REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Evaluación de los efectos ecotoxicológicos e histológicos potenciales del fármaco antihipertensivo Losartán, en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra"

Tesis Presentada por la Bachiller:

Bedregal Lopez, Doris Vanessa

ORCID: 0009-0005-2701-9005

para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

Dr. Fernández Fernández, Fernando Alberto

ORCID: 0000-0001-6910-157X

Arequipa - Perú

2025

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 10 de Julio del 2025

Dictamen: 011061-C-EPMVZ-2025

Visto el borrador del expediente 011061, presentado por:

2016245292 - BEDREGAL LOPEZ DORIS VANESSA

Titulado:

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS POTENCIALES DEL FÁRMACO ANTIHIPERTENSIVO LOSARTÁN, EN EL ORGANISMO MODELO DANIO RERIO "PEZ CEBRA"

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

29688868 - REATEGUI ORDOÑEZ JUAN EDUARDO
DICTAMINADOR

29327492 - VALDEZ NUÑEZ VERONICA ROCIO
DICTAMINADOR

29729675 - ZUÑIGA VALENCIA ELOISA GABRIELA
DICTAMINADOR

Evaluación de los efectos ecotoxicológicos e histológicos potenciales del fármaco antihipertensivo Losartán, en el organismo modelo Danio rerio “pez cebra”

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%	20%	2%	11%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	6%
2	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	core.ac.uk Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%
7	www.idrc.ca Fuente de Internet	1%
8	rodin.uca.es Fuente de Internet	1%

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Dedicatoria

A Dios, por ser mi luz en los momentos de duda y por darme la serenidad y el propósito necesarios para alcanzar mis metas. Sin Su bendición y guía, nada de esto hubiera sido posible.

A mis queridos padres, cuyo amor y apoyo incondicional me han guiado a lo largo de este viaje. Gracias por su fe en mí, por su sacrificio, y por siempre estar a mi lado en cada paso, brindándome la fuerza y la sabiduría para seguir adelante.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Agradecimiento

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, de una u otra manera, han sido parte fundamental en la realización de este trabajo.

A mi asesor Dr. Fernando Fernández Fernández por su orientación y dedicación en cada etapa de este proyecto. Su conocimiento y recomendaciones han sido esenciales para el desarrollo y culminación de este trabajo.

A mi coasesor Dr. Armando Arenazas Rodríguez por su paciencia y apoyo constante a lo largo de todo este proceso.

A mis amigas Sara, Roxana y mis compañeros de carrera, por sus palabras de aliento y por compartir conmigo este camino académico. Cada conversación y cada apoyo fueron una motivación para continuar.

A mi querido esposo, Alejandro, por su amor, comprensión y apoyo incondicional.
Gracias por ser mi compañero de vida, por estar a mi lado en cada paso de este camino, por brindarme fuerzas en los momentos difíciles y por creer en mí aun cuando yo misma dudaba. Tu paciencia y sacrificio han sido un pilar fundamental para que pudiera lograr este objetivo.

A mis hermanas Marivel, Luciana y mi amigo Marco por su por su comprensión, cariño y por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles. Gracias por inspirarme a seguir adelante y por ser una fuente constante de amor y apoyo.

A mi mamá Doris, Papá Lolo, mamá Teo, Tía Vilma, y Papá Guillermo por su amor incondicional, por enseñarme el valor del esfuerzo y por estar siempre a mi lado, brindándome su apoyo emocional y su sabiduría en todo momento. Gracias por ser mi mayor fuente de inspiración.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

El amplio consumo de fármacos por la población a nivel mundial y la gran cantidad de residuos que se liberan diariamente al medioambiente son de preocupación mayor actualmente. El Losartán es uno de los antihipertensivos más utilizados en el mundo, y su presencia en matrices ambientales puede causar impactos en la biota, por lo tanto, generando consecuencias ecológicas muy graves.

El presente trabajo evaluó el efecto ecotóxico e histopatológico del fármaco antihipertensivo Losartán con concentraciones de 25, 50 y 100 mg/L y un control sin fármaco, en 28 juveniles de *Danio rerio* "pez cebra" durante 96 horas de exposición aguda.

En la evaluación de ecotoxicidad no se observó mortalidad, pero si 8 efectos subletales de los cuales solo 2 tuvieron diferencias estadísticas significativas: hipoactividad e hiperventilación, principalmente en las concentraciones mayores del fármaco (50 y 100 mg/L), registrando una LOEC calculada de 25 mg/L y NOEC menor a este valor en ambos casos. Se registraron 6 efectos subletales adicionales: distribución anormal, reacción anormal, gulping, pigmentación pálida, edema y agresión. La evaluación histológica determino mayor cantidad de alteraciones a nivel celular y vascular, con evidentes modificaciones de la arquitectura tisular hepática. Los índices de evaluación histopatológica cuantitativa de hígado en las muestras de mayor concentración (100 mg/L), muestran daños frecuentes y con un mayor factor de importancia, la dilatación de sinusoides (w=2) y la presencia de vacuolas de grasa (degeneración de grasa) (w=3) con 75 y 60 % de alteración histopatológica cuantitativa respectivamente. La degeneración hidrópica y cariopicnosis presentaron un factor de importancia bajo (w=1) y en ambos casos las alteraciones registran un 35%, no se determinó necrosis en el tejido hepático.

Conforme se incrementa la concentración experimental del fármaco Losartán, se observan efectos ecotóxicos subletales e histopatológicos notables en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra", finalmente se considera que los antihipertensivos deben evaluarse aún más en los programas de vigilancia ambiental conjuntamente con bioensayos ecotoxicológicos que demostraron ser de gran importancia científica.

Palabras clave: Losartán, *Danio rerio*, histopatológico

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

The widespread use of pharmaceuticals by the global population and the large amount of waste released daily into the environment are of major concern today. Losartan is one of the most widely used antihypertensives worldwide, and its presence in environmental matrices can impact biota, thus generating very serious ecological consequences.

This study evaluated the ecotoxic and histopathological effects of the antihypertensive drug Losartan at concentrations of 25, 50, and 100 mg/L and a Losartan-free control in 28 juvenile *Danio rerio* (zebrafish) during 96 hours of acute exposure.

No mortality was observed in the ecotoxicity assessment, but 8 sublethal effects were observed, of which only 2 were statistically significant: hypoactivity and hyperventilation, mainly at the highest concentrations of the Losartan (50 and 100 mg/L). A calculated LOEC of 25 mg/L and a NOEC lower than this value was recorded in both cases. Six additional sublethal effects were recorded: abnormal distribution, abnormal reaction, gulping, pale pigmentation, edema, and aggression. Histological evaluation determined a greater number of alterations at the cellular and vascular levels, with evident modifications in liver tissue architecture. Quantitative histopathological evaluation indices of the liver in the highest concentration samples (100 mg/L) showed frequent damage, with a higher significance factor: sinusoid dilatation (w=2) and the presence of fat vacuoles (fatty degeneration) (w=3), with 75% and 60% quantitative histopathological alterations, respectively. Hydropic degeneration and karyopyknosis had a low significance factor (w=1), and in both cases, the alterations accounted for 35%. No necrosis was detected in the liver tissue. As the experimental concentration of Losartan increased, notable sublethal ecotoxic and histopathological effects were observed in the model organism *Danio rerio* (zebrafish). It was finally decided that antihypertensives should be further evaluated in environmental monitoring programs in conjunction with ecotoxicological bioassays, which have proven to be of great scientific importance.

Keywords: Losartan, *Danio rerio*, histopathological

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN ……...…… 1

CAPÍTULO I ……..….… 2

1.1. Enunciado del Problema…….....… 3

1.2. Descripción del problema……. 3

1.3. Justificación ……. 4

1.3.1. Aspecto general …….….… 4

1.3.2. Aspecto tecnológico ……..…. 5

1.3.3. Aspecto socio económico ……..… 5

1.3.4. Importancia …….. 6

1.4. Objetivos …….. 7

1.4.1. Objetivo general ……... 7

1.4.2. Objetivos específicos ……... 7

1.5. Hipótesis …….. 7

CAPÍTULO II …….….. 8

2. MARCO TEÓRICO …….…….…….. 9

2.1. Análisis bibliográfico …….…….,….…... 9

2.1.1. Contaminantes emergentes …….….... 9

2.1.2. Los fármacos y su impacto en el medio ambiente …….……. 9

2.1.3. Losartán …….…….…… 10

2.1.4. Ecotoxicología ……. 11

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2.1.5. Bioensayos ……... 12

2.1.6. Bioindicadores, modelos biológicos y biomarcadores ……. 12

2.1.7. *Danio rerio* "pez cebra" ……..… 13

2.1.8. Ensayos de toxicidad ……..…… 14

2.1.9. Índices de toxicidad ……... 14

2.2. Antecedentes de investigación ……..…… 16

2.2.1. Análisis de tesis ……..... 16

2.2.2. Análisis de trabajos de investigación …… 18

CAPÍTULO III …….. 22

3. MATERIAL Y MÉTODOS …….. 23

3.1. Localización y Materiales …… 23

3.1.1. Localización del trabajo ……..……. 23

3.1.1.1. Espacial ……..…… 23

3.1.1.2. Temporal ……..…….. 23

3.1.2. Material biológico ……..…….……. 23

3.1.3. Materiales de laboratorio ……..….…... 23

3.1.4. Equipos …….…….. 24

3.1.5. Materiales digitales …… 24

3.1.6. Otros materiales ……. 24

3.2. Métodos …….……... 25

3.2.1. Muestreo ……..……. 25

3.2.1.1. Universo …….. 25

3.2.1.2. Tamaño de muestra …….. 25

3.2.1.3. Procedimiento de muestreo …….. 25

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.2.2. Métodos de evaluación …….. 25

3.2.2.1. Metodología de la experimentación …… 25

3.2.2.2. Recopilación de la información …….. 31

a. En el campo ……..…….. 31

b. En el laboratorio …… 31

c. En la biblioteca ……. 31

d. En otros ambientes generadores de la información científica …….. 31

3.3. Variables de respuesta …….……. 31

3.3.1. Variables independientes …….….. 31

3.3.2. Variables dependientes …….……. 31

3.3.3. Operacionalización de variables …….……... 32

3.4. Evaluación estadística …….…….. 32

3.4.1. Diseño Experimental ……..…….…… 32

3.4.1.1. Unidades experimentales ……..……. 32

3.4.1.2. Análisis estadístico ……..…….. 32

3.4.1.3. Análisis de significancia ……..……. 33

CAPÍTULO IV …….. 34

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN …….…… 35

4.1. Resultados ……..…… 35

4.1.1. Bioensayo de ecotoxicidad con *Danio rerio* …….. 35

4.1.2. Determinación de las alteraciones histológicas en hígado de *Danio rerio* por efecto del Losartán …….…… 39

4.1.3. Determinación de índices de evaluación de alteraciones histopatológicas cuantitativas en hígado de *Danio rerio* por efecto de la exposición aguda de Losartán (100 mg/L)…… 41

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.2. Discusión …….. 42

CAPITULO V …… 47

5. CONCLUSIONES ……... 48

CAPITULO VI …….. 49

6. RECOMENDACIONES ……..……... 50

CAPITULO VII ……. 51

7. REFERENCIAS ……...…… 52

ANEXOS …… 59

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Entradas y destino de los fármacos en el medio ambiente ……... 10

Figura 2. Representación de la estructura química del antihipertensivo Losartán ……...…… 11

Figura 3. Efecto subletal de hipoactividad con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en *Danio rerio*.....35

Figura 4. Efecto subletal de hiperventilación con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en *Danio rerio*.....36

Figura 5. Efectos subletales en *Danio rerio* a diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) 38

Figura 6. Efecto subletal de ventilación irregular (min) con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en *Danio rerio* 39

Figura 7. Histología de hígado de *Danio rerio* (96 h) 40

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Índices de ecotoxicidad …… 15

Tabla 2. Signos clínicos observados en peces cebra por efecto de diferentes concentraciones del antihipertensivo Losartán ……. 27

Tabla 3. Clasificación de reacciones patrón (rp) de los cambios patológicos en tejido para la evaluación histopatológica en contaminación acuática ……..... 28

Tabla 4. Valor del score (a) en el grado de extensión lesional para la evaluación histopatológica en contaminación acuática …….… 29

Tabla 5. Factor de importancia (w) empleado para la evaluación histopatológica en contaminación acuática ……..……... 29

Tabla 6. Grados de degeneración grasa en tejido hepático ……. 30

Tabla 7. Dimensión e indicadores de las de variables …… 32

Tabla 8. Efectos subletales en *Danio rerio* durante la exposición aguda (96 h) de diferentes concentraciones de Losartán …….. 37

Tabla 9. Clasificación de la evaluación histopatológica cuantitativa en hígado de *Danio rerio* por efecto de exposición aguda de Losartán (100 mg/L) …….… 41

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una creciente preocupación por los impactos de los contaminantes químicos, incluidos los residuos llamados emergentes, como los productos farmacéuticos y de cuidado personal en los ecosistemas acuáticos. Aunque existe un número creciente de estudios, incluidas revisiones de investigaciones científicas, sobre los efectos de estas sustancias en los organismos de ambientes acuáticos, se necesitan más estudios para dilucidar posibles interacciones con otros factores ambientales.

Debido al amplio consumo de medicamentos por la población a nivel mundial, gran cantidad de residuos no tratados de medicamentos se liberan diariamente al medioambiente en especial a los ecosistemas fluviales. Los fármacos en el ambiente pueden fotodegradarse o biotransformarse por acción de microorganismos, pudiendo formar metabolitos más tóxicos que el compuesto original. Otros medicamentos no se degradan e incluso se intercambian entre los diferentes compartimentos medioambientales (sistema terrestre, acuático, aire y diversos organismos) en función de sus propiedades y las condiciones ambientales.

Los nuevos datos sobre las fuentes, el destino y los efectos de los productos farmacéuticos en el medio ambiente parecen indicar la posibilidad de un impacto negativo en diferentes ecosistemas e implican una amenaza para la salud pública. Los datos resultantes de las pruebas de ecotoxicidad aguda y crónica en especies pertenecientes a diferentes niveles tróficos, como bacterias, algas, crustáceos y peces, entre otros, son relevantes para ilustrar los diversos efectos adversos que puede tener la exposición ambiental a concentraciones medidas de estos contaminantes. En la literatura, los principales criterios de valoración/estudios toxicológicos que se describen son el crecimiento, la supervivencia, la reproducción y la inmovilización de especies, en comparación con los estudios transgeneracionales y a nivel poblacional que aún son escasos. Finalmente es importante destacar que los métodos fisicoquímicos analíticos como evaluativos de la calidad de tratamiento de los efluentes son insuficientes al considerar la toxicidad de los mismos, por lo tanto, los bioensayos ecotoxicológicos deben aplicarse para evaluar el impacto total de un efluente contaminado, al tomar en cuenta todos sus efectos, principalmente en organismos como los peces denominados biomonitores top de ecosistemas acuáticos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO I

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

1.1. Enunciado del Problema

El escaso conocimiento sobre el comportamiento y los efectos biológicos de fármacos como el Losartán en el medio acuático limita la comprensión de sus consecuencias ecológicas. Otros medicamentos no se degradan e incluso se intercambian entre los diferentes compartimentos medioambientales (sistema terrestre, acuático, aire y biota) en función de sus propiedades y las condiciones ambientales (1). Aunque *Danio rerio* es ampliamente utilizado en toxicología por su similitud genética con los vertebrados superiores, no se han caracterizado suficientemente los efectos ecotoxicológicos e histológicos que este fármaco puede generar en sus tejidos. Por tanto, surge la necesidad de investigar cómo la exposición a este antihipertensivo puede alterar la estructura y función de órganos clave en esta especie.

1.2. Descripción del problema

La creciente detección de residuos farmacéuticos en cuerpos de agua dulce representa una amenaza silenciosa pero significativa para la salud animal y ambiental. Hoy en día, múltiples estudios han demostrado que la principal vía de entrada de compuestos con actividad farmacológica al medio ambiente se produce a través de las aguas residuales urbanas y hospitalarias, por lo tanto, todo esto parece indicar la posibilidad de un impacto negativo en diferentes ecosistemas e implican una amenaza para la salud pública (2,3,4). Uno de estos contaminantes emergentes es el Losartán, un antihipertensivo ampliamente utilizado en medicina humana, cuyo uso masivo y eliminación inadecuada lo han convertido en un compuesto frecuente en aguas residuales y ecosistemas acuáticos. A pesar de no estar diseñado para uso veterinario, su persistencia en el ambiente puede afectar a múltiples especies animales, particularmente aquellas que habitan o dependen del medio acuático. La exposición continua a fármacos como el Losartán puede inducir efectos subletales y crónicos en organismos acuáticos, comprometiendo su fisiología, reproducción, sistema inmunológico y estructuras histológicas clave. Tales alteraciones no solo afectan la salud y el bienestar animal, sino que también alteran el equilibrio ecológico, lo cual repercute en la cadena trófica y en la disponibilidad de recursos acuáticos para animales domésticos, silvestres o de producción.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Danio rerio es un modelo biológico valioso en toxicología veterinaria por su sensibilidad a compuestos químicos y su similitud fisiológica con otros vertebrados. Sin embargo, el conocimiento sobre los efectos específicos del Losartán en este modelo es limitado, especialmente en lo que respecta a alteraciones histológicas y respuestas ecotoxicológicas. Esta carencia de información dificulta la labor del profesional veterinario en la evaluación de riesgos, el diagnóstico ambiental y el diseño de estrategias de prevención frente a contaminantes emergentes.

