



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“Evaluación de la toxicidad inducida por miconazol en larvas de *Xenopus laevis* utilizando el ensayo FETAX”

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICAS

Presenta

Q.F.B. Alma Nayely Montes Pueblas

Dirigida por:

Dra. Haríz Islas Flores

Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván

Dra. Sandra García Medina



Septiembre, 2025.

Índice

Capítulo I. Resumen	5
Capítulo II. Introducción y presentación del Objeto de Estudio	6
Capítulo III. Marco Teórico	12
Capítulo IV. Planteamiento del problema, Objetivos, hipótesis y pregunta de investigación	23
Capítulo V. Metodología	24
Capítulo VI. Resultados	29
Capítulo VII. Discusión de Resultados	34
Capítulo VIII. Conclusiones	37
Capítulo IX. Referencias	38
Capítulo X. ANEXOS	51

Índice de Tablas

Tabla 1. Propiedades Fisicoquímicas.....	10
Tabla 2. Ocurrencia del Miconazol	15
Tabla 3. Toxicidad del Miconazol en Organismos Acuáticos	18
Tabla 4. Teratogénesis y Letalidad en larvas de <i>X. laevis</i> Expuestas por 96 h a Miconazol	32

Índice de Figuras

Fig.1 Molécula de Miconazol.....	7
Fig.2 Metabolitos de Miconazol	9
Fig.3 Miconazol en matrices ambientales	13
Fig.4 Presencia de MCZ en el mundo	14
Fig.5 Malformaciones representativas en larvas de <i>X. laevis</i> expuestas a MCZ	29
Fig.6 Frecuencia de malformaciones inducidas por diferentes concentraciones MCZ en larvas de <i>X. laevis</i>	30
Fig.7 Medidas de cabeza-cola en larvas de <i>X. laevis</i> expuestas a MCZ	31
Fig.8 Parámetros de comportamiento	33
Fig.9 Mecanismo propuesto de acción del MCZ.....	35

Capítulo I. Resumen

El miconazol (MCZ) es un medicamento de uso humano y veterinario para el tratamiento de infecciones causadas por hongos y algunas bacterias Gram positivas, se encuentra en diversas presentaciones farmacéuticas, principalmente tópicas y orales, lamentablemente la incidencia de estas infecciones ha ido en aumento y por ende la presencia de este tipo de medicamentos en el medio ambiente, convirtiéndolos en contaminantes emergentes. El MCZ se ha encontrado en cuerpos de agua, sedimentos y lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, este imidazol y ha sido considerado un contaminante recalcitrante, por lo tanto, la presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la teratogenicidad del MCZ en larvas de anfibio *Xenopus laevis* expuestas a las siguientes concentraciones del fármaco 0.00036, 0.0036, 0.036, 0.36, 3.6 mg/L durante 96 h (estadio NF46), utilizando el ensayo FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay E1439-2019) que se encuentra en la guía de la American Society for Testing Materials (ASTM), después del tiempo de organogénesis también se determinaron parámetros como la mortalidad, CL50, CE50 y el índice teratogénico. La mortalidad fue mayor con dosis altas y se observó la presencia de malformaciones, siendo las más frecuentes: despigmentación ocular, edema cefálico, craneofacial, craneal, cardíaco y abdominal, anomalías de la notocorda, dilatación anorrectal y mal enrollamiento del intestino y del colon sigmoide. Se presentó una disminución en parámetros que determinan el comportamiento de nado como distancia recorrida, aceleración, tigmotaxis y aumento de la inmovilidad, lo que afecta la supervivencia del espécimen, se evaluó el estrés oxidativo de este antifúngico mediante el grado de lipoperoxidación, la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). Por lo tanto, se puede concluir que el MCZ causa efectos teratogénicos, daño oxidativo y afectación en el comportamiento de *X. laevis*.

Capítulo II. Introducción

Las infecciones fúngicas van en aumento y con ello el uso de medicamentos que las contrarrestan (OMS, 2022) la prevalencia de estas infecciones se debe principalmente al incremento de huéspedes vulnerables con inmunidad comprometida, a exposiciones a un gran inóculo debido a actividades económicas y recreativas como la tala de árboles, visitas a cuevas o remoción de material contaminado, también, por causas iatrogénicas y al cambio climático, por lo que las infecciones micóticas han adquirido gran importancia médica, veterinaria y ecológica (Dhandapani et al., 2022; Gómez et al., 2023).

En México, en un período de cinco años, en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca del Estado de México, se reportaron 671 casos de micosis que afectaron a hombres y mujeres de 0 a 85 años, siendo el 62.6 % micosis oportunistas, 36.4% superficiales, 0.7% sistémicas y 0.3% subcutánea; la comorbilidad más frecuente es la diabetes mellitus, cuyo tratamiento de elección está integrado por antifúngicos azólicos o polienos (Frías et al., 2020).

Las micosis se clasifican en superficiales y profundas o invasivas, mientras que los fármacos utilizados en su tratamiento se clasifican en cinco grupos farmacológicos: polienos, azoles, equinocandinas, alilaminas y pirimidinas (Ángulo et al., 2022).

El mecanismo de acción de los polienos consiste en la unión de ergosterol y la extracción de esteroides de membranas celulares, dentro de este grupo se encuentra la anfotericina B, lipídica, liposomal, de complejo lipídico, de dispersión coloidal y cocleada, la nistatina y la natamicina (Rivera et al., 2022).

Las equinocandinas inhiben de manera no competitiva a la enzima 1,3- β -D-glucano sintasa, responsable de la síntesis de 3- β -D-glucano, polisacárido de la pared celular de los hongos, y los fármacos que pertenecen a este grupo son la caspofungina, micafungina, anidulafungina y rezafungina (Dongmo et al., 2024).

Las alilaminas son un grupo farmacológico integrado por terbinafina, flunarizina y naftifina, cuya acción se debe a que inhiben la síntesis del ergosterol inactivando la enzima escualeno epoxidasa ocasionando la acumulación tóxica del escualeno (Hammoudi et al., 2022).

Mientras que en el grupo de pirimidinas la flucitosina inhibe la síntesis de ADN y proteínas al competir con el uracilo una vez que la enzima citosina desaminasa la convierte en 5-fluorouracilo (Martínez et al., 2023).

También existen triterpenoides como el Ibrexafungerp (Brexafemme) que son similares a las equinocandinas inhibiendo a la glucano sintasa, la diferencia es que este triterpenoide cuenta con una buena biodisponibilidad vía oral (LIFE Worldwide, 2024).

Sin embargo, los azoles son el grupo de fármacos más utilizados, son moléculas sintéticas con un anillo heterocíclico unido a una cadena alifática con un grupo fenilo, según los átomos de nitrógeno que contiene el anillo azólico, existen los imidazoles, que contienen dos átomos de nitrógeno, como el clotrimazol, ketoconazol y miconazol; y los triazoles, con tres átomos: el fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e isavuconazol (Teixeira et al., 2022). Los azoles bloquean la síntesis de ergosterol mediante la inhibición de 14- α -esterol desmetilasa provocando una acumulación de esteroides tóxicos los cuales en conjunto con la reducción de ergosterol rompen la integridad de la membrana celular fúngica (Logan et al., 2022).

El MCZ (1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil) metoxi] etil] imidazol) tiene dos modos de acción: es fungistático a través de la inhibición 14- α -esterol desmetilasa y

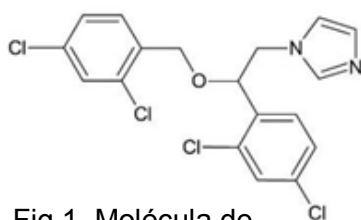


Fig.1. Molécula de miconazol

fungicida a través del aumento de las especies reactivas de oxígeno intracelular, al menos en parte a través de la inhibición de la catalasa y peroxidasa fúngicas (Guo et al., 2024). En lo que respecta a sus propiedades fisicoquímicas (Tabla 1.), la solubilidad del

MCZ es baja en agua (menos de $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), es una

base débil con una mala absorción oral y rápido aclaramiento, su biodisponibilidad por esta vía es del 25-30% por lo que su uso queda restringido a la administración por vía tópica (Drozd et al., 2022). Tiene un peso molecular de 416.134 g/mol y cuya fórmula química es $\text{C}_{18} \text{H}_{14} \text{Cl}_4 \text{N}_2 \text{O}$ es un polvo blanco, inodoro y cristalino, está disponible en el mercado como nitrato de MCZ en solución intravenosa, formulación en gel y solución ocular al 1-2% y formulaciones tópicas (Borah et al., 2023).

El MCZ, ketoconazol y procloraz inducen un grado marcado de toxicidad, en combinación y por sí solos en las células Sertol TM4 de ratón, la citotoxicidad inducida

se asocia con la inhibición de la proliferación celular, la detención del ciclo celular G0/G1, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y la apoptosis, son considerados como disruptores endocrinos en mamíferos e implicados en mecanismos disfunción de la reproducción masculina (Petricca et al., 2022; Petricca et al., 2023). El mecanismo de acción del MCZ por el cual induce la formación de especies reactivas de oxígeno permitiendo que el fármaco sea antifúngico y fungicida, también le confiere la capacidad de inhibir el crecimiento de los queratinocitos humanos perjudicando la cicatrización de heridas (Lam et al., 2022). Además, en seres humanos se han detectado cambios en marcadores esteroideos por la ingesta sistémica de MCZ teniendo un aumento significativo de la proporción 5 α -androstano-3 α ,17 β -diol/5 β -androstano-3 α ,17 β -diol y una disminución significativa de la concentración de androsterona, eticolanolona, 5 β -androstano-3 α ,17 β -diol y 5 α -androstano-3 α ,17 β -diol y de la androsterona/eticolanolona, androsterona / testosterona y 5 α -androstano-3 α , proporciones de 17 β -diol/epitestosterona, esto debido a la capacidad del MCZ para alterar la cinética/eficacia de la deglucuronidación de los esteroides endógenos por la enzima β -glucuronidasa, también se logró captar el 60% de MCZ en orina, por vía tópica no se notaron estos cambios por vía tópica (Mazzarino et al., 2021).

Aunado a los datos de toxicidad citados anteriormente, Wroński y colaboradores en mayo de 2024 publicaron la identificación de nuevos metabolitos hepáticos del MCZ, los cuales se determinaron mediante un cultivo de microsomas hepáticos humanos para imitar las reacciones del metabolismo fase 1 y un análisis UHPLC-HRMS permitió la identificación de siete metabolitos que se muestran en la biotransformación que incluyeron la hidroxilación del anillo de benceno y la oxidación de la fracción de imidazol y su posterior degradación y su toxicidad se evaluó mediante modelos in silico en modelos de *D. magna*, *Danio rerio*, *F. minnow* y algas, concluyendo que el metabolito que presentan mayor toxicidad es el metabolito 5 sin embargo los metabolitos 1,2 y 7 (Fig. 2) muestran mayor mutagenicidad, sin embargo el MCZ sin ser metabolizado muestra mayores efectos tóxicos (Wroński et al., 2024). Los estudios conductuales del espécimen son importantes porque nos permiten comprender los impactos ecológicos de los contaminantes en el medio acuático ya

que están estrechamente relacionados con la aptitud individual y la persistencia de la población (Chen et al., 2021).

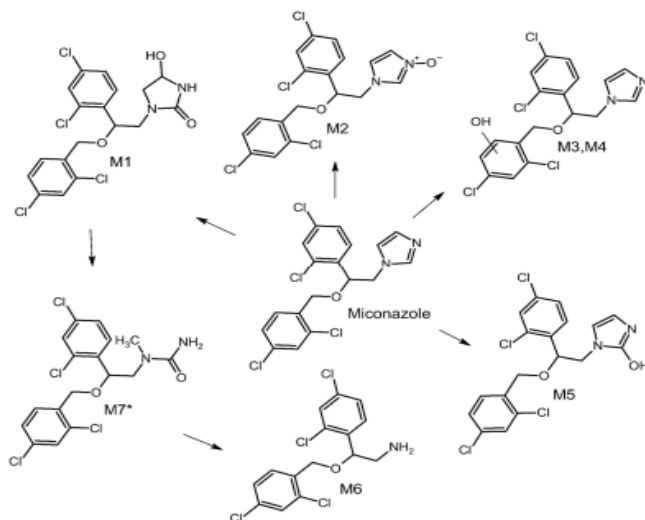
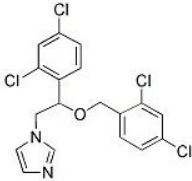


Fig.2. Metabolitos de MCZ (Wroński et al., 2024)

Actualmente no existen estudios en larvas expuestas al MCZ por tanto este trabajo tiene la finalidad de evaluar los efectos de MCZ durante la organogénesis de *X. laevis*. En esta investigación se determinó la teratogénesis y el comportamiento después de 96 h de exposición. La teratogenicidad es la capacidad de una sustancia para inducir malformaciones durante el desarrollo embrionario, afectando la formación de órganos y estructuras (Calzadilla et al., 2022), la observación de cambios en el comportamiento permite evaluar los efectos subletales de químicos, identificar modelos de acción tóxica, proveer un nexo entre procesos celulares y las consecuencias ecológicas de la contaminación ambiental, esto se debe a que el comportamiento consiste en una serie de actividades explícitas del organismo, el cual opera a través del sistema nervioso y asiste a los animales para sobrevivir, crecer y reproducirse (Carrquiriborde et al., 2021), dentro de los azoles, grupo al que pertenece el MCZ, el fungicida triazólico tebuconazol ha demostrado ser teratogénico en embriones de *Rhinella arenarum* expuestos por 96 h a partir de 5 mg/L provocando retraso en el desarrollo, reducción del tamaño corporal, edema, flexuras de cola, mal formaciones axiales y reducción de motilidad locomotora (Acquaroni et al., 2024). En *Danio rerio* (pez cebra) el imazalil, causó toxicidad para el desarrollo, caracterizada

por disminución de la frecuencia cardiaca, inhibición de la eclosión y quiste pericárdico (Huang, et al., 2022). Actualmente la contaminación del agua se ha convertido en un gran desafío mundial, se estima que varios millones de desechos humanos al año son expulsados a los sistemas hídricos, afectando la calidad y la sostenibilidad de los suministros de este recurso natural, convirtiéndolo en el principal transporte de contaminantes, ante esto se ve comprometida la seguridad humana y ambiental (Bhat et al., 2022).

Tabla 1. Propiedades Físicoquímicas

Componente	Miconazol
Estructura ^a	
Formula ^a	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₄ N ₂ O
Número de CAS ^a	22 916-47-8
Peso molecular (g/mol)	416.13
Punto de fusión °C ^a	159-163
Punto de ebullición (°C)	555.1 +/- 50
Solubilidad en agua (mg/L)	0.01
Densidad (g/cm ³)	1.5326
Presión de vapor (Pa)	2.36 × 10 ⁻⁸
Índice de refracción	1.620
pka	6.8
Log Kow (octano-agua) ^b	6.25
Log Koa (octano-aire) ^b	11.7
Koc ^b (L/kg)	525
Tiempo de vida media ^{b, c} (días)	3.39
Tiempo de vida media ^{b, d} (días)	8.51
FBC ^{b, e} (L/kg)	1.82 x 10 ³

^a Datos obtenidos de los sitios NCIBI, 2024 y Sigma-Aldrich, 2024. ^b Los valores se estimaron mediante el modelo OPERA 2.6 (USEPA, 2024).

^c Biodegradación

^d Biotransformación en peces

^e Factor de Bioconcentración.

Presentación del Objeto de Estudio

De acuerdo al registro de la Sociedad Estadounidense de Química, existen más de 60 millones de sustancias orgánicas e inorgánicas a las que se suman más de 12 mil productos químicos cada día y menos del 1% se encuentran inventariados o regulados, estos contaminantes se denominan emergentes ya que son químicos ajenos o desconocido que provienen de la industria, residuos municipales, agrícolas y hospitalarios (US EPA, 2021), dentro de estos contaminantes emergentes se encuentra el miconazol cuyo mecanismo de acción como antifúngico no es selectivo y puede ejercer un efecto toxicológico a especies acuáticas o terrestres ocasionando una alteración al ecosistema, el mecanismo toxicológico no se ha determinado completamente por lo que es importante determinar el impacto toxicológico sobre todo en especies acuáticas, para establecer las bases de una futura evaluación de riesgo de este tipo de contaminantes emergentes (Bhagat et al., 2020). Aunado a esto la Organización de Acción Mundial Contra las Infecciones Fúngicas (GAFFI, por sus siglas en inglés) estima que a nivel mundial más de 300 millones de personas de todas las edades sufren una infección fúngica grave cada año y más de 2 millones están relacionadas con esta causa (GAFFI, 2024), por tanto, la producción de imidazoles grupo al cual pertenece el miconazol también está en constante aumento y de manera paralela los niveles de este azol en el medio ambiente aumentan.

Dada la situación actual de los contaminantes emergentes a nivel mundial, es necesario incrementar el conocimiento sobre su origen, su transformación y los efectos que pueden generar en los ambientes acuáticos, determinar su toxicología de manera aguda o crónica es información ambientalmente relevante ya que esto permitirá contar con los elementos suficientes para el diseño y establecimiento de políticas que incluyan la gestión sostenible de los recursos hídricos (Gayosso et al., 2021).

Capítulo III. Marco teórico

Actualmente la contaminación del agua se ha convertido en un gran desafío mundial, se estima que varios millones de desechos humanos al año son expulsados a los sistemas hídricos, afectando la calidad y la sostenibilidad de los suministros de este recurso natural, convirtiéndolo en el principal transporte de contaminantes, ante esto se ve comprometida la seguridad humana y ambiental (Bhat et al., 2022; Adeola et al., 2024).

Las sustancias químicas perjudiciales para la salud humana que han llegado al medio ambiente debido a la actividad antropogénica se denominan contaminantes ambientales, la contaminación ambiental, también es causada por contaminantes ambientales como las erupciones volcánicas (Shetty et al., 2023).

Hay diferentes tipos de contaminación, generalmente se clasifican de acuerdo a la matriz ambiental en donde hay presencia de contaminantes. En el presente trabajo nos enfocamos a la contaminación del agua.

La contaminación del agua proviene de muchas fuentes y causas, los ríos y arroyos demuestran cierta capacidad de recuperarse, los lagos, bahías, estanques o ríos de caudal lento y los océanos presentan poca resistencia a los efectos de la contaminación hídrica (Yadav et al., 2021).

Los contaminantes del agua se clasifican de fuente puntual, cuando los contaminantes ingresan a través de tuberías o canales en climas secos y no puntual se refiere al drenaje pluvial, aunque el agua pueda ingresar a las tuberías o canales, otras fuentes no puntuales son la escorrentía en granjas o sitios de construcción y otras perturbaciones del terreno (Kumar et al., 2020).

Miconazol en el Ambiente

Los factores que ocasionan mayor emisión de MCZ al ambiente son la creciente demanda de medicamentos y productos que lo contienen, el hecho de que sean de libre venta, la eliminación inadecuada de medicamentos y productos caducados o sobrantes no deseados y su aplicación tópica como vía más común, (Kahle et al., 2008; Schulz-Bañares et al., 2021; Wronski & Brooks et al., 2023), donde la absorción

del MCZ es alrededor del 1% por lo que el 99 % de este antifúngico se elimina de manera inalterada (Carrillo-Muñoz et al., 2010; Chaturvedi et al., 2021).

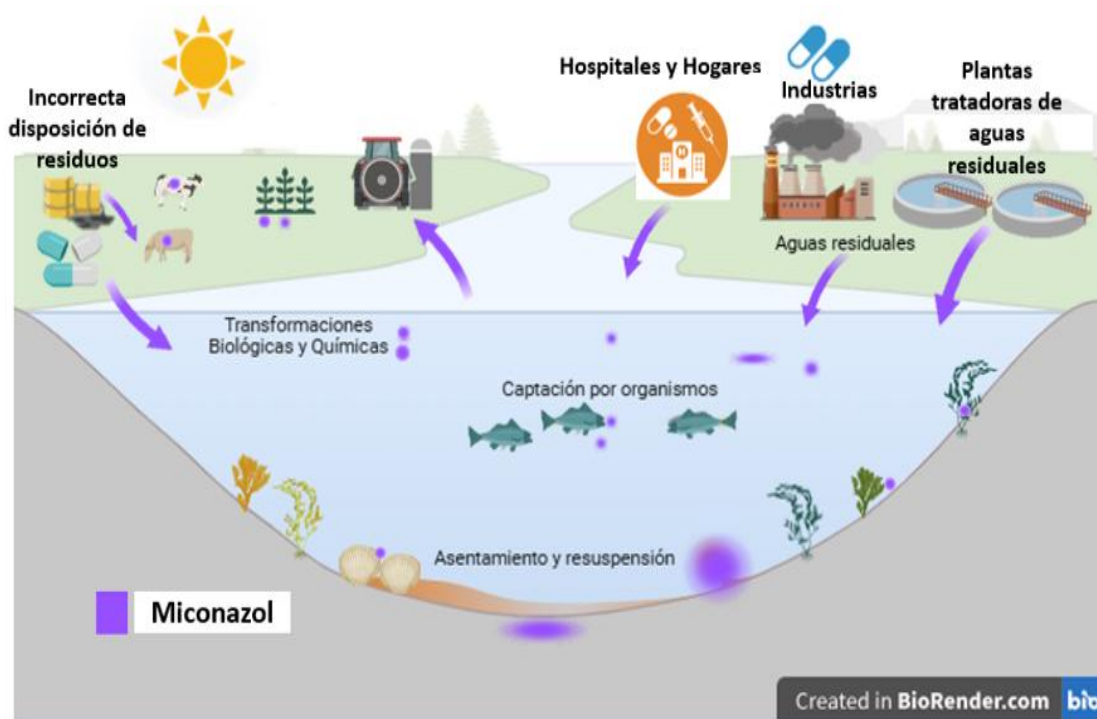


Fig. 3. Miconazol en matrices ambientales.

