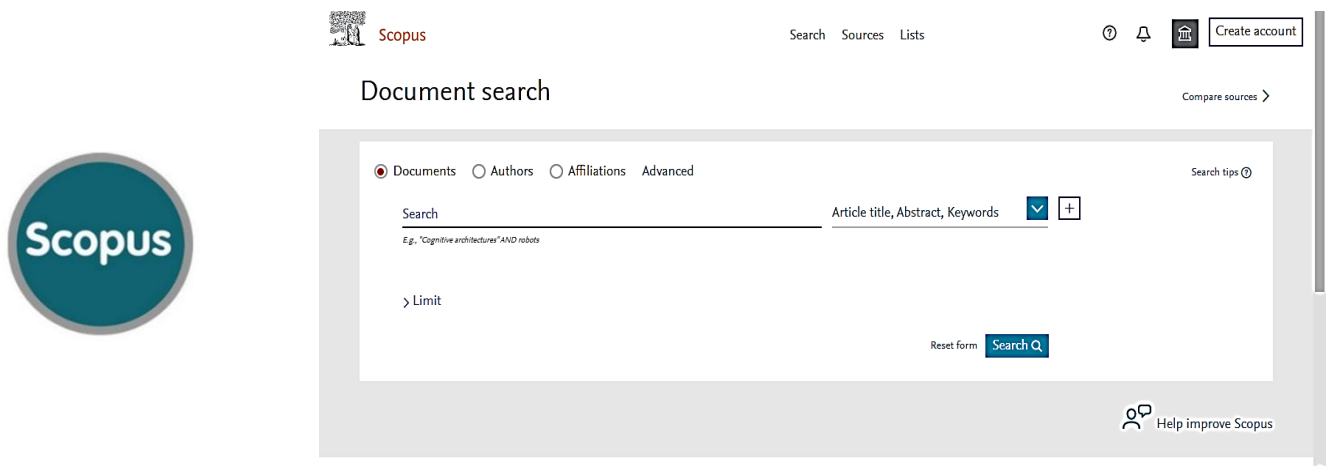


Figura 7. Simbología e interfaz del buscador científico “Scopus”

3) Definición de criterios de búsqueda

El tercer paso es seleccionar criterios de búsqueda adecuados para asegurar que la información elegida es de utilidad para el estudio. Estos criterios se clasifican en inclusión y exclusión de información, y se aplican en el título, el resumen y el texto de los artículos científicos, en ese orden (Pino y Martínez, 2016).

En éste caso, se aceptan todos los artículos científicos que traten sobre la realización de ensayos de toxicidad con compuestos farmacéuticos, siempre que incluyan paracetamol, ibuprofeno y codeína, en distintos organismos acuáticos.

Para ello es fundamental reducir el número de palabras relevantes de la duda obtenidas en el paso uno dedicado a la elaboración de la pregunta de investigación (Gálvez, 2002), así, de dicha cuestión se obtienen las siguientes palabras, mostradas en la tabla (*Tabla 3*), y que serán de gran utilidad para delimitar la cadena de búsqueda.

| Palabras relevantes de la duda | |
|---------------------------------------|----------------------|
| Compuestos farmacéuticos | Codeína |
| Aguas naturales | Efectos |
| Paracetamol | Organismos acuáticos |
| Ibuprofeno | Toxicidad |

Tabla 3. Palabras obtenidas de la cuestión

4) Confección de la cadena de búsqueda

El cuarto paso consiste en la confección de la cadena de búsqueda ideal para conseguir la mayor cantidad de información relevante para el tema de estudio.

La cadena de búsqueda está formada por una serie de términos de búsqueda y operadores lógicos.

Los términos de búsquedas son vocablos similares a las palabras clave de los artículos científicos y son de gran utilidad ya que ajustan el proceso de búsqueda al tema seleccionado, mientras que los operadores lógicos (“and”, “or”, “not” ...) son expresiones que relacionan los términos de búsqueda entre sí. Pueden añadirse, además, distintos símbolos, como pueden ser los asteriscos para abarcar palabras con la misma raíz, comillas para buscar frases literales y paréntesis para establecer órdenes de prioridad en las búsquedas (Pino y Martínez, 2016).

Previamente seleccionamos las palabras relevantes o términos de búsqueda para la pregunta que queremos contestar para elaborar de forma eficaz la cadena de búsqueda.

Por consiguiente, tras analizar las palabras obtenidas se elabora una lista más precisa y funcional (*Tabla 4*) que nos ayudará a elaborar dicha cadena (Gálvez, 2002).

| Selección de términos significativos | |
|--------------------------------------|-------------|
| Medicamentos | Paracetamol |
| Efectos | Ibuprofeno |
| <i>Daphnia</i> | Codeína |

Tabla 4. Términos centrales de la revisión

Dado que para la presente búsqueda es necesario que los artículos contengan las palabras medicamentos, efectos y *Daphnia*, entre dichas palabras se añadirá el operador lógico “AND”, y como es deseable que lo mismos traten, al menos, uno de los compuestos farmacéuticos (paracetamol, ibuprofeno o codeína), entre éstos se añadirá el operador lógico “OR”.

En este caso, la estructura seleccionada para la elaboración de la cadena de búsqueda queda de la siguiente forma:

[“Drugs” AND “Daphnia” AND “effects” AND “acetaminophen” OR “ibuprofen” OR “codeine”]

5) Creación de filtros

El quinto paso es la creación de filtros adicionales para, de una forma más precisa y exacta, delimitar y acotar la información obtenida. Estos filtros pueden estar relacionados con la selección del idioma, la fecha de publicación de los artículos o incluso su disponibilidad (Pino y Martínez, 2016).

Así, los límites adicionales que se aplicaron estuvieron relacionados, efectivamente, con la selección del idioma, con la temática de las revistas científicas, con la tipología de las publicaciones, con la fecha de publicación de los artículos, etc.

6) Lectura crítica

La lectura crítica es la inclinación de una persona a tratar de llegar al sentido más profundo de un texto, a los fundamentos y razonamientos, para considerar explicaciones alternativas (de Moreno y de Forero, 2007). Así, una vez obtenidos los artículos es fundamental realizar una lectura crítica de estos, ya que, dicha lectura es el corazón de la propia revisión.

Ésta lectura, si es rigurosa, permite conocer el valor añadido de las investigaciones de los artículos y, por tanto, permite comprender y extraer mejor la información precisa para la revisión. Es por ello que deberá realizarse una lectura adecuada y detallada de los artículos para valorar la magnitud de los resultados y extraer de forma correcta la información (Aguilera, 2017).

7) Selección de artículos y extracción de datos

La selección de los artículos se realizará según los criterios de inclusión mencionados anteriormente y establecidos en la búsqueda, y según la lectura realizada de éstos.

Cuando se inicia un proceso de búsqueda de bibliografía no se sabe exactamente qué material será el más pertinente, pero, a medida que se avanza, la perspectiva mejora y se empiezan a definir los artículos realmente interesantes (Gómez-Luna *et al*, 2014).

Una vez seleccionados los artículos importantes para la investigación es fundamental organizar la información extraída. Así, una forma de hacerlo es mediante el uso de tablas de datos, con el fin de tener una estructura organizativa de éstos y realizar una presentación concisa de los mismos (Gómez-Luna *et al*, 2014).

Por consiguiente, los datos obtenidos en la revisión bibliográfica realizada para este trabajo fin de máster se ha reflejado en una tabla mostrada en el apartado de resultados.

4.1.2. Tratamiento gráfico de los datos

Se han realizado distintos gráficos utilizando el programa Excel para representar de forma visual los años de publicación de los artículos, la revista científica de la cual proceden, los países participantes en las investigaciones, los análisis de paracetamol, ibuprofeno y codeína, y los distintos organismos modelo empleados.

4.2. Experimentos de exposición en laboratorio

4.2.1. Lugar de realización del estudio y organismos vivos utilizados

Para la realización de la parte experimental del trabajo fin de máster se utilizaron organismos vivos, en concreto una población de *D. magna*, ya que se trata de una especie con carácter bioindicador.

Los organismos utilizados durante el ensayo y para los cuales se realizó un mantenimiento previo, se obtuvieron de la Laguna Grande (Baeza, Jaén) debido a que los humedales mediterráneos y, por tanto, dicha laguna, son considerados los ecosistemas que más zooplancton albergan, encontrándose, entre otros, *D. magna* (Gilbert *et al*, 2015).

Tanto el mantenimiento de la población de *D. magna* como el desarrollo del ensayo de toxicidad aguda, explicado a continuación, se han realizado en el laboratorio de Biología Animal, Vegetal y Ecología del Edificio A2 de la Universidad de Jaén.

En cuanto a su cuidado, la población se mantuvo en un acuario y se llenó con dos litros de agua. En la siguiente tabla (*Tabla 5*) se muestran los parámetros que se tuvieron en cuenta en el mantenimiento:

| | |
|--------------|--------------------------------|
| Temperatura | 20± 2°C |
| Alimentación | <i>Scenedesmus obliquus</i> |
| Fotoperiodo | 16 horas luz:8 horas oscuridad |

Tabla 5. Condiciones de mantenimiento de *Daphnia magna*

Siguiendo las recomendaciones de cultivo de Díaz-Baéz *et al* (2004), se suplementó la población con una solución de vitaminas y selenio (Tabla 6):

| | |
|----------------------------------------------------------|------------|
| Solución de biotina | 0,0075 g/L |
| Solución de vitamina B12 | 0,010 g/L |
| Solución de Tiamina | 0,075 g/L |
| Selenito de sodio (Na₂SeO₄) | 0,010 g/L |

Tabla 6. Vitaminas

Las soluciones preparadas pueden conservarse hasta seis meses y deben de mantenerse refrigeradas a una temperatura de 4±2°C. Para un volumen de veinte litros de medio, deben añadirse los siguientes volúmenes de cada solución preparada:

- Solución de biotina: 2 mL.
- Solución de vitamina B12: 4 mL.
- Solución de tiamina: 20 mL.
- Selenito de sodio (Na₂SeO₄): 4 mL.

Dado que la colonia de *D. magna* se mantuvo en un volumen de dos litros, se añadieron los siguientes volúmenes de vitaminas y selenito:

- Solución de biotina: 0,2 mL.
- Solución de vitamina B12: 0,4 mL.
- Solución de tiamina: 2 mL.
- Selenito de sodio (Na₂SeO₄): 0,4 mL.

4.2.2. Ensayo de toxicidad aguda

La evaluación de la toxicidad aguda del paracetamol a dosis crecientes sobre neonatos de *D. magna* se realizó conforme a la directriz de la OCDE protocolo número 202 (OCDE, 2004). El objetivo del presente estudio es observar y evaluar la mortalidad en neonatos de *D. magna* expuestos durante 24 horas a concentraciones crecientes de paracetamol. La directriz previamente mencionada establece que los datos de mortalidad deberán tomarse en base a la siguiente definición: inmovilidad de un organismo tras una leve agitación del vaso de precipitado de 15 segundos.

Así, se realizaron dos ensayos en los cuales se utilizaron las siguientes concentraciones (*Tabla 7*):

| | | |
|----------------------------------------------------|---------|-----|
| Estudio 1 (24/02/2020-25/02/2020) | Control | 0 |
| | C1 | 0,8 |
| | C2 | 640 |
| Estudio 2 (2/03/2020-3/03/2020) | Control | 0 |
| | C1 | 80 |
| | C2 | 160 |
| | C3 | 320 |

Tabla 7. Concentraciones utilizadas en el estudio 1 y 2 ($\mu\text{g/L}$)

El paracetamol ($\text{CH}_3\text{CONHC}_6\text{H}_4\text{OH}$) utilizado durante el ensayo de toxicidad aguda fue adquirido en MERCK (CAS Number 103-90-2). Para la realización del ensayo, se utilizaron 12 vasos de precipitado en el caso del primer estudio, y 16 en el caso del segundo, de 40 mL colocando 4 vasos por concentración, incluyendo el control, y un total de 5 neonatos en cada vaso (*Figuras 8 y 9*). En cuanto a la alimentación, hay que destacar que en los ensayos de toxicidad aguda no se proporciona alimento a los organismos sujetos a experimentación.

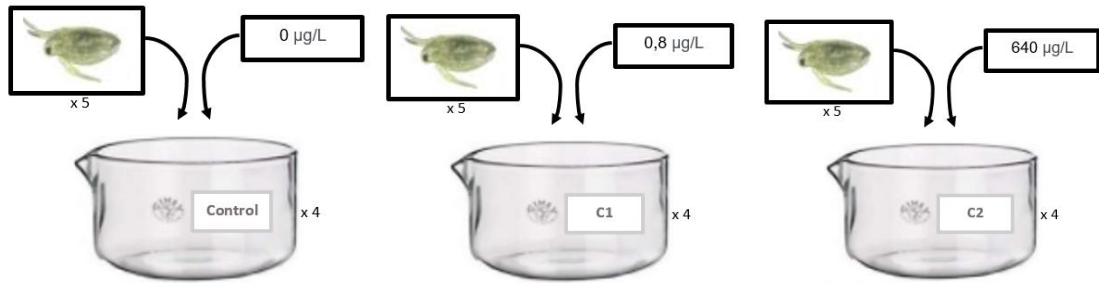


Figura 8. Estudio 1 de mortalidad.