Por ello, es necesario desarrollar investigaciones que analicen de forma rigurosa y sistemática el impacto del Losartán sobre organismos acuáticos, desde una visión integral de la salud animal. Esta investigación busca generar evidencia científica útil para la medicina veterinaria, contribuyendo al fortalecimiento de un enfoque holístico, que reconoce la interdependencia entre la salud de los animales, los ecosistemas y las personas.

1.3. Justificación

1.3.1. Aspecto general

En el contexto actual, el creciente uso de medicamentos de uso humano, como el antihipertensivo Losartán, y su persistencia en cuerpos de agua dulce representa un desafío emergente para la salud animal y ambiental. Desde la medicina veterinaria, se reconoce la importancia de evaluar los impactos de estos contaminantes farmacéuticos sobre organismos no objetivo, especialmente aquellos que forman parte de ecosistemas acuáticos. La presencia de compuestos farmacológicamente activos en el medio ambiente puede alterar la fisiología, el comportamiento y la integridad tisular de múltiples especies acuáticas, incluyendo peces de interés biológico, ecológico y veterinario.

Danio rerio (pez cebra) constituye un modelo experimental ampliamente utilizado en estudios de toxicología ambiental y veterinaria debido a su alta sensibilidad, desarrollo rápido y similitud genética con otros vertebrados. Evaluar los efectos ecotoxicológicos e histológicos del Losartán en esta especie permite no solo detectar posibles alteraciones inducidas por la exposición a contaminantes emergentes, sino también generar datos que orienten a la medicina veterinaria en la prevención de enfermedades asociadas al estrés ambiental y la exposición a xenobióticos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Esta investigación es relevante porque contribuye al entendimiento del papel que tienen los contaminantes farmacéuticos en la salud de la fauna acuática, al tiempo que fortalece el enfoque veterinario en la protección del bienestar animal, la vigilancia sanitaria ambiental y el diseño de estrategias de mitigación. Además, los resultados obtenidos pueden apoyar la elaboración de normativas para el uso y disposición segura de fármacos, reforzando el compromiso de la medicina veterinaria con el enfoque *Una Salud* (One Health), que integra la salud humana, animal y ambiental.

1.3.2. Aspecto tecnológico

Esta investigación impulsa el desarrollo y aplicación de tecnologías de diagnóstico y evaluación toxicológica que permiten analizar con mayor precisión los efectos de fármacos contaminantes en especies animales. El uso del modelo *Danio rerio* y el análisis histológico aportan herramientas relevantes para la medicina veterinaria preventiva, ya que permiten identificar signos tempranos de daño tisular inducido por contaminantes emergentes farmacéuticos como el Losartán. Además, fortalece la capacidad de los laboratorios veterinarios en el uso de biomodelos animales para pruebas ecotoxicológicas, promoviendo innovaciones en el monitoreo de la salud animal en ambientes acuáticos.

1.3.3. Aspecto socio económico

El impacto de los contaminantes farmacéuticos en la fauna acuática tiene implicaciones directas en la salud pública y animal, ámbitos en los que la medicina veterinaria desempeña un papel esencial. La acumulación de fármacos como el Losartán en ecosistemas acuáticos puede alterar la salud de especies silvestres e incluso de animales destinados al consumo humano, generando riesgos para la seguridad alimentaria. Esta investigación contribuye a generar conciencia en la sociedad sobre el rol de los veterinarios en la protección del ambiente y en la promoción del bienestar animal, al tiempo que proporciona información útil para educar a la población sobre el uso responsable de medicamentos y el manejo adecuado de sus desechos.

El conocimiento generado en esta investigación puede contribuir a prevenir pérdidas económicas asociadas a enfermedades en especies acuáticas de valor zootécnico y ornamental, derivadas de la exposición crónica a contaminantes

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

emergentes como el Losartán. Para el sector veterinario, esto implica una reducción en los costos de tratamientos, mejoras en la productividad de sistemas acuícolas y una disminución en el uso indiscriminado de productos farmacéuticos que podrían agravar la situación ecológica. Asimismo, los hallazgos pueden ser aprovechados para optimizar políticas de vigilancia veterinaria ambiental, contribuyendo a un manejo económico más eficiente de los recursos hídricos y de la salud animal.

1.3.4. Importancia

Esta investigación adquiere relevancia en el ámbito veterinario por su contribución al conocimiento de los efectos tóxicos que los fármacos de uso humano, como el antihipertensivo Losartán, pueden generar en especies animales no objetivo, en especial aquellas que habitan ecosistemas acuáticos. La creciente presencia de contaminantes farmacéuticos en el ambiente plantea una amenaza real para la fauna silvestre y acuática, lo que demanda respuestas integradas desde la medicina veterinaria para garantizar la salud y el bienestar animal. Evaluar los efectos ecotoxicológicos e histológicos del Losartán en *Danio rerio* (pez cebra) modelo importante que permitirá comprender cómo este fármaco puede afectar órganos vitales, procesos biológicos y respuestas fisiológicas, información esencial para la prevención de daños en especies silvestres, ornamentales o incluso en sistemas de acuicultura.

Desde la perspectiva veterinaria, esta investigación también es importante porque fortalece la capacidad diagnóstica frente a enfermedades inducidas por contaminantes ambientales, fomenta la vigilancia sanitaria en ecosistemas y aporta evidencia para la toma de decisiones en salud pública y ambiental. Los hallazgos pueden ser utilizados para asesorar a instituciones en la formulación de políticas sobre el uso responsable de medicamentos y su adecuada disposición, así como para promover la educación sobre los impactos del uso indiscriminado de fármacos.

Finalmente, la investigación se enmarca dentro del enfoque Una Salud (One Health), al demostrar cómo la exposición a residuos farmacológicos afecta no solo a los animales, sino también a los ecosistemas y, potencialmente, a la salud humana. Por ello, su desarrollo es fundamental para promover prácticas

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

veterinarias sostenibles, proteger la biodiversidad acuática y contribuir al equilibrio entre el ambiente, la salud animal y la salud pública.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar los efectos ecotóxicos e histológicos potenciales del fármaco antihipertensivo Losartán, en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra"

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar la ecotoxicidad de diferentes concentraciones (0, 25, 50 y 100 mg/L) del fármaco antihipertensivo Losartán, en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra"

- Determinar las alteraciones histológicas en hígado del organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra", por exposición a diferentes concentraciones (0, 25, 50 y 100 mg/L) del fármaco antihipertensivo Losartán.

- Determinar índices de evaluación histopatológica cuantitativa de hígado en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra", por exposición a diferentes concentraciones (0, 25, 50 y 100 mg/L) del fármaco antihipertensivo Losartán.

1.5. Hipótesis

La exposición de *Danio rerio* "pez cebra" al fármaco Losartán genera efectos ecotoxicológicos y alteraciones histológicas significativas, proporcionales a la concentración y al tiempo de exposición, afectando negativamente su fisiología y morfología.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO II

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Análisis bibliográfico

2.1.1. Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes, son aquellos compuestos no reconocidos, previamente, como contaminantes, y aunque su presencia no es necesariamente nueva, la preocupación por sus efectos nocivos sobre el medio ambiente es reciente. Esto es debido, mayoritariamente, a los actuales avances tecnológicos que permiten aumentar la sensibilidad de diferentes técnicas permitiendo detectar estos compuestos en concentraciones más elevadas de lo esperado (5).

Estos compuestos, además de ser tóxicos por sí mismos, pueden provocar en organismos reacciones bioquímicas que generen efectos neurotóxicos, carcinogénicos o alteraciones endocrinas. Por esta razón, se han convertido en objeto de estudios científicos de entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS) o la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). Debido a que la preocupación por estos compuestos es reciente, la mayoría de ellos sigue sin estar regulados a nivel europeo y solo algunos han sido incluidos en la lista de contaminantes prioritarios (6).

2.1.2. Los fármacos y su impacto en el medio ambiente

Los productos farmacéuticos son sustancias biológicamente activas y persistentes que han sido reconocidas como una amenaza continua a la estabilidad ambiental. Los datos sobre ecotoxicidad crónica, así como la información sobre los niveles de distribución actuales en diferentes compartimentos ambientales, siguen siendo escasos y se centran en aquellas clases terapéuticas que se prescriben y consumen con mayor frecuencia. Sin embargo, indican el impacto negativo que estos contaminantes químicos pueden tener en los organismos vivos (Figura 1), los ecosistemas y, en última instancia, la salud pública (2).

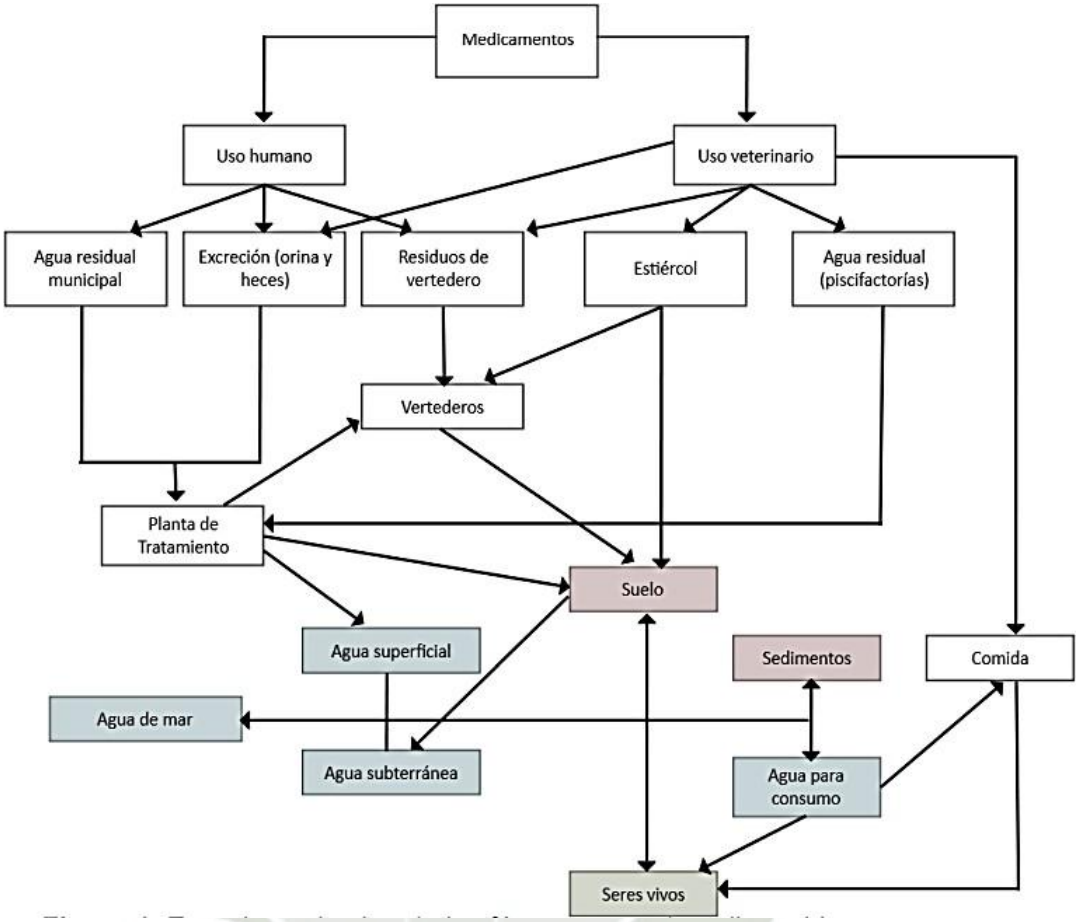
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Figura 1

Entradas y destino de los fármacos en el medio ambiente



Nota. La figura representa la dinámica de los fármacos en el ambiente, tomado de Cuñat & Ruiz (1) *Revista de Toxicología*. 2016.

2.1.3. Losartán

Losartán es fármaco sólido de color amarillo claro que se formula en tabletas orales, se le considera como un antagonista del receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1). Se utiliza solo o en combinación con otras clases de agentes antihipertensivos en el tratamiento de la hipertensión. También se utiliza para reducir el riesgo de accidente cerebrovascular en pacientes con hipertensión e hipertrofia ventricular izquierda y para el tratamiento de la nefropatía diabética en pacientes con diabetes tipo 2 y antecedentes de hipertensión (7).

Losartán está clasificado entre los fármacos antihipertensivos más consumidos y considerado en el grupo de los esenciales según la organización mundial de la salud (OMS). Se ha descubierto que este antihipertensivo se degrada en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

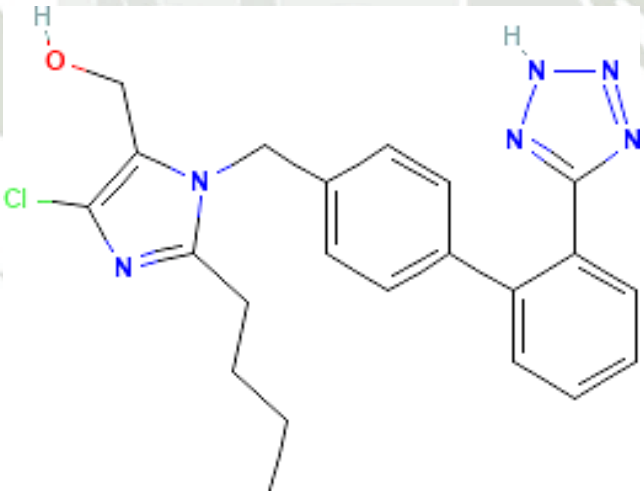
condiciones de luz natural; sin embargo, no hay datos disponibles sobre sus metabolitos. En ambientes acuáticos, Losartán es altamente estable a la hidrólisis y biodegradación, por lo que su seguimiento ha sido considerado por agencias ambientales de países de la Unión Europea (8, 4).

Se ha descubierto que Losartán exhibe un alto potencial de bioacumulación debido a sus propiedades lipófilas, con un alto coeficiente de partición n-octanol/agua (log Kow 4,01) (7).

Debido a su elevado pKa de 5,5 (7), Losartán se considera un ácido débil (Figura 2). Esto significa que, si el pH del agua circundante disminuye, Losartán también se neutralizará más fácilmente ya que requiere una carga eléctrica menor para estabilizarse en este medio. Así, en medios ácidos, los ácidos débiles en general tienden a cruzar las membranas celulares más fácilmente y entonces se espera que tengan un efecto más fuerte en los organismos.

Figura 2

Representación de la estructura química del antihipertensivo Losartán



Nota. La figura muestra la estructura química y molecular del fármaco Losartán, tomado de Kosek (8) *Environment Science*. 2020.

2.1.4. Ecotoxicología

Es la ciencia que se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (9), además analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos (9, 10).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

La ecotoxicología aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo para ser utilizados como herramientas de predicción tempranas que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y sirvan de guía a las entidades reguladores para la toma de decisiones.

La ecotoxicología es la disciplina científica que estudia el efecto de las sustancias y compuestos químicos sobre los ecosistemas. Una característica de esta disciplina es que los conocimientos científicos y las tecnologías que desarrolla se utilizan para resolver problemas ambientales concretos (11, 12).

2.1.5. Bioensayos

Según Ward & Parrish (13), bioensayo significa una prueba en la que un tejido vivo, organismo o grupo de organismos se utiliza como material de prueba para la determinación de la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa de actividad desconocida". "Bioensayo" tiene diferentes significados en diferentes países. Algunos autores y científicos prefieren el término "prueba de toxicidad" en lugar de bioensayo, por lo que se puede decir que son términos equivalentes.

2.1.6. Bioindicadores, modelos biológicos y biomarcadores

Los bioindicadores son organismos que dan información sobre las condiciones ambientales de su hábitat mediante su presencia o ausencia y su comportamiento. Los efectos, por ejemplo, a nivel fisiológico no están incluidos en nuestra definición de bioindicador (14). Por otro lado, se suele utilizar el término modelo biológico que se define como aquellas especies que han sido previamente estudiadas con el fin de obtener conclusiones que puedan generalizarse a otras especies. Estos modelos sólo representan una pequeña fracción de la biodiversidad, asumiendo que sus resultados pueden ser extrapolables al resto de organismos, considerando un origen común de las especies. Los organismos modelo reúnen características que facilitan tanto su mantenimiento como la manipulación en el laboratorio, obteniendo los resultados en tiempos razonables. Además, se caracterizan por tener ciclos cortos de vida, pequeño tamaño, facilidad de reproducción y bajo costo, siendo conveniente que tanto la morfología como su genoma sean simples, para facilitar la interpretación de los resultados (15). La medida dentro de un organismo o en sus productos (orina, heces, pelos, plumas,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

etc.), que indica una desviación del estado normal, que no puede detectarse del organismo intacto se considera como biomarcador (16).