Las aguas residuales domésticas son la fuente principal de liberación de azoles, con contribución parcial de aguas residuales hospitalarias y de empresas farmacéuticas debido a que las plantas tratadoras de aguas residuales tienen procesos poco bastos para la eliminación de estos fármacos (Poustie et al., 2020), lo anterior, permite que el MCZ se incorpore a efluentes (Fig. 3), aguas superficiales, sedimentos, aguas subterráneas y a los lodos de las plantas tratadoras de aguas residuales (Alderton et al., 2021), el MCZ tiene un coeficiente de reparto de 6.5 (USEPA, 2024), por lo tanto se acumula en biota y matrices ambientales sólidas como sedimentos y suelo, sin embargo por su uso frecuente y prolongado se encuentra en cuerpos de agua (Gupta et al., 2020), generalmente llega a los suelos en forma de biosólidos que muchas veces son aplicados a las tierras agrícolas (Kahle et al., 2008; Adhikari et al., 2024), mediante la escorrentía en sitios de eliminación de desechos domésticos y las fugas en sistemas y plantas de tratamiento de residuos, contamina los mantos acuíferos (Assress et al., 2021; Bueno et al., 2012).

Ocurrencia del Miconazol

La comisión europea incluyó al MCZ en la lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión, según la Decisión de Ejecución (UE) 2022/1307, esta inclusión no representa una legislación de su presencia ambiental, sino un mecanismo de control y evaluación de riesgos, estableciendo un valor de referencia de 200 ng/L para su monitoreo en cuerpos de agua.

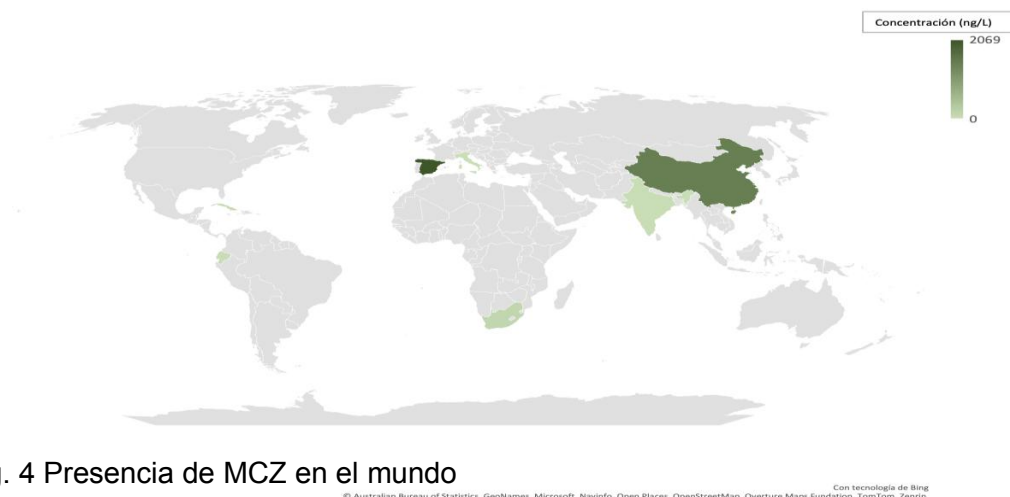


Fig. 4 Presencia de MCZ en el mundo

El MCZ se ha encontrado en el medio ambiente (Fig. 4 y Tabla 2) en países de Europa, Asia, América y África, en aguas residuales concentraciones que van desde 2.6 hasta 13.9 ng L⁻¹ (Viloria & Madera, 2020); además se han reportado concentraciones más altas en aguas residuales de 2069 ng L⁻¹, en lodos de plantas tratadoras de 8340 a 360000 ng kg⁻¹ peso seco (Quesada-Peñate et al., 2009; Monapathi et al., 2021), en Inglaterra se reportó una media de concentración de 540000 ng kg⁻¹ peso seco de MCZ (Martin, I., & Hart, A., 2023), también se han encontrado en aguas superficiales en concentraciones de 1450 ng L⁻¹ (Velupandian et al., 2018), en ríos de 2 a 125 ng L⁻¹ (Colzani et al., 2024) y en aguas subterráneas en concentraciones de 6.7 ng L⁻¹ (Peng et al., 2012) y 78 ng L⁻¹ (Velupandian et al., 2018). La presencia de contaminantes farmacéuticos en cuerpos de agua tiene un alto riesgo para organismos acuáticos y las especies que a su vez los consumen (González et al., 2022).

Tabla2. Ocurrencia del MCZ

País	Matriz	Concentración	Referencia
Italia	Ríos	125 ng/L	Colzari et al., 2024
Sudáfrica	Efluentes de plantas tratadoras	16.7 ng/L - 16.4 ng/L	Assress et al., 2020 Monanpati et al., 2021
India	Aguas superficiales	65.6 ng/L - 1450 ng/L	Velpandian et al., 2018
	Aguas subterráneas	17.8 ng/L - 78 ng/L	Monanpati et al., 2021
China	Efluentes de plantas tratadoras de aguas residuales	6.3 ng/L	Monanpati et al., 2021
		1086 ng/L	Peng et al., 2012
	Aguas subterráneas	6.7 ng/L	Peng et al., 2014
	Aguas residuales	0.53 - 340 ng/L	Chen y Ying, 2015
	Aguas superficiales	2 ng/L y 35.7 ng/L,	Bhagat et al., 2021
	Aguas residuales	8.34 ng/L y 2069 ng/L,	
	Sedimentos	8340 ng/kg 37600 ng/kg	
España	Aguas subterráneas	100 ng/L	Estévez et al., 2013
Cuba	Lodos de plantas tratadoras	14000 a 360000 ng/kg	Quesada et al., 2009
Ecuador	Aguas residuales	2.6 – 13.9 ng/L	Vilora et al., 2020

Toxicidad del Miconazol

La alteración endocrina en peces (Huang et al., 2022), cambios no benéficos en la expresión génica y en el metabolismo, la afectación en el desarrollo y en el comportamiento de organismos acuáticos, son el resultado de la exposición a azoles (Bhagat et al., 2021), mientras que en los mamíferos los azoles, pueden causar impactos negativos en la reproducción mediante la afectación en la síntesis y señalización de hormonas sexuales debido a que varios de estos fármacos se dirigen a algunas enzimas del citocromo P450 (CYP) como CYP51 y CYP19 (Draskau et al., 2019). El MCZ afecta la mortalidad, crecimiento y reproducción de organismos acuáticos (Tabla 3), en peces, en *Poecilia reticulata* con 15 días de edad se determinó una concentración letal media de este azol de 0.2039 $\mu\text{g/mL}$ tras una exposición de 96 horas (Mascotti et al., 2008), el mecanismo de acción del MCZ como antifúngico, representa un desafío ya que las enzimas CYP se encuentran en especies no objetivo, algunas de estas enzimas involucradas en la vía esteroidogénica, por lo que el MCZ se considera disruptor endocrino (Draskau & Svingen, 2022), este antimicótico se ha detectado en plasma de peces silvestres como *Cyprinus carpio*, *Squalius cephalus*, *Carassius carassius*, *Parabramis pekinensis*, *Ameiurus nebulosus*, *Lutjanus erythropterus*, *Ctenopharyngodon idella* y *Clarias fuscus* del río Yangtze en China, se encontraron concentraciones de MCZ de 2.7 a 4.8 ng/mL en 24% de las muestras recolectadas en estación húmeda y en el 47% de las muestras en temporada seca, respectivamente (Juksu et al., 2019), en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se determinaron las concentraciones inhibitorias medias (IC50) de MCZ de 1500 nM para la enzima CYP1 y 800 nM para la CYP19 (Bhagat & Zang et al 2021; Beijer et al., 2018) al inhibir las enzima CYP19 el desarrollo y la diferenciación sexual se ven afectados (Enríquez et al., 2022), el MCZ también con una IC50 inferior a 1 μM , es un inhibidor de la CYP1A en las branquias de los peces (*Oncorhynchus mykiss* y *Gasterosteus aculeatus*), esto ocasiona una mayor disponibilidad y una vida media biológica prolongada de otras sustancias químicas tóxicas (Beijer et al., 2010), el MCZ en los tejidos de los seres vivos tiende a bioacumularse en algunos niveles tróficos (Sallach et al., 2021), en las espinacas se han reportado factores de bioacumulación entre 4.3 y 15.11 en hojas y raíces respectivamente, en relación con concentraciones bajas de MCZ en peso seco de lodos residuales (13 ng g^{-1} y 28 ng g^{-1} en peso seco), por lo que Kodešová y

colaboradores concluyen que la transmisión de MCZ en la raíz de esta planta es muy efectiva (Kodešová et al., 2019). La exposición de la vida silvestre a variaciones ambientales causadas por estresores químicos, físicos y biológicos, ocasionan pérdida de diversidad de anfibios y vertebrados, debido a la fragmentación del hábitat, especies invasoras y el cambio climático (Ruthsatz et al., 2020).

El clotrimazol afecta la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo en larvas de rana *Xenopus tropicalis*, además de estar relacionados con la resistencia microbiana en hongos patógenos (Iancu et al., 2024). Las ventajas de utilizar el género *Xenopus*, incluye la facilidad de alojamiento, grandes y abundantes ovocitos y embriones, alta fecundidad, el rápido desarrollo externo y la facilidad de manipulación, debido a que la piel es transparente tanto de larvas como de renacuajos es posible examinar el desarrollo y enfermedad de los órganos (Nenni et al., 2019). El modelo Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus* (FETAX) permite la exposición controlada a sustancias químicas por 96 h, el monitoreo de estadios embrionarios y larvarios están bien documentados por Nieuwkoop y Faber (NF), facilita observar los efectos teratogénicos y letales en embriones, es posible determinar la concentración letal media (CL50) y la concentración efectiva media (CE50) (Menegola et al., 2024).

Los ensayos de ecotoxicología estos contaminantes se han desarrollado en diferentes especies acuáticas desde microorganismos hasta organismos complejos, como son protozoarios, algas, plantas, invertebrados y vertebrados (Pérez et al., 2024). La selección de la especie destinada a la experimentación, depende de las características del organismo y del ensayo que se quiera efectuar, por ejemplo, actualmente se utilizan algunas especies como el pez cebra (*Danio rerio*) debido a que tienen embriones casi transparentes, lo cual es una gran ventaja para los estudios de teratógenos (Bauer et al., 2021).

Tabla 3. Toxicidad del Miconazol en Organismos Acuáticos.			
Especie	Concentración	Efecto	Referencia
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Hígado 59 µM/L	Inhibición no selectiva de CYP1A, incorrecta eliminación de otros tóxicos.	Pihlaja et al., 2021
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Hígado 43 µM/L	Inhibición no selectiva de CYP3A incorrecta eliminación de otros tóxicos	
<i>Chlorella vulgaris</i>	1 µg/L	Inhibición de crecimiento	Rodríguez et al., 2020
<i>Rutilus rutilus</i>	Plasma 0.93 – 2.108 µg/L	Bajo riesgo de presentar efecto terapéutico	Cervený et al., 2020
<i>Cyprinus carpio</i> <i>Squalius cephalus</i> <i>Carassius carassius</i> <i>Parabramis pekinensis</i> <i>Ameiurus nebulosus</i> <i>Lutjanus erythropterus</i> <i>Ctenopharyngodon idella</i> <i>Clarias fuscus</i>	Plasma 11.6 – 39.5 ng/mL	Mortalidad Crecimiento Reproducción	Yao et al., 2019
<i>Daphnia magna</i>	Reproducción: 0,064 mg/L Movilidad: 0.022 mg/L	Inhibición de CYP1A branquial, bioacumulación de otros tóxicos.	Beijer et al., 2010
<i>Atlantic salmon</i>	0.1, 1, 10 µg/mL	Problemas de movilidad y reproducción	Zhu et al., 2014
<i>Lasmigona costata</i>	1.25 ng/g	Bioacumulación, alteración en la reproducción: disminución de gloquidios.	de Solla et al., 2016
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	5M	Inhibición de CYP1A branquial, bioacumulación de otros tóxicos.	Beijer et al., 2010

Los efectos tóxicos de miconazol en organismos acuáticos pueden variar dependiendo de las especies, la etapa de vida y las condiciones de exposición, en general, se ha demostrado que el miconazol causa efectos tóxicos en concentraciones que van desde unos pocos microgramos por litro ($\mu\text{g/L}$) hasta decenas de microgramos por litro; además se ha descubierto que el miconazol afecta a los peces, con concentraciones letales (CL50) típicamente entre 10-100 $\mu\text{g/L}$, esto sugiere que incluso concentraciones ambientales relativamente bajas podrían afectar potencialmente a las poblaciones de peces con el tiempo, como *Rainbow trout* (*O. mykiss*), que se utilizan comúnmente en pruebas de toxicidad, el miconazol ha mostrado efectos en concentraciones de entre 5000 nM (Beijer et al. 2018), *Labeo rohita* a 6.30, 12.61, 25.22 mg/kg (Singh et al., 2018) y *Atlantic salmon* (*S. salar*) con concentraciones de exposición de 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/mL}$, los efectos observados incluyen problemas de movilidad y reproducción (Zhu et al., 2014), el miconazol también puede inhibir el crecimiento de ciertas especies de algas en concentraciones tan bajas como 1 $\mu\text{g/L}$, lo que indica su potencial para alterar a los productores primarios en los ecosistemas acuáticos (Celis et al., 2020).

En Tailandia se realizó un estudio donde se detectó miconazol en el 17% de las muestras de *Oreochromis niloticus* recolectadas en el río Chao Phraya (Jusu et al., 2019), también se ha determinado miconazol en el plasma de especies diferentes de peces recolectados en un río de China con una concentración máxima de 0.00481 ng/L (Yao et al., 2019), así mismo se han realizado determinaciones en *Lasmigona costata* recolectados en un río de Canadá y mostraron concentraciones de miconazol de 1.22 ng/g a 1.71 ng/g (De Solla et al., 2016).

Los estudios ecotoxicológicos revelan que, a diferencia de los peces o los macroinvertebrados, muchas especies de anfibios son particularmente sensibles al estrés químico, *Xenopus laevis* es particularmente el anfibio de investigación más ampliamente estudiado y conocido para evaluaciones toxicológicas, debido a sus características biológicas adecuadas para la crianza en cautiverio, ciclo reproductivo corto y hábitat completamente acuático (Cardoso et al., 2017). *X. laevis* es utilizado ampliamente para realizar estudios de teratogénesis, embriogénesis, biología molecular y la búsqueda de rutas metabólicas, así como del estrés oxidativo que generan cientos de fármacos. (Tokmakov et al, 2019). *X. laevis* es un modelo cada vez más importante para determinar los defectos de nacimiento y las enfermedades

humanas, la genómica, la proteómica y la toxicología, existen algunos recursos como tablas donde se puede contemplar los estadios de *X. laevis* y con esto facilitar la revisión de cada estadio e histología de este biomarcador (Zahn et al, 2022).

X. laevis es una especie de rana africana que se ha convertido en un modelo popular para estudios toxicológicos como desarrollo embrionario externo, lo que facilita la observación y el estudio de efectos de las toxinas en tiempo real, la obtención de embriones sincronizados ya que es muy sencillo obtener un gran número de embriones que se encuentran en la misma etapa de desarrollo, su alta susceptibilidad a tóxicos, esta sensibilidad los convierte en excelentes indicadores de la presencia y los efectos de los xenobióticos en el medio ambiente, identificación de biomarcadores que pueden ser utilizados para monitorear la salud de los ecosistemas y evaluar el impacto de contaminación ambiental esto gracias a la existencia de ensayos estandarizados como FETAX utilizado para toxicidad, proporciona resultados a las 96h de exposición y AMPHITOX ensayo multipropósito, evalúa letalidad, efectos teratogénicos, alteraciones de neurotoxicidad (Herkovits et al 2012; Xu et al., 2022).

Xenopus laevis, también conocido como la rana de garras africana, es un anfibio acuático originario del Valle del Rift Africano. Este tipo de rana es un organismo modelo valioso en la investigación científica, especialmente en estudios relacionados con enfermedades humanas, debido a la notable similitud estructural entre su genoma y el del ser humano, facilidad de manejo y reproducción, estas ranas son fáciles de manipular y mantener en cautiverio, además, su reproducción puede ser inducida mediante la inyección de la hormona gonadotropina coriónica, lo que facilita la producción de grandes cantidades de individuos para estudios y desarrollo embrionario rápido pasando del estado embrionario a larval en aproximadamente 96 horas, lo cual resulta muy conveniente para la investigación, esta rana presenta una morfología única, carece de aberturas óticas visibles y lengua, utilizando sus patas delanteras para ingerir alimentos, su cuerpo es aplanado, con una cabeza pequeña, ojos diminutos sin párpados superiores, y extremidades delanteras cortas sin membranas, sus grandes patas traseras poseen cuatro garras, de ahí su nombre común, los machos miden entre 7.5 y 10 cm y pesan alrededor de 60 g, mientras que las hembras son más grandes, con una longitud de 10 a 12.5 cm y un peso aproximado de 200 g, tiene un ciclo de vida que comprende las siguientes etapas: embrionaria, segmentación, blástula, gástrula, néurula, larval (temprana y tardía),

renacuajo (premetamorfosis, prometamorfosis y clímax), juvenil y adulta, la cual se alcanza aproximadamente a los dos años de edad (Islas-Flores, 2018).

Existen diversos ensayos para determinar la toxicidad, el ensayo FETAX (ensayo de teratogénesis de embriones de rana-*Xenopus*) es una prueba útil para evaluar la toxicidad de sustancias puras, mezclas complejas y sedimentos, durante etapas tempranas del desarrollo de la rana *Xenopus laevis*, esta prueba se centra en la organogénesis, proceso más sensible durante el desarrollo de todos los organismos debido a la falta de madurez de los sistemas de defensa. Este ensayo cuenta con la opción de agregar un sistema de activación metabólica que simula los procesos de biotransformación que se llevan a cabo durante el desarrollo embrionario de los mamíferos, ha sido utilizado en diversos estudios toxicológicos para la evaluación de contaminantes presentes en el medio ambiente debido a sus diversas ventajas: exposición durante tiempos cortos (96h), costos relativamente accesibles y reproducibilidad entre otras. (Pérez et al., 2021)

Los estudios ecotoxicológicos emplean en su mayoría organismos juveniles o adultos, los estudios enfocados en etapas tempranas del desarrollo son escasos, a pesar de que durante la organogénesis los organismos son muy sensibles y el daño puede permanecer durante el resto de su vida o inclusive causar la muerte, por lo anterior ha sido importante la evaluación de diversos contaminantes presentes en el ambiente utilizando el ensayo FETAX. (Pérez et al., 2021)

Una modificación del ensayo FETAX, es FETAX-score se estableció considerando siete características morfológicas (cabeza, nariz, boca, mandíbula inferior, tentáculos, intestino, ano) que son fácilmente evaluables en renacuajos durante las últimas etapas del desarrollo al finalizar la prueba. Dado que el desarrollo de *X. laevis* depende de la temperatura y que las temperaturas inferiores a 14 °C y superiores a 26 °C son teratogénicas, el FETAX-score se probó en embriones mantenidos a 17, 20, 23 y 26 °C. No se observaron anomalías en ningún grupo, mientras que la puntuación total estuvo relacionada con la temperatura, lo que sugiere que la puntuación FETAX es sensible al malestar moderado que no influye en la morfología general (Menegola et al., 2024).

El estrés oxidativo es un cambio resultado del desequilibrio entre la generación de radicales libres y los mecanismos de defensa antioxidante o la capacidad antioxidante

de un sistema biológico para neutralizar y detoxificar las células, se genera un aumento del organismo por disminuir el potencial celular o en su capacidad de oxidación o reducción; llevando a la célula a un potencial de estrés que da como resultado la muerte celular, ya sea por apoptosis o necrosis. Todos los organismos mantienen un entorno reductor dentro de sus células, que es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Se pueden generar desbalances en este estado redox que causarían efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, lípidos y el ADN. (Pérez et al., 2018)

El estrés oxidativo es un proceso dañino que ocurre en las células cuando hay un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad de la célula para detoxificarlas, estas moléculas pueden dañar los componentes celulares como las mitocondrias, las membranas celulares y el núcleo celular, las enzimas, los lípidos y las proteínas también son susceptibles, el glutatión es un antioxidante importante que ayuda a proteger las células del estrés oxidativo, se une a los xenobióticos, lo que ayuda a su detoxificación (Hernández et al., 2023), sin embargo, el estrés puede causar cambios en el nivel de glutatión dentro de las células, existen varios métodos para determinar el estrés oxidativo, entre ellos, la prueba MTT que mide la actividad metabólica de las células, la permeabilidad de la membrana celular, el nivel total de glutatión, la actividad de la glutatión S-transferasa (GST) aumento en la actividad de la GST puede indicar que las células están tratando de decodificar las ROS (Pacholak et al., 2020).

El estrés oxidativo en *X. laevis* ha sido para evaluar la toxicidad ambiental, un estudio para evaluar la toxicidad de colorantes textiles se revelo las alteraciones en los niveles de glutatión y enzimas como la superóxido dismutasa, para comprender así, los efectos tóxicos a nivel celular y molecular de los organismos acuáticos (Lu et al., 2022).

Capítulo III

Planteamiento del problema

Las infecciones fúngicas han ido en aumento, al igual que la producción y consumo de medicamentos antifúngicos como triazoles e imidazoles, en específico del miconazol, el cual se incorpora mayoritariamente a los cuerpos de agua proveniente de efluentes industriales, hospitalarios y domésticos, convirtiéndose en un contaminante emergente no regulado en su totalidad por la autoridad ambiental, con características fisicoquímicas que impiden la degradación de este compuesto y el proceso no basta de las plantas tratadoras de aguas residuales, por lo que ocasiona daños ecológicos, que aún no se determinan en su totalidad por lo que es importante saber su toxicidad y los mecanismos por los cuales la ejerce (Torres et al., 2023).

Hipótesis

El miconazol inducirá efectos teratogénicos y estrés oxidativo en larvas de *Xenopus laevis* evidenciado por alteraciones en el desarrollo morfológico, cambios en el comportamiento y un aumento en los marcadores de daño oxidativo, como peroxidación lipídica, actividad de la enzima superóxido dismutasa y catalasa.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la toxicidad inducida por miconazol utilizando como bioindicador larvas de *Xenopus laevis* mediante el ensayo FETAX

Objetivos específicos

1. Evaluar el potencial teratogénico, la caracterización de las malformaciones inducidas por miconazol, así como la estimación de las concentraciones medias letal (CL50) y efectiva (CE50) y la concentración mínima inhibitoria de crecimiento (CMIC).
2. Evaluar el estrés oxidativo en larvas de *X. laevis* expuestas a diferentes concentraciones de miconazol.
3. Evaluar el comportamiento de nado en larvas de *X. laevis* expuestas a diferentes concentraciones de miconazol.