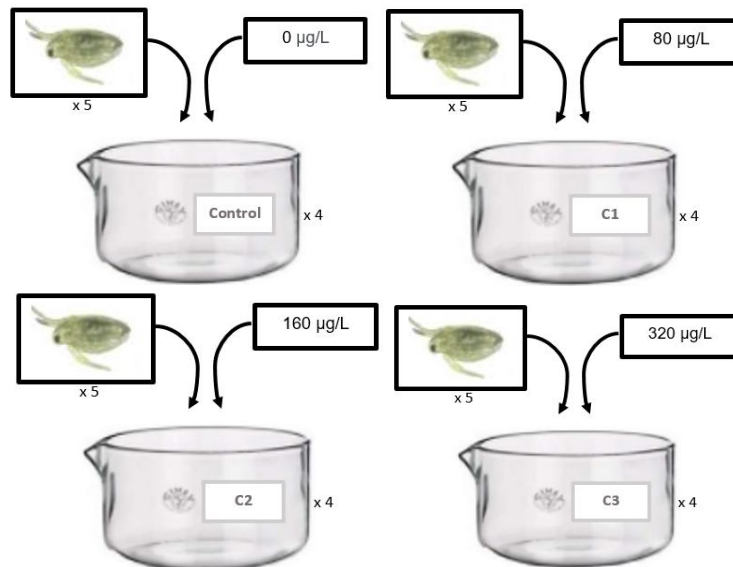


Figura 9. Estudio 2 de mortalidad.

Hay que destacar que los ensayos de exposición fueron realizados bajo las mismas condiciones de laboratorio que las del mantenimiento de la colonia de *D. magna*.

4.2.3. Tratamiento estadístico de los datos

Para el tratamiento de los datos obtenidos, en este caso relacionados con la mortalidad, se utilizó el programa SPSS. Se realizó un estadístico de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y ambos estudios cumplen el supuesto de normalidad, por lo que, a continuación, se realizó un ANOVA para el análisis de comparación de medias. Además, mediante el programa Excel se realizaron distintas gráficas para representar visualmente la mortalidad ocurrida durante los ensayos frente las concentraciones utilizadas.

5. Resultados

5.1. Resultados de la revisión bibliográfica

Es muy importante documentar el proceso de búsqueda realizado para encontrar un número significativo de investigaciones científicas relativas al tema a tratar con la intención de mostrar un resumen de dicho proceso. Así, los pasos seguidos en la elaboración de la búsqueda diseñada y empleada en el presente trabajo fin de máster son los siguientes (*Figura 10*):

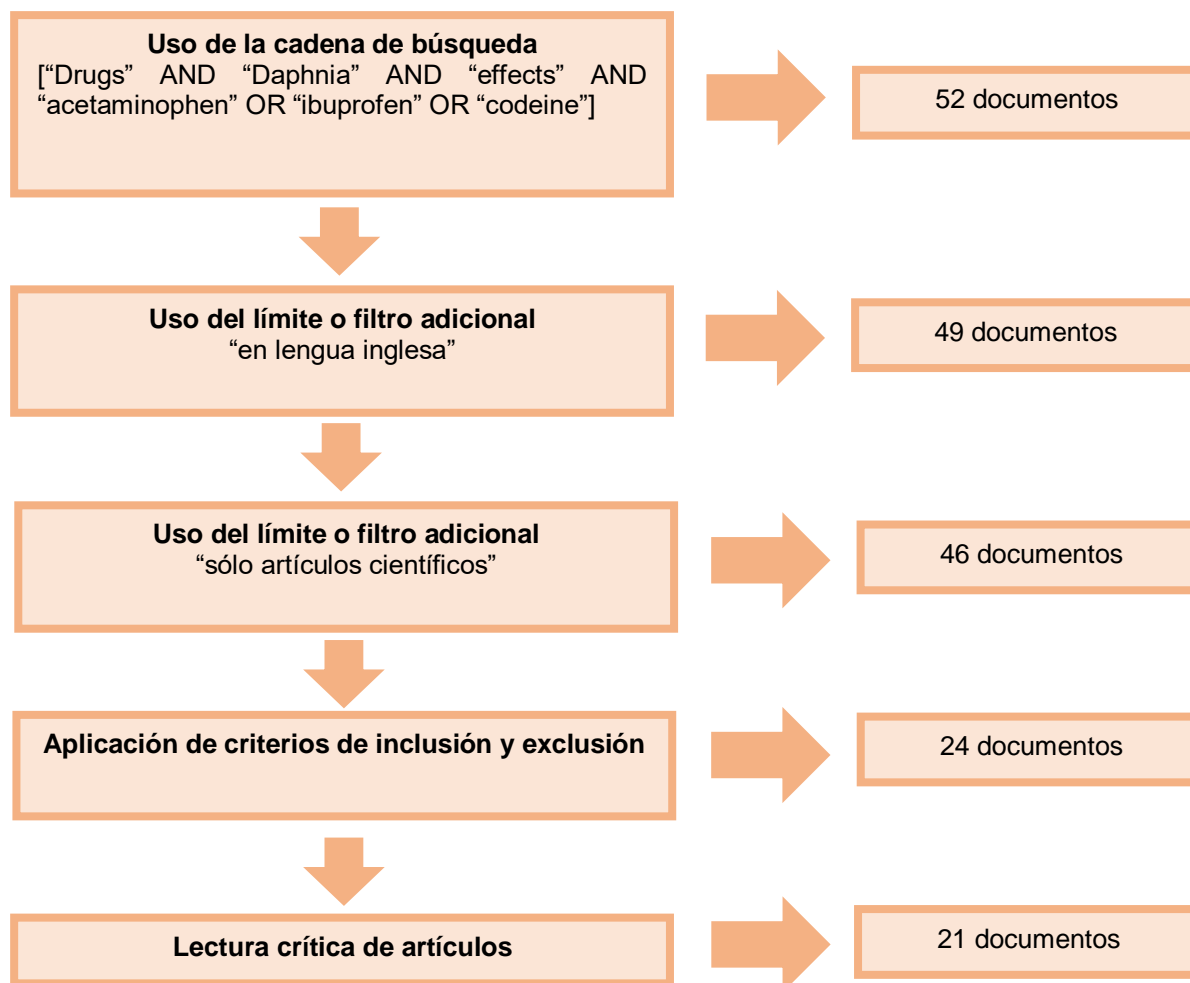


Figura 10. Proceso de búsqueda.

En definitiva, veintiuno son los artículos científicos examinados para resolver la hipótesis planteada en la presente investigación. De los artículos analizados, a continuación, se muestra la proporción de: los países participantes en dichos artículos (*Gráfico 1*), la fecha de publicación de los mismos (*Gráfico 2*), la revista a la que pertenecen (*Gráfico 3*), el compuesto farmacéutico utilizado (*Gráfico 4*) y el organismo utilizado como bioindicador (*Gráfico 5*).

Así, respecto a los países participantes en los artículos científicos seleccionados, tal y como puede observarse en el *gráfico 1*, son mayoritariamente Corea del Sur, China y Portugal, mientras que Alemania, México y Hong Kong son los minoritarios.

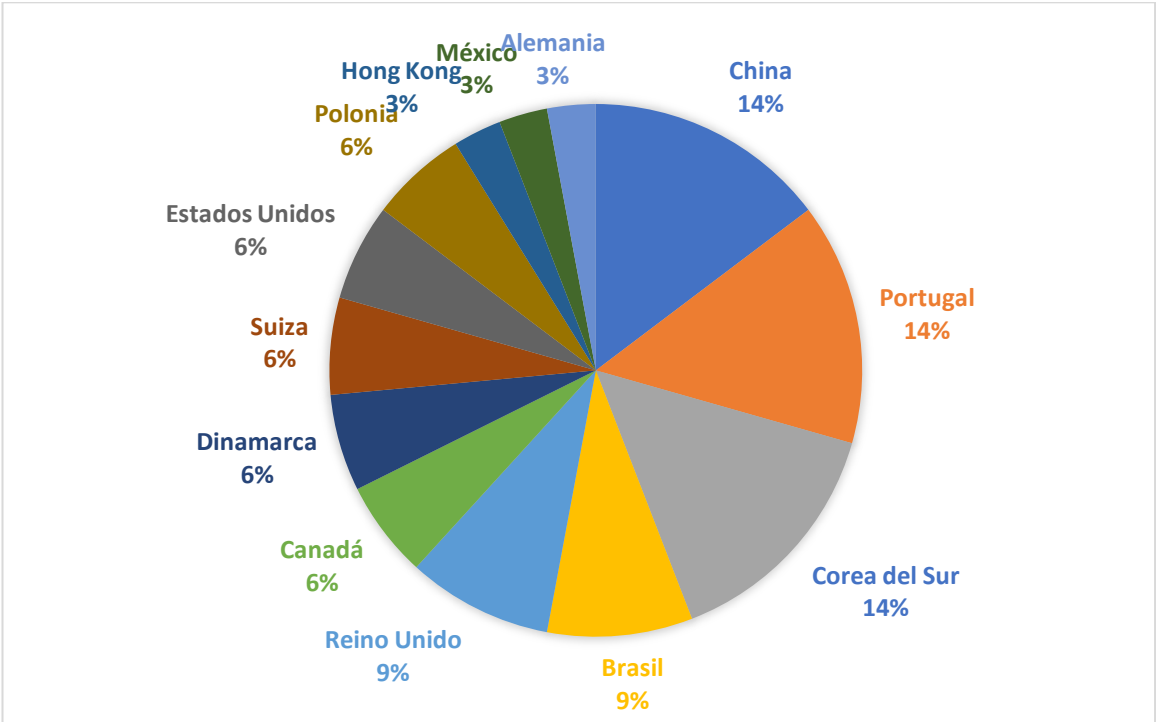


Gráfico 1. Proporción de la participación de los países en los artículos científicos

Con relación a la fecha de publicación, en el *gráfico 2*, se puede observar que los artículos escogidos van desde 2007 hasta 2020. Además, la mayoría de los artículos fueron publicados en 2016, seguido por 2018, después 2007, 2008, 2019 y 2020, y, finalmente, 2010, 2012 y 2015.

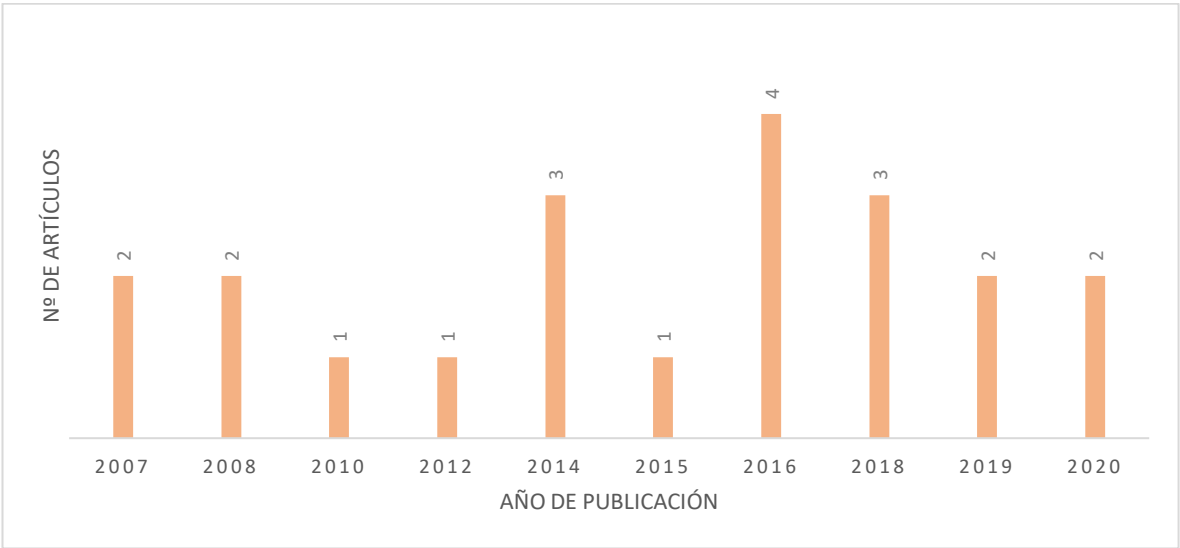


Gráfico 2. Año de publicación de los artículos científicos

En cuanto a la revista donde se publicaron los artículos, tal y como puede observarse en el gráfico 3, la mayoría de éstos fueron publicados en *Aquatic toxicology* y *Ecotoxicology and environment safety*. En segunda posición quedaron las revistas *Ecotoxicology*, *Drug and chemical toxicology* y *Comparative biochemistry and physiology*. Y, finalmente, las revistas menos frecuentes en el presente estudio fueron: *Toxicology letters*, *Environmental international*, *Genome biology*, *Chemosphere*, *Mundo da Saúde*, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *Archives of environmental contamination and toxicology*, *Environmental science and pollution research* y *Environmental pollution*. Por tanto, puede observarse que existe una gran variabilidad en cuanto a la revista de procedencia de los artículos científicos de la presente revisión bibliográfica.