2.1.7. *Danio rerio* "pez cebra"

Danio rerio conocido como el pez cebra por su particular apariencia corporal, es un pequeño pez tropical de agua dulce, originario de Asia, ha sido un modelo establecido en la investigación científica durante más de 100 años. A principios de la década de 1980, George Streisinger en la Universidad de Oregón produjo el primer mutante de pez cebra. En las últimas décadas, el pez cebra surgió como un sistema modelo adecuado en muchas áreas de investigación, como la toxicidad reproductiva y del desarrollo, la genética, la toxicología y el estrés, el cáncer y otras enfermedades humanas, el descubrimiento de nuevos productos biotecnológicos y aplicaciones ambientales, la respuesta inmunitaria innata e investigación antiviral, así como nanomedicina y nanotoxicología. *D. rerio* es un sistema modelo atractivo debido a su bajo costo de mantenimiento, fertilización externa, gran número de descendientes, embriones transparentes, ciclo de vida corto, desarrollo rápido, órganos primarios desarrollados 5 días después de la fertilización y numerosas homologías entre peces y humanos, pues se sabe que alrededor del 70% de genes expresados en el pez cebra, cuentan con genes ortólogos en el genoma humano (18), de los cuales 82% están asociados a enfermedades humanas (16).

El pez cebra tiene muchas utilidades y usos científicos que se pueden resumir de la siguiente manera: En primer lugar, comparte homologías extensas con otras especies de vertebrados (incluidos los roedores y los humanos) en términos de su genoma, patrones cerebrales y la estructura y función de varios sistemas neuronales y fisiológicos, incluido el eje regulador del estrés.

En segundo lugar, en comparación con los modelos mamíferos tradicionales, el pez cebra ofrece una capacidad y facilidad sin precedentes para estudiar los procesos de desarrollo en vertebrados. En particular, los procesos de desarrollo se pueden estudiar de manera no invasiva, al tiempo que se eliminan los factores de estrés que pueden generar confusión, como la interrupción del cuidado parental para acceder y estudiar a las crías.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En tercer lugar, debido al amplio conocimiento sobre el desarrollo cerebral combinado con la ventaja de un cerebro transparente y la disponibilidad de métodos sofisticados para el análisis genético y la manipulación de la expresión y función de los genes, el pez cebra es un modelo ideal para diseccionar, de manera viva/en tiempo real, algunos de los mecanismos moleculares y celulares que sustentan el desarrollo inalterado y expuesto al estrés (17).

2.1.8. Ensayos de toxicidad

Sirven para la determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantal) o el grado del efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra (18).

2.1.9. Índices de toxicidad

Los índices de toxicidad expresan los resultados de varios ensayos de toxicidad como un valor único, que indica el nivel de toxicidad de la muestra. Inicialmente se utilizaron sistemas de categorización de muestras o sitios en función del grado de toxicidad de éstos. Posteriormente se han venido utilizando sistemas de categorización basados en la suma o el promedio de toxicidad de diferentes puntos finales, incluyendo distintos tipos de organismos de ensayo (18). En la Tabla 1 se detallan algunos índices de toxicidad que son aplicados en la mayoría de las investigaciones publicadas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Tabla 1

Índices de ecotoxicidad

Índice	Definición
CE_{50}	Se utiliza cuando se está estudiando algún efecto diferente a la letalidad. La concentración efectiva media es la concentración que produce un efecto o respuesta específica en el 50% de los organismos de prueba. Este efecto, medido, puede implicar cualquier otro porcentaje, como 20 ó 90%, es decir, EC_{20} o EC_{90}. La hora también se utiliza como prefijo, ejemplo: 96 h $EC_{50\text{-}96}$
CL_{50}	Se utiliza para expresar los resultados de un bioensayo que tiene la letalidad como criterio de toxicidad. Es la concentración de una sustancia que es letal para el 50% de los organismos de prueba en 96 horas. El prefijo indica el período de exposición. El sufijo indica el porcentaje de muerte en el experimento.
CI_{50}	Concentración inhibidora es una técnica que mide la concentración de un contaminante potencial, lo que reduce la capacidad de bioluminiscencia de una bacteria marina en un 50%. El sistema *Backman Microtox* fue desarrollado para medir CI_{50}. Esta técnica es simple, rápida y relativamente económica.
LOEC	Concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés).
NOEC	Concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

TOEC	Concentración umbral a la cual se observa efecto (media geométrica del NOEC y LOEC).
PMTC	Concentración mínima del tóxico esperada: término elaborado por *Environment Canada* para su uso en el monitoreo ambiental de efectos de efluentes. Concentración de un efluente en el cuerpo receptor por debajo de la cual se esperaría que sólo un 5% de las muestras manifestaran efectos nocivos subletales, estimado con un nivel de confianza del 95% (PMTC, por siglas en inglés).

*Nota***.** Esta tabla muestra los principales índices ecotóxicos ensayados en ecotoxicología, Tomado de: Castillo (18). *Instituto Mexicano de Tecnología Del Agua–IMTA* 2004.

2.2. Antecedentes de investigación

2.2.1. Análisis de tesis

Córdova (22) evaluó dos marcas comerciales de enjuague bucal (Dento y Listerine) en cuatro concentraciones de 3,40; 3,60; 3,80 y 4,00 ml/L como agentes ecotoxicológicos agudos sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris", medido como porcentaje de mortalidad y concentración letal media (CL_{50}), a las 24 y 48 horas de exposición. Los resultados determinan que el porcentaje de mortalidad fue mayor en Dento ($p<0,05$), en comparación con Listerine y el blanco, se observó que la mortalidad se incrementa con el incremento de la concentración ($p<0,05$). Cabe señalar que el enjuague bucal Listerine no generó mortalidades a las concentraciones inicialmente probadas, por lo que fue necesario probar concentraciones mayores con la finalidad de estimar la concentración letal media (CL_{50}) identificando las concentraciones de 45, 50, 55 y 60 ml/L, en la que se generaron porcentajes de mortalidad diferente ($p<0,05$), a medida que se incrementó la concentración. La concentración letal media (CL_{50}) para el enjuague bucal Dento y Listerine fue de 4,064 ml/L y 56,85 ml/L respectivamente para las 24 horas; y de 3,67 ml/L y 49,78 ml/L respectivamente para las 48 horas,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

mostrando así que la concentración letal media disminuye a medida que el tiempo de exposición se incrementa.

Arenazas (24) utilizo dos especies modelo *Carassius auratus* "Goldfish" y el caracol *Physa venustula*, para la evaluación del efecto ecotoxicológico de contaminantes minero-industriales en el desarrollo embrionario de dichas especies. Concluyendo que el efecto del Cloruro de mercurio frente a la eclosión de embriones de *Carassius auratus* "Goldfish" fue mayor en el grupo control con 94.25 ± 2.29 % y menor en el tratamiento mayor (0.050 mg/L) con 36.72 ± 4.63%, ($p < 0.05$) y que también el detergente doméstico genero mortalidad moderada en *Physa venustula* en los tratamientos de 25 y 50 mg/L.

Sanchez, (26) evaluó la ecotoxicidad y riesgo ambiental de dos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), Diclofenaco (DFC) e Ibuprofeno (IBU), ambos de masivo uso y de venta libre en el Perú, sobre una batería multitrófica compuesta por tres bioindicadores: pulga de agua (*Daphnia magna*), lenteja de agua (*Lemna gibba*) y pez tetra neón (*Paracheirodon innesi*), con la finalidad de proponer estándares de calidad ambiental en la categoría de conservación del ambiente acuático. El diclofenaco presentó mayor grado de toxicidad que el ibuprofeno en los tres modelos biológicos empleados. Sin embargo, de acuerdo al Coeficiente de Riesgo el diclofenaco solo generó riesgo ambiental para las plantas menores. En el caso del ibuprofeno, el riesgo fue mucho mayor al abarcar los tres niveles tróficos evaluados: zooplancton, plantas acuáticas y peces menores.

Cermeño (29) expone tres tratamientos de dilución de agua residual del Parque Industrial de Rio Seco en Arequipa (PIRS), 3 y 6 y 9% y un grupo control con agua declorinada al organismo modelo *Poecilia reticulata* "Guppy" y evaluó índices y frecuencias de las alteraciones histológicas en hígado, branquias y musculo estriado esquelético. La caracterización fisicoquímica del agua residual, determino que, 05 parámetros excedieron el Estándar de Calidad de Agua (ECA cat. 3, D.S. N° 004-2017-MINAM): Conductividad, DBO_5, DQO, Cloruro y Sulfatos, además de una disminución del Oxígeno disuelto (OD). Los inorgánicos que excedieron el ECA de agua, fueron 06 elementos: Al, B, Cr (total), Mn, Pb y Se, estableciendo que se trata de un cuerpo de agua nocivo y de elevada contaminación Los daños histológicos en *Poecilia reticulata* "Guppy" fueron variados en las distintas muestras, y con mayor intensidad en el tratamiento de 9%

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

de dilución. En mayor número a nivel de branquias con 9 alteraciones, en hígado con 6, y en el músculo estriado esquelético se determinó el menor número e intensidad de daños histológicos. Los índices y frecuencias de evaluación histopatológica cuantitativa solo se determinaron en hígado y branquias, las alteraciones con mayor frecuencia en hígado fueron degeneración grasa del tipo III (90%) y profusión y dilatación de vasos sanguíneos (80%) y con relación a las branquias, la fusión de laminillas y descamación epitelial son las alteraciones más frecuentes con 100% y 90% respectivamente. Las branquias se constituyeron como el órgano con mayor daño en *Poecilia reticulata* "Guppy" seguido del hígado y musculo estriado esquelético, por efecto de la exposición al agua residual del PIRS.

Silva, (30), evaluó el efecto ecotóxico e histológico de 05 tratamientos de sedimentos totales y elutriados (control, 12.5, 25, 50 y 100%) en organismos modelo Daphnia magna (mortalidad) y *Poecilia reticulata* (hipoactividad) respectivamente de muestras de dos sectores del río Chili (Arequipa), siendo el punto ST-01 ubicado aguas arriba del puente de Tingo y el punto ST-02 ubicado aguas abajo del puente de Tiabaya. La caracterización fisicoquímica del sedimento determino que, la materia orgánica es elevada, el cobre y el arsénico exceden los valores establecidos en la Línea Guía sobre la Calidad de Sedimentos para la Protección de Vida Acuática de las Directrices Canadienses de Calidad Ambiental (CEQG), siendo el sector ST-02 (aguas abajo del puente de Tiabaya), el que registro los más altos valores para ambos metales. Los daños histológicos en Poecilia reticulata, fueron variados en las distintas muestras, los de mayor intensidad fueron evidenciados en el tratamiento de 100% de elutriados de sedimento del sector ST-02. En hígado se evidencio vesiculación (esteatosis) o acumulación grasa, a nivel de branquias se presentó ruptura parcial del epitelio laminar. Se le considera al sector ST-02 (Tiabaya) del río Chili que contiene sedimentos tóxicos peligrosos y de consecuencias subletales y letales para organismos acuáticos.

2.2.2. Análisis de trabajos de investigación

Iannacone et al. (20) evaluaron los efectos ecotoxicológicos del Cartap sobre *Poecilia reticulata* ''Guppy'' y *Paracheirodon innesi* ''Neon Tetra'' (Characidae) en el cual se determinó el impacto ecotoxicológico del insecticida

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

carbámico Cartap usado para el control de plagas agrícolas y como molusquicida de vectores de importancia en Salud Pública, sobre dos especies de peces del ecosistema acuático continental: *Poecilia reticulata* (Peters 1859) ‘‘Guppy” (Poecilidae) y *Paracheirodon innesi* (Myers 1936) ‘‘Neon Tetra” (Characidae). Donde obtuvo como resultado que a 3 h de exposición para *P. reticulata*, se encontró un valor de CL_{50} de 6,75 mg /L y valores de CE_{50} de 7,55 y < 8,16 mg/L para el incremento del movimiento opercular y nado extraño, respectivamente.

Iannacone y Alvariño (21) evaluaron el efecto ecotoxicológico agudo de siete productos farmacéuticos ampliamente usados en el Perú: cuatro antimicrobianos (Amoxicilina, Ciprofloxacino y Trimetoprima + Sulfametoxazol), dos analgésicos (Ibuprofeno y Paracetamol), y un sedativo (Diazepan) sobre la pulga del agua *Daphnia magna* Strauss, 1820 (Crustacea: Daphniidae), y su relación con las principales características fisicoquímicas y de relación de componentes de la molécula, y a partir de estos resultados evaluar su riesgo ambiental acuático y determinaron la siguiente secuencia de ecotoxicidad decreciente en términos de CL_{50} (mg·L-1) a 96 h de exposición sobre *D. magna*: diazepan (17,1) > paracetamol (62.3) > ibuprofeno (175) > ciprofloxacino (230.6) > trimetoprima (296) > sulfametoxazol (1480) > amoxicilina (6950), concluyendo que la ecotoxicidad potencial del diazepan ocasionó el mayor riesgo en el ambiente acuático. En cambio, a través del cociente de riesgo solo el paracetamol produjo riesgo en el ambiente acuático.

Hernández et al. (23) determinaron el riesgo ecotoxicológico de 8 antibacterianos en *Artemia salina* L. y *Physa cubensis*. En el ensayo de *Artemia salina* la Ceftazidima se clasifico como muy tóxico con valor de CL_{50} de 0,060773 g/L, la Cefepima con valor de 0,993731 g/L como moderadamente tóxica y el resto de los antibacterianos evaluados se clasificaron como no tóxicos. En los bioensayos en *Physa cubensis* Cefepima y Cefazolina ocasionaron la mayor mortalidad con CL_{50} de 0,000270 y 0,025684 g/L respectivamente y los que indujeron menor mortalidad fueron Vancomicina y Amoxicilina/Sulbactam con CL_{50} de 1,528440 y 1,055492 g/L. Concluyendo que el vertimiento de residuos de antibacterianos puede ser causa de contaminación ambiental perjudicial para algunas especies.

Cortez et al. (25) evaluaron los efectos ecotoxicológicos del Losartán sobre el mejillón *Perna perna* y su presencia en agua de mar de la Bahía de Santos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

(Brasil)y cuantificaron que el farmacéutico se presentaba en el 100% de las muestras de agua de superficie y de fondo de la Bahía de Santos en un rango de 0,295 a 8,70 ng/L. Los efectos adversos del antihipertensivo Losartán sobre los parámetros reproductivos del mejillón marrón *Perna perna* se detectaron en concentraciones más altas (mg/L) después de una exposición a corto plazo. A pesar de la alta relevancia ecológica de estos puntos finales, no se esperan en escenarios realistas de ecosistemas acuáticos. Sin embargo, se indujeron sistemas de desintoxicación y antioxidantes después de la exposición a concentraciones que oscilaban entre ng/L y µg/L, como efectos citogenotóxicos en las branquias y la hemolinfa del mejillón en estudio.

Adams et al. (27) evaluaron la ecotoxicidad y genotoxicidad de Losartán (LOS) antes y después del tratamiento mediante UVC/fotólisis y UV/H_2O_2. Las fotodegradaciones se llevaron a cabo en soluciones de LOS (2,5 mg L-1; 4,6 µM) durante 30, 60, 90, 120, 240 y 480 min de tratamiento. Realizaron un análisis cromatográfico, donde las muestras se sometieron a extracción en fase sólida (SPE) y se analizaron mediante HPLC-DAD. Los bioensayos de ecotoxicidad se implementaron en *Daphnia magna* (aguda) y *Desmodesmus subspicatus* (crónica) para todos los tiempos de degradación. En la evaluación de la genotoxicidad, el ensayo del cometa se realizó con una suspensión de células de organismo completo de *D. magna* aplicando la técnica de electroforesis en gel alcalino. Para ambos procesos, la tasa de degradación fue superior al 99% a los 30 minutos, lo que redujo la toxicidad aguda de LOS para *D. magna*. Además, sólo la muestra tratada a los 240 min con UV/H_2O_2 mostró toxicidad crónica y aguda significativa. Sin embargo, el efecto de genotoxicidad se observó en las muestras tratadas con LOS antes del tratamiento y a los 480 min con UV/H_2O_2.

Reque et al. (28) evaluaron la ecotoxicidad de Losartán en organismos acuáticos de distintos niveles tróficos (*Desmodesmus subspicatus*, *Daphnia magna* y el pez *Astyanax altiparanae*). La genotoxicidad se evaluó mediante el ensayo del cometa en *D. magna* y *A. altiparanae*, y biomarcadores bioquímicos para los peces. Losartán fue más tóxico para *D. subspicatus* ($CE_{50\text{-}72\,h}$ = 27,93 mg/L) que para *D. magna* (CE_{50} = 303,69 mg/L). Posteriormente, este fármaco demostró inducir más daño en el ADN en *D. magna* que en *A. altiparanae*, cuando se expuso a 2,5 mg/L. Los biomarcadores de peces no expresaron respuestas de estrés significativas, lo

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

que sugiere que los organismos con niveles tróficos más altos son más tolerantes a la toxicidad del fármaco. Losartán mostró un potencial tóxico relativamente bajo durante un corto período de exposición, pero con diferentes patrones de toxicidad para los organismos de distintos niveles tróficos, lo que contribuyó a una mayor evaluación del riesgo.