Capítulo IV. Metodología

Reactivos y sustancia a prueba

Los reactivos utilizados en esta investigación son de grado analítico y de la marca Sigma- Aldrich, el MCZ ($C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$), con número de CAS 22 916-47-8 y una pureza del 99%, se usó para preparar la solución madre cada 24 h, colocando 1g de MCZ en 1mL de Dimetilsulfóxido o DMSO ($(CH_3)_2SO$) y aforando a 1 L con medio FETAX.

El medio FETAX se preparó pesando las siguientes cantidades, 625 mg de cloruro de sodio (NaCl), 96 mg de carbonato de calcio ($NaHCO_3$), 30 mg de cloruro de potasio (KCl), 15 mg de cloruro de calcio ($CaCl_2$), 60 mg de sulfato de calcio dihidratado ($CaSO_3 \cdot 2H_2O$) y 75 mg de sulfato de magnesio ($MgSO_3$) por 1 L de agua desionizada, el pH final de la solución fue de 7,6 a 7,9.

Para la preservación de larvas se utilizaron 80 mL de formaldehído (HCHO) al 37% por 1L de agua desionizada.

Obtención de organismos de experimentación

Se utilizaron los protocolos éticos del Comité Universitario para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, para el cuidado y uso de animales de experimentación de la Universidad Autónoma del Estado de México y las especificaciones técnicas establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Las ranas *X. laevis* se obtuvieron del acuario del laboratorio de Toxicología de la facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México, machos y hembras con una edad de 2-3 años, se mantuvieron por separado en peceras de 120 L a 21 ± 3 °C, en agua potable y desclorada, con un fotoperiodo de 12/12 h de oscuridad/luz, se alimentaron diariamente con Spirulina boost de Grupo Acuario Lomas ® y tres veces por semana con Alimento Nutritivo Camaron Tortuguez ® los machos que se utilizaron tienen con una longitud de 7.5 a 10 cm y las hembras de 10 a 12.5 cm, con un peso de 50 a 60 g y 150 a 200 g ± 10 respectivamente.

Fertilización

La ovulación y la fecundación natural de los ovocitos se indujo con la Hormona gonadotropina coriónica humana (HCG, CHORAGON®, Ferring) en dosis fraccionada, es decir, se utilizó una dosis de inicio o de cebado y otra de refuerzo, mismas que se aplicaron en el saco linfático dorsal de *X. laevis*. Se inoculo a la hembra y al macho 6 días antes de la ovulación planificada con una primera dosis de 150 UI para hembras y 50 UI para machos de HCG, esta inyección inicial no induce la puesta de huevos, en cambio promueve la producción constante de un gran número de óvulos maduros después de la segunda dosis (Shaidani et al., 2021), una vez aplicada la inyección la hembra y el macho se colocaron separados, cada uno en una pecera de 40L con alimento, pasado el tiempo se mantuvieron con un ayuno durante 24 h antes la segunda dosis, el ayuno favorece a la oviposición inducida y evita la contaminación con orina y heces (Cardoso-Vera et al., 2017), la noche anterior al experimento, se inyectó la dosis de refuerzo de la hormona HCG, 500 UI para la hembra y 300 UI para el macho, ambos se colocaron en una pecera, la ovulación y la fecundación comenzaron a la par entre las 8 y las 12 horas posteriores a la inyección y continuo por 5 horas. Los ovocitos se extrajeron de la pecera con pipetas pasteur esteriles y se colocaron en cajas de Petri, con un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 305 se examinaron y se seleccionaron aquellos con forma esférica, división celular homogénea y en estadio de blástula (estadio 8-10), siendo estos los fecundados, con base en Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin) de Nieuwkoop y Faber (Zahn et al., 2022).

Exposición

Para realizar los ensayos de esta investigación se utilizó la Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus* E1439-12R2019 (FETAX, American Society for Testing and Materials, 2019).

Partiendo de la solución madre de MCZ se hicieron diluciones para obtener concentraciones ambientalmente relevantes de 0.36, 3.6, 36, 360 y 3600 µg MCZ L⁻¹. Para evaluar el MCZ, bajo una cabina de flujo laminar se colocaron 20 embriones en etapa de blástula media en cada una de las cajas de Petri de 120 mm con 25 mL de las concentraciones del antifúngico y se hizo lo mismo con las soluciones de FETAX y FETAX /DMSO sin MCZ conformando así los grupos control, este ensayo

se realizó por cuadruplicado (N = 80 embriones por concentración de prueba). Posteriormente los embriones se incubaron a 21 ± 2 °C por 96 h, el medio se reemplazó cada 24 h y también se retiraron los embriones muertos. Este procedimiento fue el utilizado para determinar teratogénesis y estrés oxidativo.

Teratogénesis

Después de que se expusieron las larvas a las concentraciones del MCZ, pasadas las 96 h los embriones se sacrificaron con solución MS-222 al 0.06% y se fijaron con formaldehído al 3% para su observación, mediante un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 305, las malformaciones se identificaron mediante el Atlas de Anormalidades (Bantle et al., 1991), las larvas también se midieron de cabeza a cola.

Se calculó la concentración letal media (CL50 malformación) y la concentración efectiva media de malformación (CE50), se evaluó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov, las concentraciones medias se determinaron mediante el método Probit con nivel de confianza del 95%, con los datos de las mediciones de las larvas se realizó un ANOVA unidireccional y análisis LDS-Fisher con $P \leq 0.005$, los análisis estadísticos se hicieron con el programa Satat Plus con estas determinaciones se obtuvo el valor del índice teratogénico (IT) [IT = LC50/CE50 (malformación)], para conocer la toxicidad del MCZ (IT ≥ 1.5).

Comportamiento

Las larvas expuestas como se describe en la sección 2.4 se colocaron individualmente en placas de Petri de vidrio (9 cm de diámetro y 1 cm de profundidad) con medio FETAX, medio FETAX con DMSO y las soluciones de MCZ antes mencionadas, en presencia de luz y fondo blanco, siguiendo el procedimiento descrito por Peltzer et al. (2013) y Peluso et al, (2024), en el centro de la placa se liberó una larva y se dejó aclimatar durante 5 s, posteriormente se registraron los parámetros de comportamiento natatorio durante 5 minutos mediante una cámara Galaxy S24 Ultra (resolución de grabación UHD 8K (7680 x 4320)@30fps) colocándola justo encima de la placa. Cada larva de control y prueba se utilizó una sola vez, el experimento se realizó por triplicado. Los videos (formato MP4) se analizaron automáticamente software EthoVision XT 17 que permite registrar las trayectorias y cuantificar distancia total recorrida (actividad locomotora basal), el tiempo pasado en ciertas áreas (tigmotaxis), periodo total de inmovilidad, aceleración, entre otros. Para la

determinación de la tigmotaxis que es la tendencia a evitar el área central de una arena y, en cambio permanecer cerca o desplazarse por los bordes (Hernández Díaz et al., 2024) del entorno se utilizó una caja de Petri se dividió en dos secciones (zona exterior e interior), equivalentes al tamaño de las larvas 10 mm, la tigmotaxis se presenta como el tiempo en segundos que las larvas permanecen en la periferia de la pared en la zona exterior (Schnörr et al.2012; Karaman et al. 2023).

Una vez determinada la normalidad de los datos, se realizó un ANOVA unidireccional y análisis LDS- Fisher con $P \leq 0.005$, los análisis estadísticos se hicieron con el programa Satat Plus.

Estrés oxidativo

Para esta evaluación, se siguió el procedimiento descrito en los incisos 7.1 a 7.6, con la diferencia de que el período de exposición se extendió por 96 horas más (es decir, un total de 192 horas), con el objetivo de asegurar que las larvas desarrollaran sistemas enzimáticos funcionales.

A las 192 horas, se pesaron las larvas de cada caja Petri y se homogenizaron mecánicamente en frío (4°C) en una proporción 1:4 (p/v) con solución amortiguadora de fosfatos (pH 7.2). Posteriormente, se centrifugaron durante 30 minutos a 12,500 rpm a 4°C. El sobrenadante se separó y se centrifugó nuevamente a 2,500 rpm durante 15 minutos.

Determinación del grado de lipoperoxidación

El grado de lipoperoxidación se determinó mediante el método de Buege and Aust (1978). En una celda de cuarzo se añadieron 500 μL del sobrenadante, junto con 1 mL de solución reguladora tris-HCl 150 mM (pH 7.4), y se incubaron a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, se adicionaron 2 mL de solución de ácido tiobarbitúrico al 0.38% en ácido tricloroacético al 15% y se incubaron a 37°C durante 45 minutos.

La muestra fue centrifugada a 12,500 rpm durante 15 minutos a 4°C, y se determinó su absorbancia a 535 nm. Los resultados se expresaron en mM de malondialdehído/mg de proteínas, utilizando un coeficiente de extinción molar de $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de la SOD se determinó utilizando el método de Misra and Fridovich (1972).

Se añadieron 150 μL de solución amortiguadora de carbonatos (50 mM de carbonato de sodio y 0.1 mM de EDTA, pH 10.2) y 100 μL de adrenalina 30 mM a 20 μL del sobrenadante. La absorbancia se midió a 480 nm a los 30 segundos y 5 minutos. La actividad de la SOD se estimó interpolando los datos en una curva estándar de SOD.

Determinación de la actividad de la catalasa (CAT)

La actividad de la CAT se determinó según el método de Radi et al. (1991).

A 20 μL del sobrenadante se añadieron 1 mL de solución amortiguadora de aislamiento (0.3 M de sacarosa, 1 mM de EDTA, 5 mM de HEPES y 5 mM de KH_2PO_4) y 0.2 mL de solución de H_2O_2 al 20 mM. La absorbancia se midió a 240 nm en los tiempos de 0 y 60 segundos. La actividad de la catalasa por minuto se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar del H_2O_2 ($0.093 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Capítulo VI. Resultados

Teratogénesis

En la Fig.5 se muestran ejemplos representativos de larvas de *X. laevis* malformadas tras la exposición a concentraciones ambientalmente relevantes de MCZ, los criterios de valoración de toxicidad del desarrollo incluyen malformaciones, variaciones y afectación del crecimiento, la gravedad de estas malformaciones aumentan recíprocamente a la concentración de MCZ, las más comunes fueron despigmentación ocular, cristalino prominente, blisters, intestino mal enrollado y malformación craneofacial, edema múltiple y taponamiento de saco vitelino el cual se observó mayoritariamente en la concentración de 3.6 mg/L y en la Fig.6 se muestran las frecuencias de estas malformaciones.

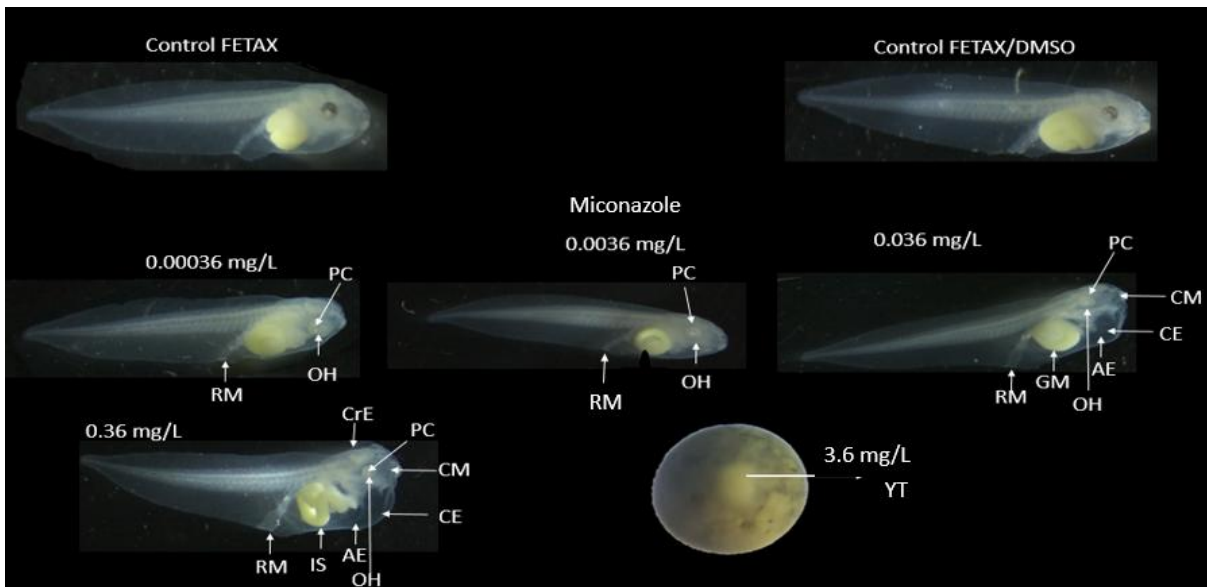


Fig. 5. Malformaciones representativas en larvas de *X. laevis* expuestas a MCZ por 96 h a diferentes concentraciones y grupos control. Abreviaturas OH: hipopigmentación ocular, PC: cristalino prominente, RM: malformación rectal, B: Blisters, GM: intestino mal enrollado, CM: malformación craneofacial, AE: edema abdominal, CE: edema cardiaco, CrE: edema craneoencefálico; IS: intestino sigmoide, YT: taponamiento de Yema.

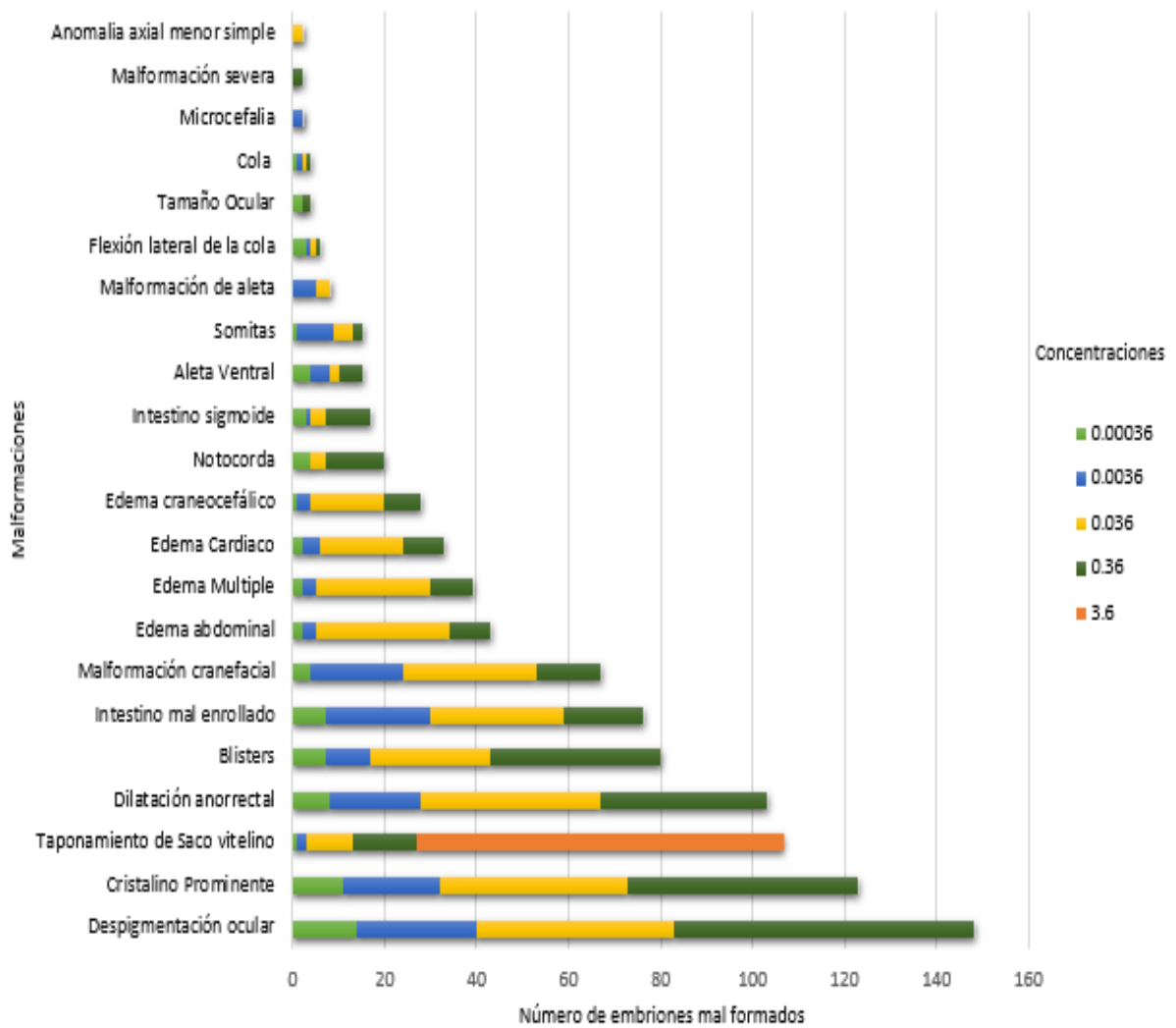


Fig. 6 Frecuencia de malformaciones inducidas por diferentes concentraciones MCZ en larvas de *X. laevis*.

La relación entre las concentraciones de prueba utilizadas y la longitud media del embrión como indicador de crecimiento, donde se observa una diferencia estadísticamente significativa de reducción de tamaño con respecto a los grupos controles se muestra en la Fig. 7.

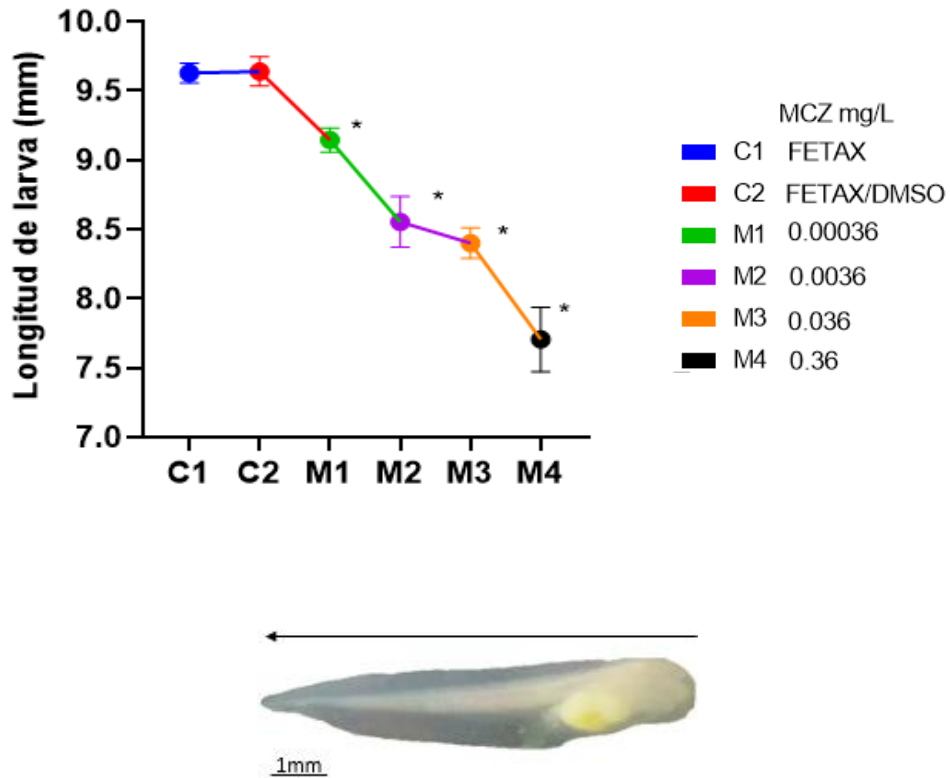


Fig. 7. Medidas de cabeza-cola en larvas de *X. laevis* expuestas a MCZ durante 96 h. *Diferencia estadísticamente significativa entre los grupos control C1 (FETAX) y C2 (FETAX con DMSO) y los expuestos a MCZ. Prueba de ANOVA de una vía, con Fisher y Dunnett ($P < 0.05$).

Los resultados de FETAX en embriones de *X. laevis* expuestos a concentraciones de MCZ ambientalmente relevantes, se muestran en la tabla 4 en la cual se detalla por concentración de MCZ el número y porcentajes de especímenes muertos y malformados, la concentración letal media (CL50) a las 96 h de exposición fue de 0.377 mg/L (IC 95%: 0.21-0.54), en la concentración más alta de MCZ (3.6 mg/L) indujo letalidad total de los embriones. La concentración efectiva media de malformaciones (CE50) fue de 0.222 mg/L (IC 95%: 0.04-0.39) y el índice de teratogénico de 1.69.

Tabla 4. Teratogénesis y letalidad en larvas de *X. laevis* expuestos por 96 h a miconazol

Concentración mg/L	Total de larvas expuestas	Número de Muertes	% Mortalidad	No. total de larvas con malformaciones	% Malformaciones
FETAX	80	0	0	0	0
FETAX/DMSO	80	0	0	0	0
0.00036	80	12	15	14	17.5
0.0036	80	22	27.5	26	32.5
0.036	80	35	43.75	43	53.75
0.36	80	60	75	65	81.25
3.6	80	80	100	80	100
CL ₅₀	0.377 (IC, 0.21-0.54)				
CE ₅₀	0.222 (IC, 0.04-0.39)				
IT	1.69				

CL₅₀: Concentración letal media; CE₅₀ (malformaciones): concentración efectiva media.

Análisis Shapiro-Wilk y Probit P<0.05. Stat Plus

IT: Índice teratogénico

Comportamiento

Se observaron cambios en la distancia recorrida, inmovilidad, tiempo de permanencia en la periferia de la pared (tigmotaxis) y la aceleración máxima en larvas de *X. laevis* entre los grupos controles y los expuestos a MCZ en un periodo de 96h (Fig. 8).

Después de las 96h de exposición al antifúngico se observó una disminución de la velocidad recorrida (Fig.8. A) a medida que aumenta la concentración de MCZ respecto a los grupos control, en este mismo tiempo de exposición las larvas muestran poca movilidad con la misma tendencia (Fig.8. B). Las larvas expuestas a MCZ pasaron menos tiempo en la periferia de la pared de la caja de Petri en comparación con el grupo control (Fig.8. C) y la aceleración máxima disminuye a medida que aumenta la concentración del antifúngico (Fig.8. D).