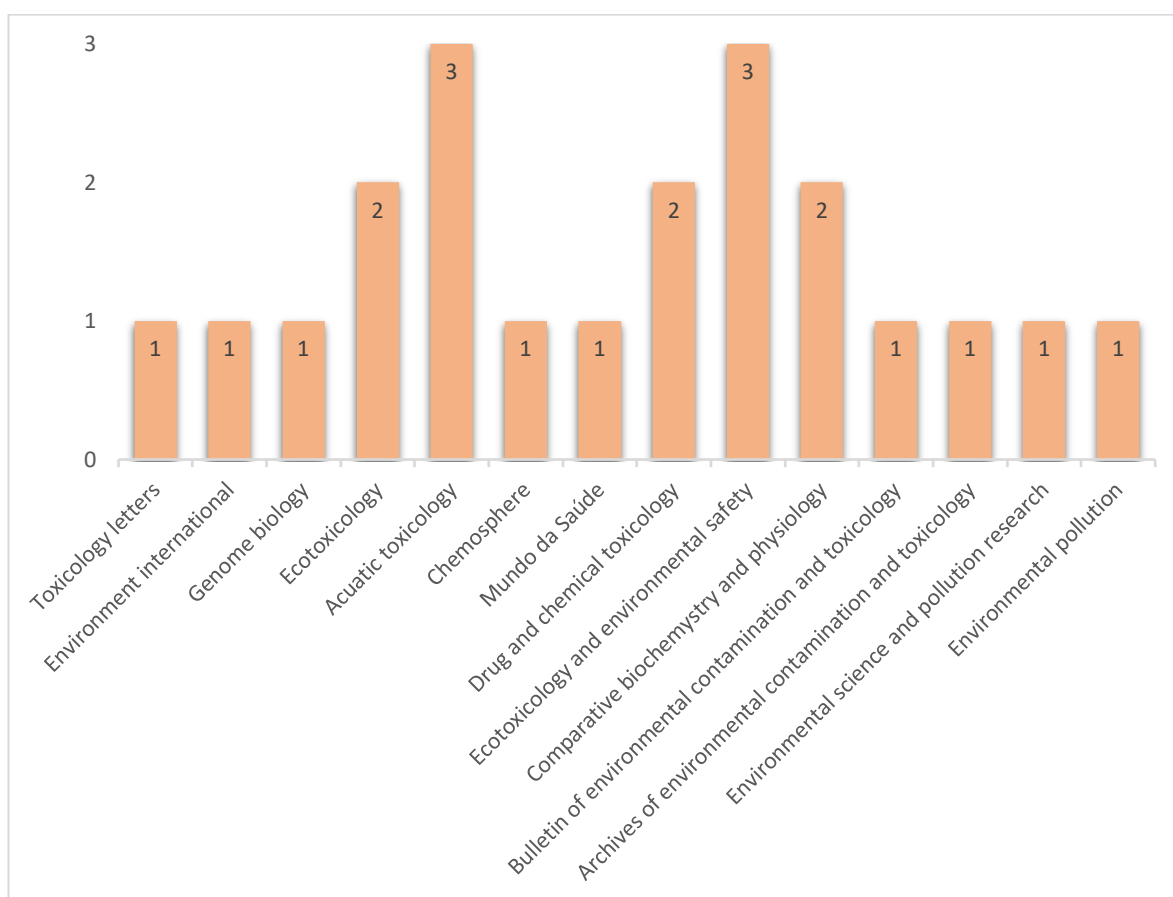


Gráfico 3. Revistas

Como se ha mencionado en puntos anteriores, la revisión bibliográfica realizada se basó en la búsqueda de estudios de toxicidad con paracetamol, ibuprofeno y codeína en distintos organismos bioindicadores. Así, de todos los artículos seleccionados, el 50% analizaban paracetamol y el 50% ibuprofeno (*gráfico 4*). Es muy importante destacar que ninguno de ellos analizaba la toxicidad de la codeína.

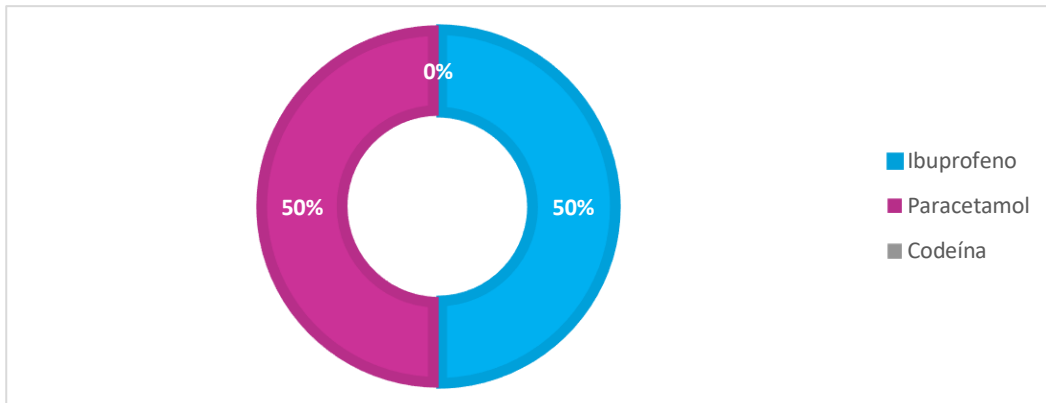


Gráfico 4. Proporción de estudio de ibuprofeno, paracetamol y codeína

Finalmente, hay que destacar que en los estudios analizados en este trabajo se ha utilizado una gran variedad de organismos (*gráfico 5*). Así, y debido a que fue una condición implantada en la cadena de búsqueda, en todos los artículos se han realizado ensayos de toxicidad con *D. magna*. A continuación, el organismo más utilizado fue *Oryzias latipes*, seguido de *Moina macrocopa*. Los organismos que menos se utilizaron fueron *Nannochloropsis limnetica*, *Aphyolebias obliquus*, *Lemna minor*, *Lemna gibba*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Daphnia longispina*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia similis*, Células *H295R* y *Vibrio fischeri*.

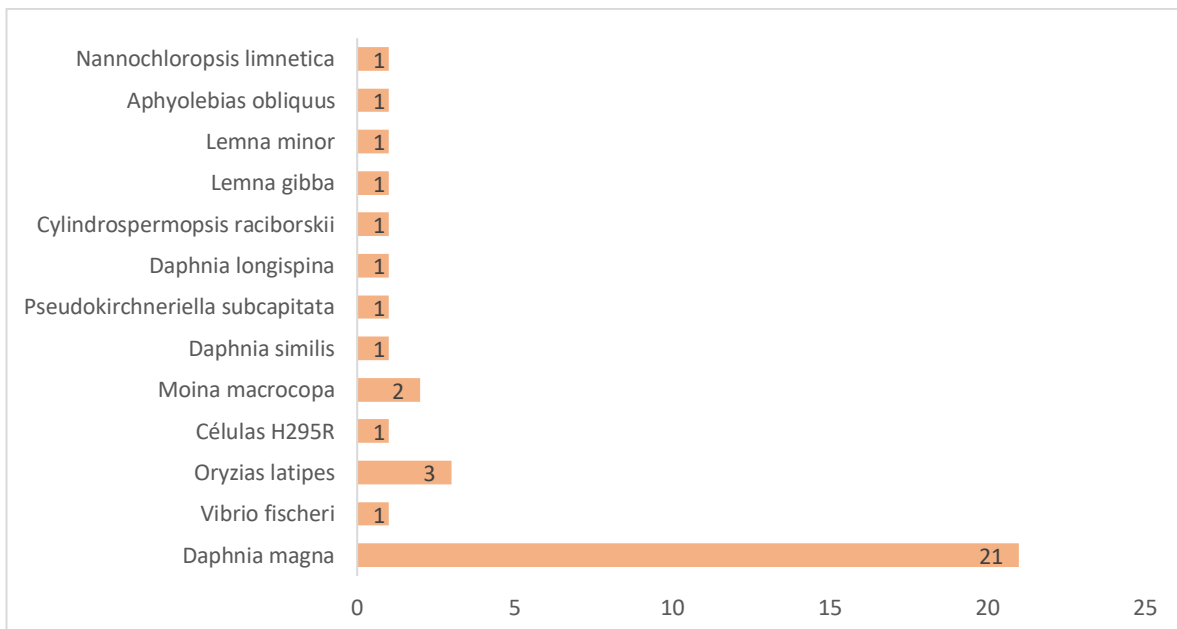


Gráfico 5. Proporción de organismos utilizados en los estudios

A continuación, se muestra, de forma resumida, la información más importante obtenida de los artículos científicos analizados mediante la técnica de síntesis narrativa (Pino y Martínez, 2016):

| | Compuesto farmacéutico | Organismos | Tipo de ensayo y duración de exposición | Concentraciones | Resultados | Conclusiones |
|----------------------------|------------------------|-----------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Heckman, L.H. et al (2007) | Ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 horas | <i>En base a estudios preliminares</i> 20, 40 y 80 mg/L | Aumento significativo del crecimiento somático con aumento de las concentraciones a partir del día 8. | Probablemente las consecuencias poblacionales de organismos acuáticos a una exposición crónica de ibuprofeno a concentraciones ambientalmente realistas (ng/L y µg/L) serían de menor importancia. |
| | | | Test crónico de 14 días | | Aumento del crecimiento somático de 22,29% al final del ensayo. | |
| | | | | | Retraso significativo en la primera reproducción a 40 mg/L. | Las concentraciones de ibuprofeno probadas tenían poco efecto sobre la supervivencia, con excepción de 80 mg/L. Esto demuestra una baja toxicidad del ibuprofeno. |
| | | | | | Retraso significativo en la reproducción total a 80 mg/L. | |
| | | | | | Sin efectos en la supervivencia a 20 y 40 mg/L. | Los resultados de crecimiento somático, supervivencia y reproducción apoyan el principio de asignación, donde la cantidad de energía que un individuo puede invertir es limitada y dependiente de la entrada de energía. |
| | | | | | Mortalidad significativa a 80 mg/L. | |
| | | | | | Crecimiento poblacional superior a 1 a 20 y 40 mg/L. | |
| | | | | | Crecimiento poblacional inferior a 1 a 80 mg/L. | |

| | | | | | | |
|-----------------------------|-------------|------------------------|------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kim, Y., et al (2007) | Paracetamol | <i>Vibrio fischeri</i> | Test agudo de 5 y 15 minutos | No mostrado | EC50 5 min= 549,7 mg/L EC50 15 min= 567,5 mg/L | El cociente de peligrosidad calculado es de 1,8. Esto indica que el paracetamol supone un riesgo potencial ecológico y que precisa de investigación. La evaluación ecotoxicológica de niveles de relevancia ambiental de productos farmacéuticos para su exposición a largo plazo son necesarios para caracterizar de una forma más realista el significado ecológico de la contaminación de estos compuestos en el medio ambiente. |
| | | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 y 96 horas | No mostrado | EC50 48 h=30,1 mg/L EC50 96 h=26,6 mg/L | |
| | | <i>Oryzias latipes</i> | Test agudo de 48 y 96 horas | No mostrado | EC50 48 h > 160 mg/L EC50 96 h > 160 mg/L | |
| Heckman, L.H., et al (2008) | Ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test agudo de 24 y 48 horas | 20, 40 y 80 mg/L | Expresión significativa de forma diferencial de 272 ADNc tras 24 horas. Relación lineal positiva significativa entre los genes regulados negativamente y aumento de concentración de ibuprofeno, con un 36, 39 y 47% de los genes suprimidos a 20, 40 y 80 mg/L, respectivamente. Expresión de CTP sin cambios. Expresión temporal de COX no fue significativa, pero hubo una regulación positiva significativa tras 24 horas. ChE sólo significativamente inducida tras 2 horas. | Se observa una reducción en la expresión génica conforme aumentaba el estrés con el aumento de la concentración de ibuprofeno. La expresión génica se ve reducida ya que se suprimen los procesos esenciales para ahorrar energía. Se encuentra un fuerte vínculo entre transcriptómica y respuestas del estrés fenotípico. La combinación de respuestas al estrés molecular es una guía para consecuencias crónicas del estrés ambiental ocasionado por la exposición al paracetamol. |
| | | | Test crónico de 14 días | | | |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | | | | | <p>No hubo pruebas sólidas de que el ibuprofeno afecte a la muda.</p> <p>Niveles elevados de JHE e inducción tardía de RXR, lo que sugiere que los niveles de JH aumentan con la exposición.</p> <p>A las 96 horas JHA suprime la expresión de DmagVTG1.</p> <p>48 horas fue una exposición demasiado corta para mostrar una supresión de DmagVTG1, pero mostró una tendencia no significativa hacia la supresión.</p> <p>VMO1 era suprimido a 80 mg/L tras 24 horas, pero fue regulado de 24 horas en adelante.</p> <p>Los lípidos del metabolismo se vieron afectados inicialmente (Lip y Ltb4dh) con efectos sobre metahidratos.</p> <p>La exposición a más de 20 mg/L redujo la fecundidad, pero no retrasó la liberación de crías ni afecto a la muda.</p> | |
|--|--|--|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

| | | | | | | |
|----------------------------------|------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | Las crías liberadas después de la exposición a 80 mg/L eran poco viables y consistieron en embriones subdesarrollados. | |
| Hayashi, Y., et al (2008) | Ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test crónico de 10 días con un periodo de recuperación de 10 días. | 20, 40 y 80 mg/L | <p>20 y 40 mg/L: menor producción de crías y crecimiento poblacional > 1.</p> <p>80 mg/L: sin producción de crías y crecimiento poblacional <1.</p> <p>Al final del periodo de recuperación el número total de descendientes producidos a 20 mg/L no fue significativamente diferente de los controles.</p> <p>La reproducción total a 40 y 80 mg/L no fue recuperada tras 10 días de recuperación.</p> <p>No hubo diferencia significativa en cuanto al tamaño de las crías, excepto a partir del día 17-20 a 80 mg/L, donde el tamaño fue significativamente menor,</p> <p>Tras el periodo de recuperación, el crecimiento poblacional fue superior a 1 en todas las concentraciones.</p> | <p>Existe una relación negativa entre la concentración y la producción de crías; además, la edad de la primera reproducción se retrasó en todas las concentraciones.</p> <p>El efecto de la exposición observado en la reproducción fue reversible y recuperable tras 10 días de exposición crónica.</p> <p>Probablemente las daphnias aumentaran su fecundidad para compensar la reducción en la reproducción durante el periodo de estrés causado por la exposición a ibuprofeno.</p> <p>El aumento de la fecundidad puede deberse a que el ibuprofeno impidió su reproducción, en su lugar, la energía para ello fue destinada a un aumento somático (Principio de asignación).</p> |