Pusceddu et al. (4) evaluaron los efectos biológicos del fármaco antihipertensivo Losartán sobre organismos marinos en diferentes niveles de la organización biológica en agua y sedimentos bajo escenarios de acidificación de los océanos costeros. Recolectaron muestras de agua y sedimentos en cinco sitios alrededor del Emisario Submarino de Aguas Residuales (SSO) de Santos y dos sitios alrededor del Emisario Submarino de Aguas Residuales (GSO) de Guaruj´a (Brasil). Encontraron concentraciones Losartán que oscilaban entre <LOD y 7,63 ng/L en agua y entre <LOQ y 3,10 ng/g en sedimentos. El análisis estadístico mostró efectos interactivos del pH y Losartán en los resultados de toxicidad. La prueba de toxicidad del agua con embriones/larvas de *Echinometra lucunter* mostró LOEC de 50 a 100 mg/L, con valores que disminuyeron a medida que descendía el pH. En los ensayos de sedimentos, el valor LOEC para el desarrollo embrionario-larval de erizo de mar fue de 1,0 µg/g para todos los pH analizados. En cuanto a los ensayos de estabilidad de la membrana lisosomal con bivalvos adultos, se encontró un LOEC de 3000 ng/L para *Perna perna* en exposición al agua (tanto a pH 8,0 como a 7,6). Observaron efectos en *Mytella guyanensis* en concentraciones ambientalmente relevantes en el sedimento (LOEC = 3 ng/g a pH 8,0 y 7,6). Este estudio demostró que la acidificación de los océanos costeros por sí sola causa efectos en los invertebrados marinos, pero también puede aumentar los efectos negativos del Losartán en la exposición a través del agua.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO III

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Localización y Materiales

3.1.1. Localización del trabajo

3.1.1.1. Espacial

La investigación se realizó en la ciudad de Arequipa, en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María, específicamente en el laboratorio de investigación de servicios múltiples del pabellón E (cuarto piso) y laboratorios H (tercer piso).

3.1.1.2. Temporal

La investigación tuvo una duración de seis meses, iniciando en el mes junio hasta diciembre del año 2024.

3.1.2. Material biológico

La población de estudio estuvo constituida por 28 individuos del organismo modelo *Danio rerio "pez cebra"* sanos de dos meses de edad y de alrededor de 3 cm de longitud.

3.1.3. Materiales de laboratorio

A) Material físico:

- Guantes de látex
- Gorros desechables
- Mascarillas
- Lápiz marcador de cera
- Gradillas
- Papel toalla
- Rollo film
- Pinzas
- Bisturí
- Placas petri de vidrio
- Tubos eppendorf 1.5 mL
- Micropipeta (10 uL, 100 uL, 1000 uL)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

- Puntas para micropipeta con filtro - Rack 96 (10 uL, 100 uL, 1000 uL)
- Botellas de 1L
- 5 Peceras de vidrio 3.5 L
- Sonda/manguera para filtro
- Filtros esponja
- Termostatos de 25W
- Motor eléctrico de acuario con filtro
- Frascos plásticos de 100 mL

B) Reactivos:

- Formol al 10% (500 mL)
- Fármaco Losartán
- Alcohol etílico (70%)
- Hipoclorito de sodio (5%)
- Agua destilada

3.1.4. Equipos

- Estereoscopio con cámara fotográfica
- Microscopio óptico de campo claro con cámara fotográfica
- Refrigerador y/o conservador

3.1.5. Materiales digitales

- Laptop
- Cámara fotográfica

3.1.6. Otros materiales

- Fichas de registro
- Libreta de anotaciones

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.2. Métodos

3.2.1. Muestreo

3.2.1.1. Universo

Corresponde a los 28 individuos juveniles del pez cebra *Danio rerio* de dos meses de edad y 3 cm aproximadamente de longitud.

3.2.1.2. Tamaño de muestra

Para la evaluación histopatológica se consideraron a la totalidad de organismos modelo que fueron sometidos a las distintas concentraciones de Losartán

3.2.1.3. Procedimiento de muestreo

Siendo una investigación del tipo experimental, todos los especímenes fueron tomados en cuenta y eutanizados posteriormente cumpliendo los procedimientos éticos (Anexo 14) luego de cumplir el tiempo de exposición al fármaco Losartán (96 horas).

3.2.2. Métodos de evaluación

3.2.2.1. Metodología de la experimentación

a) Bioensayos de ecotoxicidad con *Danio rerio* "pez cebra"

La evaluación ecotóxica corresponde a una exposición aguda (96 hrs) de los especímenes de *Danio rerio* al fármaco antihipertensivo Losartán, los 28 machos juveniles fueron ambientados previamente (dos semanas) en una pecera de vidrio de 3000 cm^3 bajo las condiciones de temperatura ambiente a 21 °C, y 14/10 horas de luz y oscuridad respectivamente, y alimentados con nauplios de *Artemia salina* diariamente y dos días antes del inicio de la experimentación se les suprimió el alimento, posteriormente fueron sometidos a las diferentes concentraciones (25, 50 y 100 mg/L) del fármaco Losartán y un control negativo con agua declorinada (método de exposición por 07 días) en peceras experimentales de vidrio de 3.5 L y cada una de ellas con 7 especímenes. La temperatura ambiental del ensayo fue de 21°C, y el agua con un pH de 6.8, de acuerdo a la guía de la Organization for Economic Cooperation and Development OCDE (31). Diariamente se registró la mortalidad (ausencia de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

movimiento durante 15 segundos de observación), y otros efectos subletales o signos clínicos (hipoactividad, hiperventilación, distribución anormal, reacción anormal, gulping, pigmentación pálida, edema, agresión) en los organismos (Tabla 2, Anexo 1), luego al final del ensayo de toxicidad aguda (96 hrs) se determinaron índices ecotóxicos como la concentración efectiva media CE_{50}, graficando los datos (concentración vs. % de efecto) y luego se trazó una curva sigmoide (log-concentración vs. respuesta) y finalmente se ajustó de acuerdo al modelo log-logístico o Probit. Se ensayaron las pruebas de hipótesis (ANOVA y Tuckey Test) y se compararon los resultados entre cada tratamiento con el control, siendo el menor tratamiento con diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) respecto al control la *concentración más baja de efectos observables* (LOEC), seguido y bajo el mismo procesamiento anterior, se determina que la máxima concentración que no presenta diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) con respecto al control o la *concentración de efectos no observables* (NOEC).

b) Evaluación histológica

Al finalizar los ensayos de toxicidad aguda, todos los organismos se eutanizaron por hipotermia siguiendo el método de enfriamiento rápido (Rapid chilling) aprobado por American Veterinary Medical Association (39), luego se procedió a tomar al azar tres especímenes del pez cebra y se extrajo el hígado, se lavó y fijó en frascos de 100 mL con formol al 10% y posteriormente se ensayó la técnica histológica de rutina (H/E) para obtener 05 láminas histológicas del órgano para su observación y caracterización de daños provocados por las diferentes dosis del fármaco Losartán a nivel celular e histológico (10X y 40X), para la observación se utilizó un microscopio de campo claro marca Motic® con cámara fotográfica incorporada.

c) Determinación de índices de evaluación histopatológica cuantitativa

Las lesiones encontradas en el tejido hepático se clasificaron de acuerdo a la metodología de Bernet et al. (33), la cual está basada en cinco reacciones patrón (Tabla 3) que incluyen varias alteraciones.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Tabla 2

Signos clínicos observados en peces cebra por efecto de diferentes concentraciones del antihipertensivo Losartán

Signo clínico	Definición
Pérdida del equilibrio	
Orientación horizontal anormal	Pérdida de equilibrio que se muestra como orientación/postura horizontal anormal en la columna de agua.
Orientación vertical anormal	Postura cabeza arriba o cabeza abajo.
Pérdida del control de flotabilidad	Flotando en la superficie o hundiéndose hasta el fondo.
Comportamiento anormal de natación	
Hipoactividad	Disminución de la actividad espontánea.
Distribución anormal en la superficie	Selección de profundidad anormal, cerca de la interfaz agua/aire.
Distribución anormal en el fondo	Selección de profundidad anormal, cerca de la base del tanque
Alta reacción ante estímulos	Huida (sobresalto) o respuesta de evitación a: visual (mano pasando por encima del tanque, haz de luz), táctil (toque) o estímulo de vibración (el tanque golpea ligeramente).
Baja reacción ante estímulos	
Aislamiento social	Los peces individuales muestran pérdida de agregación e interacciones sociales.
Función ventilatoria anormal	
Ventilación irregular	Movimientos ventilatorios operculares irregulares.
Acción de tragar (Gulping)	Movimientos bucales (y operculares) en la superficie del agua, lo que resulta en la ingesta de agua y aire.
Pigmentación anormal	
Pigmentación pálida	Despigmentación del cuerpo.
Otras anormalidades visibles	
Edema	Hinchazón abdominal por acumulación de líquido. Puede causar escamas protuberantes y/o fisuras en la pared abdominal.
Hemorragia	Petequias (manchas del tamaño de la cabeza de un alfiler) y/o hematoma (área de sangre) debido a sangrado intradérmico o submucoso.
Agresión / canibalismo	Ataque directo, picotear o comer cuerpos de peces muertos.

Nota. Tabla que muestra los 15 signos subletales para peces Tomado de OCDE (31) 2023

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Tabla 3

Clasificación de reacciones patrón (rp) de los cambios patológicos en tejido para la evaluación histopatológica en contaminación acuática

Reacción patrón (rp)	Cambio patológico
Disturbios circulatorios	Condiciones patológicas del flujo sanguíneo y fluido tisular
Cambios regresivos.	Procesos que terminan en una reducción funcional o pérdida de un órgano por hipofunción de células y tejidos
Cambios progresivos.	Procesos que conducen a una incrementada actividad celular o tisular
Inflamación	Debido a que está asociada a otras reacciones patrón, se usará solo en exudado, activación de RES e infiltración
Tumor (neoplasia)	Proliferación celular y tisular descontrolada

Nota. Tabla tomada de Bernet et al. (33) *J. Fish. Dis*. 1999

De acuerdo a Bernet et al. (33), cada lesión identificada y clasificada como una reacción patrón (**rp**) en el tejido, fue evaluada de acuerdo a dos factores: 1) la extensión del cambio patológico o alteración que es medido con un valor score (Tabla 4), y 2) la importancia patológica de esa alteración que es definida como un factor de importancia (Tabla 5). Estos dos factores obtenidos se multiplicaron y el producto representa el índice de una alteración en un tejido. La suma de todos los índices de alteración en un tejido resulta en un índice de tejido para cada pez y este fue usado para compararlo con otros índices de tejido obtenidos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Tabla 4

Valor del score (a) en el grado de extensión lesional para la evaluación histopatológica en contaminación acuática.

Score (a)	Grado de lesión	Extensión en la sección de corte a 40X
0	Ausencia	Sin cambio
2	Leve	Presencia hasta 30%
4	Moderada	Presencia de 31 - 60%
6	Severa	Presencia difusa o más de 61%

Nota. Tabla modificada y tomada de Bernet et al. (33) *J. Fish. Dis*. 1999

Tabla 5

Factor de importancia (w) empleado para la evaluación histopatológica en contaminación acuática

Factor de importancia (w)	Importancia patológica
1	Mínima importancia patológica, la lesión es fácilmente reversible cuando la exposición al irritante acaba.
2	Moderada importancia patológica, la lesión es reversible en muchos casos si el estresor es neutralizado.
3	Marcada importancia patológica, la lesión es generalmente irreversible, conduciendo a una pérdida parcial o total de la función del órgano.

Nota. Tabla tomada de Rosenthal et al. (34) *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2013*.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Con respecto a la clasificación de los grados de degeneración grasa en tejido hepático se adoptó lo descrito por Rosenthal et al. (34) (Tabla 6).

Tabla 6

Grados de degeneración grasa en tejido hepático

Grado	Severidad	Extensión
0	Ausencia de vacuolas (imágenes negativas de la grasa) de bordes definidos en el citoplasma	Ninguna
I	Escasa presencia de microvacuolas predominantemente de borde definido (se mantiene la arquitectura del hepatocito).	Multifocal, hasta el 25% de toda la muestra/campo.
II	Leve presencia de micro y/o macrovacuolas de borde definido con mayor compromiso de las células hepáticas.	Multifocal, de 25 - 50% aproximadamente de toda la muestra/campo.
III	Moderada presencia de micro y macrovacuolas de borde definido, núcleo ligeramente desplazado con ligera distorsión de la arquitectura del hepatocito.	Difuso, de 50 - 75% aproximadamente de toda la muestra/campo.
IV	Severa presencia de macrovacuolas dentro del citoplasma del hepatocito, núcleo aplanado y ligeramente ovalado. Perdida de la citoarquitectura de los hepatocitos y se encuentran muy unidos entre sí.	Difuso, de 75 - 100% aproximadamente de toda la muestra/campo.

Nota. Tabla tomada de Bernet et al. (33), modificado por Rosenthal et al. (34). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2013

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.2.2.2. Recopilación de la información

a. En el campo

Los organismos de prueba se obtuvieron del acuario Santillana del distrito de Characato de la ciudad de Arequipa.

b. En el laboratorio

Ficha de recolección de datos de efectos subletales, extracción de hígado de los especímenes y posterior evaluación histológica de rutina.

c. En la biblioteca

Se llevó a cabo una recopilación continua de información bibliográfica, incluyendo el estado del arte, así como la correcta citación de las fuentes primarias y secundarias consultadas.

d. En otros ambientes generadores de la información científica

Se recopiló información proveniente de diversas fuentes, incluyendo páginas web de revistas y bases de datos indexadas

3.3. Variables de respuesta

3.3.1. Variables independientes

Concentraciones del fármaco antihipertensivo Losartán: 0, 25, 50 y 100 mg/L

3.3.2. Variables dependientes

Efectos letales (mortalidad) Efectos subletales, concentración efectiva/letal media CE_{50}, LOEC, NOEC, alteraciones histológicas e índices histopatológicos cuantitativos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.3.3. Operacionalización de variables

Tabla 7

Dimensión e indicadores de las de variables

VARIABLES	DIMENSION	INDICADORES
INDEPENDIENTE	Concentraciones del fármaco antihipertensivo Losartán	0, 25, 50 y 100 mg/L
DEPENDIENTE	- Modelo biológico: *Danio rerio*	N° de individuos
	- Efectos letales (mortalidad)	(%)
	- Efectos subletales	(%)
	- Concentración efectiva/letal media CE_{50}	mg/L
	- LOEC	mg/L
	- NOEC	mg/L
	- Alteraciones histológicas	unidades
	- Índices histopatológicos cuantitativos	unidades

3.4. Evaluación estadística

3.4.1. Diseño Experimental

Corresponde a un diseño de bloques completamente randomizado (DBCR) con cuatro unidades experimentales y siete individuos en cada una de ellas.

3.4.1.1. Unidades experimentales

Cada pez evaluado y muestreado fue tratado como una unidad experimental

3.4.1.2. Análisis estadístico

En todos los ensayos con las diversas concentraciones del fármaco antihipertensivo Losartán y el grupo control, nos expresaron los porcentajes de mortandad y efectos subletales en los organismos (signos clínicos), a las 96 horas de exposición. Cabe resaltar que solo dos efectos subletales (hipoactividad e hiperventilación) fueron monitoreados

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

diariamente hasta las 96 h, de acuerdo a los tiempos de evaluación establecidos en el Anexo 1, los demás efectos fueron considerados solo al final de la exposición aguda.

Para evaluar el supuesto de normalidad de los datos se realizaron pruebas de Shapiro-Wilk. Para evaluar las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se realizaron Análisis de Varianza de dos vías (ANOVA) o la prueba de Friedman según corresponda, seguida de la prueba a posteriori de Tukey (α = 0,05) para ver diferencias entre tratamientos. El análisis para cada grupo de resultados obtenidos a partir de cada bioensayo y la determinación de la CE_{50}, LOEC, NOEC, y su intervalo de confianza fue calculado mediante el modelo estadístico Probit, a través del programa IBM SPSS Statistics 23. Los límites de confianza estadísticos fueron al 95% y para la generación de los grafico se utilizó el programa Sigma Plot 14 (versión académica).