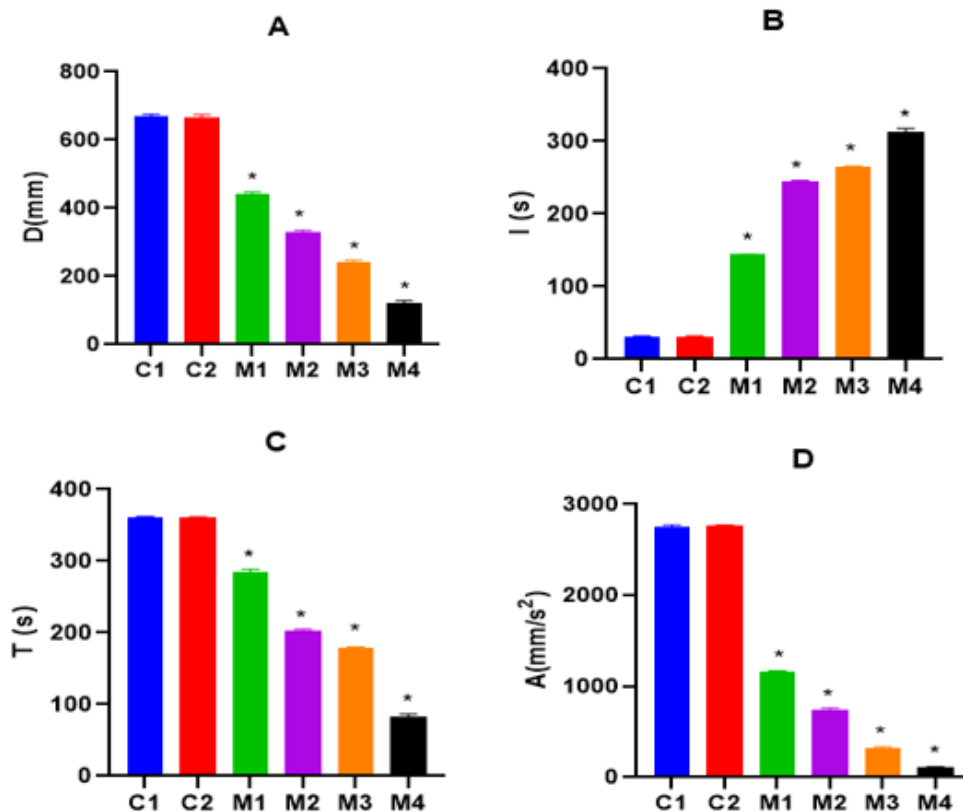


Fig. 8 Parámetros de comportamiento (A) Distancia recorrida, (B) Inmovilidad, (C) Tiempo de permanencia en la periferia, (D) Aceleración máxima. *Diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control, ANOVA de una vía y prueba de Tukey ($P < 5$).

Capítulo VII. Discusión de resultados

Los anfibios, principalmente las especies que se reproducen en estanques, se enfrentan al peor escenario de exposición de contaminantes transportados por el agua, más aún porque sus larvas son extremadamente sensibles (Carr & Patiño, 2011), actualmente no hay estudios de teratogénesis causada por MCZ en larvas de anfibios, en neonatos de *Daphnia magna* se determinó una LC50 de 0.3 mg L⁻¹ a las 48 h de exposición (Belleza et al., 2014).

La dosis letal media (LD50) cuantitativa para el nitrato de miconazol (MCZ) en alevines de *Labeo rohita* (peces juveniles), se estableció una DL50 de 126.14 mg MCZ kgBW⁻¹ (miligramos de miconazol por kilogramo de peso corporal), los estudios anteriores se comparan con la LC 50 obtenida en este estudio de 0.377 mg L⁻¹ siendo cercano con los neonatos de *Daphnia magna*. El clotrimazol es un imidazol que afecta la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo en larvas de rana *Xenopus tropicalis* (Chen et al., 2015; Iancu et al., 2024).

El penconazol un azol, causa malformaciones en estructuras como cráneo, extremidades, sistema gastrointestinal o curvatura corporal en *X. laevis* expuestas durante la metamorfosis y aunque no son en larvas, son similares a las obtenidas en este estudio (fig.5), el TI obtenido en la presente investigación es de 1.6 lo que indica que el MCZ puede causar malformaciones durante el desarrollo embrionario (Turhan et al., 2022).

El mecanismo de acción del MCZ (Fig.9) con el cual ejerce su efecto terapéutico mediante la inhibición de la enzima CYP 51 (14- α -sterol-demethylase) responsable de la síntesis de ergosterol y la generación de esteroides metilados que son tóxicos para la membrana celular del hongo, son mecanismos que pueden estar implicados en el desarrollo de las malformaciones e inhibición de crecimiento en *X. laevis* debido a que el MCZ actúa de forma no selectiva en la inhibición del CYP51, en mamíferos, específicamente en ratones, se identificó que CYP51 es esencial para la embriogénesis (Keber et al., 2011; Pihlaja et al., 2024; Regidor et al., 2023; Rosales-Pérez et al., 2022). y por el anillo de imidazol puede causar disrupción endocrina, en especies no objetivo (Munkboel et al., 2019).

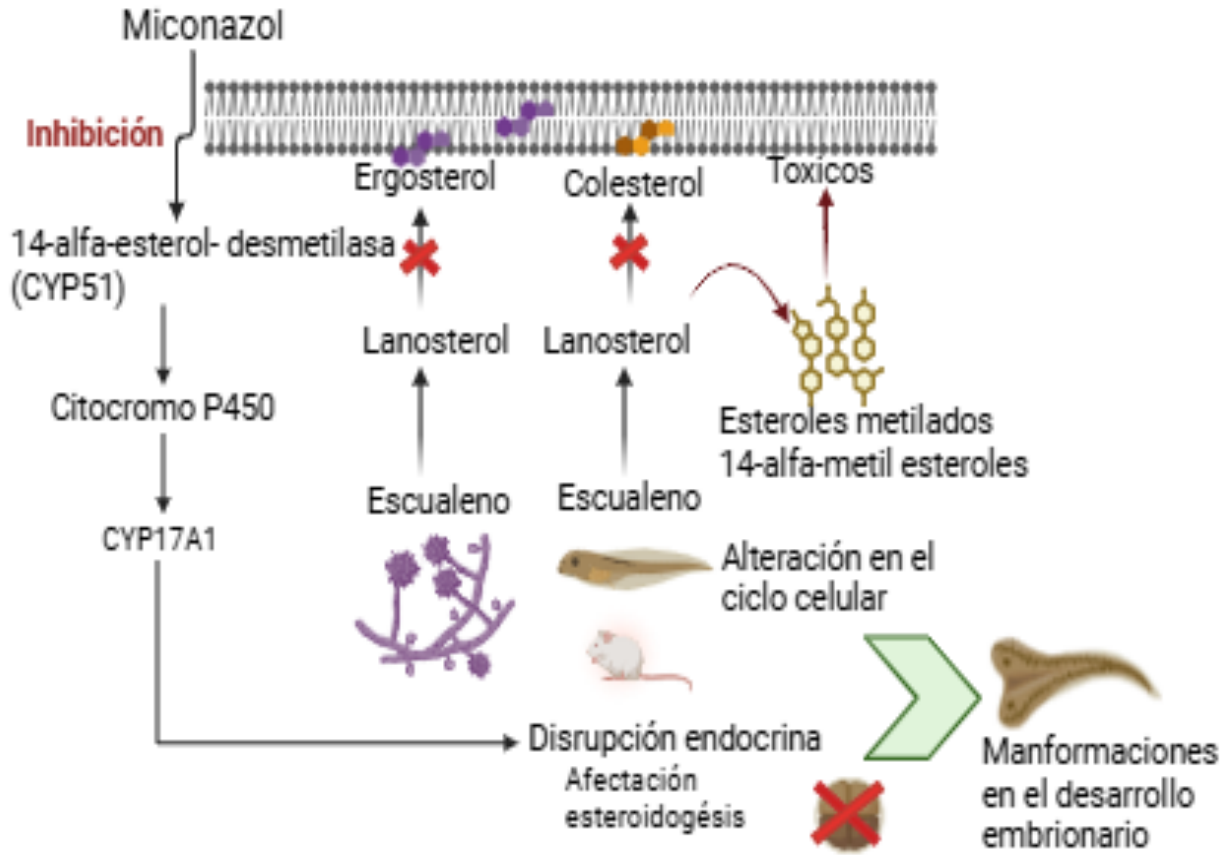


Fig.9 Probable mecanismo de acción del MCZ.

Created in BioRender.com bio

La evaluación conductual en larvas constituye una herramienta sensible para detectar efectos subletales asociados a la exposición a antifúngicos presentes en el medio acuático. Estos fármacos al alterar procesos celulares, pueden impactar directamente en la actividad neuromuscular y en el desarrollo del sistema nervioso, generando cambios detectables en parámetros de locomoción y respuesta al entorno. (Mech et al., 2022).

En este estudio se observó una disminución de la actividad de nado de las larvas de *X. laevis* tras la exposición a MCZ, en larvas de pez cebra expuestas a otros antifúngicos como triticonazol, que mostro hipoactividad en la oscuridad (Souders et al., 2020), debido a que el fungicida puede afectar la actividad locomotora, así mismo

el tebuconazol otro antimicótico altera el comportamiento de los peces (Carnib et al., 2025).

En la presente investigación se observó una disminución notable de la distancia recorrida y la aceleración de *X. laevis* conforme aumenta la concentración de MCZ, sin embargo, la tigmotaxis también disminuye esto debido a que la larva se aleja de la periferia y se queda inmóvil en el centro de la caja de Petri (fig. 4), no se encontró evidencia científica sobre el MCZ en larvas, pero se han encontrado investigaciones con otros azoles, como el difenoconazol que ocasiona efectos en embriones de pez cebra principalmente en la reducción significativa de la locomoción de larvas (velocidad, distancia), esto está relacionado con el cambio en los neurotransmisores como dopamina y acetilcolina (Yang et al., 2023), estrés oxidativo (contaminantes que causan estrés oxidativo y afectan directamente a la actividad de la acetilcolinesterasa (contaminantes que causan estrés oxidativo y afectan directamente a la actividad de la acetilcolinesterasa AChE) y alteraciones genéticas relacionadas con el neurodesarrollo (Firat, Ö., & Firat, Ö. 2025). La tigmotaxis se refiere al tiempo que un organismo pasa en la periferia de un entorno de prueba en comparación con su centro y se utiliza como indicador de niveles de ansiedad, en las larvas de *X. laevis* expuestas a MCZ se observó la disminución de la tigmotaxis, es decir, que el tiempo que la larva permaneció en la periferia fue menor comparado con el que permaneció en el área central, lo cual tiene repercusiones en el comportamiento de nado, haciendo que el espécimen sea una presa más fácil ya que está más expuesto a depredadores que si permaneciera en la periferia (Wu et al., 2024).

Capítulo IX. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el MCZ en concentraciones ambientalmente relevante, ha causado efectos teratogénicos, así como el retraso en el crecimiento y se relacionan con la inhibición de la enzima lanosterol 14 α -desmetilasa (CYP51) ocasionando alteración en la síntesis de esteroides esenciales y la generación de estrés oxidativo, eclosionando incluso a los ovocitos en concentraciones altas de MCZ. Los cambios en los parámetros de comportamiento como distancia recorrida, aceleración, inmovilidad y tigmotaxis en larvas de *X. laevis*, la afectación del comportamiento larval por antifúngicos tiene relevancia ecológica porque puede comprometer funciones esenciales como la exploración, la respuesta a depredadores y la búsqueda de alimento, además los cambios en la tigmotaxis y la locomoción se reconocen como biomarcadores tempranos de neurotoxicidad, Útiles para la evaluación de riesgo ambiental de contaminantes farmacéuticos. Por lo anterior es importante contar con una buena disposición de residuos implementando programas comunitarios para concientizar a la población para impedir que contaminantes emergentes lleguen a los ecosistemas.

Se recomienda determinar el mecanismo molecular principal los resultados de comportamiento relacionarlo con la modulación de los sistemas de neurotransmisores (colinérgico, GABAérgico y serotoninérgico) en el sistema nervioso central, siendo altamente sensible al daño molecular inducido por contaminantes que causan estrés oxidativo y afectan directamente a la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE).

Capítulo X. Referencias

- Acción Mundial Contra las Infecciones Fúngicas, GAFFI. (24 de agosto 2024). *Global Impact*. <https://gaffi.org/>
- Acquaroni, M., Cresto, F. N., Pérez Coll, C. y Svartz, G. (2024). Evaluación de la toxicidad de un fungicida a base de tebuconazol en el desarrollo embrionariolarvario del sapo común sudamericano *Rhinella arenarum*. *Toxicología ambiental*, 39(4), 1968–1977. <https://doi.org/10.1002/tox.24081>
- Adeola, A. O., Paramo, L., Fuoco, G., & Naccache, R. (2024). Emerging hazardous chemicals and biological pollutants in Canadian aquatic systems and remediation approaches: A comprehensive status report. *The Science of the Total Environment*, 954(176267), 176267. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176267>
- Adhikari, K., Pearce, C. I., Sanguinet, K. A., Bary, A. I., Chowdhury, I., Eggleston, I., Xing, B., & Flury, M. (2024). Accumulation of microplastics in soil after long-term application of biosolids and atmospheric deposition. *The Science of the Total Environment*, 912(168883), 168883. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168883>
- Alsharif, IA, Fayed, HM, Abdel-Rahman, RF, Abd-Elsalam, RM y Ogaly, HA (2022). El miconazol mitiga la colitis experimental inducida por ácido acético en ratas: Perspectivas sobre la inflamación, el estrés oxidativo y la interacción de la señalización Keap1/Nrf-2. *Biology*, 11 (2), 303. <https://doi.org/10.3390/biology11020303>
- Alderton, I., Palmer, B. R., Heinemann, J. A., Pattis, I., Weaver, L., Gutiérrez-Ginés, M. J., Horswell, J., & Tremblay, L. A. (2021). The role of emerging organic contaminants in the development of antimicrobial resistance. *Emerging Contaminants*, 7, 160–171. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2021.07.001>
- Ali, J., Ali, M., Khan, I., Khan, A., Rafique, Z., & Waseem, H. (2022). Advances in biodegradation and bioremediation of emerging contaminants in the environment. En *Biological Approaches to Controlling Pollutants* (pp. 121–138). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824316-9.00013-6>
- Alzola-Andrés, M., Domingo-Echaburu, S., Nogales-García, M., Palacios-Zabalza, I., Urrutia-Losada, A., Arteché-Elguizabal, L., de Torre Querejazu, A. L., Basterra, A. Q., Orive, G., & Lertxundi, U. (2024). Pharmaceuticals in the Environment: A hospital pharmacy's perspective. El impacto ambiental de los medicamentos: una mirada desde la farmacia hospitalaria. *Farmacia hospitalaria : organo oficial de expresion científica de la Sociedad Espanola de Farmacia Hospitalaria*, 48 Suppl 1, S13–S20. <https://doi.org/10.1016/j.farma.2023.09.010>
- American Society for Testing and Materials, ASTM. (2019). Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay—*Xenopus* (FETAX). E1439-12R2019. ASTM Standards on Biological Effects and Environmental Fate.

- Ángulo R. A., & Santos O. M. F. (2022). Antifúngicos actuales y futuros enfoques terapéuticos: artículo de revisión. *Dermatología cosmética, médica y quirúrgica*. Vol. 20 (4): 469-477 <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2022/dcm224r.pdf>
- Arman, N. Z., Salmiati, S., Aris, A., Salim, M. R., Nazifa, T. H., Muhamad, M. S., & Marpongahtun, M. (2021). Una revisión sobre los contaminantes emergentes en el medio acuático: existencias, efectos sobre la salud y procesos de tratamiento. *Agua*, 13(22), 3258. <https://doi.org/10.3390/w13223258>
- Assress, H. A., Selvarajan, R., Nyoni, H., Mamba, B. B., & Msagati, T. A. M. (2021). Antifungal azoles and azole resistance in the environment: current status and future perspectives—a review. *Re/Views in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(4), 1011–1041. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09594-w>
- Atugoda, T., Ashiq, A., Keerthanan, S., Wijekoon, P., Ramanayaka, S., & Vithanage, M. (2021). Biochar amalgamation with clay: Enhanced performance for environmental remediation. En *Biochar: Fundamentals and Applications in Environmental Science and Remediation Technologies* (pp. 1–37). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.apmp.2021.08.007>
- ASTM (1998) Standard guide for conducting the frog embryo teratogenesis assay – *Xenopus*. Designation E 1439-98, Annual book of ASTM standards, vol 11.5. *American Society for Testing and Materials, Philadelphia*, pp 825–836
- Bhat, S. U., Akhter, Z., Neelofar, M. R., & Qayoom, U. (2022). Towards understanding the impact of pesticides on freshwater ecosystem. En *Pesticides in the Natural Environment* (pp. 121–138). Elsevier
- Bauer, B., Mally, A., & Liedtke, D. (2021). Embriones y larvas de pez cebra como modelos animales alternativos para ensayos de toxicidad. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, 22(24), 13417. <https://doi.org/10.3390/ijms222413417>
- Beijer, K., Abrahamson, A., Brunström, B., & Brandt, I. (2010). CYP1A inhibition in fish gill filaments: a novel assay applied on pharmaceuticals and other chemicals. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 96(2), 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.10.018>
- Beijer, K., Jönsson, M., Shaik, S., Behrens, D., Brunström, B., & Brandt, I. (2018). Azoles additively inhibit cytochrome P450 1 (EROD) and 19 (aromatase) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 198, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.016>
- Belleza, E., Breitholtz, M., & Gorokhova, E. (2014). ¿Son los fármacos con dianas moleculares conservadas evolutivamente más potentes para causar efectos tóxicos en organismos no objetivo? *PloS uno*, 9(8), E105028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105028>
- Bhagat, J., Singh, N., Nishimura, N., & Shimada, Y. (2021). A comprehensive review on environmental toxicity of azole compounds to

- fish. *Chemosphere*, 262(128335), 128335.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128335>
- Bhagat, J., Zang, L., Nakayama, H., Nishimura, N., & Shimada, Y. (2021). Effects of nanoplastic on toxicity of azole fungicides (ketoconazole and fluconazole) in zebrafish embryos. *The Science of the Total Environment*, 800(149463), 149463.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149463>
- Borah, P., Hazarika S., Sharma D., Katharigatta N., Chopra, D., Al-Shar'I A., Hemalatha S., Ashok, K. S., Acharya, A. & Kishore P., (2023). A Comprehensive Resource of Anti-Infective and Anti-cancer Drugs. *Medicinal Chemistry of Chemotherapeutic Agents*. (285-315) Academic Press.
- Bueno, M. J. M., Gomez, M. J., Herrera, S., Hernando, M. D., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 164, 267–273.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.038>
- Calzadilla L., Sandra Y., Uriarte N. A., Saint F., Farah M. R., & Melian S. C., (2022). Consideraciones actuales sobre los teratógenos y sus efectos durante el embarazo. *MEDISAN*, 26(2), 381-402.
- Carnib, B. L., Cirqueira, F., de Oliveira, J. M., & Rocha, T. L. (2025). Ecotoxicological impact of the fungicide tebuconazole on fish: a historical review, global trends and challenges. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 284, 107398.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2025.107398>
- Carr, J. A., & Patiño, R. (2011). The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in teleosts and amphibians: endocrine disruption and its consequences to natural populations. *General and comparative endocrinology*, 170(2), 299–312.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.06.001>
- Carrquiriborde P., Cazenave, J., Amé, M. V., & Menone, M. L. (2021). Biomarcadores de Contaminación. Principios de Ecotoxicología. *Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas*. (pp. 291-308).
- Chen, Z. F., Ying, G. G. (2015). Ocurrencia, destino y riesgo ecológico de cinco fungicidas azoles típicos como productos terapéuticos y de cuidado personal en el medio ambiente: una revisión. *Medio Ambiente. Int.* 84, 142-153. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.07.022>
- Cheng, N., Wang, B., Wu, P., Lee, X., Xing, Y., Chen, M., & Gao, B. (2021). Adsorción de contaminantes emergentes del agua y las aguas residuales mediante biocarbón modificado: una revisión. *Contaminación ambiental* (Barking, Essex: 1987), 273(116448), 116448. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116448>

- Chen, H., Liang, X., Gu, X., Zeng, Q., Mao, Z., & Martyniuk, C. J. (2021). Environmentally relevant concentrations of sertraline disrupts behavior and the brain and liver transcriptome of juvenile yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco*): Implications for the feeding and growth axis. *Journal of Hazardous Materials*, 409. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124974>
- Colzani, L., Forni, C., Clerici, L., Barreca, S., & Dellavedova, P. (2024). Determination of pollutants, antibiotics, and drugs in surface water in Italy as required by the third EU Water Framework Directive Watch List: method development, validation, and assessment. *Environmental Science and Pollution Research International*, 31(10), 14791–14803. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32025-6>
- De Solla, S.R.; Gilroy, È.A.M.; Klinck, J.S.; Rey, L.E.; McInnis, R.; Struger, J.; Backus, S.M.; Gillis, P.L. Bioacumulación de productos farmacéuticos y de cuidado personal en el mejillón unionido *Lasmigona costata* en un río que recibe efluentes de aguas residuales. *Quimiosfera*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.022>
- de Souza, A. B., Mielcke, J., Ali, I., Dewil, R., van de Goor, T., & Cabooter, D. (2023). Removal of miconazole from water by O₃, UV/H₂O₂ and electrochemical advanced oxidation: Real-time process monitoring and degradation pathway elucidation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(3), 109993. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109993>
- Dhandapani, K., Sivarajan, K., Ravindhiran, R., & Sekar, J. N. (2022). Infecciones fúngicas como amenaza creciente para la salud humana: quimiosensibilización de patógenos fúngicos con AFP de *Aspergillus giganteus*. *Fronteras de la microbiología celular y de las infecciones*, 12, 887971. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.887971>
- Dongmo F. L. N. & Bajaj T. (2024). Caspofungin. StatPearls [Internet]. La isla del tesoro (FL):StatPearls Publishing. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545140/>
- Draskau, M. K., & Svingen, T. (2022). Azole fungicides and their endocrine disrupting properties: Perspectives on sex hormone-dependent reproductive development. *Frontiers in Toxicology*, 4, 883254. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.883254>
- Draskau, M. K., Boberg, J., Taxvig, C., Pedersen, M., Frandsen, H. L., Christiansen, S., & Svingen, T. (2019). In vitro and in vivo endocrine disrupting effects of the azole fungicides triconazole and flusilazole. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 255(Pt 2), 113309. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113309>
- Drozd, K. V., Manin, A. N., Boycov, D. E., & Perlovich, G. L. (2022). Simultaneous improvement of dissolution behavior and oral bioavailability of antifungal miconazole via cocrystal and salt formation. *Pharmaceutics*, 14(5), 1107. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051107>