| | | | | | | |
|-------------------------------------|------------|------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hans, S., <i>et al</i> (2010) | Ibuprofeno | Células H295R | Test agudo de 48 horas | 0,2; 2; 20 mg/L | <p>La producción de E2 fue significativamente mayor a 2 mg/L, y aumentó de forma proporcional hasta 20 mg/L.</p> <p>La actividad de la aromatasa fue significativamente mayor a 0,2 y 2 mg/L, pero, en el ensayo directo de aromatasa, su actividad no cambió.</p> | <p>Se observó un aumento significativo de la producción de E2 en células H295R dependiente de la dosis.</p> <p>El ibuprofeno afectó a la actividad catalítica de una forma indirecta.</p> |
| | | <i>Oryzias latipes</i> | Test crónico de 12 días | 0,01; 0,1; 1; 10; 100; y 1000 µg/L | <p>La supervivencia a 1 µg/L fue significativamente menor que el control.</p> <p>El peso y el tamaño no se vio afectado a ninguna concentración.</p> <p>La vitelogenina de los peces macho fue mayor a la concentración de 1000 µg/L.</p> <p>HSI y GSI no se vieron afectados, excepto a las hembras expuestas a 0,1 µg/L, pero no hubo una relación dosis-respuesta.</p> <p>No se observaron lesiones en el hígado o en las gónadas y la producción de huevos por nidada</p> | <p>Los efectos del ibuprofeno aumentan conforme aumenta el tiempo de exposición.</p> <p>La mortalidad de los peces aumentó de forma dependiente a medida que estos maduran.</p> <p>Aunque se vio afectada la supervivencia de peces adultos, la de juveniles y alevines, no.</p> <p>Los efectos observados en la reproducción pueden explicarse por el efecto del ibuprofeno en la homeostasis del estrógeno.</p> |

| | | | | | |
|--|-----------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | fue significativamente mayor en las concentraciones de 10 y 100 µg/L. | |
| | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 h | <i>No mostrado</i> | Test agudo dio como resultado un valor de EC50 de 51,4 mg/L. | Una mayor exposición a ibuprofeno causó mayores efectos. |
| | | Test crónico de 21 días | 1,23; 3,7; 11,1; 33,3; 100 mg/L | <p>Se observaron efectos en la supervivencia y reproducción. A 100 mg/L no hubo supervivientes ni descendencia.</p> <p>Diferencias significativas en el primer día de reproducción a las concentraciones de 11,1 y 33,3 mg/L.</p> <p>Existen diferencias significativas en la media del número de jóvenes por</p> | La sensibilidad de <i>D. magna</i> fue muy buena en comparación con la de <i>Moina macrocopa</i> ya que mostró ser más tolerante ante la exposición crónica a ibuprofeno. |

| | | | | | | |
|------------------------------|-------------|------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | daphnias en las concentraciones de 3,7; 11,1; 33,3 y 100 mg/L. | |
| | | | | | Crecimiento poblacional en todas las concentraciones inferior a 1. | |
| | | <i>Moina macrocopa</i> | Test agudo de 48 h | <i>No mostrado</i> | Test agudo dio como resultado un valor de EC50 de 72,6 mg/L. | |
| | | | Test crónico de 7-8 días | 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50 mg/L. | Se observa una reducción en la supervivencia, la cual no es dependiente de la dosis. No se observan diferencias significativas en el día de la primera reproducción. Se observa una diferencia significativa en la media del número de jóvenes por daphnia a 50 mg/L. El crecimiento poblacional en todas las concentraciones es cercano a 1. | |
| Kim, P., et al (2012) | Paracetamol | <i>Oryzias latipes</i> | Test crónico de 90 días. | 0,000095; 0,00095; 0,0095; 0,095; 0,95: 9,5 y 95 mg/L | Los huevos y las larvas de <i>O. latipes</i> no se ven afectados ni a la concentración más alta probada (95 mg/L) pero la supervivencia de los juveniles sí que se vio significativamente reducida a esa concentración. | Las concentraciones de paracetamol que afectan a la supervivencia, reproducción y crecimiento de estos organismos es mucho mayor que los niveles reportados en ecosistemas acuáticos. |

| | | | | | |
|------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | <p>El crecimiento de los peces no se vio afectado a la concentración de 9,5 mg/L pero la reproducción sí.</p> <p>El peso de las gónadas y del hígado no se vieron afectados.</p> <p>La vitelogenina hepática aumenta conforme aumenta la concentración de paracetamol, con excepción de las concentraciones mayores en los peces macho.</p> | <p>Es fundamental realizar más estudios de la toxicidad de este compuesto debido a su amplio uso como compuesto farmacéutico y sus cargas para el medio ambiente. Sin embargo, dado que las concentraciones ambientales son menores, los riesgos ecotoxicológicos del paracetamol pueden no ser tan elevados como se muestran.</p> |
| <i>Daphnia magna</i> | Test agudo de 24 y 48 horas | <i>No mostrado</i> | EC50 24 horas=53,87 mg/L EC50 48 horas=11,85 mg/L | | |
| | Test crónico de 21 días | 0,64; 1,91; 5,72; 17,17 y 51,50 mg/L | Se observaron efectos significativos en la supervivencia a 17,17 y 50,50 mg/L. | | |
| <i>Moina macrocopa</i> | Test agudo de 24 y 48 horas | <i>No mostrado</i> | EC50 24 horas=109,5 mg/L EC50 48 horas= 56,34 mg/L | | |
| | Test crónico de 7 días | 0,32; 0,95; 2,86; 8,58 y 25,75 mg/L | <p>Se observa una reducción significativa de la supervivencia a 25,75 mg/L.</p> <p>El número de neonatos por nidada se ve muy adversamente influenciado ya a 0,95 mg/L.</p> <p>A la concentración de 25,75 mg/L no hay reproducción.</p> <p>Se observan diferencias estadísticamente significativas en el número jóvenes por cría a las</p> | | |

| | | | | | | |
|-----------------------------------------|------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | concentraciones de 0,95; 2,86 y 8,58 mg/L. | |
| Castro F.J., et al (2014) | ibuprofeno | <i>Daphnia similis</i> | Test agudo de 48 horas | 50, 80 128, 205, 328 y 500 mg/L | EC50 48 horas= 97 mg/L. La supervivencia se vio afectada. | El test agudo de toxicidad realizados muestra un incremento en la sensibilidad hacia el ibuprofeno. Los resultados obtenidos con <i>Daphnia similis</i> muestran valores de EC50 superiores a los encontrados en otros estudios. El desarrollo de más estudios es necesario para evaluar el potencial tóxico del ibuprofeno y sus metabolitos para identificar concentraciones ambientalmente seguras y desarrollar nueva legislación. |
| Gómez-Oliván, L.M., et al (2014) | ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 horas para determinar LC50. | 20,4; 25,7; 32,4; 40,7 y 51,3 mg/L. | El valor de LC50 tras 48 horas fue de 24,9 mg/L. | A partir del nivel de LC50 obtenido se determina que el ibuprofeno es peligroso para <i>D. magna</i> . |
| | | | Exposición aguda de 48 horas a la concentración más baja con efecto adverso observado (LOAEL). | 2,9 mg/L. | Tanto la peroxidación lipídica, como la proteína carbonilo y la actividad de SOC, CAT y GPX, aumentan significativamente con la exposición. | El ibuprofeno fue responsable de las alteraciones observadas en los biomarcadores bioquímicos evaluados y daño en el ADN. |

| | | | | | | |
|-------------------------|-------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | | |
| Nunes, B., et al (2014) | Paracetamol | <i>P. subcapitata</i> | Test agudo durante 72 horas. | Desde 87,8 hasta 1000 mg/L, utilizando una serie geométrica con un factor de dilución de 1,5 | EC50 72 horas= 317,4 mg/L. | <p>El paracetamol fue más tóxico para las especies de crustáceos que para los organismos primarios, mientras que para las bacterias se obtuvieron valores intermedios.</p> <p>El paracetamol fue tóxico para todos los organismos de prueba excepto para <i>Lemna gibba</i>.</p> <p>Se trata de un resultado interesante ya que implica que el grupo más vulnerable es el de los consumidores primarios.</p> <p>También destacan que los niveles de paracetamol requeridos para provocar efectos superan los valores documentados en el compartimento acuático, lo cual es muy importante.</p> <p>Es difícil determinar la toxicidad del paracetamol porque ésta también difiere entre organismos con cierta similitud filogenética.</p> |
| | | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 horas | Concentraciones entre 4,8 y 9 mg/L (8 concentraciones con un factor de dilución de 1,12). | EC50 48 horas= 4,7 mg/L. | |
| | | | Test crónico de 21 días. | 0,53; 0,79; 1,2; 1,7; 2,7 y 4 mg/L | <p>Mortalidad en la concentración más alta.</p> <p>Muy abrupto entre 1,2 y 1,7 mg/L. Ningún organismo sobrevivió la duración completa del experimento a las tres últimas concentraciones.</p> <p>La mortalidad ocurrió principalmente en el día 10 cuando</p> | |

| | | | | | |
|---------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | los organismos ya se habían reproducido. | En términos de EC50, para saber que organismos son más tolerantes al paracetamol y cuales más sensibles: <i>D. manga</i> < <i>D. longispina</i> < <i>V. fischeri</i> < <i>C. Raciborskii</i> < <i>P. subcaiptata</i> < <i>L. minor</i> < <i>L. gibba</i> . |
| <i>Daphnia longispina</i> | Test agudo de 48 horas. | Concentraciones entre 48,6 y 85 mg/L. (cinco concentraciones con un factor de dilución de 1,15). | EC50 48 horas= 65,9 mg/L | | |
| | Test crónico de | 7,9; 11,8; 17,8; 26,7; 40 y 60 mg/L. | Retraso significativo en el primer evento reproductivo. y fecundidad, antes de la alta mortalidad. | | |
| <i>Vibrio fischeri</i> | Test agudo de 72 horas | | EC50 = 92,2 mg/L | | |
| <i>C. raciborskii</i> | Test agudo de 72 horas | 8 concentraciones, de 48,4 mg/L a 510,2 mg/L, en series geométricas con factor de dilución de 1,4. | EC50= 192,9 mg/L | | |
| <i>Lemna minor</i> | Test crónicos de 7 días. | Rango de 5 concentraciones (de 62,5 a 1000 mg/L, utilizando un factor de dilución de 2). | EC50= 429,9 mg/L | | |
| <i>Lemna gibba</i> | | | EC50 > 1000 mg/L | | |

| | | | | | | |
|--------------------------------------------|--------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Oliveira, L.L., et al (2015)</p> | <p>Paracetamol</p> | <p><i>D. magna</i></p> | <p>Test agudo de 48 horas</p> | <p>0; 0,01; 0,1; 1 mg /L</p> | <p>Disminución significativa de la actividad de ChE y GPx dependiente de selenio a 0,01 mg/L y 1 mg/L.</p> <p>Inhibición de colinesterasa a 10 µg/L.</p> <p>No causó cambios en la actividad de CAT, por tanto, no se produjo estrés oxidativo, ya que, de lo contrario, este indicador se habría alterado.</p> <p>Hay una aparición leve de estrés oxidativo debido a los resultados obtenidos para la actividad gulación peroxidasa.</p> <p>Disminución de la actividad GPx.</p> | <p>El paracetamol tiene el potencial de afectar la neurotransmisión normal de <i>D. magna</i>, al comprometer la actividad colinesterasica, además de provocar una disminución significativa en la actividad de GPx.</p> <p><i>D. magna</i> es extremadamente sensible al paracetamol, sin embargo, estos los resultados obtenidos se deben a concentraciones de mg/L, que son mucho más altas de las que se han documentado en el entorno natural.</p> |
| <p>Wang, L., et al (2016)</p> | <p>Ibuprofeno</p> | <p><i>D. magna</i></p> | <p>Test crónico de 21 días</p> | <p>0,5, 5 y 50 µg/L</p> | <p>No se observaron efectos en letalidad, ni cambios significativos en mudas ni cambios en el número de crías.</p> <p>Periodo de primera producción de huevos fue menor en 0,5-5 µg/L.</p> <p>Periodo de primera producción de huevos mayor en concentraciones altas.</p> | <p>Las respuestas génicas de CYP360A, CYP314 y GST y los cambios que se muestran en el organismo de <i>D. magna</i> en este estudio demuestran los posibles efectos tóxicos del ibuprofeno.</p> <p>Se trata de un compuesto que puede causar una disminución significativa en el total de crías por hembra, longitud corporal y tasa de crecimiento.</p> <p>Además, afectó a la expresión de genes y enzimas relacionados con la</p> |

| | | | | | |
|--|--|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | <p>Reducción significativa en la longitud del cuerpo a todas las concentraciones.</p> <p>Actividad GST aumenta conforme aumenta la concentración de ibuprofeno.</p> <p>SOD sufre inducción significativa excepto a 0,5 µg/L a las 6 horas, después de 48 horas fue inducido a la concentración más baja y volvió a la línea de base.</p> <p>Tras 6 horas se inhibió la expresión de CYP360A a 0,5 µg/L, pero se indujo gradualmente conforme aumentaba la concentración.</p> <p>APND se mostró inducida significativamente con el aumento de la concentración, exhibiendo una dependencia después de 6 horas de exposición.</p> <p>Actividad EROD fue inhibida a la concentración de 50 µg/L tras 48 horas de exposición.</p> <p>ERND fue inhibido a 0,5 µg/L y con el aumento de la concentración, a 6 horas de exposición. Sin embargo, tras 48 horas, solo fue inducido a</p> | <p>desintoxicación y los procesos antioxidantes.</p> <p>Tras la exposición a corto plazo al ibuprofeno hubo una inducción significativa de la actividad de SOD, GST y CAT, pero estas enzimas fueron reprimidas después de una exposición prolongada.</p> <p>Las respuestas de EROD, APND y ERND puede estar relacionada con la biotransformación de la desintoxicación del ibuprofeno.</p> <p>Es importante señalar que puede existir una relación entre la alteración de la expresión de los genes CYP360A, CYP314 y GST y el rendimiento de la reproducción del organismo.</p> <p>Dada la complejidad del mecanismo regulador, es muy difícil determinar la relación específica de causa y efecto entre la respuesta de los genes y el rendimiento del organismo, por tanto, se recomienda investigar los cambios genéticos.</p> |
|--|--|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | | | | | <p>baja concentración y volvió a la línea de base a altas concentraciones.</p> <p>Tras 6 horas, CYP360A8 fue significativamente inhibido a 0,5 µg/L, e inducido con el aumento de la concentración. Tras 48 horas la tendencia fue similar.</p> <p>Tras 48 horas de exposición CYP360A fue significativamente inducida teniendo su pico máximo a 50 µg/L.</p> <p>La expresión de CYP314 tuvo una inhibición significativa a las 6 horas a 0,5 µg/L.</p> <p>CYP314 fue inhibido a las 6 horas a 0,5 µg/L, pero después de 48 horas se observó una mayor expresión. La expresión volvió al nivel de referencia conforme aumentaba la concentración.</p> <p>GST tuvo una inhibición significativa a 0,5 µg/L después de 6 y 48 horas. Con el aumento de la concentración, esta inhibición se mantuvo.</p> | |
|--|--|--|--|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