3.4.1.3. Análisis de significancia

El nivel de significancia para las pruebas estadísticas fue de α =0,05.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO IV

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

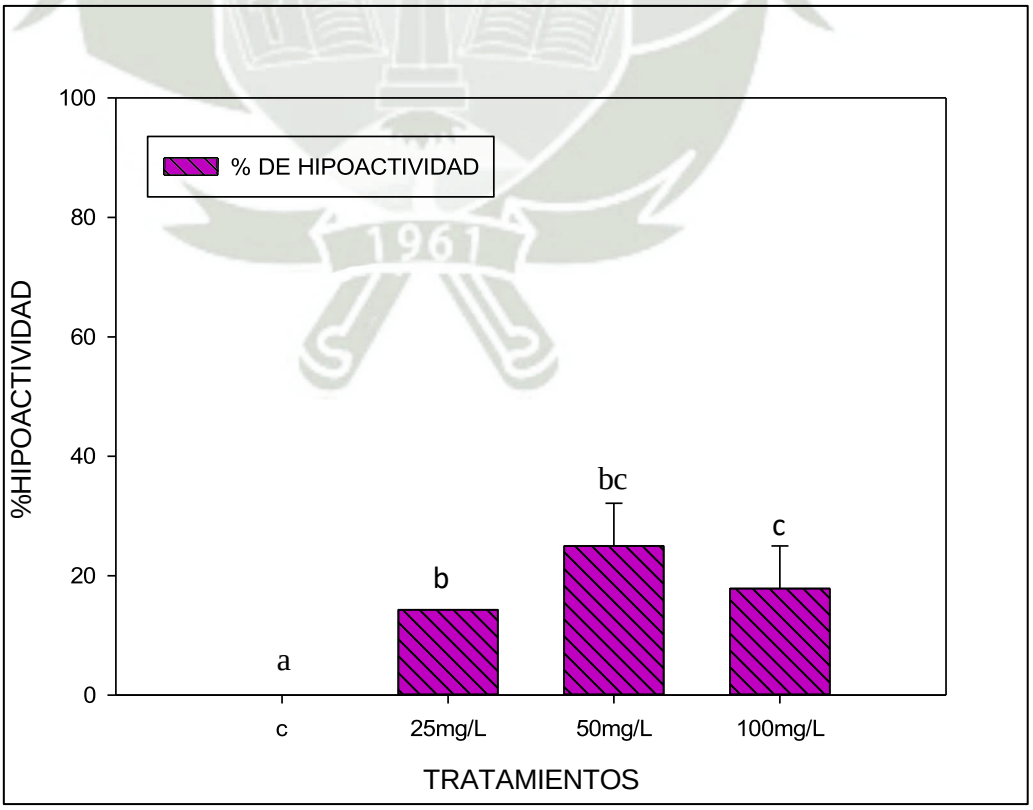
Los resultados de las distintas evaluaciones se muestran en figuras y tablas con los efectos respectivos, cabe resaltar que la mortalidad en la experimentación no se presentó en ninguno de los tratamientos, pero si se evidenciaron efectos subletales o signos clínicos como hipoactividad, hiperventilación (ventilaciones/min), distribución anormal, reacción anormal, gulping, pigmentación pálida, edema, agresión en los organismos de *Danio rerio.*

4.1.1. Bioensayo de ecotoxicidad con *Danio rerio*

En la Figura 3 se observa el porcentaje de hipoactividad destacando que el efecto se presentó en todas las concentraciones, sin embargo, el mayor porcentaje lo expresaron los organismos con la concentración de 50 mg/L (25.00 ± 7.14 %).

Figura 3

Efecto subletal de hipoactividad con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en Danio rerio



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

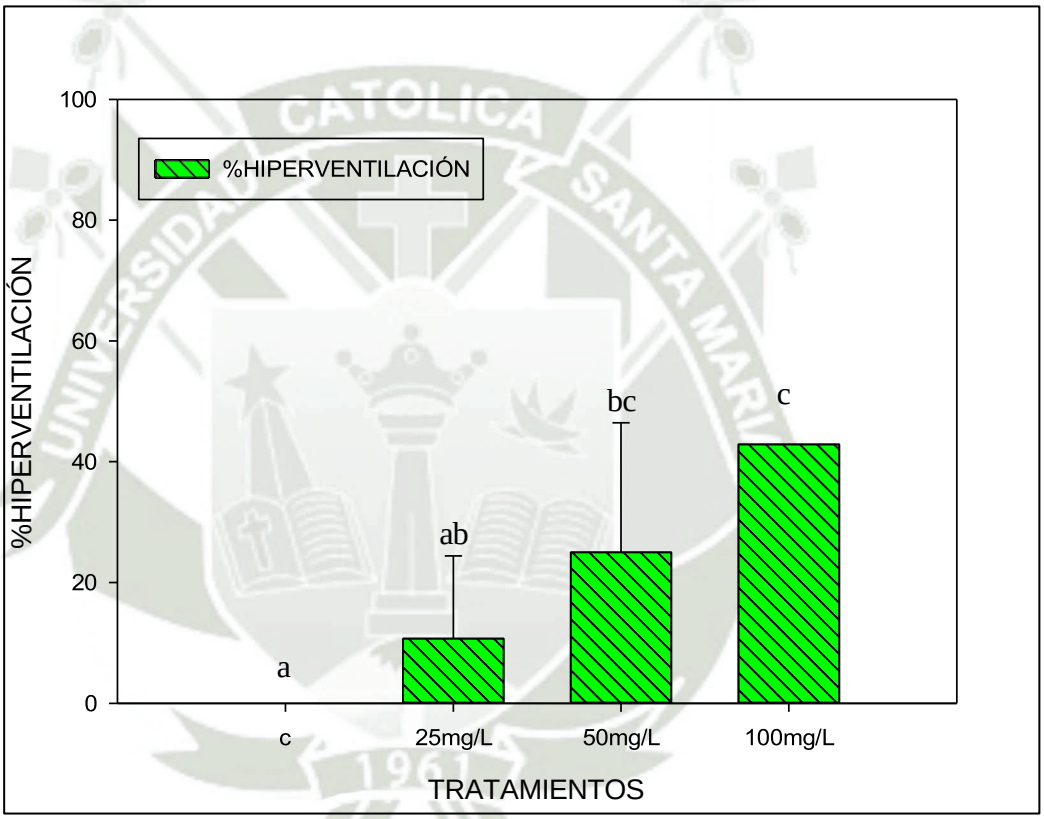
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

La Figura 4 muestra el porcentaje de ventilación irregular, efecto que se pudo observar también en todos los tratamientos, destacando el tratamiento mayor de 100 mg/L de Losartán con un 42.86 ± 0.00 % de organismos con dicho efecto, valor más alto en comparación con los demás tratamientos.

Figura 4

Efecto subletal de hiperventilación con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en Danio rerio



En la Tabla 8, se observan los valores estadísticos de los efectos subletales (hipoactividad y ventilación irregular) analizados en *Danio rerio*, donde se evidencia que existe diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) en las dos variables evaluadas, además en todas las concentraciones de Losartán se presentaron los efectos, pero en el caso de hipoactividad la concentración de 50 mg/L fue la que obtuvo el mayor porcentaje, mientras que en el caso de ventilación irregular lo presento la concentración mayor con 100 mg/L. La concentración más baja donde se observan efectos (LOEC) fue de 25 mg/L del fármaco para las dos variables. La CE_{50} no se pudo determinar ya que en ningún caso el efecto resulto en más del 50% de individuos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Tabla 8

Efectos subletales en Danio rerio durante la exposición aguda (96 h) de diferentes concentraciones de Losartán

	Danio rerio			
	VARIABLES			
LOSARTAN mg/L	**% HIPOACTIVIDAD**		**% HIPERVENTILACIÓN**	
	VALOR (+/- DE)	**Sig.**	**VALOR (+/- DE)**	**Sig.**
0	0.00 ± 0.00	a	0.00 ± 0.00	a
25	14.29 ± 0.00	b	10.71 ± 13.68	ab
50	25.00 ± 7.14	bc	25.00 ± 21.43	bc
100	17.86 ± 7.14	c	42.86 ± 0.00	c
NOEC	<25		<25	
LOEC	25		25	
CE_{50}	ND		ND	
SW	0.82		0.74	
Sig.	0.05		0.00	
Friedman	--		10.09	
Sig.	--		0.02	
F	19.50		--	
Sig.	0.00		--	

Sig.: significancia estadística; h=horas; DE: desviación estándar. Las letras que figuran en minúscula para cada columna representan la variación en la significación entre las variables de los tratamientos (prueba de Tukey p<0,05). NOEC: concentración en la que no se observa efecto; LOEC: concentración más baja en la que se observa efecto; CE_{50}= concentración efectiva media; ND: valor no determinado. SW: prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. F: estadístico de Fisher del Anova.

La Figura 5 muestra otros efectos subletales evaluados en los peces cebra solo al finalizar la experimentación (96 h) tales como: distribución anormal, reacción anormal, gulping, pigmentación pálida, presencia de edemas y agresión; se observan respuestas muy variadas de los efectos en los organismos en las distintas concentraciones del fármaco Losartán. Con respecto a la distribución anormal solo se presentó en la concentración de 50 mg/L (57.4 %), en cambio la reacción anormal (sobresaltos, respuestas de evitación táctil o estímulo de vibración al golpe de las peceras) se incrementó proporcionalmente a las concentraciones evaluadas, situación similar se presentó en el efecto de gulping (movimientos bucales y operculares en la superficie del agua, lo que resulta en la ingesta de agua y aire). La pigmentación pálida (despigmentación del cuerpo) se observó en todas las concentraciones de Losartán, pero en bajo porcentaje (14.29 %). Finalmente, los signos clínicos, edema (hinchazón abdominal por acumulación de líquido) y agresión (ataque directo entre individuos) solo se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

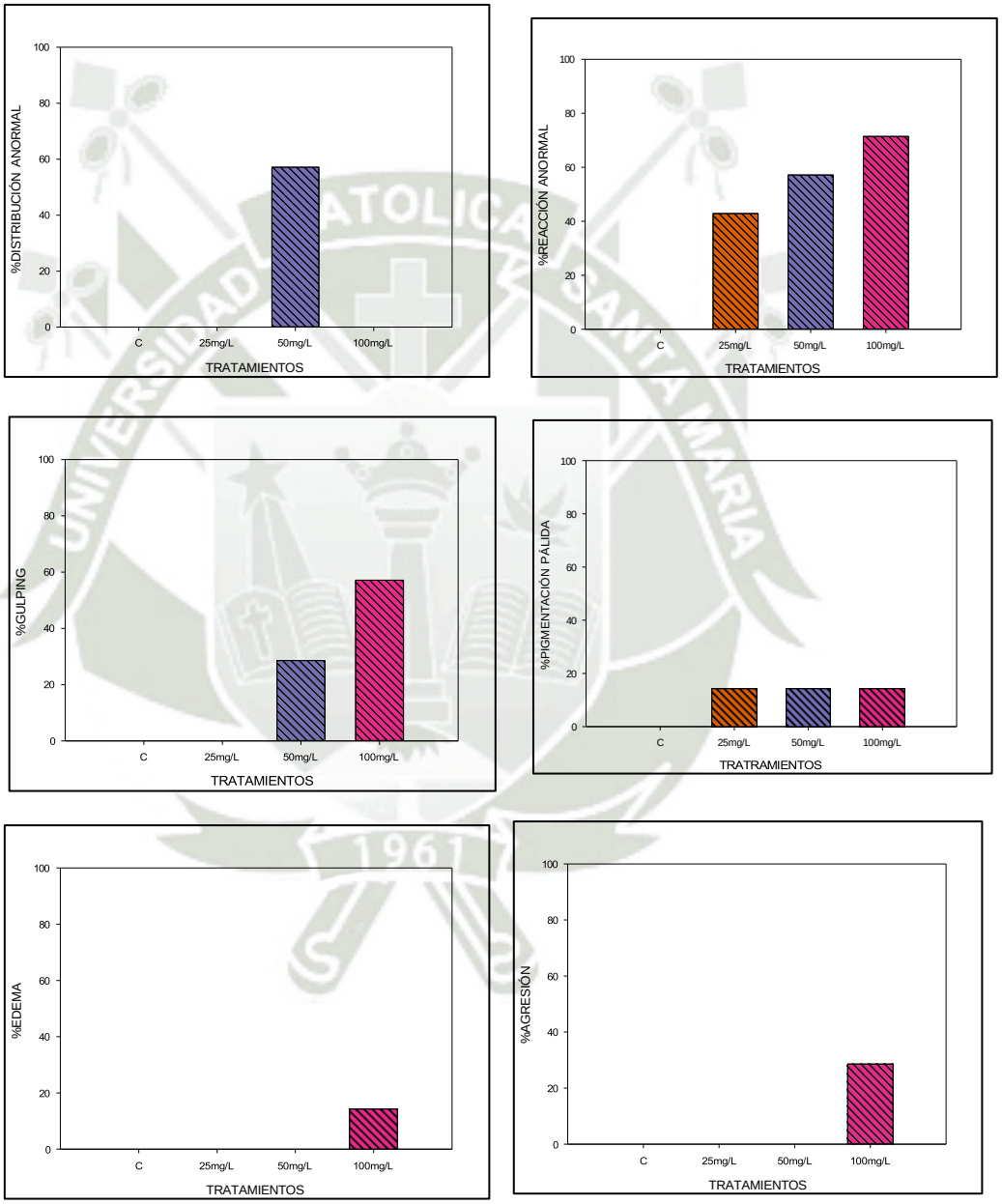
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

presentaron en la concentración más alta (100 mg/L) con 14.29 y 28.57 % respectivamente.

Figura 5

Efectos subletales en Danio rerio a diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h)



En la Figura 6 se observa las ventilaciones irregulares en un minuto en los peces cebra al cumplir las 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de Losartán y un control, se advierte que las ventilaciones (movimientos operculares) se corresponden con la respiración del animal (circulación de agua), y se denota que mientras mayor era la concentración del fármaco, la ventilación era más acelerada

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

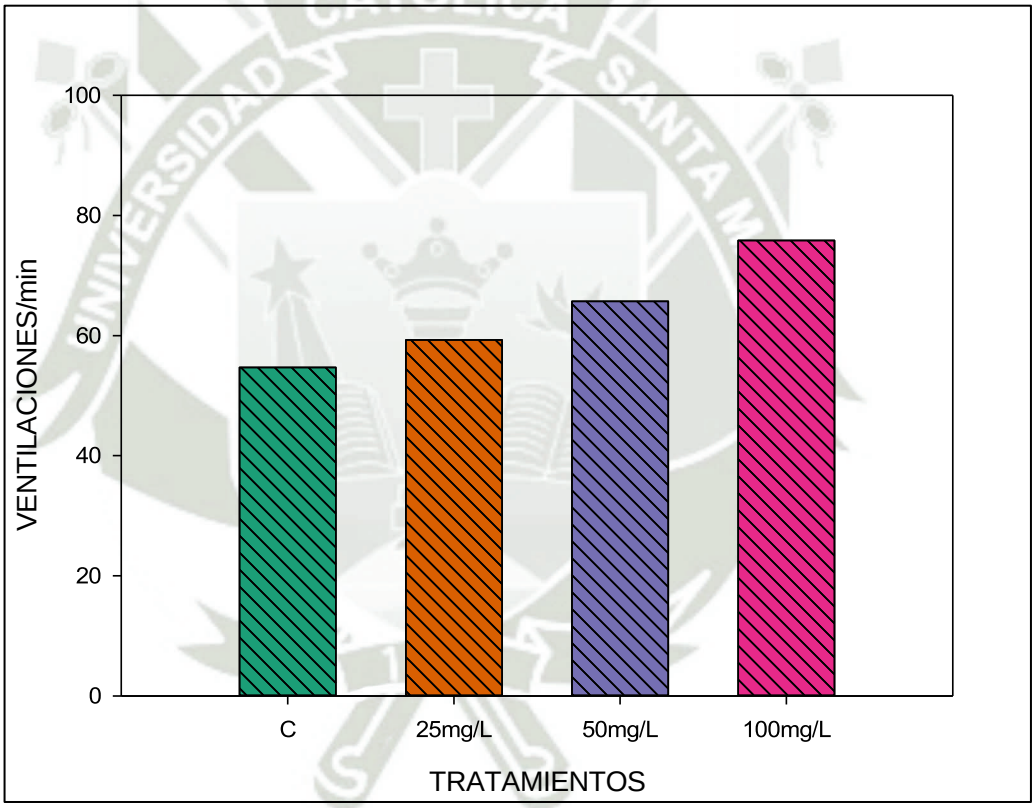
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

llegando a un promedio de 75/min en la mayor concentración (100 mg/L), en contraste con el control que registró 54 /min, y de acuerdo a la evaluación de correlación no paramétrica de Spearman se determinó una fuerte correlación positiva entre las variables: concentraciones de Losartán y ventilaciones/ min (Anexo 8).