- Enríquez-Valencia, C. E., Prieto-Mojica, C. A., & Gómez-Balanta, F. Z. (2022). Regulación genética de la determinación sexual y diferenciación gonadal en peces teleósteos. *ENTRAMADO*, 18(1). <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.7607>
- EU Regulation 2022/2 of the European Parliament and of the Council. (2022) On digital operational resilience for the financial sector and amending Regulations (EC) No 1060/2009, (EU) No 648/2012, (EU) No 600/2014, (EU) No 909/2014 and (EU) 2016/1011 (Text with EEA relevance), OJ L 333, 27.12.2022, p. 1–79.
- Estévez, E., Palacios, D. M. , Molina, A. M., Molina J.N., & Cabrera M.C. (2013). Los contaminantes emergentes en las aguas subterráneas: el caso del NE de Gran Canaria. *TEMAS ACTUALES DE LA HIDROLOGÍA SUBTERRÁNEA*, 247–256.
- Fırat, Ö., & Fırat, Ö. (2025). Oxidative Stress, DNA Damage, Ethoxyresorufin-O-deethylase Induction and Neurotoxicity Caused by Environmental Pollutants in *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) from Atatürk Dam Lake (Türkiye). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 114(4), 52. <https://doi.org/10.1007/s00128-025-04027-8>
- Frías, DL. M.G., Ramírez G. G. García E. S., Acosta A. G., Orellana S., Martínez H. E., (2020) Características clínico-epidemiológicas de las micosis registradas durante cinco años en un hospital de tercer nivel. *Dermatol Rev Mex.* 64 (6): 650-657.
- Gamil, Y., Hamed, M. G., Elsayed, M., Essawy, A., Medhat, S., Zayed, S. O., & Ismail, R. M. (2024). The anti-fungal effect of miconazole and miconazole-loaded chitosan nanoparticles gels in diabetic patients with Oral candidiasis-randomized control clinical trial and microbiological analysis. *BMC Oral Health*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-024-03952-0>
- Gayosso, M.A., &González P. B. K. (2021) Contaminantes emergentes y su relación con el ambiente. *Impluvium, Publicación Digital de la Red del Agua UNAM*. 17: 28-34.
- Gómez, B. L., & Escandón, P. (2023). Fungal infections: A growing threat. Las infecciones fúngicas: una amenaza creciente. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud*, 43(Sp. 1), 11–16. <https://doi.org/10.7705/biomedica.7214>
- González-Gaya, B. (2021). Contaminación invisible: Contaminantes marinos emergentes. *Metode Science Studies Journal* , (11), 183–191. <https://doi.org/10.7203/metode.11.16976>
- González G., R. B., Sharma, P., Singh, S. P., Américo-Pinheiro, J. H. P., Parra-Saldívar, R., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. (2022). Persistence, environmental hazards, and mitigation of pharmaceutically active residual contaminants from water matrices. *The Science of the Total Environment*, 821(153329), 153329. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153329>
- Guillermo L., P. J., Moreno A., J. M. & Fernández L., J. A., (2020). Estudio de contaminantes emergentes presentes en efluentes acuosos urbanos: técnicas analíticas y tecnologías de tratamiento. *International System for Agricultural Science and Technology*. <http://hdl.handle.net/10317/8963>

- Guo, L., Zheng, L., Dong, Y., Wang, C., Deng, H., Wang, Z., & Xu, Y. (2024). Miconazole induces aneuploidy-mediated tolerance in *Candida albicans* that is dependent on Hsp90 and calcineurin. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1392564>
- Gupta, A. K., Mays, R. R., & Foley, K. A. (2021). Topical Antifungal Agents. En *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy* (pp. 480-492.e5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-61211-1.00042-5>
- Hammoudi H., D., Younes, S., Mourad, N., & Rahal, M. (2022). Alilaminas, benzilaminas y permeabilidad celular fúngica: una revisión de los efectos mecanicistas y la utilidad contra los patógenos fúngicos. *Membranas*, 12(12), 1171. <https://doi.org/10.3390/membranes12121171>
- Huang, T., Zhao, Y., He, J., Cheng, H., & Martyniuk, C. J. (2022). Endocrine disruption by azole fungicides in fish: A review of the evidence. *The Science of the Total Environment*, 822(153412), 153412. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153412>
- Herkovits, J., Paredes, C., Rivas, G. S., Iannacone, J., Alvaríño L., & Paredes C., (Ed.). (2012). *ECOTOXICOLOGIA ACUATICA*. The Biologist (Lima), 2012, vol. 10, Suplemento Especial.
- Hernández Díaz, M., Galar Martínez, M., García Medina, S., Cortés López, A., Ruiz Lara, K., Cano Viveros, S., García Medina, A. L., Pérez-Pastén Borja, R., Rosales Pérez, K. E., Gómez Oliván, L. M., Raldúa, D., & Bedrossiantz, J. (2024). Polluted water from a storage dam (Villa Victoria, México) induces oxidative damage, AChE activity, embryotoxicity, and behavioral changes in *Cyprinus carpio* larvae. *Environmental Research*, 258(119282), 119282. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119282>
- Hernández Ramírez, N. (2023). Identificación de polifenoles en el microencapsulado de granada y su evaluación protectora en hepatocitos con estrés oxidativo inducido. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/3324>
- Iancu, V.-I., Chiriac, L.-F., Paun, I., Pirvu, F., Dinu, C., Kim, L., Pascu, L. F., & Niculescu, M. (2024). Occurrence and distribution of azole antifungal agents in eight urban Romanian waste water treatment plants. *The Science of the Total Environment*, 920(170898), 170898. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170898>
- Islas-Flores, H. (2018). *Xenopus*: bioindicador modelo en pruebas de laboratorio. *UNIVERSITARIA*, 1(3), 20-21. Consultado de <https://revistauniversitaria.uaemex.mx/article/view/9437>
- Juksu, K., Zhao, J. L., Liu, Y. S., Yao, L., Sarin, C., Sreesai, S., Klomjek, P., Jiang, Y. X., & Ying, G. G. (2019). Occurrence, fate and risk assessment of biocides in wastewater treatment plants and aquatic environments in Thailand. *The Science of the total environment*, 690, 1110–1119. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.097>

- Kahle, M., Buerge, I. J., Hauser, A., Müller, M. D., & Poiger, T. (2008). Azole fungicides: occurrence and fate in wastewater and surface waters. *Environmental science & technology*, 42(19), 7193–7200. <https://doi.org/10.1021/es8009309>
- Karaman, M., Toraman, E., Sulukan, E., Baran, A., Bolat, İ., Yıldırım, S., Kankaynar, M., Ghosigharehagaji, A., Budak, H., & Ceyhun, S. B. (2023). Fluoride exposure causes behavioral, molecular and physiological changes in adult zebrafish (*Danio rerio*) and their offspring. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 97(104044), 104044. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.104044>
- Keber, R., Motaln, H., Wagner, K. D., Debeljak, N., Rassoulzadegan, M., Ačimovič, J., Rozman, D., & Horvat, S. (2011). Mouse knockout of the cholesterologenic cytochrome P450 lanosterol 14alpha-demethylase (Cyp51) resembles Antley-Bixler syndrome. *The Journal of biological chemistry*, 286(33), 29086–29097. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.253245>
- Kobayashi, D., Kondo, K., Uehara, N., Otokozawa, S., Tsuji, N., Yagihashi, A., & Watanabe, N. (2002). Endogenous reactive oxygen species is an important mediator of miconazole antifungal effect. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(10), 3113–3117. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.10.3113-3117.2002>
- Kodešová, R., Klement, A., Golovko, O., Fér, M., Kočárek, M., Nikodem, A., & Grabic, R. (2019). Soil influences on uptake and transfer of pharmaceuticals from sewage sludge amended soils to spinach. *Journal of Environmental Management*, 250(109407), 109407. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109407>
- Kumar, V., Sharma, A. y Cerda, A. (Eds.). (2020). *Metales pesados en el medio ambiente: Impacto, evaluación y remediación*. Elsevier Science Publishing
- Lam, P. L., Wong, M. M., Hung, L. K., Yung, L. H., Tang, J. C. O., Lam, K. H., Chung, P. Y., Wong, W. Y., Ho, Y. W., Wong, R. S. M., Gambari, R., & Chui, C. H. (2022). Miconazole and terbinafine induced reactive oxygen species accumulation and topical toxicity in human keratinocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(2), 834–838. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1778019>
- LIFE Worldwide. Líder mundial en educación fúngica internacional, [(consultado el 18 de agosto de 2024)]. Disponible en línea: <https://en.fungaleducation.org/ibrexafungerp/>
- Logan, A., Wolfe, A., & Williamson, J. C. (2022). Antifungal resistance and the role of new therapeutic agents. *Current Infectious Disease Reports*, 24(9), 105–116. <https://doi.org/10.1007/s11908-022-00782-5>
- Lofrano, G., Libralato, G., Meric, S., Vaiano, V., Sacco, O., Venditto, V., Guida, M., & Carotenuto, M. (2020). Ocurrencia y riesgos potenciales de contaminantes emergentes en el agua. En *luz visible fotocatalizadores activos estructurados para la eliminación de contaminantes emergentes* (pp. 1-25). Elsevier.
- Lu, X., Madeo, Page 94. 93. F., Malorni, W., Mehlen, P., Nuñez, G., Peter, M. E., Piacentini, M., Rubinsztein, D. C., Shi, Y., Simon, H-U., Vandenabeele, P. (2022)

Evaluación del estrés oxidativo y expresión génica de residuos de colorantes textiles. Repositorio Institucional UAEMex.

- Marino, D. J. G., Carriquiriborde, P., Ronco, A. E., Elorriaga, Y. (2020). Contaminantes emergentes: productos farmacéuticos en el medio ambiente. *Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata*. https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26491/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Martin, I., & Hart, A. (2023). Antifungal medicines in the terrestrial environment: Levels in biosolids from England and Wales. *The Science of the Total Environment*, 870(161999), 161999. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161999>
- Martínez M. D., Bravo A. M., & Semprún H. N. (2023). Antifúngicos: lo que tenemos, lo que tendremos, lo que queremos. *Investigación clínica*, 64(4), 539–556. <https://doi.org/10.54817/ic.v64n4a11>
- Mascotti, M.L., Enriz, R.D., Glannini, F.A. (2008). Acute toxicity study of commercial antifungal drugs using *Poecilia reticulata*. *Lat. Am. J. Pharm.* 27 (6), 904–905. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7709>
- Mazzarino, M., Comunità, F., de la Torre, X., Molaioni, F., & Botrè, F. (2021). Effects of the administration of miconazole by different routes on the biomarkers of the “steroidal module” of the Athlete Biological Passport. *Drug Testing and Analysis*, 13(10), 1712–1726. <https://doi.org/10.1002/dta.3121>
- Mech, A. M., Merteroglu, M., Sealy, I. M., Teh, M. T., White, R. J., Havelange, W., Brennan, C. H., & Busch-Nentwich, E. M. (2022). Behavioral and Gene Regulatory Responses to Developmental Drug Exposures in Zebrafish. *Frontiers in psychiatry*, 12, 795175. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.795175>
- Menegola, E., Battistoni, M., Bacchetta, R., Metruccio, F., & Di Renzo, F. (2024). Evaluation of temperature- and ethanol-related developmental degree variations by a new scoring system (FETAX-score) applicable to Frog Embryo Teratogenicity Assay: *Xenopus*. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 128(108632), 108632. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2024.108632>
- Misra, H. P., Y Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological chemistry*, 247(10), 3170-3175
- Monpathi, M.E., Oguegbulu, J.C., Adogo, L., Klink, M., Okoli, B., Mtunzi, F. & Modise, J.S. (2021) Contaminación farmacéutica: fármacos antifúngicos azoles y resistencia a levaduras patógenas oportunistas en aguas residuales y aguas ambientales. *Appl. Medio Ambiente. Ciencia del suelo*.
- Munkboel, C. H., Rasmussen, T. B., Elgaard, C., Olesen, M.-L. K., Kretschmann, A. C., & Styrihave, B. (2019). The classic azole antifungal drugs are highly potent endocrine disruptors in vitro inhibiting steroidogenic CYP enzymes at concentrations lower than

therapeutic Cmax. *Toxicology*, 425(152247), 152247.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.152247>

Nenni, M. J., Fisher, M. E., James-Zorn, C., Pells, T. J., Ponferrada, V., Chu, S., Fortriede, J. D., Burns, K. A., Wang, Y., Lotay, V. S., Wang, D. Z., Segerdell, E., Chaturvedi, P., Karimi, K., Vize, P. D., & Zorn, A. M. (2019). Xenbase: Facilitating the use of *Xenopus* to model human disease. *Frontiers in Physiology*, 10, 154.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00154>

Organización Mundial de la Salud. (2022). *Fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>

Pacholak, A., Burlaga, N., & Kaczorek, E. (2020). Evaluating the Effect of Azole Antifungal Agents on the Stress Response and Nanomechanical Surface Properties of *Ochrobactrum anthropi* Aspcl2.2. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(15), 3348.
<https://doi.org/10.3390/molecules25153348>

Patel, M., Rahul, K., Kishor, K., Mlsna T., Pittman, C. Jr., & Mohan, D. (2019) Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods. *Chemical Reviews*.119 (6), 3510-3673 DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00299

Peng, X., Huang, Q., Zhang, K., Yu, Y., Wang, Z., & Wang, C. (2012). Distribution, behavior and fate of azole antifungals during mechanical, biological, and chemical treatments in sewage treatment plants in China. *The Science of the Total Environment*, 426, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.067>

Peng, C., Liu, Y., Shui, L., Zhao, Z., Mao, X., & Liu, Z. (2022). Mechanisms of Action of the Antimicrobial Peptide Cecropin in the Killing of *Candida albicans*. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(10), 1581. <https://doi.org/10.3390/life12101581>

Pérez, A. I., Islas, F. H., Gómez, O. L.M, Barceló D., López de Alda M., Pérez, S. S., Sánchez A. L., SanJuan R. N. & Galar, M. M. (2018) Determination of metals and pharmaceutical compounds released in hospital wastewater from Toluca, Mexico, and evaluation of their toxic impact. *Environmental Pollution*. 240: 330-341. ISSN: 0269-7491.

Pérez, A. I., Islas, F. H., Gómez, O. L. M., & Chamorro, C. G. A. (2021). *Evaluación de la toxicidad de contaminantes ambientales mediante el ensayo FETAX en Contribuciones Selectas en Ecotoxicología y Química Ambiental. Publicación arbitrada por el Comité Científico de AMEQA*.
<http://hdl.handle.net/20.500.11799/111369>

Peluso, J., Aronzon, C. M., Chehda, A. M., Olivelli, M. S., Boccioni, A. P. C., Lajmanovich, R. C., & Peltzer, P. M. (2024). Toxicological effects of the emerging contaminant ivermectin on *Physalaemus santafecinus* larvae. *International Journal of Environment and Health*, 11(2), 90–102. <https://doi.org/10.1504/ijenvh.2024.144133>

- Peltzer, P. M., Junges, C. M., Attademo, A. M., Bassó, A., Grenón, P., & Lajmanovich, R. C. (2013). Cholinesterase activities and behavioral changes in *Hypsiboas pulchellus* (Anura: Hylidae) tadpoles exposed to glufosinate ammonium herbicide. *Ecotoxicology* (London, England), 22(7), 1165–1173. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1103-8>
- Pérez, P., A., Carrola, J. S., Tiritan, M. E., & Ribeiro, C. (2024). Enantioselectividad en la ecotoxicidad de productos farmacéuticos, drogas ilícitas y contaminantes industriales persistentes en ambientes acuáticos y terrestres: una revisión. *La Ciencia del Medio Ambiente* Total, 912(169573), 169573. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169573>
- Petricca, S., Carnicelli, V., Luzi, C., Cinque, B., Celenza, G., & Iorio, R. (2023). Oxidative stress, cytotoxic and inflammatory effects of azoles combinatorial mixtures in Sertoli TM4 cells. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 12(6), 1142. <https://doi.org/10.3390/antiox12061142>
- Petricca, S., Celenza, G., Luzi, C., Cinque, B., Lizzi, A. R., Franceschini, N., Festuccia, C., & Iorio, R. (2022). Actividad sinérgica de ketoconazol y miconazol con procloraz en la inducción de estrés oxidativo, depleción de GSH, disfunción mitocondrial y apoptosis en células Sertoli TM4 de ratón. *Revista internacional de ciencias moleculares*, 23(10), 5429. <https://doi.org/10.3390/ijms23105429>
- Pihlaja, T., Oksanen, T., Vinkvist, N., & Sikanen, T. (2024). Many human pharmaceuticals are weak inhibitors of the cytochrome P450 system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver S9 fractions. *Frontiers in Toxicology*, 6, 1406942. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1406942>
- Quiles-Melero, I., & García-Rodríguez, J. (2021). Antifúngicos de uso sistémico. *Revista iberoamericana de micología*, 38(2), 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2021.04.004>
- Quesada-Peñate, I., Jáuregui-Haza, U. J., Wilhelm, A., & Delmas, H. (2009). Contaminación de las aguas con productos farmacéuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 40(3), 173-179. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181221662005.pdf>
- Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D., & Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 266(32), 22028-22034
- Regidor, P. A., Thamkhantho, M., Chayachinda, C., & Palacios, S. (2023). Miconazole for the treatment of vulvovaginal candidiasis. In vitro, in vivo and clinical results. *Review of the literature. Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*, 43(1), 2195001
- Ribeiro, A. R. L., Maia, A. S., Ribeiro, C., & Tiritan, M. E. (2020). Análisis de fármacos quirales en matrices ambientales: Conocimiento actual y tendencias en los campos ambiental, de biodegradación y forense. *Tendencias en química analítica: TRAC*, 124(115783), 115783. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115783>
- Rivera-Toledo, E., Jiménez-Delgadillo, A. U., & Manzano-Gayosso, P. (2020). Antifúngicos poliénicos. Mecanismo de acción y aplicaciones. *Revista de la Facultad*

de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 63(2), 7–17. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.2.02>

Rodríguez, N. L. D., Celis, Z. A.C. & Pérez F. A. (2020). Evaluación de la toxicidad residual en el tratamiento de contaminantes emergentes presentes en aguas residuales y su posible impacto en los ecosistemas [Tesis de licenciatura publicada] *Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias Departamento De Microbiología*. Carrera De Microbiología Industrial.

Rosales-Pérez, K. E., Elizalde-Velázquez, G. A., Gómez-Oliván, L. M., Orozco-Hernández, J. M., Cardoso-Vera, J. D., Heredia-García, G., Islas-Flores, H., García-Medina, S., & Galar-Martínez, M. (2022). Brain damage induced by contaminants released in a hospital from Mexico: Evaluation of swimming behavior, oxidative stress, and acetylcholinesterase in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 294(133791), 133791. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133791>

Ruthsatz, K., Dausmann, K. H., Paesler, K., Babos, P., Sabatino, N. M., Peck, M. A., & Glos, J. (2020). Shifts in sensitivity of amphibian metamorphosis to endocrine disruption: the common frog (*Rana temporaria*) as a case study. *Conservation physiology*, 8(1), coaa100. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa100>

Sallach, J. B., Thirkell, T. J., Field, K. J., & Carter, L. J. (2021). The emerging threat of human-use antifungals in sustainable and circular agriculture schemes. *Plants, People, Planet*, 3(6), 685–693. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10222>

Shetty, S. S., D, D., S, H., Sonkusare, S., Naik, P. B., Kumari N, S., & Madhyastha, H. (2023). Environmental pollutants and their effects on human health. *Heliyon*, 9(9), e19496. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19496>

Shi, H., Sun, Z., Liu, Z., & Xue, Y. (2012). Effects of clotrimazole and amiodarone on early development of amphibian (*Xenopus tropicalis*). *Toxicological and environmental chemistry*, 94(1), 128–135. <https://doi.org/10.1080/02772248.2011.634643>

Souders, C. L., 2nd, Perez-Rodriguez, V., El Ahmadi, N., Zhang, X., Tischuk, C., & Martyniuk, C. J. (2020). Investigation into the sub-lethal effects of the triazole fungicide triticonazole in zebrafish (*Danio rerio*) embryos/larvae. *Environmental toxicology*, 35(2), 254–267. <https://doi.org/10.1002/tox.22862>

Tavengwa, N. & Dalu T. (2022). Introducción a los contaminantes emergentes del agua dulce. *Contaminantes emergentes de agua dulce: análisis, destino y regulaciones*, Elsevier, Cambridge. Capítulo 1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822850-0.00029-6>.