| | | | | | | |
|----------------------|-------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Du, J., et al (2016) | Ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test agudo de 24, 48 y 72 horas | Rango de 1 a 200 mg/L | EC50 24 horas paracetamol= 224±2,35 mg/L EC50 48 horas paracetamol= 40±1,6 mg/L EC50 72 horas paracetamol= 8,06±0,9 mg/L | Los umbrales de toxicidad para el paracetamol y el ibuprofeno proporcionan puntos de referencia muy importantes para evaluar su riesgo ecológico, concretamente en ecosistemas acuáticos donde los organismos son expuestos a bajos niveles de estos productos farmacéuticos y de otros productos químicos, y que serían muy útiles estudios sobre la evaluación de la toxicidad de estos compuestos. |
| | | | Test crónico de 21 días | 0,40; 1,20; 3,60; 10,8; 32,4 mg/L | | |
| | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo 24, 48 y 72 horas | Rango de 4 a 972 mg/L | EC50 24 horas ibuprofeno= 116±2,07 mg/L EC50 48 horas ibuprofeno= 23,5±1,41 mg/L EC50 72 horas ibuprofeno= 8,33±0,68 mg/L | |
| | | | Test crónico de 21 días | 0,08; 0,24; 0,72; 2,16 y 6,48 mg/L | <p>El 50% de la mortalidad a los 21 días se produjo a las concentraciones de 3,97±2,63 mg/L (ibuprofeno) y 5,32±0,73 mg/L (paracetamol).</p> <p>En ambos casos, un aumento de la concentración conllevaba una disminución en la supervivencia de los organismos.</p> <p>El tamaño del cuerpo se vio afectado ya que la exposición de los dos compuestos farmacéuticos ocasionó un crecimiento mayor (de 1,91±0,29 mm a 2,31±0,22 mm, paracetamol; 1,65±0,11 mm a 2,64±0,26 mm, ibuprofeno).</p> | |

| | | | | | | |
|------------------------------------------|-------------|-----------------|---------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | Reducción en la producción de huevos incluso en las concentraciones más bajas (0,08 mg/L para el paracetamol y 0,4 mg/L para el ibuprofeno). | |
| De Oliveira, L.L.D., et al (2016) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 horas | Rango de 1,2-9 mg/L | Valor de EC50 tras 48 h= 2,83 mg/L. | El paracetamol puede acumularse y ocasionar múltiples efectos tóxicos en los organismos. Si bien es cierto que sus datos de toxicidad tienen poca relevancia ecológica, muestran la importancia de realizar análisis toxicológicos a concentraciones ambientalmente relevantes. A pesar de haber seleccionado niveles altos de paracetamol tanto para el test agudo como el crónico, no han podido observar efectos en el organismo <i>D. magna</i> . |
| | | | Test crónico de 21 días | 0,2; 0,3; 0,44; 0,55; 0,83 y 1,25 mg /L | No se observaron alteraciones en la tasa de aumento de la población pero, a la concentración más baja, es decir 0,2 mg/L, se observó un aumento significativo | |
| Kovacevic, V., et al (2016) | Ibuprofeno | <i>D. magna</i> | Test agudo de al menos 48 horas | 1,75; 3,5; 5,25; 7; 10,5 y 14 mg /L | Glicina, tirosina, asparagina y serina generalmente disminuyeron en relación con el control a concentraciones de ibuprofeno bajas y medias (1,25-7 mg/L). Disminuciones significativas de serina a exposiciones de 1,75; 3,5 y 7 mg/. | La metabolómica basada en HNMR fue capaz de detectar y distinguir las respuestas de <i>D. magna</i> a las concentraciones anteriormente citadas. El perfil metabólico de <i>D. magna</i> tras la exposición subletal parecía depender de la concentración de ibuprofeno ya que las concentraciones más bajas causaron |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | <p>Disminuciones significativas de asparagina a concentraciones de 5,25 y 7 mg/L.</p> <p>Disminuciones significativas de tirosina a los 7 mg/L.</p> <p>La leucina, arginina y lisina mostraron disminuciones significativas a las dos concentraciones más bajas (1,75 y 3,5 mg/L), lo cual es muy importante ya que son aminoácidos esenciales en crustáceos y están relacionados con la frecuencia de la muda, el crecimiento y la osmorregulación.</p> <p>Aumento en la alanina, triptófano e isoleucina a la concentración de 10,5 mg/L.</p> <p>En cuanto a la metionina, se observaron aumentos significativos a concentraciones de 10,5 y 14 mg/L lo cual sugiere un deterioro en el proceso de la muda que puede estar relacionado con un inicio en la inhibición de la reproducción.</p> <p>La treonina mostró una dinámica diferente ya que se observó una</p> | <p>cambios de metabolitos contrastantes en comparación con las más altas que causaron cambios en metabolitos de contraste.</p> <p>La exposición al ibuprofeno causó cambios en aminoácidos tan importantes como al serina, metionina, lisina, arginina y leucina, que son bioindicadores de la exposición subletal.</p> <p>Estos resultados muestran la necesidad de evaluar la toxicidad del ibuprofeno e identificar nuevos bioindicadores que muestren información sobre este compuesto.</p> |
|--|--|--|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| | | | | | | |
|----------------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | disminución significativa a la concentración más alta. | |
| Castro, B.B., et al (2018) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo 48 horas | 1,96 a 6 mg/L (con un factor de dilución de 1,15) | EC50 48 h=4,68 mg/L Retraso significativo y disminución en la reproducción de 2 mg/L en adelante, por tanto, hubo una disminución poblacional. No se pudieron demostrar los efectos en el ensayo de reproducción de 21 días. A la concentración más alta hubo efectos en las hijas que no fueron directamente expuestas. Descensos en la reproducción, pero sin diferencia significativa del control. En el ensayo generacional, en el día 12, las daphnias habían experimentado 1 o 2 eventos reproductivos. | La evaluación de los efectos transgeneracionales aportan un importante valor a la capacidad predictiva de toxicidad de las sustancias químicas cuando se encuentran a bajas concentraciones. Además, a pesar de que estos no fueron muy pronunciados, se observaron efectos adversos a la exposición a paracetamol. De los compuestos analizados en el estudio, el paracetamol fue el ejemplo más obvio de efectos transgeneracionales, ya que la exposición materna causó una reproducción retrasada y un menor potencial de crecimiento poblacional de la generación hija. |
| | | | Test crónico de 21 días y ensayo generacional extendido de 12 días | 1,3 a 4 mg/L (con un factor de dilución de 1,25) | | |
| Grzesiuk, M., et al (2018) | Ibuprofeno | <i>A. Obliquus</i> <i>N. limnetica</i> <i>D. magna</i> | <i>A. obliquus</i> y <i>N. limnetica</i> expuestas a paracetamol durante 50 días. | No se muestra | La historia de vida de <i>D. magna</i> , es decir, su supervivencia, crecimiento y edad de la primera reproducción se vieron afectados cuando su alimento se expuso a ibuprofeno. Cuando el organismo de prueba fue alimentado con las algas limitadas | Las concentraciones bajas pueden afectar significativamente a los organismos acuáticos cruzando los niveles tróficos de plancton. En los hábitats de agua dulce la historia de vida de <i>D. magna</i> puede verse |

| | | | | | | |
|-------------------------|-------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | <p><i>Experimento en el cual D. magna</i> fue alimentada con esas algas.</p> | | <p>en fósforo y expuestas al ibuprofeno se observó que todos los organismos sobrevivieron y que, en el caso de una de las poblaciones expuestas, mejoró su supervivencia.</p> <p>Los alimentos cultivados con ibuprofeno mejoraron la tasa de crecimiento de ambas poblaciones de <i>D. magna</i>, ya que estas tasas fueron un 10 y un 20% mayores, respectivamente</p> | <p>influenciada por la contaminación por compuestos farmacéuticos.</p> <p>Las algas cultivadas con fósforo limitado e ibuprofeno se desempeñaron mejor ya que las daphnias alimentadas con estas algas obtuvieron una mayor tasa de supervivencia.</p> <p>El ibuprofeno compensó los efectos de la limitación de fósforo, además de que este compuesto modificó directamente propiedades fisiológicas de las células de las algas y <i>D. magna</i> fue más capaz de digerir estas algas.</p> <p>Aparecen efectos importantes en el medio ambiente a través de efectos en la red alimentaria, tal y como se muestra en la supervivencia de <i>D. magna</i>.</p> <p>En ecosistemas acuáticos la situación puede ser mucho más compleja ya que tanto el fitoplancton como los niveles tróficos superiores están expuestos a una compleja mezcla de muchos compuestos antropogénicos diferentes.</p> |
| Kim, R.O., et al (2018) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo de 12 y 24 horas con organismos de 7-10 días de edad | 0; 50 y 100 mg/L | Cambios en el gen CYP370A13, glutatión, inhibición de la actividad tiorredoxina reductasa y producción de especies de oxígeno. | El proceso de desintoxicación es un mecanismo de defensa muy importante y se ha probado que existen respuestas de <i>D. magna</i> a la exposición a paracetamol. |

| | | | | | | |
|--------------------------------|-------------|-----------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | <p>CYP307A1 y CYP370A13 fueron regulados a la alza de una forma dependiente del tiempo y la concentración, que es un posible indicador de producción NAPQI.</p> <p>TrxR fue inducida, pero su actividad no fue significativamente diferente del control.</p> | <p>CYP370A13 pueden ser un marcador molecular confiable y sensible para la evaluación de la toxicidad del paracetamol. Por tanto, se trata de una enzima clave.</p> |
| Daniel, D. et al (2019) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo de 48 horas para determinación de EC50 | 1,5; 1,8; 2,16; 2,59; 3,11; 3,73; 4,48 y 5,37 mg/L | EC1 48 h= 2,25 mg/L. EC10 48 h= 2,56 mg/L. EC50 48 h= 2,99 mg/L. EC90 48 h= 3,5 mg/L. | <p>El paracetamol tiene la capacidad de inducir respuestas antioxidantes en el organismo <i>D. magna</i>. Sin embargo, esos efectos bioquímicos observados no se tradujeron en efectos sobre el número total de descendientes.</p> <p>A pesar de la disminución en la actividad GST, es posible anticipar que el paracetamol genera efectos significativos en la actividad de las enzimas.</p> <p>Sería fundamental realizar más estudios para evaluar otros efectos relacionados con la neurotoxicidad y la capacidad de estrés oxidativo del paracetamol.</p> |
| | | | Test agudo para determinación de biomarcadores | 0,04; 0,08; 0,16; 0,32; 0,6; 1,28 y 2,56 mg/L | Tras 48 horas hubo una disminución de la actividad colinesterasa en comparación con el control y un aumento en la actividad GST. También se observó que la actividad catalasa se incrementó a la concentración más alta. | |
| | | | Test crónico de 21 días | 5, 10, 20, 40 y 80 µg/L | Tras 21 días de exposición no hubo diferencias estadísticamente significativas en las actividades | |

| | | | | | | |
|------------------------------|-------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | <p>CAT y ChE. Sí que se observó una disminución en la actividad de GST en las concentraciones más bajas.</p> <p>No hubo significancia estadística en el número total de neonatos por hembra</p> | |
| Liu, S., et al (2019) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test agudo de 24, 48 y 96 horas | 0; 5; 50; 500 y 5000 µg /L | <p>Nrf1 fue inhibido a las 48 horas (excepto a 5 µg /L), pero fue inducida con tiempo de exposición prolongado (excepto a 500 µg /L).</p> <p>GCLC se indujo significativamente tras 24 horas de exposición, pero después de 48 y 96 horas, este rendimiento solo se observó a concentraciones de 5 y 50 µg /L.</p> <p>GST se reguló a las 24 y 48 horas, pero se suprimió tras 96 horas de exposición.</p> <p>GPX fue inducido significativamente tras 48 horas de exposición.</p> <p>CAT fue inducido significativamente en todas las concentraciones y alcanzó un valor máximo a 5000 µg /L tras 48 horas.</p> <p>TrxR también fue inducido,</p> | <p>La comprensión de los genes antioxidantes durante la exposición al paracetamol es fundamental para el estudio de los mecanismos de estrés oxidativo.</p> <p>Existen muchas otras vías de señalización involucradas en la regulación del proceso antioxidante en organismos, por lo tanto, se necesitan más estudios para revelar el mecanismo antioxidante en <i>D. magna</i> bajo exposición a paracetamol.</p> |

| | | | | | | |
|--------------------|-------------|-----------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | | | Prxl fue inhibido mostrando una relación negativa dependiente de la concentración, siendo el valor más bajo observado en la concentración de 5000 µg /L a las 96 horas. | |
| Ding, et al (2020) | Paracetamol | <i>D. magna</i> | Test crónico de 21 días | 5, 50, 500 y 5000 µg/L | <p>La supervivencia de los organismos en la concentración de 5000 µg/L fue inferior a 16 días, mientras que en el resto de concentraciones no hubo muertes en el periodo de 21 días.</p> <p>El día de la primera cría fue significativamente retrasado, y la frecuencia de la muda y la primera producción de huevos fue diferente a la concentración de 50 µg/L.</p> <p>Se halló una correlación negativa entre la concentración de paracetamol y la producción total de huevos por individuo y la longitud del cuerpo.</p> <p>HR96: a las 24 y 48 horas fue inducida e incrementada con el aumento de la concentración, mientras que a las 96 horas hubo un decrecimiento de 5 a 500 µg/L.</p> <p>P-pg: se encontraron los valores más altos a 5000 µg/L. Además,</p> | <p>Se observan efectos en los parámetros de ciclo de vida y la fisiología de <i>D. magna</i>.</p> <p>Se precisan de más estudios, especialmente de la relación entre la regulación epigenética de factores de transcripción y cambios fisiológicos de <i>D. magna</i> bajo exposición a compuestos farmacéuticos.</p> |