Figura 6

Efecto subletal de ventilación irregular (min) con diferentes concentraciones de Losartán durante la exposición aguda (96 h) en Danio rerio



4.1.2. Determinación de las alteraciones histológicas en hígado de *Danio rerio* por efecto del Losartán

En la Figura 7 se muestran los cortes histológicos de hígado del pez cebra, nótese el grupo control (A) que presenta una distribución histológica normal, con hepatocitos y sinusoides conservados. El tratamiento de 25 mg/L (B) se observa la presencia de dilatación de sinusoides; el tratamiento de 50 mg/L muestra visibles alteraciones celulares: vacuolas de grasa (esteatosis), hemorragia y picnosis en algunos núcleos. Por último, el tratamiento con 100 mg/L de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

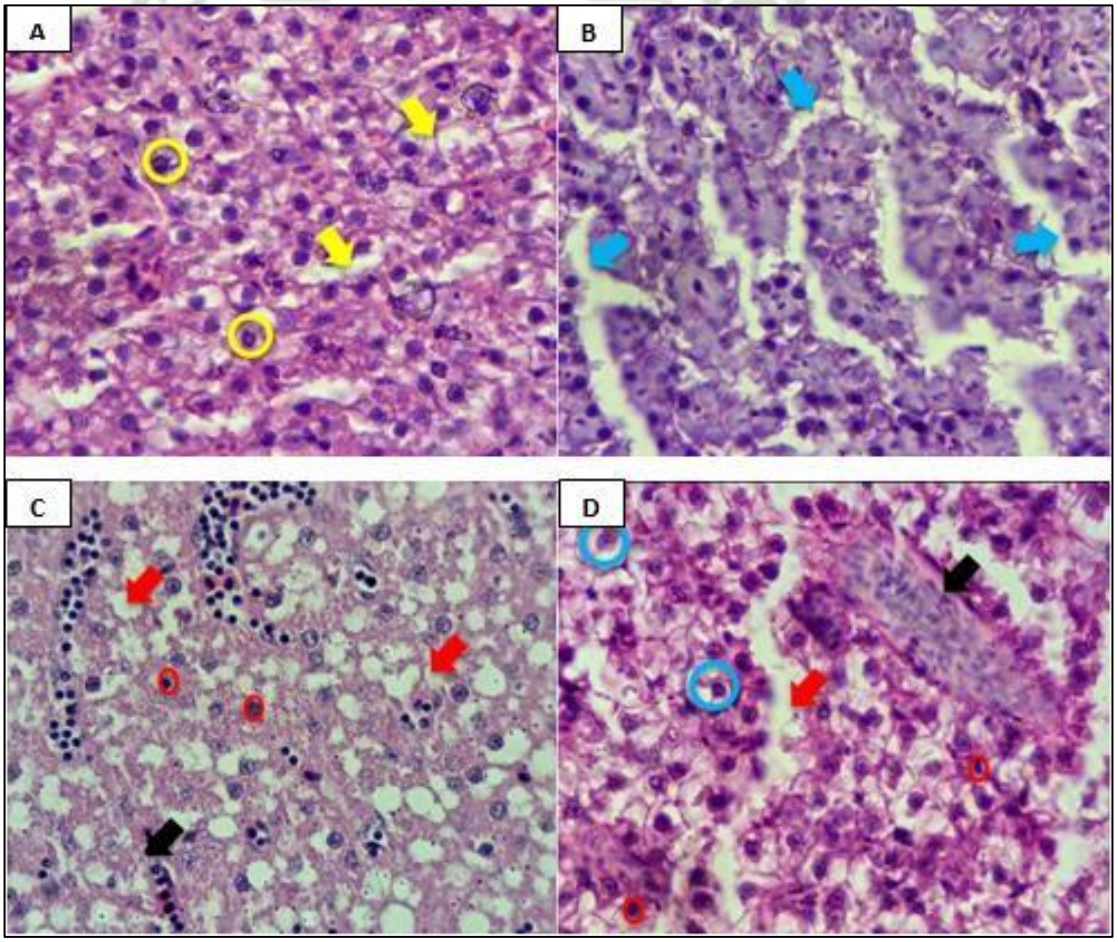
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Losartán resulta ser el que registró mayor variedad de daños histológicos alterando la arquitectura tisular hepática con respecto a los demás, se observa hemorragia, dilatación de sinusoides, núcleos picnóticos, presencia de hepatocitos balonizados y degeneración grasa considerable en el campo de observación.

Figura 7

Histología de hígado de Danio rerio (96 h), A) Grupo control: Sinusoides (flechas amarillas), hepatocitos (círculos amarillos); B) Grupo 25 mg/L: dilatación de sinusoides (flecha celeste); C) Grupo 50 mg/L: cariopicnosis (círculo rojo); hemorragia (flecha negra); vacuolas de grasa (flechas rojas) y D) Grupo 100 mg/L: vacuolas de grasa (flechas rojas), cariopicnosis (círculo rojo), hepatocito balonizado (círculo celeste); hemorragia (flecha negra) (100 X).



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.1.3. Determinación de índices de evaluación de alteraciones histopatológicas cuantitativas en hígado de *Danio rerio* por efecto de la exposición aguda de Losartán (100 mg/L).

De acuerdo a los resultados previos, se logró determinar los índices de evaluación y frecuencia histopatológica cuantitativa para hígado de la concentración que causo daños relevantes en el tejido hepático de *D. rerio*, es decir con 100 mg/L del fármaco, todo ello se resume en la Tabla 9, que nos muestra la magnitud de las alteraciones hepáticas en el pez cebra ocasionadas por la exposición aguda, donde los daños más frecuentes y con un mayor factor de importancia son la dilatación de sinusoides (w=2) y la presencia de vacuolas de grasa (degeneración de grasa) (w=3) con 75 y 60 % de alteración histopatologica cuantitativa respectivamente. La degeneración hidrópica y cariopicnosis presentaron un factor de importancia bajo (w=1) donde en ambos casos las alteraciones registran un 35%, y no se determinó necrosis en el tejido hepático.

Tabla 9

Clasificación de la evaluación histopatológica cuantitativa en hígado de Danio rerio por efecto de exposición aguda de Losartán (100 mg/L)

		Score				Alteraciones	
Reacción patrón (rp)	**w**	**0**	**2**	**4**	**6**	**Total**	**%**
Disturbios circulatorios							
Dilatación de sinusoides	2	5	3	8	4	15/20	75
Cambios regresivos							
Degeneración hidrópica	1	13	2	5	0	7/20	35
Degeneración grasa IV	3	8	2	5	5	12/20	60
Cariopicnosis	1	13	7	0	0	7/20	35
Necrosis	0	20	0	0	0	0/20	0
Inflamación							
Activación del RES	0	20	0	0	0	0/20	0

Nota. Tabla que muestra diversas reacciones patrón, el w: Factor de importancia y RES: Sistema retículo-endotelial

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.2. Discusión

Los efectos adversos provocan cambios en la morfología, fisiología, crecimiento, reproducción, desarrollo o duración de vida de un organismo que da como resultado un deterioro de la capacidad funcional para compensar el estrés adicional o una mayor susceptibilidad a los efectos nocivos de otras influencias ambientales (35, 36), sin embargo, es necesario comprender cómo el cuerpo metaboliza los tóxicos y además es importante para monitorear la exposición y mitigar sus efectos (37).

Se han detectado productos farmacéuticos y de cuidado personal en muchas muestras ambientales, como efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales, aguas superficiales, aguas subterráneas, sedimentos y peces, en todo el mundo. También se ha informado de que los efluentes de los lugares de fabricación de medicamentos y las aguas residuales de los hospitales pueden contener altos niveles de productos farmacéuticos humanos y sus metabolitos que pueden tener efectos adversos sobre los organismos vivos (38). Por ejemplo, se conoce que el ibuprofeno y el diclofenaco tienen una toxicidad aguda para los organismos acuáticos en concentraciones ambientalmente relevantes, y los residuos de diclofenaco son la causa de la pérdida casi completa de las poblaciones de tres especies de buitres en el subcontinente indio. Sin embargo, es importante destacar que actualmente no es posible saber si las concentraciones de productos farmacéuticos presentes en el medio acuático están afectando negativamente a los organismos de esos ecosistemas directamente o acumulándose en diversos compartimentos del ambiente (39), además de que las mediciones fiables de las concentraciones de productos farmacéuticos en los ríos son muy escasas y que pocos de los efectos notificados de los productos farmacéuticos sobre los organismos acuáticos se han repetido de forma independiente sumado a ello no existía ningún requisito regulatorio para las pruebas ecotoxicológicas de productos farmacéuticos humanos autorizados antes de 2006, y muchos de ellos tienen pocos o ningún dato disponible para evaluar su riesgo ambiental (38, 40).

Es fácil exponer modelos animales a un solo tóxico y estudiar sus efectos, pero el mundo real es mucho más complejo, donde los organismos están expuestos a mezclas de múltiples tóxicos simultáneamente. Afortunadamente, la capacidad del pez cebra para absorber agentes administrados en el agua permite a los científicos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

exponer a este organismo a cócteles de tóxicos, imitando lo que ocurre en el medio ambiente (41).

Dentro de los efectos ecotóxicos agudos evaluados en el pez modelo, no se registró la mortalidad por efecto de Losartán, dicho resultado se puede explicar debido a que existen diversas investigaciones (25, 28, 42, 43, 44, 45) de organismos de diferentes niveles tróficos (lenteja de agua, *Daphnias* "pulgas de agua", erizos de mar y moluscos bivalvos) acerca de los efectos de antihipertensivos como el Valsartán y Losartán ambos de la misma familia, donde se determinaron dosis letal media (DL_{50}), que van desde 63.7 hasta más de 1000 mg/L, tal es el caso del pez *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" quien registró valores mayores a 580 mg/L, dicho organismo es modelo acuático de amplio uso también en pruebas ecotoxicas; dicho esto, se puede inferir que las concentraciones utilizadas en nuestro estudio fueron menores (hasta 100 mg/L), por lo tanto, no habrían generado mortalidad en los organismos de experimentación (pez cebra) durante la exposición aguda, a pesar de ser dosis ambientalmente importantes.

Yamamoto et al. (44) realizaron un estudio con Valsartán utilizando el erizo de mar *Lytechinus variegatus* y observaron que la concentración donde no se observan efectos (NOEC) fue de 12,5 mg/L y la concentración más baja donde se observan efectos (LOEC) fue de 25 mg/L, resultados similares a los registrados en nuestra investigación, pero con respecto a los efectos subletales evaluados (hipoactividad e hiperventilación) (Tabla 8). Además, podríamos proyectar efectos de mortalidad si la exposición es mayor (crónica) pero a concentraciones más elevadas a las ensayadas en el presente trabajo. Los fármacos de la familia de "sartanes", tienen la propiedad y una mayor capacidad de bioacumulación, unido a su baja degradación metabólica, elevada persistencia ambiental y con una vida media variable que va de 2 a 24 horas metabolizándose en el hígado con porcentajes inferiores al 25% excretándose por vía renal o biliar como tal o en forma de derivados más hidrosolubles, todo eso los consagra como contaminantes emergentes (46) que podrían dañar órganos diana en organismos acuáticos como es el caso del hígado, glándula que fue considerado en la evaluación histopatológica de nuestra investigación, que se discutirá más adelante.

Cabe resaltar que el sistema inmunológico de los peces no sólo desempeña un papel fundamental en la prevención de infecciones patógenas, sino que también los

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

defiende contra el estrés perjudicial del entorno acuático. Los inmunocitos o factores inmunológicos de los peces suelen dar una respuesta rápida al estrés de los tóxicos ambientales al representar cambios en la actividad o el contenido de estas sustancias inmunológicas, que pueden ser indicadores e índices de alerta temprana del estrés de los tóxicos ambientales (47) y en consecuencia generan cambios en su fisiología y comportamiento (disminución de la actividad espontánea) frente al estresor, en este caso el fármaco Losartán, específicamente con las concentraciones mayores (50 y 100 mg/L).

Los efectos de hipoactividad e hiperventilación no es más que respuestas frente al estrés que el animal está sufriendo, pero de manera controlada de acuerdo a la dosis de exposición, pues está involucrado el metabolismo energético del animal, esto se puede explicar ya que se sabe que las distintas categorías de fármacos antihipertensivos tienen diferentes efectos sobre el metabolismo de la glucosa. De hecho, los bloqueadores de los receptores de angiotensina, así como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, se han asociado con efectos beneficiosos sobre la homeostasis de la glucosa. Los bloqueadores de los canales de calcio tienen un efecto neutro en general sobre el metabolismo de la glucosa (47) por lo tanto, la exposición al fármaco habría parcialmente regulado energéticamente al animal por acción del Losartán después de 96 h de exposición, ya que se observó al final de la experimentación ciertos efectos subletales adicionales con proporciones no muy elevadas a excepción del efecto de reacción y distribución anormal (Figura 5), coincidiendo con lo manifestado por Reque et al. (28) quienes no observaron respuestas de estrés significativas en los biomarcadores de peces, sugiriendo que los organismos de niveles tróficos superiores (peces) son más tolerantes a la toxicidad del Losartán, así mismo, concluyeron que este fármaco antihipertensivo mostró un potencial tóxico relativamente bajo durante un corto período de exposición, pero con diferentes patrones de toxicidad para los organismos de distintos niveles tróficos.

El Losartán al actuar como inhibidor de los receptores de la angiotensina II; AG-II es comúnmente usado como un antihipertensivo, además en muchas ocasiones es utilizado para combatir histopatologías en el hígado como la fibrosis (48, 49, 50, 51), debido a ello se ha llegado encontrar residuos en el agua de este tipo de medicamentos globalmente con un 6% de frecuencia (52). A lo largo de los años se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

han reportado algunos casos donde este fármaco causó daños hepáticos tanto hepatocelulares como colestásicos (53, 54) resultados que coinciden con la presente investigación, donde se observaron evidentes daños histológicos en el hígado del organismo modelo pez cebra (Figura 7), siendo los más frecuentes la esteatosis (degeneración de grasa) y la dilatación de sinusoides, lo cual se puede deber al efecto del Losartán al evitar la acción de la angiotensina II, por ende, los vasos y conductos se dilatan; sin embargo, se mostró hemorragia lo cual podría deberse al daño provocado por el fármaco en concentraciones elevadas (55), además entre los efectos menos frecuentes se encontraron la cariopicnosis y la degeneración hidrópica (Tabla 9); cabe resaltar que estos últimos efectos se presentaron en los organismos expuestos a la concentración de 100 mg/L, esto se puede deber a que el Losartán tiene efectos sobre otras enzimas como la glutatión, como se sabe estas enzimas actúan sobre las especies reactivas del oxígeno (ROS) para evitar el daño del estrés oxidativo por algún componente; Cortez et al. (25) estudió el efecto del Losartán en mejillón (molusco) *Perna perna* y sus resultados indicaron el efecto de este tipo de medicamentos sobre estas enzimas registrando una concentración de 3000 ng/L, un incremento de la Glutation-s-Transferasa (GST) a las 48 horas de exposición, a la vez también hubo presencia de Glutation Peroxidasa (GPx); por otro lado Reque et al. (28), estudió el efecto del Losartán en el pez *Astyanax altiparanae* donde registró a las 48 horas de exposición disminución de la GST con una concentración de 2.5 mg/L; esto nos indica que mientras mayor es la concentración se mostrarán mayores efectos, ya que estas enzimas son características cuando hay presencia de un estrés oxidativo y por ende de ROS para tratar de combatirlas y evitar el daño al tejido, sin embargo mientras mayor es la concentración de Losartán estas enzimas se redujeron lo cual implica que el tejido podría alterarse llegando a dañar hasta el material genético (25, 28, 56) causando por ejemplo, cariopicnosis; así mismo el Losartán puede llegar a ser tóxico en concentraciones elevadas, tal como lo afirmó Fonseca et al. (57) encontrando un riesgo alto en animales acuáticos. En esta investigación se registraron daños, pero no fueron muy agresivos y solo se presentaron en las concentraciones mayores, esto se explica porque en organismos superiores como peces, el Losartán potásico es metabolizado y absorbido de forma más sencilla dentro del tracto gastrointestinal reduciendo su sensibilidad y requiriendo de concentraciones más elevadas para observar efectos tóxicos, caso similar a los mamíferos, con la principal diferencia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

que estos últimos son más susceptibles; ya que los efectos de los antihipertensivos tienen diferente respuesta dependiendo del organismo al que se les aplique, sin embargo algunos organismos son más sensibles a antagonistas de AG-II que otros, dependiendo de su nivel trófico y por la presencia de una mayor cantidad de tipos de receptores de AG-II (28, 58). Por otro lado, un dato importante es la ausencia de fibrosis a pesar del daño provocado al tejido, esto se observó porque el Losartán ocasiona una disminución de la fibrosis hepática al reducir niveles de hidroxiprolina en el hígado y marcadores fibróticos séricos (59, 60). Lo evaluado en el presente estudio es de gran importancia ya que actualmente, hay poca información de los efectos del Losartán en peces adultos, a pesar que se ha registrado el efecto tóxico de este medicamento (51). Es de considerar y discutir el efecto directo del fármaco en los peces, quizás también el fármaco en algún momento perdió efecto debido a que se degradó o metabolizó, sumado a ello el desconocimiento actual de los procesos farmacocinéticos básicos como la absorción, la distribución y la depuración, que impulsan la exposición a los fármacos y sus metabolitos (61, 62).