Teixeira, M. M., Carvalho, D. T., Sousa, E., & Pinto, E. (2022). New Antifungal Agents with Azole Moieties. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(11), 1427. <https://doi.org/10.3390/ph15111427>

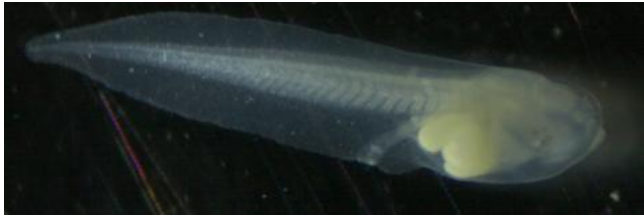
- Tokmakov, A. A., Awamura, M., & Sato, K.-I. (2019). Biochemical hallmarks of oxidative stress-induced overactivation of *Xenopus* eggs. *BioMed Research International*, 2019, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/7180540>
- Torres, A., Rodríguez, H. A., & Ayala, M. (2023). Contaminantes emergentes en México: panorama actual, retos y una posible solución biotecnológica. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 26. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.590>
- Turhan, D. O. y Güngördü, A. (2022). Efectos tóxicos y de desarrollo y patrones de recuperación en *Xenopus laevis* después de la exposición a fungicida a base de penconazol durante el proceso de metamorfosis. *Quimiosfera*, 303 (Pt 3), 135302. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135302>
- Shaidani, N. I., McNamara, S., Wlizla, M., & Horb, M. E. (2021). Obtención de huevos de *Xenopus laevis*. *Protocolos de Cold Spring Harbor*, 2021(3), pdb.prot106203. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot106203>
- Singh, M., Saha, R. K., Saha, H., Sahoo, A. K., & Biswal, A. (2018). Effects of sub-lethal doses of miconazole nitrate on *Labeo rohita* and its curing efficacy against Saprolegniasis. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 495, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.029>
- Schnörr, S. J., Steenbergen, P. J., Richardson, M. K., & Champagne, D. L. (2012). Measuring thigmotaxis in larval zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 228(2), 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.016>
- Unión Europea, (2010). Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos, Diario Oficial de la Unión Europea L 276/33. <https://www.boe.es/doue/2010/276/L00033-00079.pdf>
- USEPA (2021), Emerging Contaminants and Federal Facility Contaminants of Concern, <https://www.epa.gov/fedfac/emerging-contaminants-and-federal-facilitycontaminants-concern#tab>
- USEPA, United States Environmental Protection Agency, (2024). Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS. En EPA.gov. Revisado febrero 05, 2025. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=P10070FJ.txt>
- Velpandian, T., Halder, N., Nath, M., Das, U., Moksha, L., Gowtham, L., & Batta, S. P. (2018). Un-segregated waste disposal: an alarming threat of antimicrobials in surface and ground water sources in Delhi. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(29), 29518–29528. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2927-9>
- Viloria S., M & Madera L., D. (2020). Contaminantes emergentes en diferentes matrices de aguas y tratamientos alternativos para su eliminación. [Tesis de Pregrado Universidad de Córdoba Facultad de Ciencias Básicas]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/3572>

- Won, K. J., Lin, H. Y., Jung, S., Cho, S. M., Shin, H. C., Bae, Y. M., Lee, S. H., Kim, H. J., Jeon, B. H., & Kim, B. (2012). Antifungal miconazole induces cardiotoxicity via inhibition of APE/Ref-1-related pathway in rat neonatal cardiomyocytes. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 126(2), 298–305. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr347>
- Wroński, M., Trawiński, J. & Skibiński, R., (2024) Identification of New Hepatic Metabolites of Miconazole by Biological and Electrochemical Methods Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography Combined with High-Resolution Mass Spectrometry. *International Journal of Molecular Sciences*. 29, 2160. <https://doi.org/10.3390/molecules29092160>
- Wu, B., Yu, H., Yi, J., Lei, P., He, J., Ruan, J., Xu, P., Tao, R., Jin, L., Wu, W., Yang, Q., Sun, D., & Zhang, X. (2024). Behavioral Studies of Zebrafish Reveal a New Perspective on the Reproductive Toxicity of Micro- and Nanoplastics. *Toxics*, 12(3), 178. <https://doi.org/10.3390/toxics12030178>
- Xu, Y., Jang, J., & Gye, M. C. (2022). *The Xenopus laevis teratogenesis assay for developmental toxicity of phthalate plasticizers and alternatives. Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 300, 118985. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118985> Zahn, N., James-Zorn, C., Ponferrada, V. G., Adams, D. S., Grzymkowski, J., Buchholz, D. R., Nascone-Yoder, N. M., Horb, M., Moody, S. A., Vize, P. D., & Zorn, A. M. (2022) Normal Table of *Xenopus* development: a new graphical resource. *Techniques and resources*.149 (14). <https://doi.org/10.1242/dev.200356>
- Yadav, DK, Kumar, P., Singh, P. y Vallero, DA (Eds.). (2021). Gestión de residuos peligrosos: Una visión general de soluciones avanzadas y rentables . *Elsevier Science Publishing*
- Yang, Q., Deng, P., Xing, D., Liu, H., Shi, F., Hu, L., Zou, X., Nie, H., Zuo, J., Zhuang, Z., Pan, M., Chen, J., & Li, G. (2023). Developmental Neurotoxicity of Difenconazole in Zebrafish Embryos. *Toxics*, 11(4), 353. <https://doi.org/10.3390/toxics11040353>
- Zhu, B., Liu, L., Gong, Y.X., Ling, F., Wang, G.X., 2014. Triazole-induced toxicity in developing rare minnow (*Gobiocypris rarus*) embryos. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 13625e13635.

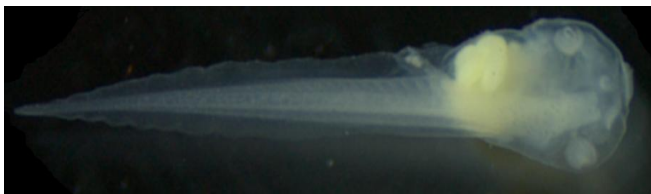
Capítulo XI. Anexos

Observaciones de Larvas

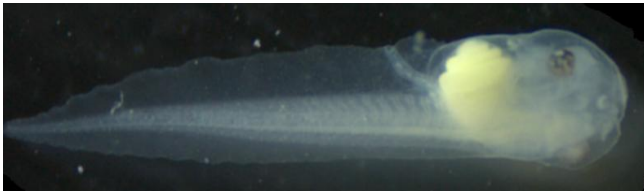
Medio FETAX



1. Fotografía lateral de larva sin deformación alguna.



2. Larva en posición ventral, sin deformación alguna.



3. Fotografía lateral de larva sin deformación alguna.



4. Fotografía dorsal de larva sin deformación alguna.



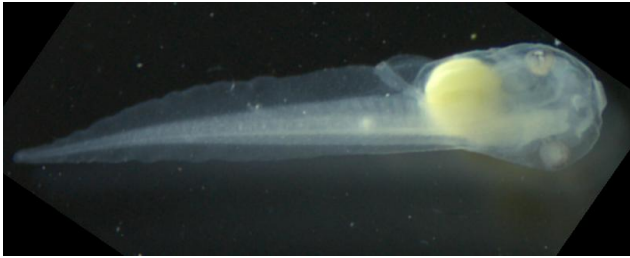
5. Fotografía ventral sin malformaciones.



6. Fotografía lateral, sin alteración.



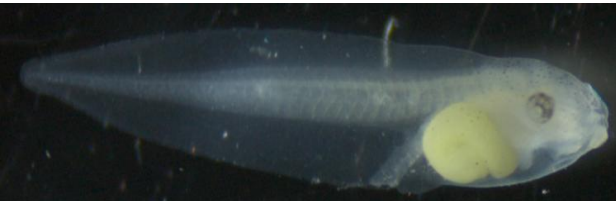
7. Fotografía lateral sin alteración.



8. Fotografía dorsal sin alteración.

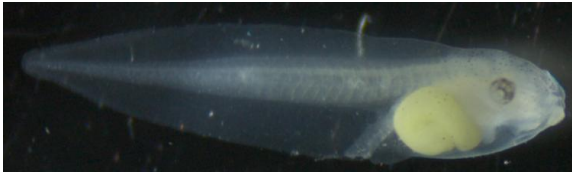


9. Fotografía ventral, sin alteración.

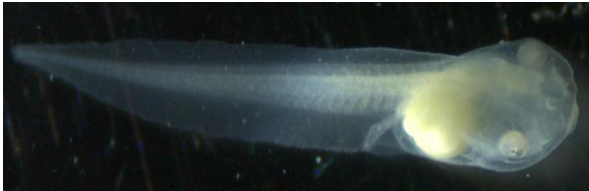


10. Fotografía de larva con blíster ventral (ampolla).

Medio FETAX/DMSO



1. Fotografía lateral, sin malformaciones.



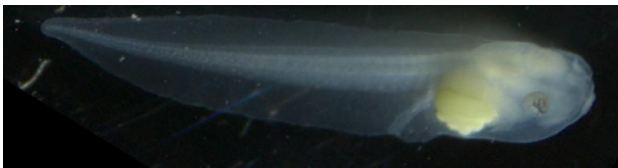
2. Fotografía dorsal, sin malformaciones.



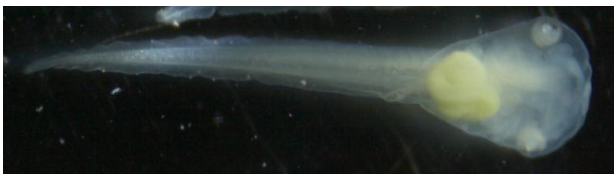
3. Fotografía dorsal, sin malformaciones.



4. Fotografía ventral, sin malformaciones.



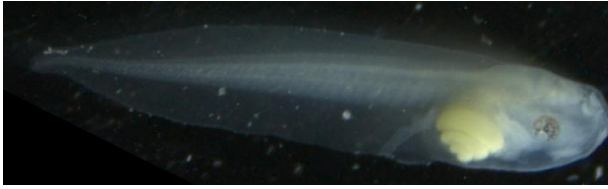
5. Fotografía lateral, sin malformaciones.



6. Fotografía ventral, sin malformaciones.



7. Fotografía dorsal sin malformaciones.



9. Fotografía lateral con intestino sigmoide.



10. Fotografía ventral sin malformaciones.

Concentración MCZ: 0.00036 mg/L



Imagen 1a corresponde a la posición dorsal. Se aprecia despigmentación ocular y cristalino prominente.



Imagen 2a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal.



Imagen 3a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

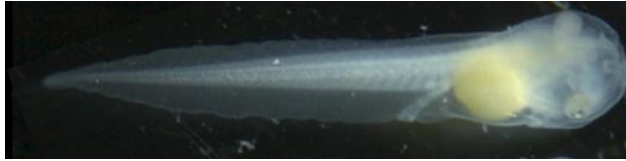


Imagen 4a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular y dilatación anorrectal.



Imagen 5a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal leve, blisters y una ligera desviación en la notocorda.



Imagen 6a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal leve, blisters y una ligera desviación en la notocorda.



Imagen 7a corresponde a la posición ventral. Se aprecia despigmentación ocular y cristalino prominente.



Imagen 8a corresponde a la posición dorsal. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado y blisters.

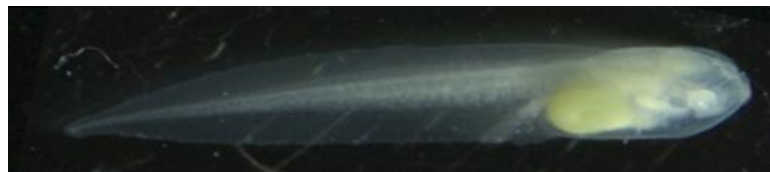


Imagen 9a corresponde a la posición lateral. Se observa despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y blisters.



Imagen 10a corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal leve y blisters.

Concentración MCZ: 0.0036 mg/L

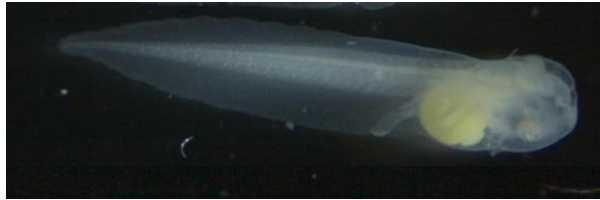


Imagen 1a

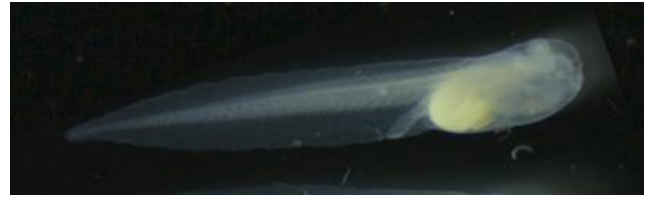


Imagen 2b

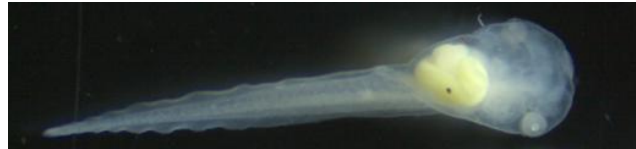


Imagen 3c

Imagen 1a y 1b corresponden a posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 1c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, dilatación anorrectal leve, blisters y malformación de aleta.

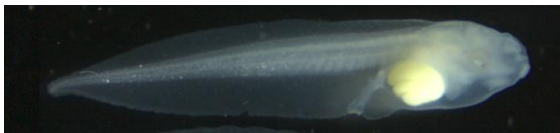


Imagen 2a



Imagen 2b



Imagen 2c

Imagen 2a y 2b corresponden a posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 2c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente y dilatación anorrectal leve.

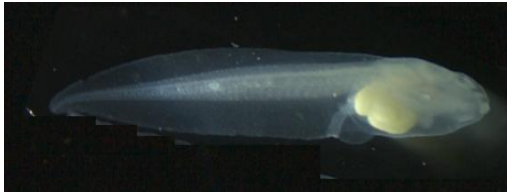


Imagen 3a



Imagen 3b

Imagen 3a corresponde a posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 3c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial y dilatación anorrectal leve.



Imagen 4a

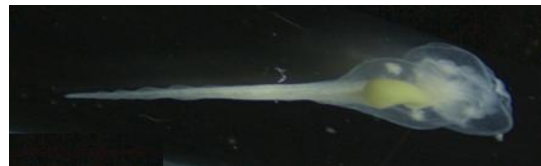


Imagen 4b

Imagen 4a corresponde a la posición lateral y ventral 4b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino sigmoide y dilatación anorrectal.

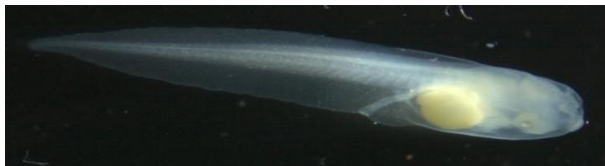


Imagen 5a



Imagen 5b

Imagen 5a corresponde a la posición lateral y dorsal 5b, larva con despigmentación ocular y cristalino prominente.

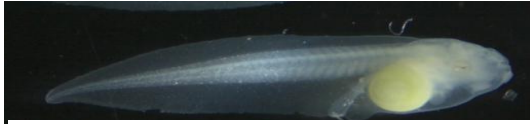


Imagen 6a

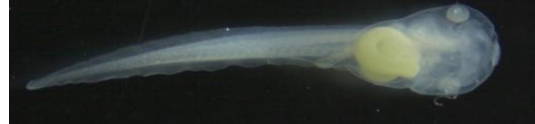


Imagen 6b

Imagen 6a corresponde a la posición lateral y ventral 6b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, blisters, intestino mal enrollado y dilatación

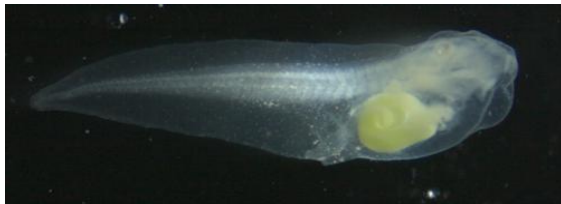


Imagen 7a

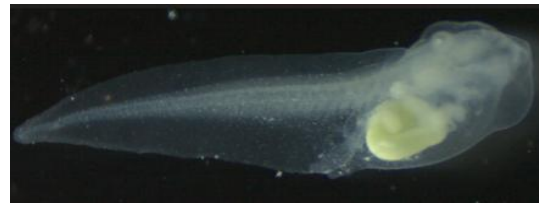


Imagen 7b

Imagen 7^a y 7b corresponden a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blíster abdominal, intestino mal enrollado, notocorda con sutil curvatura y dilatación



Imagen 8a



Imagen 8b

Imagen 8a y 8b corresponde a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blíster, intestino sigmoide, notocorda con sutil curvatura y dilatación anorrectal.

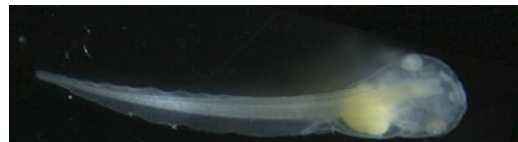


Imagen 9a

Imagen 9b

Imagen 9a corresponde a la posición lateral y dorsal 9b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial.

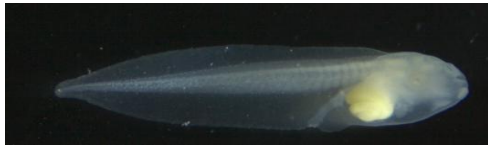


Imagen 10a



Imagen 10b

Imagen 10a corresponde a la posición lateral y ventral 10b, larva con despigmentación ocular y cristalino prominente.

Concentración MCZ: 0.036 mg/L



Imagen 4a

Imagen 5b

Imagen 1a corresponden a posición lateral, posición ventral 1b, se aprecia despigmentación ocular e intestino mal enrollado.



Imagen 2a



Imagen 2b

Imagen 2a y 2b corresponden a posición lateral, se aprecia despigmentación ocular, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y semitas.

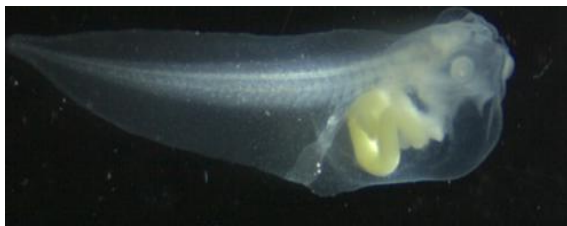


Imagen 3a



Imagen 3b

Imagen 3a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 3b. Se observa despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal craneocefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y



Imagen 4a

Imagen 4b

Imagen 4a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 4b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y

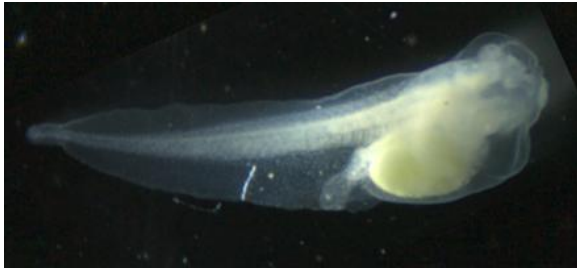


Imagen 5a



Imagen 5b

Imagen 5a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 5b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y anomalía axial menor simple.

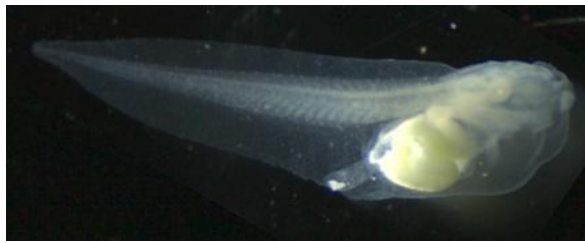


Imagen 6a

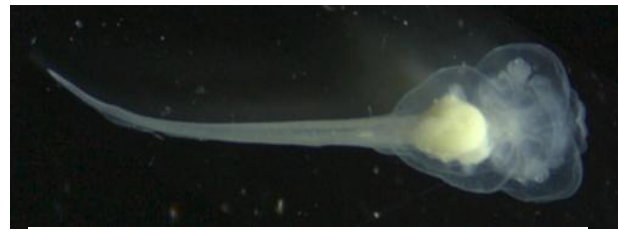


Imagen 6b

Imagen 6a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 6b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y anomalía axial menor simple.



Imagen 7a

Imagen 7b

Imagen 7a corresponde a la posición lateral y la posición ventral se muestra en la imagen 7b. larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, formación de blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y malformación de aleta.

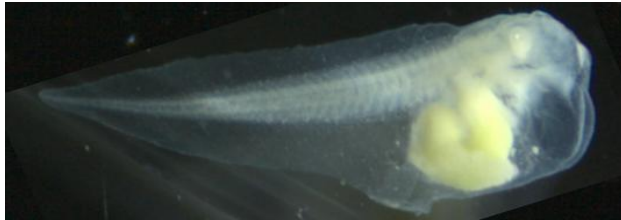


Imagen 8a



Imagen 8b

Imagen 8a corresponden a posición lateral, posición ventral 8b, Se observa despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 9a

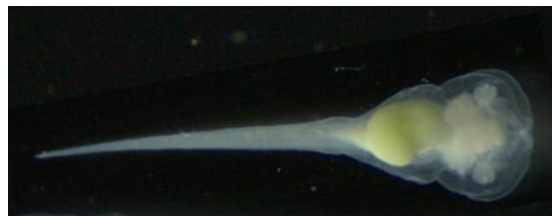


Imagen 9b

Imagen 9a corresponden a posición lateral, posición ventral 9b, Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.



Imagen 10a

Imagen 10b

Imagen 10a corresponde a posición lateral, posición ventral 10b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, blisters, intestino mal enrollado y malformación de aleta.



Imagen 11a



Imagen 11b

Imagen 11a corresponde a posición lateral, posición ventral 11b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, blisters, intestino mal enrollado y malformación de aleta.



Imagen 12a



Imagen 12b

Imagen 12a corresponde a posición lateral, posición ventral 12b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y malformación de aleta.



Imagen 13a

Imagen 13b

Imagen 13a corresponde a posición lateral, posición ventral 13b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

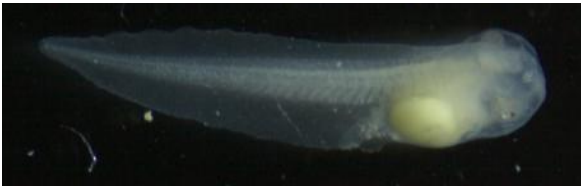


Imagen 14a



Imagen 14b

Imagen 14a corresponde a posición lateral, posición ventral 14b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 15a



Imagen 15b

Imagen 15a corresponde a posición lateral, posición ventral 15b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal, carece de aleta ventral, desviación sutil de notocorda y malformación de aleta.



Imagen 16a

Imagen 16b

Imagen 16a corresponde a posición lateral, posición ventral 16b, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, formación de blisters, intestino mal enrollado y malformación de aleta.

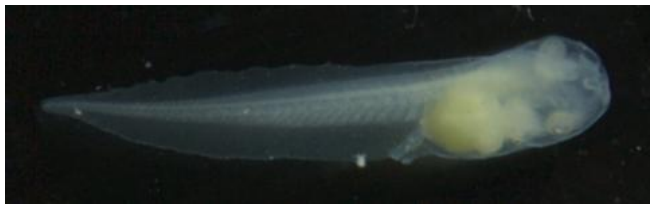


Imagen 17a



Imagen 17b

Imagen 17a corresponde a posición lateral, posición ventral 17b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, blisters e intestino mal enrollado.