| | | | | | |
|--|--|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | | | | <p>presenta una correlación negativa con el incremento de la concentración a 48 horas.</p> <p>No se encuentra la típica relación de concentración y dependencia a las 96 horas.</p> <p>CYP360A8: se encontraron los valores más altos a 5000 µg/L. No se encuentra la típica relación de concentración y dependencia a las 96 horas.</p> <p>CYP314: se encontraron los valores más altos a 5000 µg/L. No se encuentra la típica relación de concentración y dependencia a las 96 horas.</p> <p>MRP4: se encontraron los valores más altos a 500 µg/L. No se encuentra la típica relación de concentración y dependencia a las 96 horas.</p> <p>EcR: fue significativamente inducido a 24 horas (excepto a 5 µg/L) y a 48 horas. A las 96 horas fue significativamente inhibido, excepto a 5µg/L.</p> | |
|--|--|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

| | | | | | | |
|------------------------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Grzesiuk, M., et al (2020)</p> | <p>Ibuprofeno</p> | <p><i>D. magna</i></p> | <p>Medición de los parámetros de la historia de vida de la primera, quinta generación y sexta generación.</p> | <p>Una única concentración de 4 µg/L (concentración ambientalmente relevante).</p> | <p>En la quinta generación se observaron deformaciones en el caparazón, cuerpo, ojo y antenas.</p> <p>Tras una exposición de 10 semanas (5 generaciones) se observó una diferencia en la edad de la primera reproducción.</p> <p>Alteraciones significativas en el nivel de triglicéridos, alteraciones no significativas en el tamaño, en la primera reproducción, crecimiento y número de huevos entre la primera y la quinta generación.</p> <p>En la sexta generación la tasa de crecimiento más baja se observó en aquellos organismos que estuvieron en contacto directo con ibuprofeno por primera vez, además, también tuvieron el menor número de descendientes.</p> <p>Se observó un efecto línea en la sexta generación: la tasa de crecimiento de la sexta generación se vio muy afectada por las condiciones experimentadas por sus ancestros</p> | <p>Este estudio insinúa los impactos complejos que se generan en daphnia cuando es expuesta a ibuprofeno.</p> <p>Se necesitan más estudios para comprender la compleja red de factores ambientales que afectan a la toxicidad del ibuprofeno.</p> |
|------------------------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

5.2. Resultados de los ensayos de toxicidad aguda

Las distintas concentraciones utilizadas en los ensayos de toxicidad aguda y comentadas anteriormente corresponden a niveles de paracetamol documentados en las aguas naturales y son muy similares a las concentraciones utilizadas en algunos estudios ecotoxicológicos.

Con respecto al primer estudio realizado, tal y como puede observarse en el *gráfico 6*, la mortalidad ha sido creciente. En el control han sobrevivido todos los organismos de cada uno de los vasos de precipitado expuestos a paracetamol durante 24 horas, mientras que, en la concentración intermedia (C1=0,8 µg/L) dicha supervivencia se redujo a la mitad, de tal forma que en los vasos número 2 y 3 no sobrevivió ningún organismo. En cuanto a la última y mayor concentración (C2=640 µg/L) se puede observar que la mortalidad ha sido máxima, es decir, la supervivencia se ha reducido a 0 tras 24 horas de exposición.

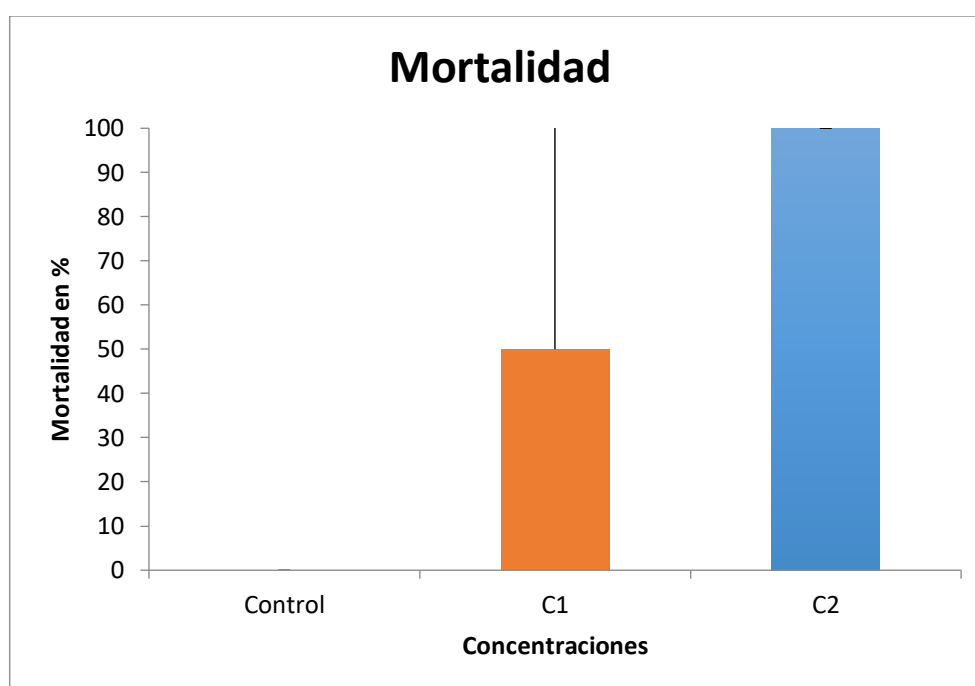


Gráfico 6. Porcentaje de mortalidad total en cada concentración del estudio 1

En relación al segundo estudio realizado (*gráfico 7*), se puede observar que, nuevamente, la mortalidad ha sido creciente. Además, en el control la mortalidad ha sido muy baja (un organismo), mientras que en las siguientes concentraciones ha aumentado. Así, tras 24 horas de exposición a la concentración menor (C1=80 µg/L), la mortalidad continúa siendo baja, de tal forma que sobreviven la mayoría de los individuos. Finalmente, en las concentraciones mayores (C2=160 µg/L y C3=320 µg/L) la supervivencia de los organismos es mucho menor, ascendiendo la mortalidad a un 75% de los individuos.

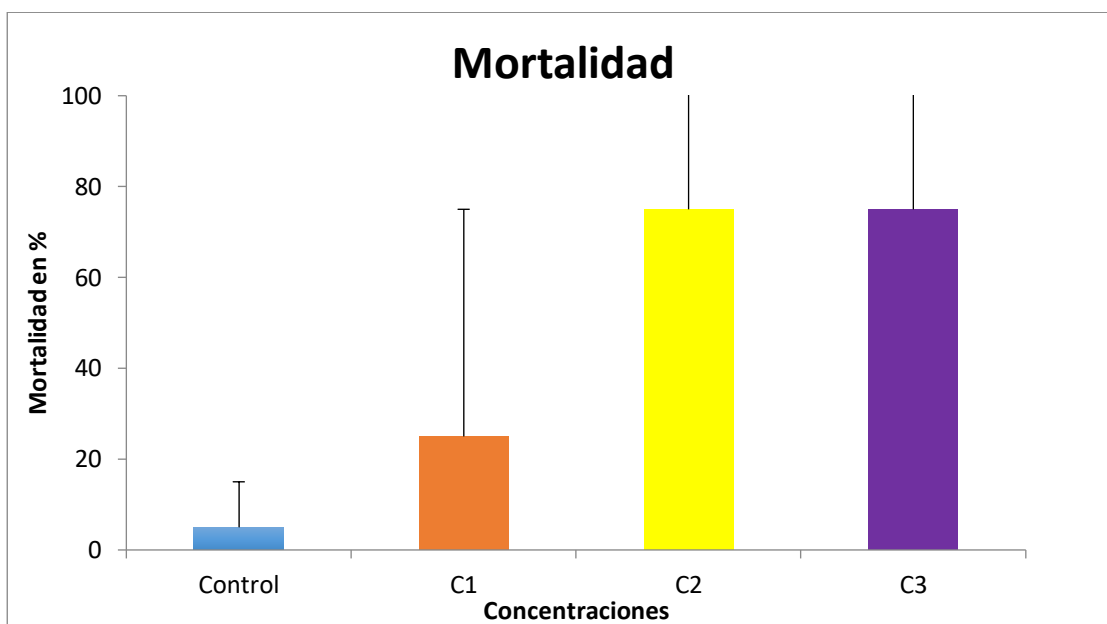


Gráfico 10. Porcentaje de mortalidad en el estudio 2.

6. Discusión

6.1. Revisión bibliográfica

Todos los artículos científicos examinados para la elaboración de la revisión bibliográfica y para la discusión del presente trabajo fin de máster son de actualidad y de alcance internacional. Así, los documentos científicos seleccionados para la revisión bibliográfica abarcan desde el año 2007 hasta el año 2020, observándose una amplia participación de diversos países.

Tras el análisis de la bibliografía científica considerada, se puede afirmar que el estudio de los efectos adversos del paracetamol y del ibuprofeno sobre distintos organismos modelo, entre ellos *D. magna*, es un tema de actualidad.

Con respecto al ibuprofeno, se ha observado que la exposición prolongada de *D. magna* a este fármaco produce una disminución en la reproducción y en la

supervivencia, y un aumento en el crecimiento somático del organismo a concentraciones de 20, 40 y 80 mg/L, por tanto, puede afirmarse que las consecuencias poblacionales a concentraciones ambientalmente relevantes serían de menor importancia, de tal forma que no puede llegarse a una conclusión definitiva sobre los riesgos asociados a este compuesto (Heckmann *et al* 2007). Cabe destacar que bajo una exposición a las mismas concentraciones se observa una reducción en la expresión génica, debido a que se suprimen los procesos esenciales para ahorrar energía, por tanto, las respuestas al estrés molecular es una guía para observar las consecuencias crónicas del estrés ambiental ocasionado por la exposición al ibuprofeno (Heckmann *et al*, 2008). Además, también se ha observado una relación negativa entre la concentración y la producción de crías, y efectos en la edad de la primera reproducción, nuevamente a concentraciones de 20, 40 y 80 mg/L (Hayashi *et al*, 2008). A concentraciones mayores se observan efectos en la supervivencia de *D. magna*, de tal forma que a 100 mg/L la mortalidad fue absoluta (Hans *et al*, 2010). Con relación a daños en el ADN, se afirma que el ibuprofeno fue responsable de distintas alteraciones observadas en biomarcadores bioquímicos (peroxidación lipídica, proteína carbonilo, actividad SOC, CAT y GPX) (Gómez-Oliván *et al*, 2014), reafirmando la importancia de la observación de efectos a nivel molecular. Siguiendo en la línea de las respuestas génicas, a pesar de no observar efectos en la letalidad, Wang *et al* (2016) observaron que, a una exposición de 0,5; 5 y 50 µg/L, las respuestas génicas de CYP360A, CYP314 y CST muestran los posibles efectos tóxicos del ibuprofeno. A concentraciones de 1,75; 3,5; 5,25; 7; 10,5 y 14 mg/L se han observado cambios en aminoácidos importantes para los crustáceos (serina, metionina, lisina, arginina y leucina) traducidos en disminuciones de su actividad, lo cual es muy importante debido a que están relacionados con la frecuencia de la muda, el crecimiento y la osmorregulación. Finalmente, es fundamental destacar el estudio de Grzesiuk *et al* (2020) por ser una investigación de actualidad y por realizar sus ensayos de toxicidad con una concentración ambientalmente realista (4 µg/L) en la cual se afirma que hay diferencias en la edad de la primera reproducción, deformaciones en el caparazón, cuerpo, ojo y antenas y un efecto líneo en la sexta generación, por tanto, el propio autor afirma que se necesitan más estudios para comprender éstos efectos tan complejos.

Con relación al paracetamol, también existen diversos estudios que confirman sus efectos negativos en *D. magna*, así, Nunes *et al* (2014), bajo una exposición de 0,53; 0,79; 1,2; 1,7; 2,7 y 4 mg/L afirmó que especialmente para los crustáceos dicho fármaco es tóxico, observándose mortalidad en la concentración más alta. Además, al finalizar la experiencia, ningún organismo sobrevivió. En cuanto a los estudios biomarcadores bioquímicos, el paracetamol tiene el potencial de afectar a la neurotransmisión, de tal forma que provoca una disminución en la actividad de ChE y GPx a concentraciones de 0,01 mg/L (Oliveira *et al*, 2015). Es importante destacar que dicha concentración es ambientalmente relevante. Por otro lado, en el estudio realizado por De Oliveira *et al* (2016) se afirma que el paracetamol puede acumularse y ocasionar efectos tóxicos pero que a pesar de haber elegido concentraciones altas y no ambientalmente realistas (0,2; 0,3; 0,44; 0,55; 0,83 y 1,25 mg/L) no se ha podido observar efectos. Castro *et al* (2018) realizó un estudio muy interesante ya que estudió los efectos transgeneracionales producidos por el paracetamol y concluyó que la exposición materna causó una reproducción retrasada y un menor potencial de crecimiento poblacional en la generación hija. Al exponer una población a concentraciones mayores (50 y 100 mg/L), Kim *et al* (2018) observaron cambios en el gen CYP370A13, glutatión e inhibición de la actividad tiorredoxina reductasa, por tanto, afirma que el proceso de desintoxicación es un mecanismo muy importante y CY370A13 es un marcador sensible para evaluar la toxicidad del paracetamol. A concentraciones más altas (0,04; 0,08; 0,16; 0,32; 0,6; 1,28 y 2,56 mg/L), Daniel *et al* (2019) observaron que tras 48 horas de exposición hubo una disminución en la actividad colinesterasa y un aumento en la actividad GST, por otro lado, a pesar de ésta disminución, se puede afirmar que el paracetamol genera efectos en la actividad de las enzimas. Así, en el mismo estudio también se probaron concentraciones más bajas (5; 10; 20; 40 y 80 µg/L) pudiendo observarse diferencias en las actividades del CAT y ChE. Por tanto, al igual que en el caso del ibuprofeno, hay que destacar la importancia de la comprensión de los genes durante la exposición y, por consiguiente, Liu *et al* (2019) utilizaron concentraciones ambientalmente relevantes (5; 50; 500 y 5000 µg/L) observaron una inducción de GCLC, GPX, CAT y TrxR, mientras que Prxl fue inhibido. Para finalizar, Ding *et al* (2020), en su investigación utilizó un rango de concentraciones ambientalmente relevantes (5; 50; 500 y 5000 µg/L) y observó efectos en los parámetros del ciclo de vida y fisiología de los organismos, hallando una relación negativa entre la concentración de paracetamol y la producción de huevos y longitud del organismo.