En la actualidad hay muchas cuestiones por resolver antes de que se pueda completar una evaluación sólida del riesgo ambiental de fármacos antihipertensivos como el Losartán, más aún como se indicó anteriormente resulta ser un contaminante emergente ya que no se tiene reportes verdaderos de su presencia y cantidad en el agua superficial y sumado a ello no se cuenta con legislación clara con respecto a los umbrales de fármacos en nuestros ecosistemas acuáticos

Los resultados de la investigación ponen de manifiesto la preocupación que supone introducir esta clase de contaminantes en los ambientes acuáticos continentales y marinos, además la necesidad de incluir a los compuestos antihipertensivos en los programas de vigilancia ambiental.

Finalmente podemos indicar que los medicamentos en general deben considerarse no sólo por su finalidad específica, sino que deben evaluarse también por la potencial toxicidad de sus impurezas y como posibles contaminantes ambientales.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO V

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

5. CONCLUSIONES

5.1. La ecotoxicidad del fármaco antihipertensivo Losartán en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra" fue variada, no se registró mortalidad durante el tiempo de exposición aguda, y de los 8 efectos subletales observados, solo 2 presentaron diferencias estadísticas significativas principalmente en las concentraciones mayores de experimentación.

5.2. Conforme se incrementa la concentración experimental del fármaco Losartán, se observa mayor cantidad de alteraciones a nivel celular y vascular, provocando anormalidades en la arquitectura tisular hepática del organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra".

5.3. Los índices de evaluación histopatológica cuantitativa de hígado en el organismo modelo *Danio rerio* "pez cebra" con el tratamiento mayor (100 mg/L), muestran reacciones patrón y porcentaje de alteración variadas, destacando los disturbios circulatorios y cambios regresivos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO VI

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

6. RECOMENDACIONES

6.1. Evaluar histológicamente otros órganos diana como gónadas y riñón, pues los efectos de estos fármacos también pueden dañarlos.

6.2. Cuantificar la excreción del fármaco o sus metabolitos en las larvas y adultos del pez cebra y así comprender más la cinética y dinámica de los fármacos en el organismo.

6.3. Es necesario realizar investigaciones para cuantificar las concentraciones de sustancias farmacéuticas en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales y en las aguas superficiales, además de realizar investigaciones ecotoxicológicas en diferentes niveles tróficos y variadas concentraciones.

6.4. Evaluar el efecto de otros contaminantes emergentes en la biota animal silvestre relacionada a ecosistemas acuáticos y terrestres.

6.5. Evaluar a nivel bioquímico y "ómico" los efectos de otros contaminantes emergentes en la biota animal silvestre relacionada a ecosistemas acuáticos y terrestres.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO VII

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

7. REFERENCIAS

1. Cuñat Zaira, A., & Ruiz, M. Ensayos de ecotoxicidad de los fármacos y efectos tóxicos en el medio ambiente. *Revista de Toxicología*. 2016; 33(2), 108-119.

2. Becker, R. W., Ibáñez, M., Lumbaque, E. C., Wilde, M. L., da Rosa, T. F., Hernández, F., & Sirtori, C. Investigation of pharmaceuticals and their metabolites in Brazilian hospital wastewater by LC-QTOF MS screening combined with a preliminary exposure and in silico risk assessment. *Science of the Total Environment*, 2020; 699, 134218.

3. Santos, L. H., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of hazardous materials*, 2010; 175(1-3), 45-95.

4. Pusceddu, F. H., Guimarães, M. M., Lopes, L. O., Souza, L. S., Cortez, F. S., Pereira, C. D. S., & Cesar, A. Biological effects of the antihypertensive losartan under different ocean acidification scenarios. *Environmental Pollution*, 2022; 292, 118329.

5. Egea - Corbacho, A. Eliminación de contaminantes emergentes en agua residual para su posterior reutilización. 2018. Disponible en: https://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/21345

6. González, R.A. Caracterización y seguimiento de contaminantes emergentes. [Internet], 2016. Disponible en: http://roderic.uv.es/handle/10550/53347

7. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, [Internet]. [Citado 11 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

8. Kosek, K., Luczkiewicz, A., Fudala-ksi, S. Implementation of advanced micropollutants removal technologies in wastewater treatment plants (WWTP) - examples and challenges based on selected EU countries. *Environ. Sci*. 2020; 112, 213–226. https://doi.org/10.1016/j.envsci.2020.06.011.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

9. Silva, J., Torrejón, G., Bay-Schmith, E., & Larrain, A. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Dapnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. *Gayana* (Concepción), 2003; 67(1), 87-96.

10. Di Marzio, W., Sáenz, M. Ecotoxicologia, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. 2013.

11. Pikula, K. S., Chernyshev, V. V, Zakharenko, A. M., Chaika, V. V, Waissi, G., Hai, L. H., Hien, T. T., Tsatsakis, A. M., & Golokhvast, K. S. Toxicity assessment of particulate matter emitted from different types of vehicles on marine microalgae. Environmental Research, 2019; 179, 108785.

12. Planes, E. y J. Fuchs. Cuáles son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales. Ciencias e Investigación. 2015; 63 (2): 45 – 62.

13. Ward, G. S., & Parrish, P. R. Manual of methods in aquatic environment research. Part 6: Toxicity Tests (Issue 185). Food & Agriculture Org. 1982.

14. Van Gestel, C. A. M., & Van Brummelen, T. C. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. Ecotoxicology, 1996; 5(4), 217–225.

15. Hedges, S. B. The origin and evolution of model organisms. Nature Reviews Genetics, 2002; 3(11), 838–849.

16. Trigueiro, N. S. D. S., Canedo, A., Braga, D. L. D. S., Luchiari, A. C., & Rocha, T. L. Zebrafish as an emerging model system in the global south: two decades of research in Brazil. *Zebrafish*, 2020; 17(6), 412-425.

17. Steenbergen, P. J., Richardson, M. K., & Champagne, D. L. The use of the zebrafish model in stress research. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2011; 35(6), 1432-1451.

18. Castillo, G. Ensayos ecotoxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones, 1a Edición, Centro Internacional de Investigación Para El Desarrollo–CIID e Instituto Mexicano de Tecnología Del Agua–IMTA, México, DF. 2004.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

19. Mohapatra, B. C., & Rengarajan, K. Manual on bioassays in the laboratory and their techniques. CMFRI Special Publication, 1995; 64, 1–75.

20. Iannacone, J., Onofre, R., & Huanqui, O. Efectos ecotoxicológicos del Cartap sobre *Poecilia reticulata* "Guppy" (Poeciliidae) y *Paracheirodon innesi*" neon tetra"(Characidae). Gayana (Concepción), 2007; 71(2), 170-177.

21. Iannacone, J., & Alvariño, L. Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. Ecología aplicada, 2009; 8(1-2), 71-80.

22. Córdova Guillén, D. C. Ecotoxicidad aguda de dos marcas comerciales de enjuague bucal sobre alevinos de *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris". Ayacucho, 2016. disponibleen:http://repositorio.unsch.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNSCH/1771/TESIS%20B763_Cor.pdf? sequence=1&isAllowed=y

23. Hernández, E.M., Carrazana, D.I., González, R., García, A., Marrero, O., Águila, E., Morales, A. y López, Y. Ecotoxicidad aguda en *Physa cubensis* P. y *Artemia salina* L. de 8 antibacterianos con riesgo ambiental. Revista de Toxicología, 2017; 34(2), 118-123.

24. Arenazas, A. Evaluación ecotoxicológica de contaminantes minero industriales en el desarrollo embrionario de especies bioindicadoras *Carassius auratus* "Goldfish" y el caracol *Physa venustula* (Gould 1847). 2018. Disponible en: https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.14

25. Cortez, F. S., da Silva Souza, L., Guimarães, L. L., Almeida, J. E., Pusceddu, F. H., Maranho, L. A., & Pereira, C. D. S. Ecotoxicological effects of losartan on the brown mussel *Perna perna* and its occurrence in seawater from Santos Bay (Brazil). Science of the Total Environment. 2018; 637, 1363-1371.

26. Sánchez Gonzales, M. Evaluación de la toxicidad y riesgo ambiental por dos contaminantes emergentes, diclofenaco e ibuprofeno, en organismos bioindicadores del ecosistema dulceacuícola: *Daphnia magna* (pulga de agua), *Lemna gibba* (lenteja de agua) y *Paracheirodon innesi* (pez tetra neón), para la estimación de estándares de calidad ambiental. 2019. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12805/870

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

27. Adams, E., Neves, B. B., Prola, L. D., de Liz, M. V., Martins, L. R., Ramsdorf, W. A., & de Freitas, A. M. Ecotoxicity and genotoxicity assessment of losartan after UV/H_2O_2 and UVC/photolysis treatments. Environmental Science and Pollution Research, 2021; 28, 23812-23821.

28. Reque, R., Carneiro, R. D., Yamamoto, F. Y., Ramsdorf, W. A., Martins, L. R., Guiloski, I. C., & de Freitas, A. M. Ecotoxicity of losartan potassium in aquatic organisms of different trophic levels. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2021; 87, 103727.

29. Cermeño, E. Evaluación histológica de hígado, branquias y músculo en el organismo modelo *Poecilia reticulata* "Guppy" por efecto de la exposición de agua residual industrial. 2020. Disponible en: http://hdl.handle.net/20.500.12773/11939

30. Silva, D. Efectos ecotoxicológicos e histológicos de sedimentos de dos sectores del río chili, en bioindicadores acuáticos. 2021. Disponible en: https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.16

31. OCDE. Guideline for testing of Chemicals. Test No. 203: Draft revised version. Fish, Acute Toxicity Test. [Citado 11 de nov de 2023]. Disponible en: https://www. oecd.org/chemicalsafety/testing/draft-revised-test-guideline-203-fish-acute-toxicity-test.pdf

32. Panel AVMA. On euthanasia, American Veterinary Medical Association. Report of the AVMA Panel on Euthanasia. J Am Vet Med Assoc 2001; 218:669–96

33. Bernet, D; H. Schmidt; W. Meier; P. Burkhardt-Holm; T. Wahli. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. J. Fish. Dis. 1999; 22: 25-34.

34. Rosenthal, S., Sandoval, N., Gavidia, C., & Tabacchi, L. Frecuencia de lipidosis hepática en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en una piscigranja de la sierra central del Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2013; 24(1), 118-124.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

35. Solecki, R., Kortenkamp, A., Bergman, Å., Chahoud, I., Degen, G. H., Dietrich, D., & Boobis, A. R. Scientific principles for the identification of endocrine-disrupting chemicals: a consensus statement. Archives of Toxicology.2017; 91, 1001-1006.

36. OECD Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption, OECD Series on Testing and Assessment. 2018, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/9789264304741-en

37. Gamse, J. T., & Gorelick, D. A. Mixtures, metabolites, and mechanisms: understanding toxicology using zebrafish. *Zebrafish.* 2016; 13(5), 377-378.

38. Kugathas, S., & Sumpter, J. P. Synthetic glucocorticoids in the environment: first results on their potential impacts on fish. Environmental science & technology. 2011;45(6), 2377-2383.

39. Kaur, B., & Dulova. UV-assisted chemical oxidation of antihypertensive losartan in water. Journal of environmental management. 2020;261, 110170.

40. Coors, A., Brown, A. R., Maynard, S. K., Nimrod Perkins, A., Owen, S., & Tyler, C. R. Minimizing experimental testing on fish for legacy pharmaceuticals. Environmental Science & Technology.2023;57(4), 1721-1730.

41. Saleem S, Kannan R. Zebrafish: an emerging real-time model system to study Alzheimer's disease and neurospecific drug discovery. Cell death discovery 2018;5(1):45

42. FDA. U.S. Food and Drug Administration. Environmental Assessment/FONSI. Approval Package for Application Number 20-386/S-019 and 029. Review of Environment Assessment NDA. 2002;20-386 Cozaar Tablets (LOSARTAN POTASSIUM). Center for Drug Evaluation and Research

43. Bayer, A., Asner, R., Schüssler, W. et al. Behavior of sartans (antihypertensive drugs) in wastewater treatment plants, their occurrence and risk for the aquatic environment. Environ Sci Pollut Res. 2014; 21, 10830–10839. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3060-z

44. Yamamoto, N., Pereira, C., Cortez, F. S., Pusceddu, F., Santos, A., Toma, W., & Guimarães, L. Avaliação dos efeitos biológicos adversos dos fármacos anti-

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

hipertensivos Losartan e Valsartan em ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (ECHINODERMATA, ECHINOIDEA). Unisanta BioSci. 2014;3, 27-32.

45. Godoy, A., Kummrow, F., & Pamplin, P. Ecotoxicological evaluation of propranolol hydrochloride and losartan potassium to *Lemna minor* L. (1753) individually and in binary mixtures. Ecotoxicology. 2015; 24, 1112-1123.

46. Ladhari, A., La Mura, G., Di Marino, C., Di Fabio, G., & Zarrelli, A. Sartans: What they are for, how they degrade, where they are found and how they transform. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2012; 20, 100409.

47. Rizos, C. V., & Elisaf, M. S. Antihypertensive drugs and glucose metabolism. World journal of cardiology. 2014;6(7), 517.

48. Şahin, S., Aydın, A.Ç., Göçmen, AY et al. Evaluación del efecto protector del losartán en el daño hepático y renal inducido por paracetamol en ratones. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 397, 5067–5078 (2024). https://doi.org/10.1007/s00210-023-02937-0

49. Yun, H., Park, S., Chung, M., Son, J., Park, J., Jung, S. y Jeong, K. Efectos del losartán y la l-serina en un modelo de fibrosis hepática de ratón. Ciencias de la vida. 2021; 278, 119578.

50. Ogata, H., Noguchi, H., Ohtsubo, T., Liao, J., Kohara, H., Yamada, K., y Tani, K.. El bloqueador del receptor de angiotensina II tipo I, losartán, inhibe la fibrosis en el hígado al suprimir la producción de TGF-beta1. Integr Mol Med. 2016; 3 (3).

51. Salama, Z. A., Sadek, A., Abdelhady, A. M., Darweesh, S. K., Morsy, S. A., & Esmat, G. Losartan may inhibit the progression of liver fibrosis in chronic HCV patients. Hepatobiliary surgery and nutrition. 2016; 5(3), 249.

52. Zhang, K., Zhao, Y., & Fent, K. Cardiovascular drugs and lipid regulating agents in surface waters at global scale: Occurrence, ecotoxicity and risk assessment. Science of The Total Environment. 2020; 729, 138770.

53. Diogo, J., Monteiro, R., Coelho, C., Ghiletchi, A., Leão, R. y Loureiro, C. Lesión hepática inducida por fármacos debido a losartán. Revista europea de informes de casos de medicina interna. 2021; 8 (11).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

54. García-Cortés, M., Andrade, R. J., Lucena, M. I., González-Grande, R., Camargo, R., Fernández-Bonilla, E., & Alcántara, R. Hepatotoxicidad secundaria a fármacos de uso común. Gastroenterología y hepatología 2005; 28(8), 461-472.

55. Bravo, L. Pharmacology of Losartan and other antihypertensives Farmacologia de Losartan e outros anti-hipertensivos. 2022.

56. Vieira, C. E. D., Almeida, M. D. S., Galindo, B. A., Pereira, L., & Martinez, C. B. D. R. (2014). Integrated biomarker response index using a Neotropical fish to assess the water quality in agricultural areas. Neotropical Ichthyology, 12(01), 153-164.

57. Fonseca, V. F., Duarte, I. A., Duarte, B., Freitas, A., Pouca, A. S. V., Barbosa, J. & Reis-Santos, P. Environmental risk assessment and bioaccumulation of pharmaceuticals in a large urbanized estuary. Science of the Total Environment. 2021; 783, 147021.

58. Russell, M. J., Klemmer, A. M., & Olson, K. Angiotensin signaling and receptor types in teleost fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2001; 128(1), 41-51

59. Lugo-Baruqui, A., Muñoz-Valle, J. F., Arévalo-Gallegos, S., & Armendáriz-Borunda, J. Role of angiotensin II in liver fibrosis-induced portal hypertension and therapeutic implications. Hepatology Research. 2010;40(1), 95-104.

60. Kurikawa, N., Suga, M., Kuroda, S., Yamada, K., & Ishikawa, H. (2003). An angiotensin II type 1 receptor antagonist, olmesartan medoxomil, improves experimental liver fibrosis by suppression of proliferation and collagen synthesis in activated hepatic stellate cells. British journal of pharmacology, 139(6), 1085-1094.

61. Kantae, V., Krekels, E. H., Ordas, A., González, O., van Wijk, R. C., Harms, A. C., & Hankemeier, T. Pharmacokinetic modeling of paracetamol uptake and clearance in zebrafish larvae: expanding the allometric scale in vertebrates with five orders of magnitude. Zebrafish 2016;13(6), 504-510.