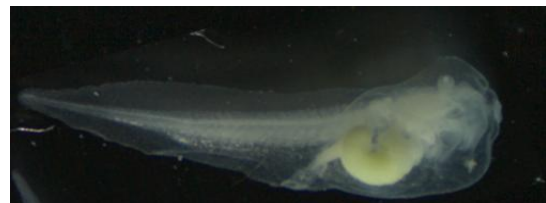


Imagen 18a

Imagen 18b

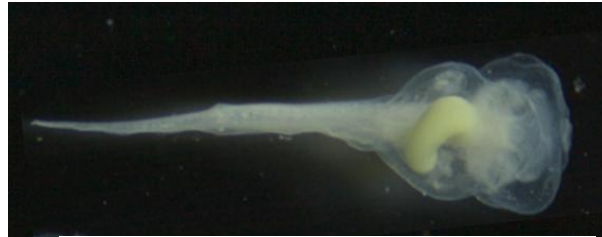


Imagen 18c

Imagen 18a corresponde a posición lateral, 18 b posición dorsal, posición ventral 18c, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal, sutil desviación en notocorda y flexión leve lateral de la cola.

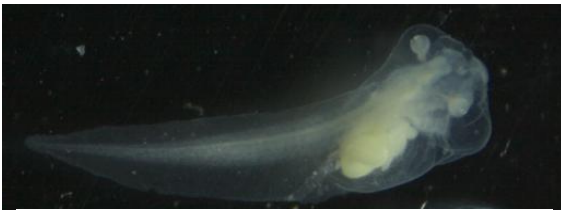


Imagen 19a



Imagen 19b

Imagen 19a corresponde a posición dorsal, 19 b posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y leve flexión de notocorda.



Imagen 20a

Imagen 20b

Imagen 20a corresponde a posición lateral y 20b dorsal, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y sutil curvatura de notocorda.

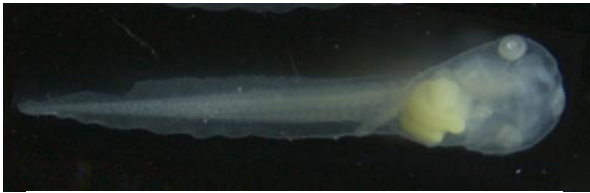


Imagen 21a



Imagen 21b

Imagen 21a corresponde a posición ventral, posición dorsal 21b, sin mal formaciones.



Imagen 22a



Imagen 22b

Imagen 22a corresponde a posición dorsal y ventral 22b, larva con ligera dilatación anorrectal.



Imagen 23a

Imagen 23b

Imagen 23a corresponde a posición dorsal y ventral 23b, organismo con malformación de aleta y ligera dilatación anorrectal.



Imagen 24a

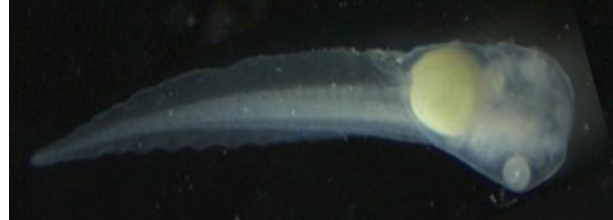


Imagen 24b

Imagen 24a corresponde a posición dorsal y ventral 24b, larva con blisters, dilatación anorrectal, anomalía axial menor simple y malformación de aleta.

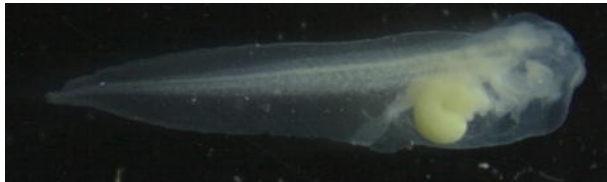


Imagen 25a



Imagen 25b



Imagen 25c

Imagen 25a y 25b corresponden a la posición lateral y ventral 25c, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal.

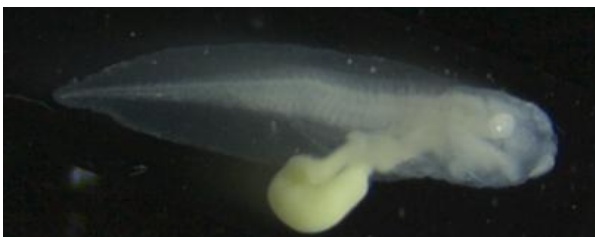


Imagen 26a

Imagen 26b

Imagen 26a y 26b corresponden a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco leve), blisters, intestino sigmoide externo, dilatación anorrectal, afectación en notocorda y flexión leve



Imagen 27a

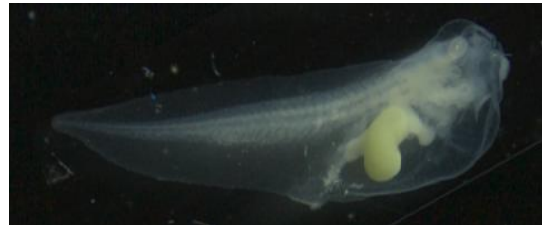


Imagen 27b

Imagen 27a y 27b corresponden a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.



Imagen 28a

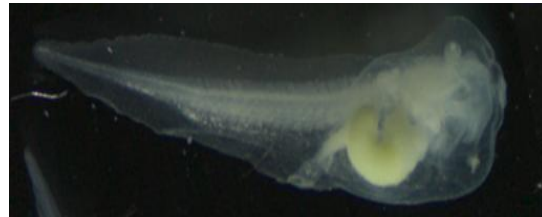


Imagen 28b

Imagen 28a posición lateral y ventral 28b, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino sigmoide, dilatación anorrectal, semitas y flexión leve lateral de la



Imagen 29a

Imagen 29b

Imagen 29a y 29b posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y semitas.

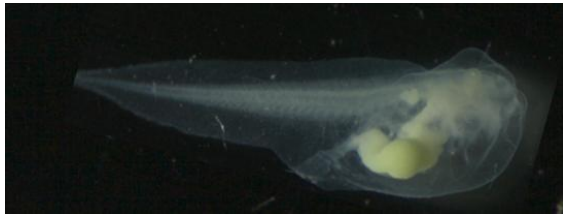


Imagen 30a

Imagen 30b

Imagen 30a posición lateral y 30b dorsal larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 31a

Imagen 31b

Imagen 31a posición lateral y 31b dorsal, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.



Imagen 32a

Imagen 32b

Imagen 32a posición lateral y 32b dorsal, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

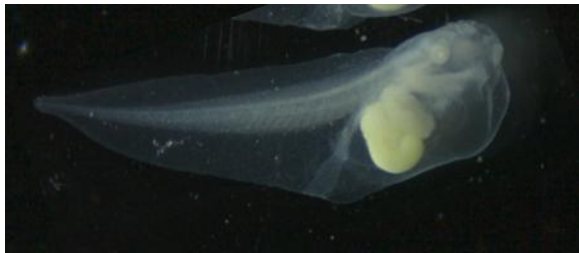


Imagen 33a



Imagen 33b

Imagen 33a y 33b posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 34a

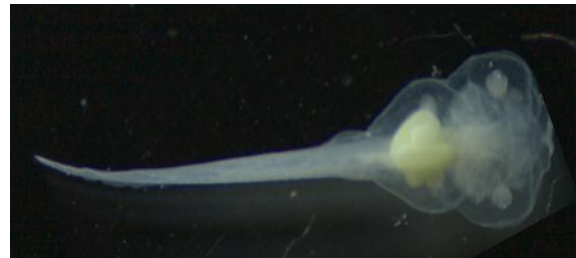


Imagen 34b

Imagen 34a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 34b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y anomalía axial menor simple.



Imagen 35a

Imagen 35a

Imagen 35a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 34b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 36a

Imagen 36a larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal, afectación en notocorda y cola segmentada.

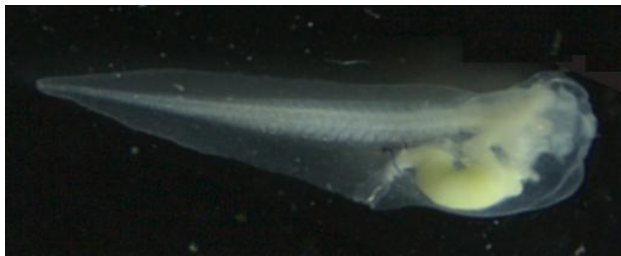


Imagen 37a



Imagen 37b

Imagen 37a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 37b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), blisters, intestino sigmoide y dilatación anorrectal.



Imagen 38a

Imagen 38b

Imagen 38a y 38b corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial y edema craneoencefálico leve.



Imagen 39a

Imagen 39a corresponde a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.



Imagen 40a

Imagen 40a corresponde a la posición lateral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco leve), blisters, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal y semitas.



Imagen 41a

Imagen 41a corresponde a la posición ventral, larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema craneoencefálico leve, blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

Concentración MCZ: 0.36 mg/L

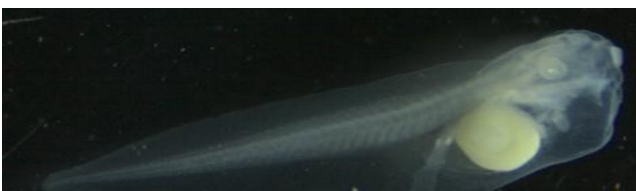


Imagen 7b

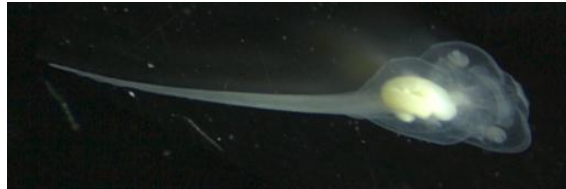


Imagen 8c

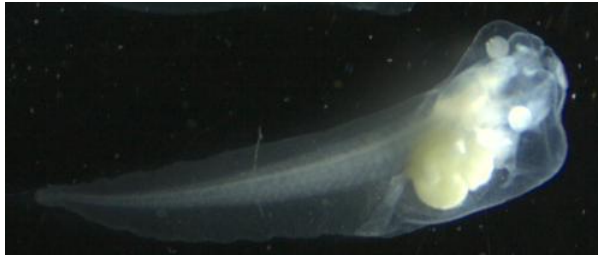


Imagen 2 a

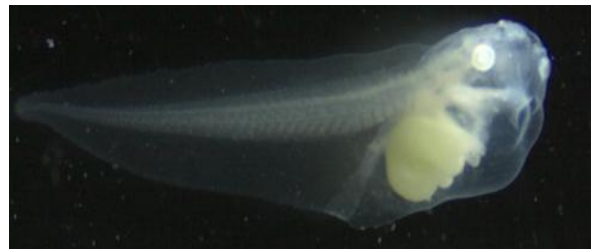


Imagen 2 b

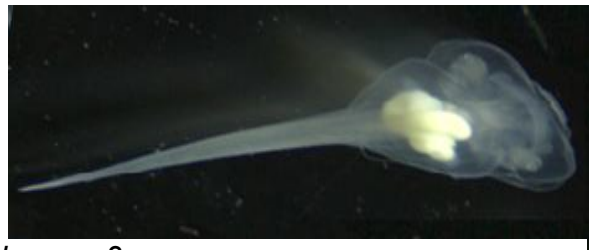


Imagen 2 c

Imagen 2a y 2b corresponden a posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 2c. Se aprecia despigmentación y reconducción de tamaño ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal

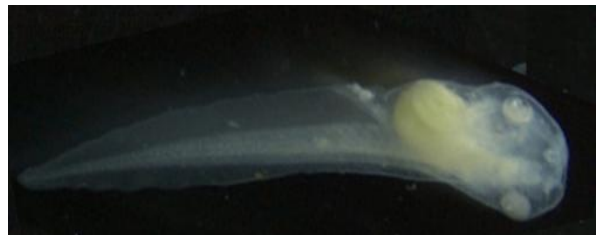


Imagen 3 a

Imagen 3 b

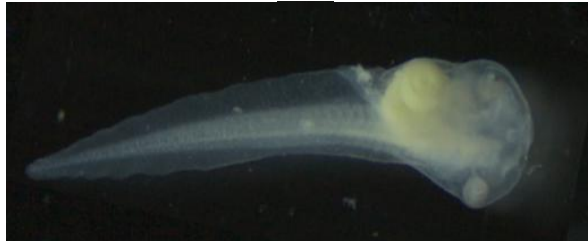


Imagen 3 c

Imagen 3a corresponde a posición lateral, la imagen 3b muestra la posición dorsal y la posición ventral se muestra en la imagen 3c. Se observa, cristalino prominente.

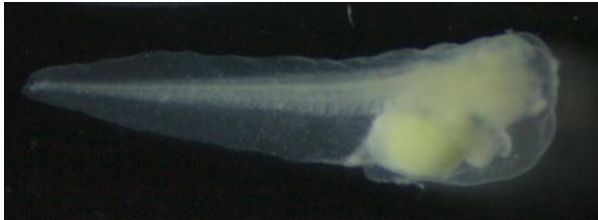


Imagen 4 a

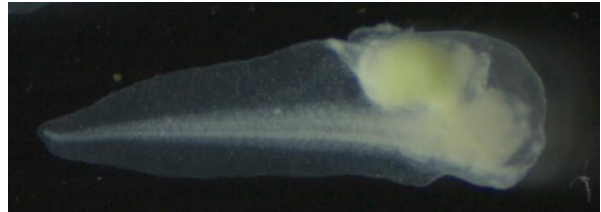


Imagen 4 b



Imagen 4 a

Imagen 4 a y 4b corresponde a posición lateral, y la posición dorsal se muestra en la imagen 4c. Se aprecia, hipopigmentación y reducción de tamaño ocular, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), intestino sigmoide y



Imagen 5 a

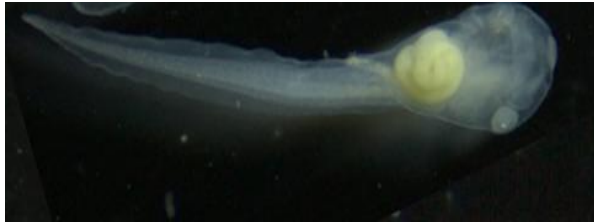


Imagen 5 b

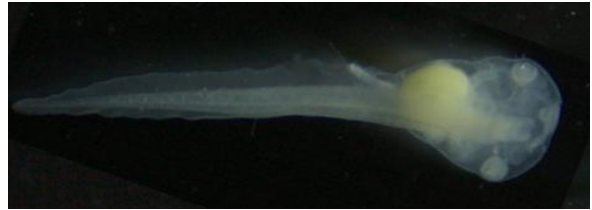


Imagen 5 c

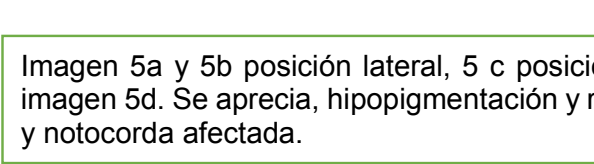


Imagen 5 d

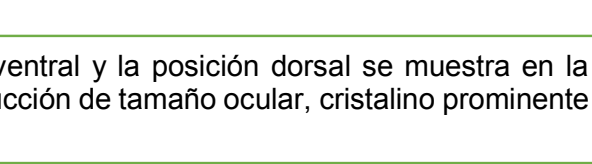


Imagen 5a y 5b posición lateral, 5 c posición ventral y la posición dorsal se muestra en la imagen 5d. Se aprecia, hipopigmentación y reducción de tamaño ocular, cristalino prominente y notocorda afectada.

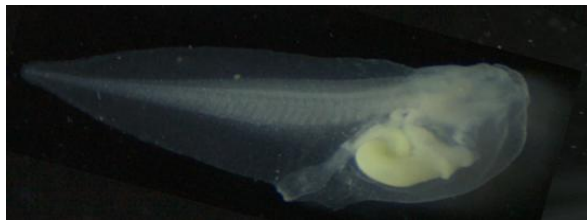


Imagen 6 a



Imagen 6 b



Imagen 6 c



Imagen 6 d

Imagen 6 a y 6 b corresponde a posición lateral, 6c posición ventral y la posición dorsal se muestra en la imagen 6d. Se observa, despigmentación, reducción de tamaño ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), formación de blisters, intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.



Imagen 7 a

Imagen 7 b

Imagen 7a y 7b posición lateral. Se observa, hipopigmentación, cristalino prominente e intestino mal enrollado.

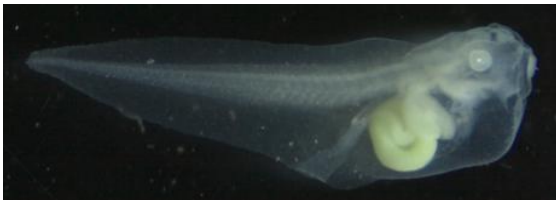


Imagen 8 a

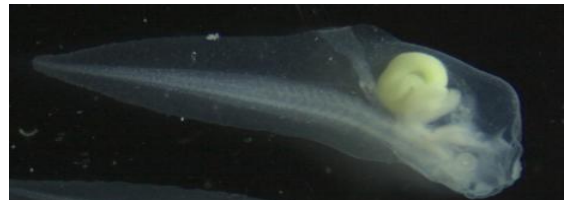


Imagen 8 b

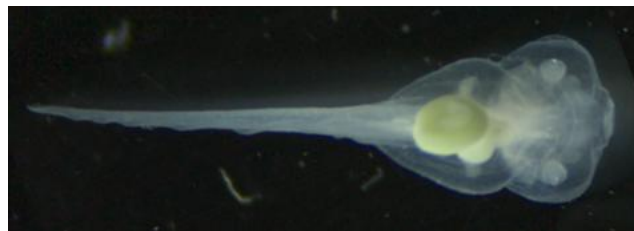


Imagen 8 c

Imagen 8a y 8b corresponden a posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 8c. Se observa despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), blisters en abdomen, intestino mal enrollado

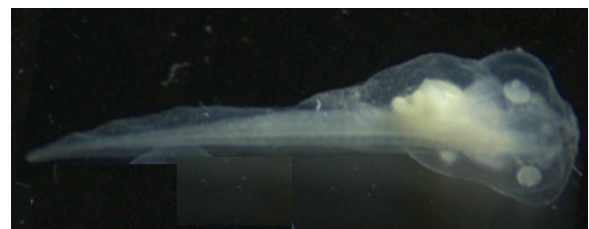


Imagen 9 b

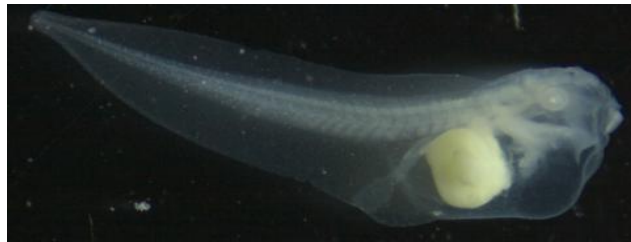


Imagen 10 a

Imagen 10 corresponde a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

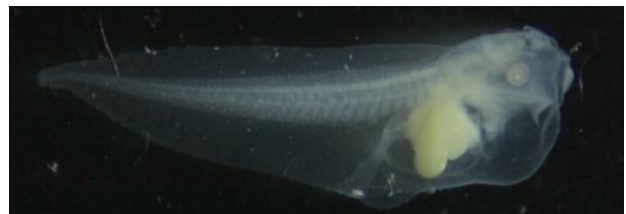
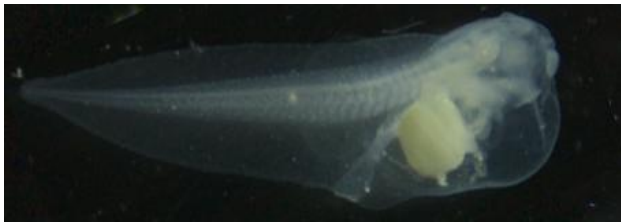


Imagen 11 a

Imagen 11 b



Imagen 11 c

Imagen 11 a y 11b corresponden a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 11c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y



Imagen 12a

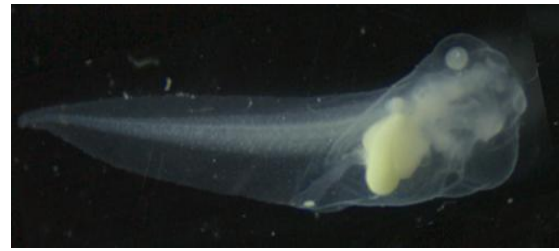


Imagen 12b

Imagen 12a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 12b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y dilatación

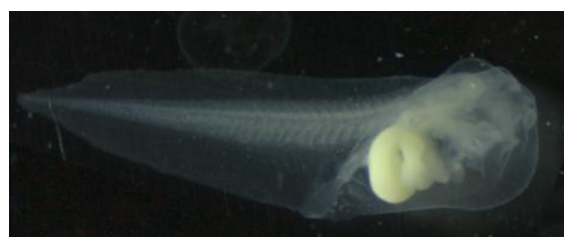


Imagen 13 a

Imagen 13 b



Imagen 13 c

Imagen 13 a y 13b corresponden a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 13c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y

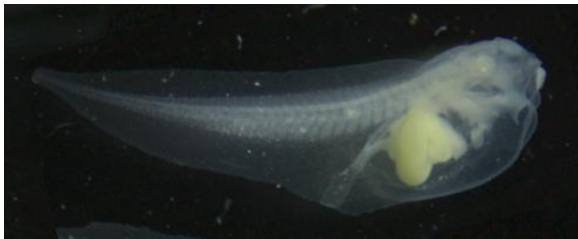


Imagen 14 a

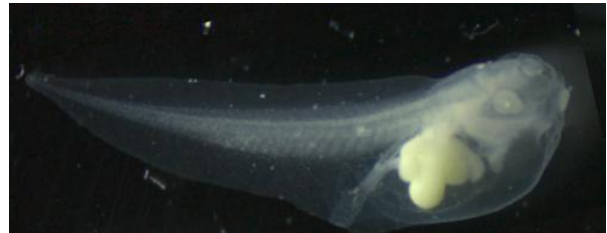


Imagen 14 b



Imagen 14 c

Imagen 14 a y 14b corresponden a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 14c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y

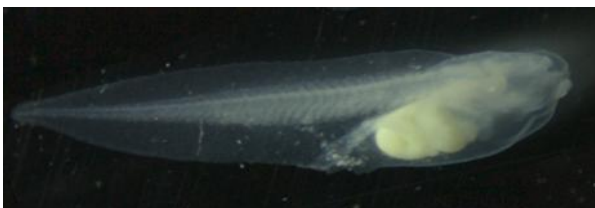


Imagen 15 a

Imagen 15 b



Imagen 15 c

Imagen 15a y 15b corresponden a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 15c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y

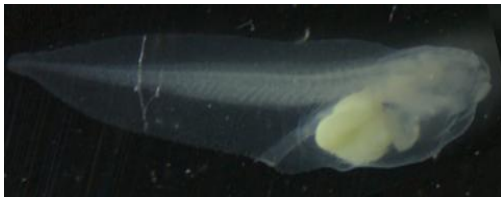


Imagen 16 a

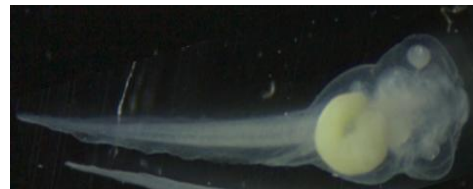


Imagen 16 b



Imagen 16 c

Imagen 16a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 16b y dorsal en la posición 16c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino sigmoide, blisters y



Imagen 17 a

Imagen 17 b

Imagen 17a y 17b posición lateral. Se aprecia malformación severa, despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal, notocorda afectada, flexión pronunciada dorsal y flexión lateral de cola.



Imagen 18 a

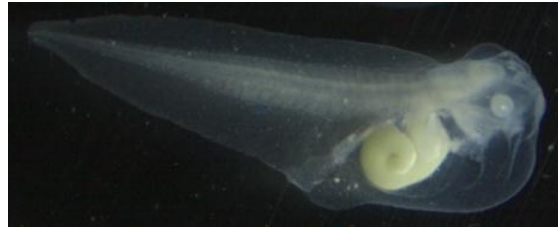


Imagen 18 b

Imagen 18a y 18b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado y dilatación anorrectal.

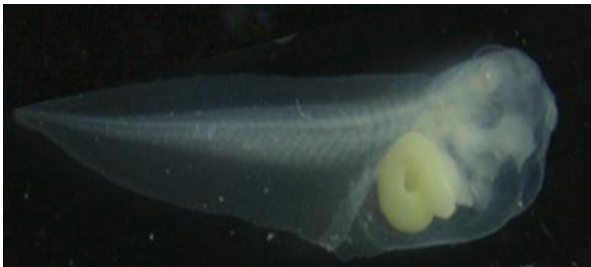


Imagen 19 a

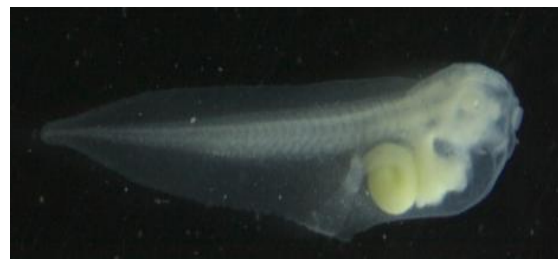


Imagen 19 b

Imagen 19a y 19b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino sigmoide, blisters y dilatación anorrectal.

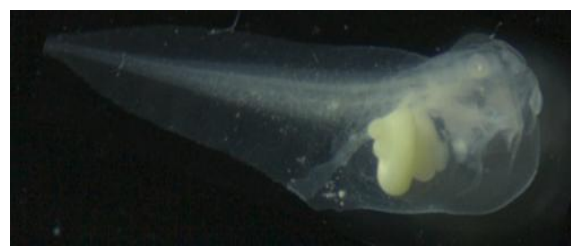


Imagen 20 a

Imagen 20 b

Imagen 20a y 20b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.



Imagen 21 a



Imagen 21 b

Imagen 21a y 21b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.



Imagen 22 a



Imagen 22 b

Imagen 22a y 22b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.



Imagen 23 a

Imagen 23 b

Imagen 23a y 23b posición lateral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal).

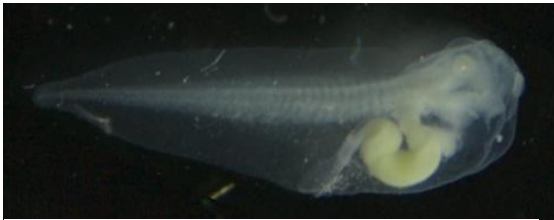


Imagen 24 a

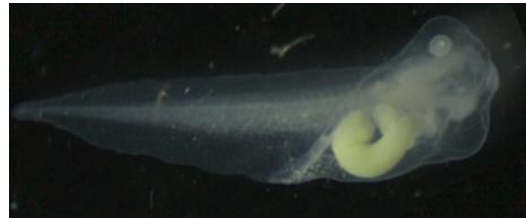


Imagen 24 b

Imagen 24 a posición lateral y 24 b posición ventral. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco, intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral).

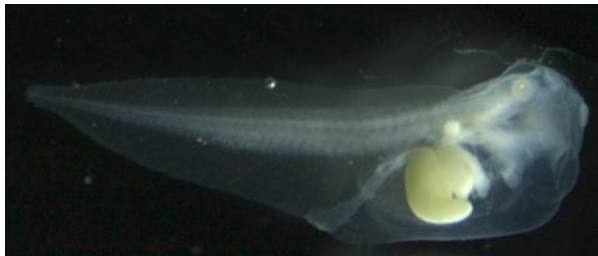


Imagen 25 a

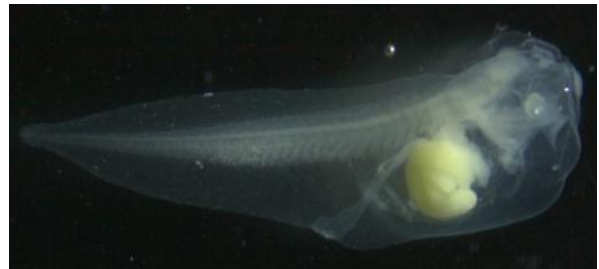


Imagen 25 b

Imagen 25a y 25b posiciones laterales. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.



Imagen 26 a

Imagen 26 b

Imagen 26a y 26b posiciones laterales. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.

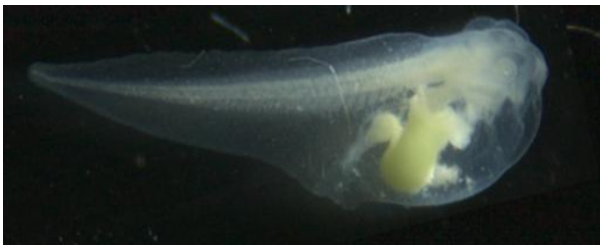


Imagen 27 a

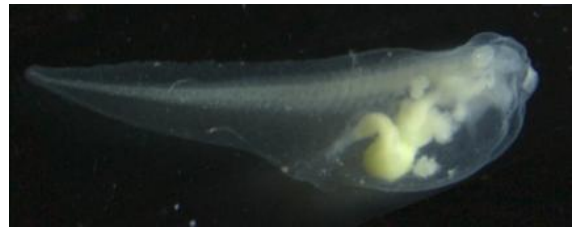


Imagen 27 b

Imagen 27a y 27b posiciones laterales. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco, intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.



Imagen 28 a

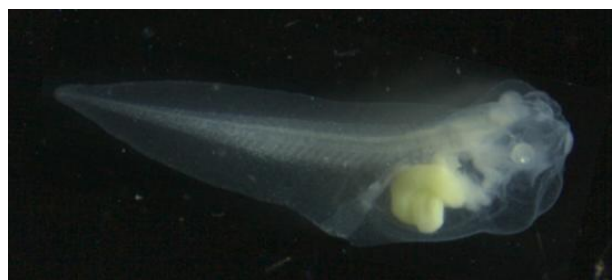


Imagen 28 b

Imagen 28a y 28b posiciones laterales. Larva con despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco, intestino mal enrollado, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.

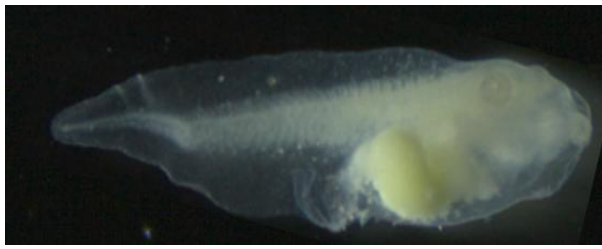


Imagen 29 a

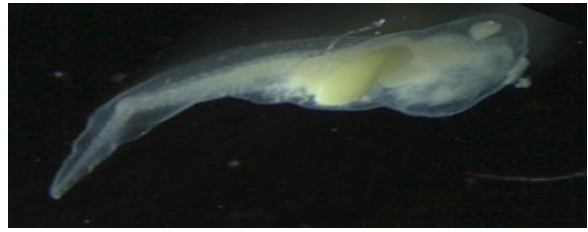


Imagen 29 b

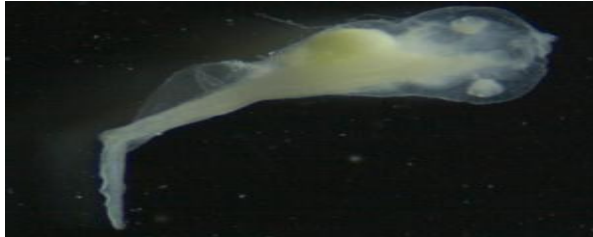


Imagen 29 c

Imagen 29a posición lateral, 29 b ventral y 29c dorsal, larva con deformación severa, despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco) intestino mal enrollado, blisters, dilatación y deformación anorrectal, carece de aleta ventral y tiene flexión lateral de la cola.

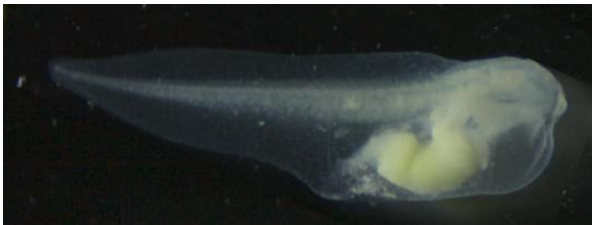


Imagen 30 a



Imagen 30 b

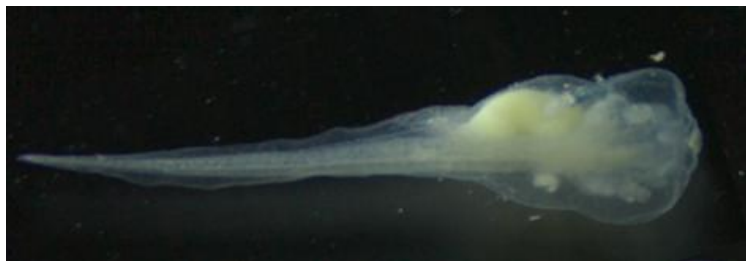


Imagen 30 c

Imagen 30a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 30b y dorsal la 30c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral

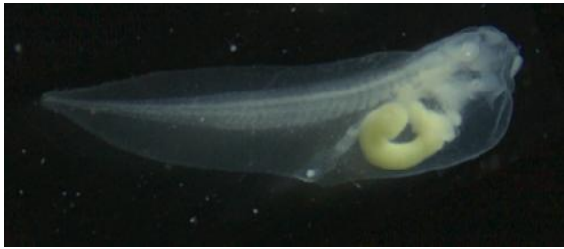


Imagen 31 a

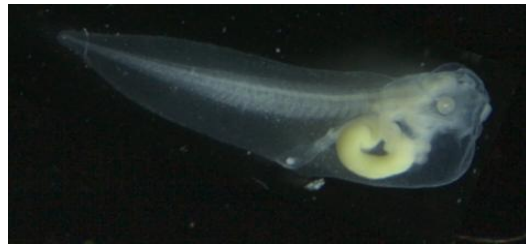


Imagen 31 b



Imagen 31 c

Imagen 31a y 31b corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la 31c. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, y cardíaco) intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral



Imagen 32 a



Imagen 32 b

Imagen 32a corresponde a la posición lateral, la posición ventral se muestra en la imagen 32b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación

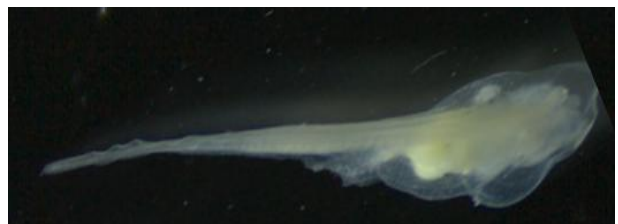


Imagen 33a

Imagen 33 b

Imagen 33a corresponde a la posición lateral, y dorsal la 33b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de aleta ventral.

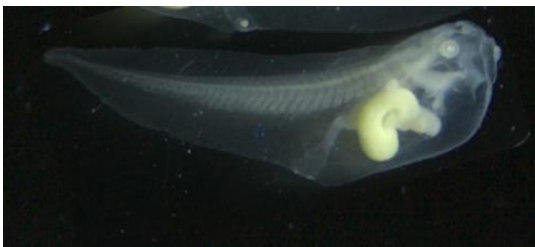


Imagen 34 a

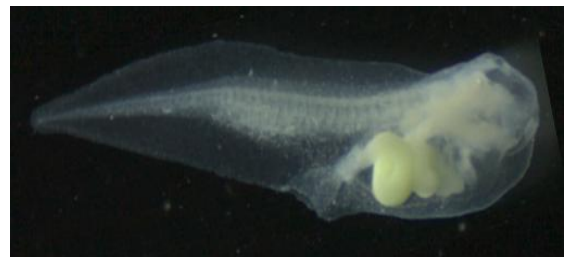


Imagen 34 b

Imagen 34 a y 34b corresponden a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters, dilatación anorrectal, semitas y flexión lateral de la cola.



Imagen 35 a



Imagen 35 b

Imagen 35 a y 35b corresponden a la posición lateral y dorsal respectivamente, se nota el cristalino prominente, despigmentación ocular, intestino mal enrollado, dilatación anorrectal leve.

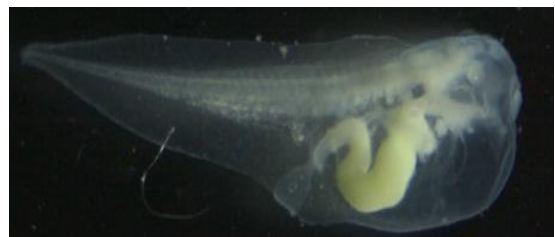


Imagen 36 a

Imagen 36 b

Imagen 36 a y 36b corresponden a posiciones laterales, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters, dilatación anorrectal.

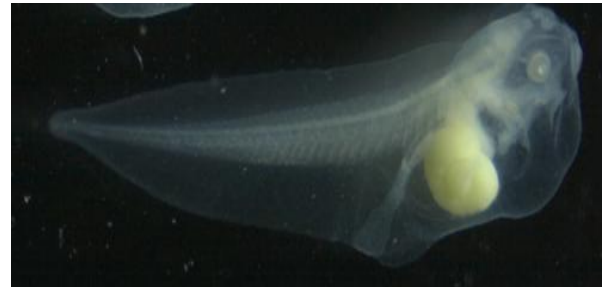
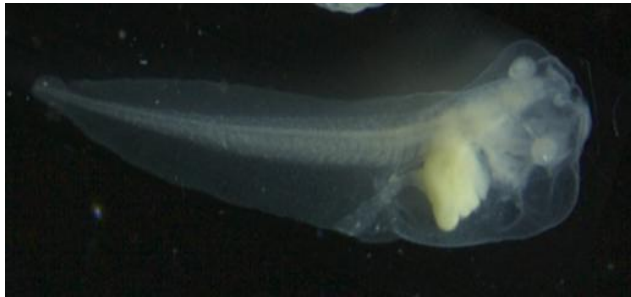


Imagen 37 a

Imagen 37 b

Imagen 37a y 37b corresponden a la posición lateral. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.

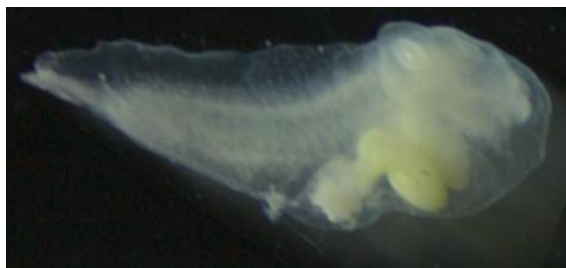


Imagen 38 a

Imagen 38 b

Imagen 38a y 38b Se aprecia malformación severa, despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters, dilatación y deformación anorrectal, notocorda afectada, flexión pronunciada dorsal y flexión lateral de cola.

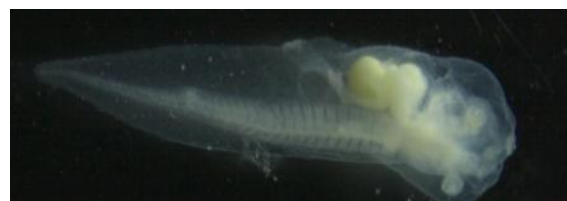


Imagen 39 a

Imagen 39 b

Imagen 39a corresponde a la posición lateral, y dorsal la 39b. Se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal, craneoencefálico y cardíaco, intestino sigmoide, blisters, dilatación anorrectal y carece de

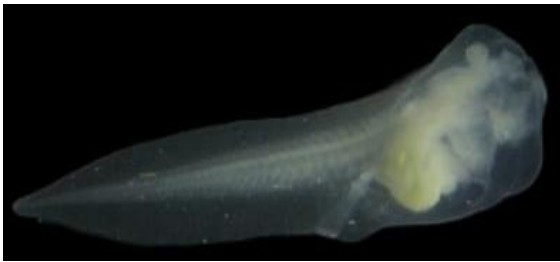


Imagen 40a



Imagen 40 b

Imagenes 40a y 40 b corresponde a la posición lateral, se aprecia despigmentación ocular, cristalino prominente, malformación craneofacial, edema múltiple (edema abdominal y cardíaco), intestino mal enrollado, blisters y dilatación anorrectal.

Resultados de Estrés Oxidativo

Para la evaluación del estrés oxidativo se determinó el grado de lipoperoxidación (LPX) el cual tuvo un aumento, las enzimas como catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) disminuyeron a excepción de la concentración M2 (0.0036 mg/L) en general se encontró una diferencia significativa entre las muestras expuestas al MCZ y los grupos control (Fig.9).

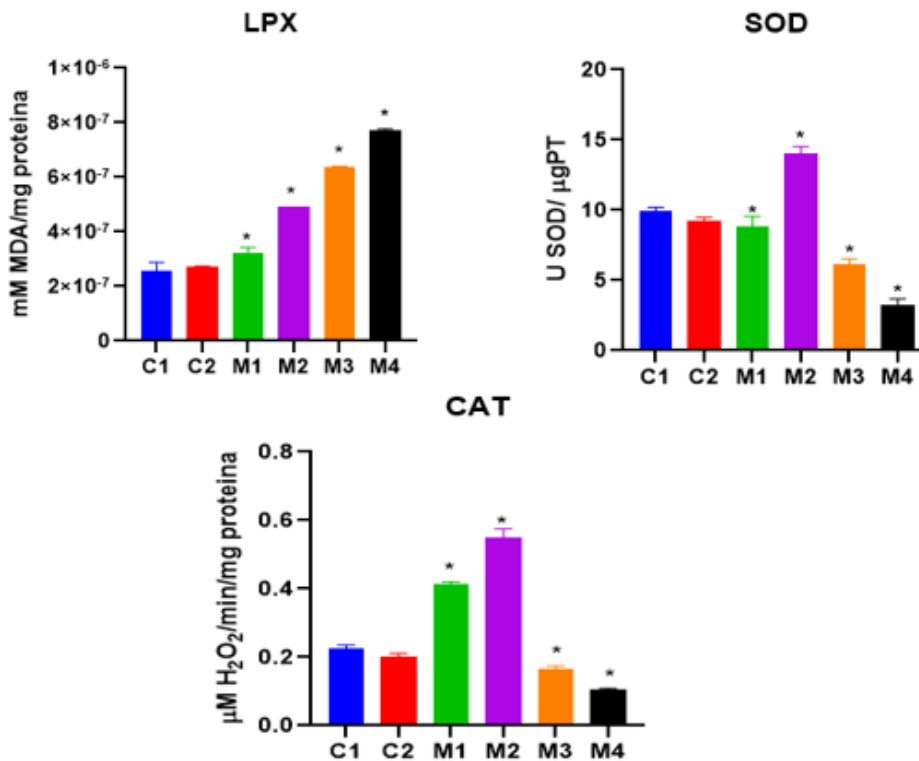


Fig. 10 Estrés Oxidativo (LPX) Lipoperoxidación, (SOD) Superóxido dismutasa, (CAT) Catalasa. *Diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control, ANOVA de una vía y prueba de Tukey (P<5).

Dentro de los marcadores de estrés oxidativo la lipoperoxidación (Fig.10 LPX) aumenta conforme a la concentración de MCZ, en una línea celular de queratinocitos humanos se apreció la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) las cuales

pueden inducir oxidación de lípidos de membrana (Kobayashi et al., 2002), lo cual sugiere lipoperoxidación como uno de los daños celulares (Peng et al., 2022), aunado a esto y de acuerdo con el mecanismo de acción propuesto (Fig.9) a una mayor concentración del antifúngico hay más producción de esteroides metilados que son tóxicos para la membrana celular.

En un estudio de células Sertoli de ratón TM4 se observó una depleción de glutatión y disfunción mitocondrial lo anterior sugiere que a un aumento de concentración de MCZ la producción de ROS aumente, ante esto la defensa antioxidante disminuya, como la actividad enzimática de SOD y CAT (Petricca et al., 2022), esto se observa en las dos concentraciones más altas de MCZ, en M3 (0.036 mg/L) y M4 (0.36 mg/L), sin embargo, en las concentraciones de M1 (0.00036 mg/L) y M2 (0.0036 mg/L) hay un aumento de CAT y SOD esto puede indicar que a concentraciones menores de MCZ, las concentraciones de ROS que produce este tóxico permiten la actividad de SOD y CAT (Alsharif et al., 2022; Won et al., 2012).

Envío del artículo