Tal y como puede observarse, tanto como para el ibuprofeno como para el paracetamol hay un gran número de estudios sobre pruebas de toxicidad en el organismo *D. magna*. Pero también se han realizado ensayos con otros organismos bioindicadores.

Por consiguiente, para el estudio del ibuprofeno también se han utilizado células H295R, aplicando un rango de concentraciones de 0,2; 2 y 20 mg/L y observando que la producción de E2 aumenta y la actividad de la aromatasa fue mayor (Hans *et al*, 2010). En el mismo estudio, también se realizaron ensayos con *O. latipes* aplicando concentraciones 0,01; 0,1; 1; 10; 100 y 1000 µg/L y se observó que el peso y el tamaño del organismo no se vio afectado, sin embargo, la mortalidad de los peces aumentó con la concentración a medida que éstos maduran. También hay que destacar que la vitelogenina de los peces macho fue mayor a la concentración más alta, que HSI y GSI no se vieron afectados y no se observaron lesiones en el hígado o en las gónadas. Hans *et al* (2010) también realizó un estudio de toxicidad con una población de *M. macrocopa* y no observó reducción en la supervivencia ni diferencias en la reproducción. Por su parte, Castro *et al* (2014) realizó su estudio de toxicidad utilizando el organismo *Daphnia similis* con un rango de concentraciones de 50; 80; 128; 205; 328 y 500 mg/L, y observó que la supervivencia se vio afectada. Cabe destacar el artículo de Grzesiuk *et al* (2018) en el cual se cultivaron distintas especies de algas (*A. obliquus* y *N. limnetica*) con ibuprofeno en combinación con una deficiencia de fósforo y, posteriormente, éstas algas fueron utilizadas como alimento para una población de *D. magna*. Como resultado se observó el ibuprofeno compensó los efectos de limitación del fósforo y los organismos obtuvieron una mejor tasa de crecimiento.

En las investigaciones sobre la toxicidad del paracetamol también se han utilizado otros organismos, así, Kim *et al* (2007) probaron distintas concentraciones de este fármaco en *O. latipes*, *V. fischeri* y *D. magna* obteniendo como resultado un cociente de peligrosidad de 1,8, lo cual indica que el paracetamol supone un riesgo potencial ecológico. Kim *et al* (2012) realizaron estudios toxicológicos con *O. latipes* y *M. macrocopa* y pudo observar, en el caso de *O. latipes*, utilizando concentraciones de 0,000095; 0,00095; 0,0095; 0,095; 0,05; 9,5 y 95 mg/L, que los huevos y las larvas no se ven afectados, su crecimiento tampoco, ni el peso de las gónadas ni del hígado, mientras que la vitelogenina hepática aumenta con la concentración. En el caso de *M. macrocopa*, utilizando un rango de concentraciones de 0,32; 0,95; 2,86; 8,58 y 25,75 mg/L, se observa una reducción en la supervivencia a la concentración más alta y diferencias en la reproducción. Otros organismos que fueron expuestos a paracetamol fueron *P. subcapitata*, *D. longispina*, *V. fischeri*, *C. raciborskii*, *L. minor* y *L. gibba*, que,

en comparación con *D. magna*, se obtuvo como resultado que *D. magna* era mucho más sensible que el resto de los organismos (Nunes *et al*, 2014). Además, hay que destacar que el paracetamol resultó tóxico para todas las especies expuestas excepto para *L. gibba*. Se trata realmente de un estudio muy interesante ya que implica que el grupo más vulnerable es el de los consumidores primarios.

En definitiva, resulta imprescindible realizar más investigaciones sobre los efectos adversos causados por el paracetamol y el ibuprofeno en organismos acuáticos, así como investigar los posibles efectos producidos por la codeína, compuesto farmacéutico para el cual no se ha encontrado ningún artículo científico. Está claro que el paracetamol y el ibuprofeno producen distintos efectos subletales en organismos acuáticos, por tanto, desde un punto de vista personal, es necesario profundizar en dichas investigaciones, incrementar la conciencia ambiental para que a los sistemas acuáticos no lleguen dichos compuestos, implicar a nuestros gobernantes para fortalecer la legislación relacionada con la descarga de aguas residuales e industriales a las aguas naturales y mejorar los tratamientos de aguas residuales de tal forma que se reduzcan las concentraciones descargadas e incluso se eliminen totalmente del torrente de salida de las plantas de tratamiento.

6.2. Estudios experimentales

Tal y como afirman autores como Moreno-Ortiz *et al* (2013), el paracetamol se encuentra dentro de los antiinflamatorios analgésicos más frecuentemente encontrados en el medio ambiente, de tal forma que ha sido reconocido como el ingrediente farmacéutico activo más detectado a nivel mundial (Barra Caracciolo *et al*, 2015).

Así, este producto farmacéutico ha sido documentado en gran variedad de ambientes, como puede ser el río Ngong, Nairobi y Mathare, con concentraciones de 31,003, 24,541 y 14,180 ng/L, respectivamente (Bagnis *et al*, 2020). Por otra parte, en la cuenca del río Paraopeba se detectaron niveles entre 16,4 ng/L y 1,7 µg/L (Barros *et al*, 2018), en Kenya se documentaron valores de 106, 97 ng/L (K'oreje *et al*, 2016) y en España, concretamente en el Río Llobregat, se midieron niveles de 1289 ng/L (Boleda *et al*, 2013). En los embalses del Rumbiar y de La Fernandina también se ha detectado paracetamol, a unas concentraciones de 72,7 y 402,4 ng/L, respectivamente (Robles *et al*, 2014).

El primer estudio realizado, con un rango de concentraciones de 0; 0,8 y 640 µg/L se realizó para observar la resistencia de la población de *D. magna* al paracetamol, para, posteriormente, realizar un segundo estudio, más amplio, con un rango de concentraciones de 0; 80;160 y 320 µg/L. Estas concentraciones fueron seleccionadas

en base a la literatura previamente comentada sobre la detección de paracetamol en aguas naturales.

En el primer ensayo de toxicidad aguda se pudo observar como la mortalidad era creciente según la concentración, es decir, a más concentración de paracetamol, menor fue la supervivencia de los organismos. Tras realizar una prueba de normalidad de Kolgomorov-Smirnov pudo observarse que éstos datos cumplen el supuesto de normalidad y, tras realizar una comparación de medias mediante ANOVA se observó que los resultados son estadísticamente significativos. Por tanto, puede afirmarse que la mortalidad de los organismos no se debió al azar, sino que fue causada por el paracetamol.

El segundo ensayo de toxicidad aguda realizado, con un rango más amplio de concentraciones, obtuvo un resultado similar al estudio número 1. La mortalidad aumentó con la concentración. Nuevamente, se realizó una prueba de normalidad de Kolgomorov-Smirnov, obteniendo como resultado que se cumple el supuesto de normalidad, pero, al realizar la comparación de medias mediante la prueba ANOVA se obtuvo un nivel de significancia superior a 0,05, por lo que se debe aceptar la hipótesis de que los datos obtenidos se deben al azar.

Observando los resultados del primer estudio se puede concluir que el paracetamol, a las concentraciones testadas, afecta a la supervivencia del organismo *D. magna*, pero al ampliar el estudio con concentraciones menores, este efecto desaparece, siendo realmente lo esperado ya que las concentraciones utilizadas en los estudios son muy bajas en relación a los valores que en bibliografía obtienen efectos negativos significativos. Así, remitiendo a la revisión bibliográfica, puede observarse que el rango de concentraciones utilizado y en el cual se observa mortalidad es de mg/L, mientras que las concentraciones utilizadas en la presente investigación son mucho menores, del rango de µg/L. De ésta forma, lo esperable sería que según las concentraciones utilizadas la mortalidad debería de haber sido muy inferior y, al igual que en las investigaciones de Daniel *et al* (2019), Liu *et al* (2019) y Ding *et al* (2020), podrían haberse observados distintos efectos subletales relacionados con la modificación en la actividad de distintas enzimas, el ciclo de vida y la fisiología de *D. magna*.

Es por ello que se puede afirmar que es necesario realizar un estudio más amplio, que abarque un rango de concentraciones mucho mayor (desde $\mu\text{g/L}$ a mg/L) para poder observar y medir dichos efectos subletales. Así, realizando investigaciones más amplias, con más duración en el tiempo y con un mayor número de muestras podrá estudiarse el impacto del paracetamol en el medio acuático y su biota.

7. Conclusiones

El paracetamol, el ibuprofeno y la codeína son tres compuestos farmacéuticos ampliamente detectados en las aguas naturales del mundo. Por consiguiente, se ha demostrado la necesidad de investigar sobre sus efectos tóxicos. Así, tras realizar la revisión bibliográfica se ha demostrado la necesidad de realizar más estudios para observar los efectos negativos que se producen tanto en el organismo *D. magna* como en otros organismos acuáticos. Además, la ausencia de estudios en la revisión con codeína nos indica que resulta fundamental estudiar el posible impacto que genera la codeína en las aguas naturales, proponiéndose, por tanto, como nueva línea de investigación.

En relación al ibuprofeno y al paracetamol, gracias a los estudios analizados se observa que existen distintos efectos subletales relacionados con la actividad enzimática, la reproducción y la fisiología de *D. magna*. En relación a la mortalidad, ésta puede observarse a concentraciones ambientalmente no relevantes es decir que son más altas de las medidas en muestras de agua. Sin embargo, la evidencia de efectos de tipo subletal pueden hacer pensar que la repercusión deba ser analizada en términos del medio y largo plazo. Además, los efectos más allá de una única especie, sino de la comunidad, es otra de las posibles futuras líneas de investigación.

8. Bibliografía

Aguilera, J. C. G. (2017). Lectura crítica de la literatura científica: un ejercicio necesario para la práctica. *Multimed*, 19(6), 982-984.

Aguilera Eguía, R. (2014). ¿Revisión sistemática, revisión narrativa o metaanálisis? *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 21(6), 359-360.

Barbagallo, M., y Sacerdote, P. (2019). Ibuprofen in the treatment of children's inflammatory pain: a clinical and pharmacological overview. *Minerva Pediatr*, 71(1), 82-99.

Barceló, D., y López, M. J. (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. *Jornadas de presentación de resultados: el estado ecológico de las masas de agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas, Sevilla*.

Barrios, L., Correa, A., Gomendio, S., y Machado, A. (2019). Ibuprofeno: ¿fármaco seguro?. *Revista Salud Militar*, 38(1), 46-55.

Becerril Bravo, J. E. (2012). Optimización de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes en aguas de abastecimiento y residuales.

Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, S., Tacchi, R., y Leone, S. (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS drug reviews*, 12(3-4), 250-275.

Burga, K., Visitación, L., y Chire, T. (2009). Evaluación ecotoxicológica de pesticidas organofosforados sobre *Daphnia magna*. *Anales Científicos*, 70(2), 11-18.

Campos, B., Fletcher, D., Piña, B., Tauler, R., y Barata, C. (2018). Differential gene transcription across the life cycle in *Daphnia magna* using a new all genome custommade microarray. *BMC genomics*, 19(1), 370.

Cartagena, C. J. (2011). Contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente: productos farmacéuticos. *Revista lasallista de investigación*, 8(2), 143-153.

Carter, L. J., Garman, C. D., Ryan, J., Dowle, A., Bergström, E., Thomas-Oates, J. y Boxall, A. B. A. (2014). Fate and uptake of pharmaceuticals in soil-earthworm systems. *Environ. Sci. Technol.* 48, 5955-5963.

Castro, B. B., Freches, A. R., Rodrigues, M., Nunes, B., y Antunes, S. C. (2018). Transgenerational effects of toxicants: an extension of the daphnia 21-day chronic assay?. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 74(4), 616-626.

Castiglioni, M., y Collins, P. (2010). Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *Daphnia magna*. *The Biologist*, 8(1), 43-53.

Castro, F. J. D., Santos, D. R. D., Buongiorno, C. R., Cortez, F. S., Pereira, C. D., Choeri, R. B., y Cesar, A. (2014). Ecotoxicological assessment of four pharmaceuticals compounds through acute toxicity tests. *O Mundo da Saúde, São Paulo*.

Chiam, E., Weinberg, L., y Bellomo, R. (2015). Paracetamol: a review with specific focus on the haemodynamic effects of intravenous administration. *Heart, lung and vessels*, 7(2), 121.

Correia, A., y Marcano, L. (2015). Presencia y eliminación de compuestos farmacéuticos en plantas de tratamientos de aguas residuales: Revisión a nivel mundial y perspectiva nacional. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 55(1), 1-18.

Cuesta Hoyos, S. A. (2014). *Estudio químico, computacional y farmacológico de ibuprofeno* (Bachelor's thesis, PUCE).

Daniel, D., Dionísio, R., de Alkimin, GD y Nunes, B. (2019). Efectos agudos y crónicos de la exposición al paracetamol en *Daphnia magna*: cómo los efectos oxidativos pueden modular las respuestas a distintos niveles de organización en una especie modelo. *Ciencia ambiental e investigación de la contaminación*, 26 (4), 3320-3329.

de Moreno, S. S., y de Forero, A. M. (2007). Competencias de lectura crítica: una propuesta para la reflexión y la práctica. *Acción pedagógica*, 16(1), 58-68.

de Oliveira, L. L. D., Antunes, S. C., Gonçalves, F., Rocha, O., y Nunes, B. (2016). Acute and chronic ecotoxicological effects of four pharmaceuticals drugs on cladoceran *Daphnia magna*. *Drug and chemical toxicology*, 39(1), 13-21.

del-Pino-Casado, R. (2016). El trabajo de fin de grado de revisión de la literatura. In *Manual para la elaboración y defensa del trabajo de fin de grado en ciencias de la salud* (pp. 71-88). Elsevier.

Ding, R., Liu, S., He, C., y Nie, X. (2020). Paracetamol affects the expression of detoxification-and reproduction-related genes and alters the life traits of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 29, 398-406.

Du, J., Mei, C. F., Ying, G. G., y Xu, M. Y. (2016). Toxicity thresholds for diclofenac, acetaminophen and ibuprofen in the water flea *Daphnia magna*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 97(1), 84-90.

Divins, M.J. (2015). Analgésicos. *Farmacia profesional*, 29(6).

Echa.europa.eu. 2020. *Paracetamol - Substance Information - ECHA*. [online] Disponible en: <https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.002.870> [Último acceso: julio de 2020]

Echa.europa.eu. 2020. *Paracetamol - Substance Information - ECHA*. [online] Disponible en: <https://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.002.870> [Último acceso: julio de 2020]

Elenbaas, M. 2013. "Daphnia magna", Animal Diversity Disponible en: http://animaldiversity.org/accounts/Daphnia_magna/ [Último acceso: Julio de 2020]

Esteva, E. (2008). Analgésicos. Clasificación y uso. OFFARM, 27(8).

Forniés, A. L., de Diego, F. I. G., Sierra, M. C., y de Landázuri, J. G. O. (2007). Concepto de dolor. *Tratado de geriatría para residentes. Capítulo, 71, 721-731.*

Gálvez Toro, A. (2002). Revisión bibliográfica: usos y utilidades. *Matronas prof, 25-31.*

Gilbert, J. D., De Vicente, I., Ortega, F., Jimenez-Melero, R., Parra, G., y Guerrero, F. (2015). A comprehensive evaluation of the crustacean assemblages in southern Iberian Mediterranean wetlands. *Journal of Limnology, 74(1), 169-181.*

Gómez-Oliván, L. M., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Valdés-Alanís, A., Islas-Flores, H., y Neri-Cruz, N. (2014). Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen and naproxen in *Daphnia magna*. *Drug and chemical toxicology, 37(4), 391-399.*

Gómez-Luna, E., Fernando-Navas, D., Aponte-Mayor, G., y Betancourt-Buitrago, L. A. (2014). Metodología para la revisión bibliográfica y la gestión de información de temas científicos, a través de su estructuración y sistematización. *Dyna, 81(184), 158-163.*

Grzesiuk, M., Pijanowska, J., Markowska, M., y Bednarska, A. (2020). Morphological deformation of *Daphnia magna* embryos caused by prolonged exposure to ibuprofen. *Environmental Pollution, 261, 114135.*

Han, S., Choi, K., Kim, J., Ji, K., Kim, S., Ahn, B., ... y Giesy, J. P. (2010). Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese

medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Aquatic toxicology*, 98(3), 256-264.

Hayashi, Y., Heckmann, L. H., Callaghan, A., y Sibly, R. M. (2008). Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen. *Ecotoxicology*, 17(4), 246-251.

Heckmann, L. H., Callaghan, A., Hooper, H. L., Connon, R., Hutchinson, T. H., Maund, S. J., y Sibly, R. M. (2007). Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology letters*, 172(3), 137-145.

Heckmann, L. H., Sibly, R. M., Connon, R., Hooper, H. L., Hutchinson, T. H., Maund, S. J., ... y Callaghan, A. (2008). Systems biology meets stress ecology: linking molecular and organismal stress responses in *Daphnia magna*. *Genome biology*, 9(2), R40.

Hernández-Cortez, E. (2016). Acetaminofén: el medicamento más usado en pediatría. *Anestesia en México*, 28(3), 1-4.

Iannacone, J., y Alvaríño, L. (2007). Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 6(1-2), 101-110.

Kim, Y., Choi, K., Jung, J., Park, S., Kim, P. G., y Park, J. (2007). Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment international*, 33(3), 370-375.

Kim, J., Park, J., Kim, P. G., Lee, C., Choi, K., y Choi, K. (2010). Implication of global environmental changes on chemical toxicity-effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 19(4), 662-669.

Kim, P., Park, Y., Ji, K., Seo, J., Lee, S., Choi, K., ... y Choi, K. (2012). Effect of chronic exposure to acetaminophen and lincomycin on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*, and potential mechanisms of endocrine disruption. *Chemosphere*, 89(1), 10-18.

Kim, R. O., Jo, M. A., Song, J., Kim, I. C., Yoon, S., y Kim, W. K. (2018). Novel approach for evaluating pharmaceuticals toxicity using *Daphnia* model: analysis of the mode of cytochrome P450-generated metabolite action after acetaminophen exposure. *Aquatic toxicology*, 196, 35-42.

Kovacevic, V., Simpson, A. J., y Simpson, M. J. (2016). ¹H NMR-based metabolomics of *Daphnia magna* responses after sub-lethal exposure to triclosan, carbamazepine and ibuprofen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 19, 199-210.

Liu, S., Ding, R., y Nie, X. (2019). Assessment of oxidative stress of paracetamol to *Daphnia magna* via determination of Nrf1 and genes related to antioxidant system. *Aquatic toxicology*, 211, 73-80.

Moreno-Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzov-Jinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonett, C., y Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(4), 17-29.

National Center for Biotechnology Information (2020). PubChem Compound Summary for CID 1983, Acetaminophen. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetaminophen>. [Último acceso: Julio 2020]

Navis, S., Waterkeyn, A., De Meester, L., y Brendonck, L. (2018). Acute and chronic effects of exposure to the juvenile hormone analog fenoxycarb during sexual reproduction in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 27(5), 627-634.

Nunes, B., Antunes, S. C., Santos, J., Martins, L., y Castro, B. B. (2014). Toxic potential of paracetamol to freshwater organisms: a headache to environmental regulators?. *Ecotoxicology and environmental safety*, 107, 178-185.

OECD (2004), *Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264069947-en>.

Oliveira, L. L., Antunes, S. C., Gonçalves, F., Rocha, O., y Nunes, B. (2015). Evaluation of ecotoxicological effects of drugs on *Daphnia magna* using different enzymatic biomarkers. *Ecotoxicology and environmental safety*, 119, 123-131.

Ortiz-Pereda, V., López, M., Arroita, A., Aguilera, L., Azkue, J., Torre-Mollinedo, F., y Isla-Baranda, A. (2007). Antiinflamatorios no esteroideos y paracetamol en el tratamiento del dolor. *Gaceta Médica de Bilbao*, 104(4), 148-155.

Pal, A., Yew-Hoong Gin, K., Yu-Chen Lin, A. y Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources. Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci. Total Environ.* 408, 6062-6069.

Peñate, I. Q., Haza, U. J. J., Wilhelm, A. M., y Delmas, H. (2009). Contaminación de las aguas con productos farmacéuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 40(3), 173-179.

Prescott, L. F. (2000). Paracetamol: past, present, and future. *American journal of therapeutics*, 7(2), 143-147.

Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 2020. *Ibuprofen*. [online]: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibuprofen> [Último acceso: julio de 2020].

R. C. Lars-Henrik Heckmann y Richard Connon. (2007). Culturing of *Daphnia magna* - Standard Operating Procedure. Obtenido de: http://www.reading.ac.uk/web/FILES/biosci/Culturing_Daphnia_201KB.pdf [Último acceso: Mayo, 2020]

Refoyo, J. L. P., y Peláez, B. P. (2020). Anotaciones para estructurar una revisión sistemática. *Revista ORL*, 11(2), 155-160.

Ruiz, M. J y Font, G. (2011). Ecotoxicological Effects of Pharmaceuticals in the Environment. En: *Ecotoxicology around the globe*. Visser, JE (ed): Nova Science Publishers, Inc., pp 227-246

Tejada, C., Quiñonez, E., y Peña, M. (2014). Contaminantes emergentes en aguas: metabolitos de fármacos. Una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 80-101.

Wang, L., Peng, Y., Nie, X., Pan, B., Ku, P., y Bao, S. (2016). Gene response of CYP360A, CYP314, and GST and whole-organism changes in *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology y Pharmacology*, 179, 49-56.

Zaira, A. C., y Ruiz, M. J. (2016). Ensayos de ecotoxicidad de los fármacos y efectos tóxicos en el medio ambiente: Revisión. *Revista de Toxicología*, 33(2), 108-119.

9. Breve resumen de las asignaturas del máster realizadas

• Caracterización de elementos bióticos del hábitat

Dada la importancia de los seres vivos en un ecosistema, es fundamental conocer y saber aplicar técnicas de caracterización de elementos bióticos. Así, en esta asignatura se estudia cómo realizar dicha caracterización, estableciendo relaciones entre los factores bióticos y los abióticos.

- **Caracterización de componentes físicos del hábitat**

En esta asignatura se mostraron distintas técnicas de análisis de los componentes físicos de los hábitats, de tal forma, que se pueda dar explicación sobre las características de los materiales que componen un sustrato, por ejemplo. Además, gracias a éstos análisis, se pueden establecer relaciones con otros elementos de carácter físico como pueden ser la topografía, la temperatura, la pendiente, etc.

- **Conservación y restauración de los sistemas terrestres**

Existen diversos ambientes terrestres que pueden ser alterados debidos a la acción del ser humano. La consecuencia fundamental de ésta alteración es la futura degradación de dicho ambiente. Así, para evitarlo deben de estudiarse los distintos factores que han producido dicha alteración para poder realizar un estudio y llevar a cabo acciones encaminadas a la conservación del sistema. Un claro ejemplo sería el olivar y el actual problema de las cárcavas.

- **Recursos hídricos y ecosistemas acuáticos**

El agua es un factor fundamental en el modelado del terreno, siendo el causante de gran variedad de relieves, como pueden ser los modelados kársticos. Pero también se trata de un factor muy importante en los ecosistemas, ya que es un recurso para todos los seres vivos, y el elemento principal de muchas reacciones químicas. Por ello hay que conservar dicho recurso, mediante planes de gestión, de tal forma que se valore el agua como merece.

- **Explotación sostenible de suelos y agroecosistemas**

En un sistema agrícola es muy importante tener en cuenta el tipo de sustrato y el pasto necesario para cubrir las necesidades del ganado, según si sea ovino, vacuno o porcino, entre otros. Así, en un olivar hay que tener en cuenta el tipo de sustrato del que disponemos para poder realizar estudios de viabilidad del cultivo y poder conocer los problemas que pueden causarse, de tal forma que puedan solucionarse.

- **Modelización de la distribución potencial de especies y hábitats**

Un problema actual es el tema de la extinción de especies. Por ello, para conservar y proteger las especies en todo el mundo, es fundamental estudiar las zonas de distribución de dichas especies, lo cual se realiza mediante modelos de distribución potencial de especies. Éstos modelos nos muestran un mapa de zonas donde podemos encontrar éstas especies.

EDUCACIÓN

Universidad de Córdoba
Grado en Ciencias Ambientales.

Universidad de Jaén
Doble máster en Análisis, conservación y restauración de los elementos físicos y bióticos de los hábitats y Profesorado en ESO, bachillerato y formación profesional (Especialidad: Biología y Geología).

EXPERIENCIA LABORAL

Educadora ambiental en “Paseo por la Ciencia” (Asociación de Profesorado de Córdoba por la Cultura Científica) en área de Botánica (Córdoba). Voluntariado.

Profesora de biología y geología en C.D.P Santa María de la Capilla (Jaén). Contrato en prácticas. Abril-Mayo (2019).

Técnico ambiental en Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del territorio: Parque Natural sierra de Andújar (Jaén). Contrato en prácticas. Jul-Sept (2017).

Técnico ambiental en Oficina de Medio ambiente y Oficina de consumo en Ayuntamiento de Andújar (Jaén). Contrato en prácticas. Jul-Sept (2018).

Educadora ambiental en Oficina de Juventud en el Ayuntamiento de Andújar (Jaén). Contrato en prácticas. Nov-Dic (2019).

Educadora ambiental en Oficina de Juventud en el Ayuntamiento de Andújar (Jaén). Contrato en prácticas. Actualidad.

ANA BELÉN RODRÍGUEZ ANDÚJAR

Educadora ambiental en
Ayuntamiento de Andújar.

COMPETENCIAS PROFESIONALES

- Capacidad de organización y planificación.
- Interés por la calidad.
- Motivación de logro.
- Trabajo en equipo.
- Capacidad para trabajar en equipos multidisciplinares.
- Capacidad e interés por el aprendizaje.
- Capacidad de adaptación a nuevas situaciones.
- Iniciativa y espíritu emprendedor.

FORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Curso **Mecanografía**.
Curso **Los residuos y su reciclaje: gestión y educación ambiental**.
Curso **Sistemas de Gestión Ambiental y su aplicación a la empresa**
Curso **Especialización en muestreo de peces continentales, identificación de especies y evaluación de impacto antrópico en aguas continentales**.
Curso **Primeros auxilios en el aula**.
Curso **Elaboración de vídeos educativos**.
Curso **Aprendizaje cooperativo: fundamentos, técnica y su aplicación**
Curso **Psicopedagogía de la inteligencia emocional**
Jornada **Medio físico, flora, fauna, caza y geodiversidad en el Parque Natural Sierra de Andújar**.
Jornada **25º Aniversario de cooperación entre la Universidad Agraria de Dnepropetrovsk y Universidad de Córdoba**.
B1 Inglés. Distinción.