62. Barturén Larrea, A. P. Evaluación del efecto del fármaco BioCen 128 en el desarrollo neuronal del pez cebra (*Danio rerio*) 2019; Tesis Biólogo, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 1

Formato modelo de análisis de signos clínicos observados en peces (38)

Estudio de signos									
Observación	**Día 0**	**Día 0**	**Día 1**	**Día 1**	**Día 2**	**Día 2**	**Día 3**	**Día 3**	**Día 4**
Tiempo de observación. aprox.	**2.5 hrs**	**5.5 hrs**	**24 hrs**	**30 hrs**	**48 hrs**	**54 hrs**	**72 hrs**	**78 hrs**	**96 hrs**
Fecha / Hora									
Nº peces vivos									
Nº peces muertos									
Pérdida del equilibrio									
Orientación horizontal anormal									
Orientación vertical anormal									
Pérdida del control de flotabilidad									
Comportamiento anormal de natación									
Hipoactividad									
Distribución anormal en la superficie									
Distribución anormal en el fondo									
Alta reacción ante estímulos									
Baja reacción ante estímulos									
Aislamiento social									
Función ventilatoria anormal									
Ventilación irregular									
Acción de tragar (Gulping)									

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Pigmentación anormal									
Pigmentación pálida									
Otras anormalidades visibles									
Edema									
Hemorragia									
Agresión / canibalismo									

Anexo 2

Evaluación d efectos subletales a 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de Losartán en D. rerio

TRATAMIENTOS	% MORTALIDAD	PROM	DE	% HIPOACTIVIDAD	PROM	DE	% HIPERVENT	PROM	DE
B-C-24h	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B-25mg/L-24h	0			14.29			0.00		
B-50mg/L-24h	0			14.29			0.00		
B-100mg/L-24h	0			14.29			42.86		
B-C-48h	0	0.00	0.00	0.00	14.29	0.00	0.00	10.71	13.68
B-25mg/L-48h	0			14.29			0.00		
B-50mg/L-48h	0			28.57			14.29		
B-100mg/L-48h	0			14.29			42.86		
B-C-72h	0	0.00	0.00	0.00	25.00	7.14	0.00	25.00	21.43
B-25mg/L-72h	0			14.29			14.29		
B-50mg/L-72h	0			28.57			42.86		
B-100mg/L-72h	0			14.29			42.86		
B-C-96h	0	0.00	0.00	0.00	17.86	7.14	0.00	42.86	0.00
B-25mg/L-96h	0			14.29			28.57		
B-50mg/L-96h	0			28.57			42.86		
B-100mg/L-96h	0			28.57			42.86		

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

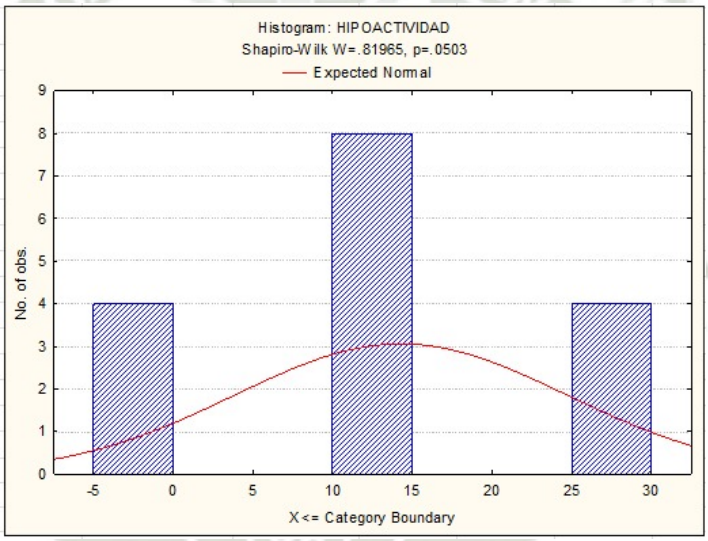
Anexo 3

Datos de ventilaciones por un minuto a las 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de Losartán en D. rerio

TRATAMIENTOS	VENT/MIN
0 mg/L	54,71
25 mg/L	59,28
50 mg/L	65,71
100 mg/L	75,86

Anexo 4

Prueba estadística de normalidad de los datos de hipoactividad por efecto de Losartán en Danio rerio



Anexo 5

ANOVA y prueba de especificada de Tuckey de hipoactividad por efecto de Losartán en Danio rerio

Univariate Tests of Significance for HIPOACTIVIDAD (Spreadsheet1)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3265.306	1	3265.306	144.0000	0.000001
HDE	102.041	3	34.014	1.5000	0.279698
TRATAMIENTOS	1326.531	3	442.177	19.5000	0.000282
Error	204.082	9	22.676		

Tukey HSD test; variable HIPOACTIVIDAD (Spreadsheet1)
Homogenous Groups, alpha = .05000
Error: Between MS = 22.676, df = 9.0000

Cell No.	TRATAMIENTOS	HIPOACTIVIDAD Mean	1	2	3
1	C	0.00000			a
2	25mg/L	14.28571	b		
4	100mg/L	17.85714	b	c	
3	50mg/L	25.00000		c	

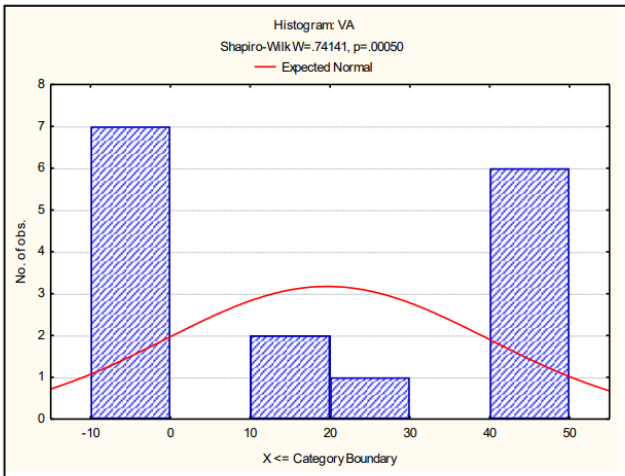
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 6

Prueba estadística de normalidad de los datos de hiperventilación por efecto de Losartán en Danio rerio



Anexo 7

ANOVA y prueba de especificada de Tuckey de hiperventilación por efecto de Losartan en Danio rerio

Variable	Friedman ANOVA and Kendall Coeff. of Concordance (Spreadsheet1) ANOVA Chi Sqr. (N = 4, df = 3) = 10.09091 p = .01781 Coeff. of Concordance = .84091 Aver. rank r = .78788			
	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
C	1.375000	5.50000	0.00000	
25mg/L	1.875000	7.50000	10.71429	13.67753
50mg/L	3.000000	12.00000	25.00000	21.42857
100mg/L	3.750000	15.00000	42.85714	

Cell No.	Tukey HSD test; variable VA (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = .05000 Error: Between MS = 119.05, df = 9.0000				
	TRATAMIENTOS	VA Mean	1	2	3
1	C	0.00000	a		
2	25mg/L	10.71429	a	b	
3	50mg/L	25.00000		b	c
4	100mg/L	42.85714			c

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 8

Correlación de Spearman entre los tratamientos y ventilación irregular por efecto de Losartán en Danio rerio

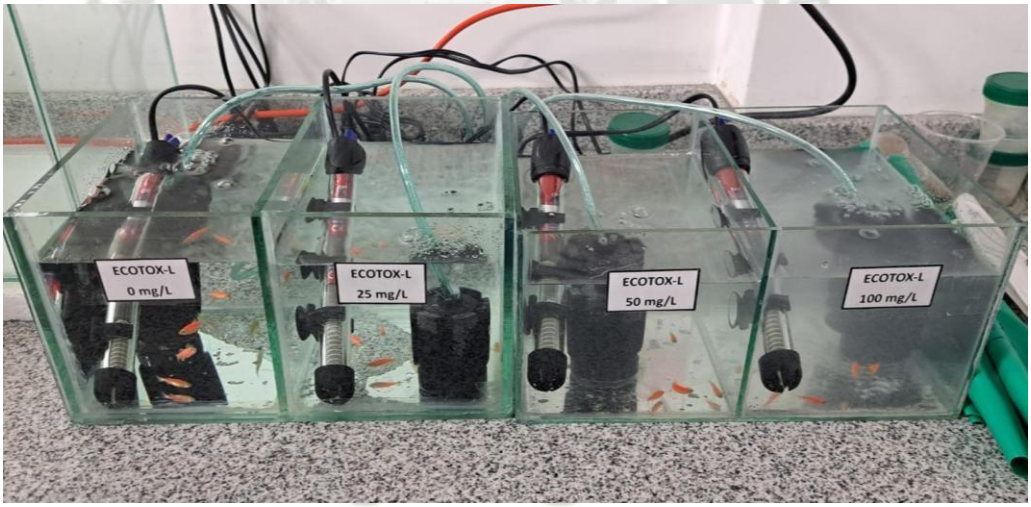
Correlaciones

			TRATAMIENTOS	VENTILACIONES/MIN
Rho de Spearman	TRATAMIENTOS	Coeficiente de correlación	1.000	1,000**
		Sig. (bilateral)		0.001
		N	4	4
	VENTILACIONES/MIN	Coeficiente de correlación	1,000**	1.000
		Sig. (bilateral)	0.001	
		N	4	4

. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Anexo 9

Instalación de unidades experimentales peceras con tres tratamientos (25, 50 y 100 mg/L) con Losartán y un control (0 mg/L), en laboratorio- UCSM



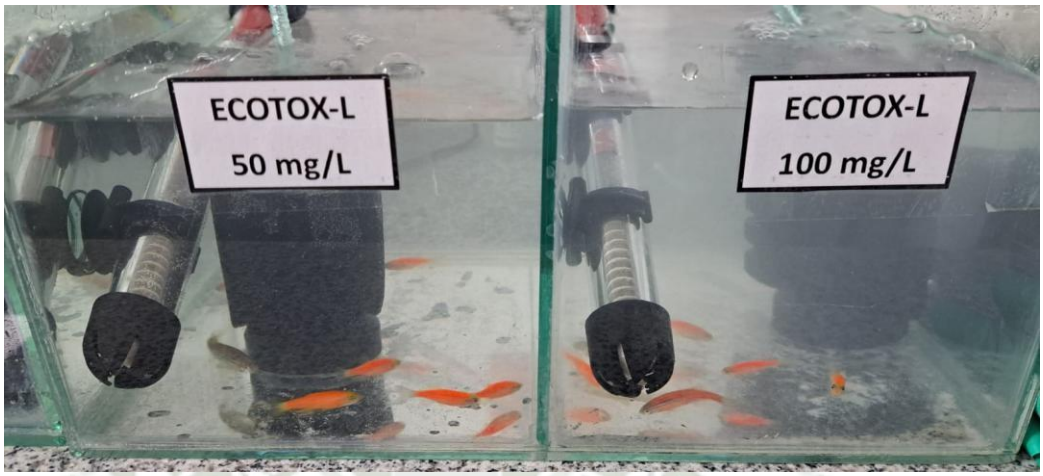
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 10

Organismos D. rerio "pez cebra" en los acuarios de experimentación con 50 y 100 mg/L de Losartán



Anexo 11

Observación y toma de datos de efectos letales y subletales en Danio rerio por efecto de la exposición a diferentes concentraciones de Losartán.

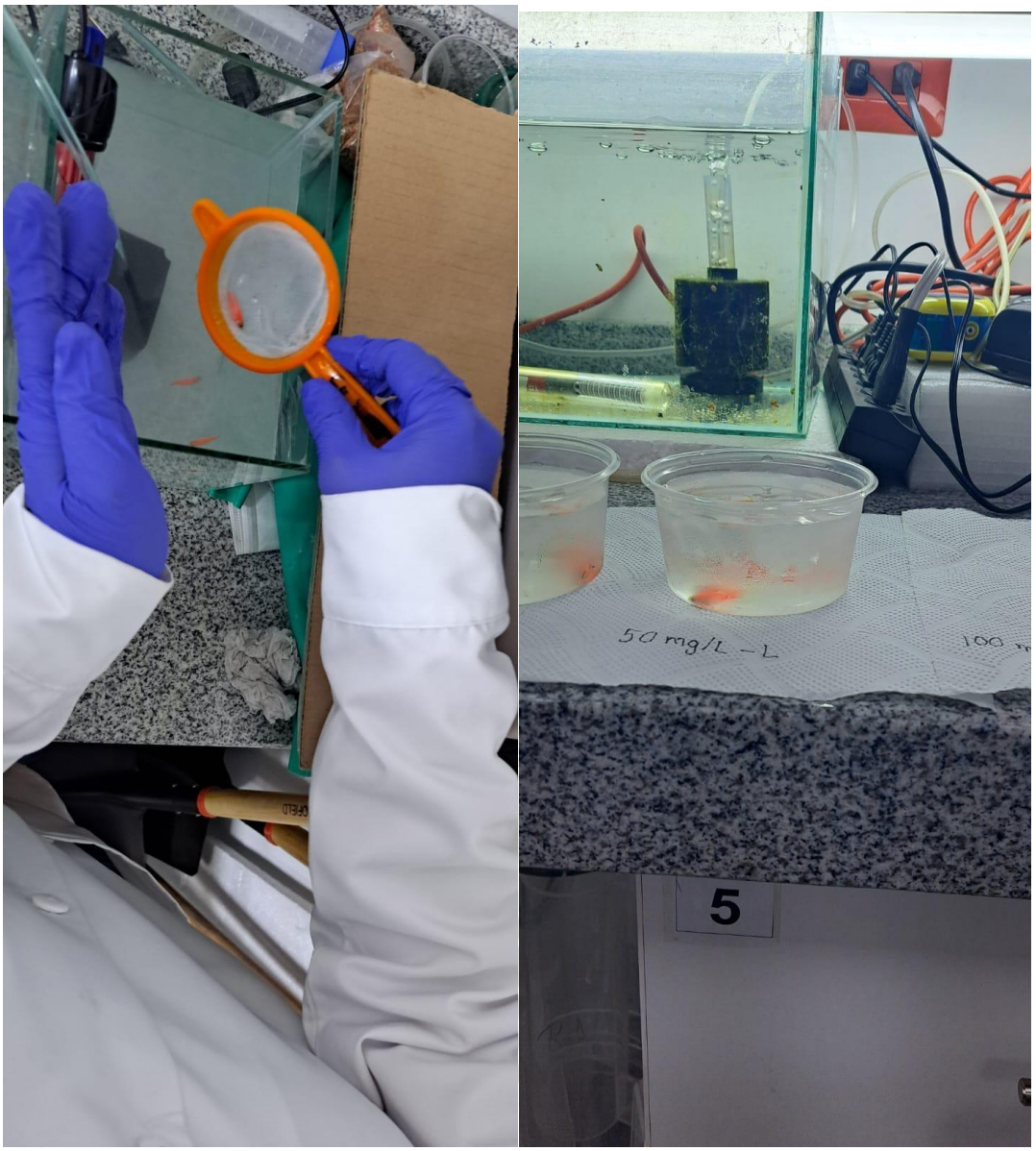
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 12

Extracción y eutanización de especímenes por el método de enfriamiento rápido (rapid chillin)



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 13

Fijación de especímenes en formol al 10% para su posterior tratamiento histológico de rutina (H/E).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Anexo 14

Dictamen favorable del comité de ética de investigación- UCSM, para experimentación con animales en laboratorio.

COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

DICTAMEN COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACION
UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

Arequipa, 26 de mayo de 2025

Investigadora BEDREGAL LOPEZ DORIS VANESSA

Presente.-

De mi especial consideración.

Me dirijo a usted para hacerle llegar el resultado de la evaluación de su proyecto de investigación y dictamen del Comité Institucional de Ética de Investigación.

TÍTULO: "EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS POTENCIALES DEL FARMACO ANTIHIPERTENSIVO LOSARTÁN, EN EL ORGANISMO MODELO Danio rerio "pez cebra".

Investigadora: BEDREGAL LOPEZ DORIS VANESSA.

TIPO Y DISEÑO: Básica, experimental.

OBJETIVO: La investigación tiene como objetivo: Evaluar los efectos ecotóxicos e histológicos potenciales del fármaco antihipertensivo Losartán en el organismo modelo Danio rerio "pez cebra".

PROCEDIMIENTOS: Bioensayo, evaluación histológica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

DICTAMEN COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACION
UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

SUJETOS DE ESTUDIO:

Peceras de vidrio con una capacidad de 3.5 L, cada una de ellas con 7 especímenes, teniendo como resultado de la exposición aguda a 28 individuos del pez modelo.

RIESGO DEL ESTUDIO:

Mínimo.

OBSERVACIONES, SUGERENCIAS:

Debe proteger confidencialidad de la data sensible.

DICTAMEN:

DICTAMEN FAVORABLE 173 – 2025 CIEI-UCSM

VIGENCIA:

La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente dictamen hasta el 27 de mayo del 2026.

Agueda Muñoz Del Carpio Toia
Comité Institucional de Ética de la Investigación UCSM

Cualquier duda comunicarse a: comiteeticainvestigacionucsm@gmail.com

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis