Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2026,
Volumen 10, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i5

BIOMODELOS COMO SISTEMAS CENTINELA EN ECOTOXICOLOGÍA REPRODUCTIVA

BIOMODELS AS SENTINEL SYSTEMS IN REPRODUCTIVE ECOTOXICOLOGY

Sofía Isabel Vázquez Martínez
Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Chaak Castellanos Carrizal
Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Dan González Ibarra
Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Paloma Montserrat Rosas Licona
Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Victorino Alatriste
Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i5.26019

Biomodelos como sistemas centinela en ecotoxicología reproductiva

Sofía Isabel Vázquez Martínez[1]
sophievazm@gmail.com
https://orcid.org/0009-0007-9783-9732
Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

Chaak Castellanos Carrizal
chaak.ca@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-1000-2037
Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

Dan González Ibarra
goibdan@gmail.com
https://orcid.org/0009-0008-7556-4894
Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

Paloma Montserrat Rosas Licona
rosaspaloma122@gmail.com
https://orcid.org/0009-0001-0025-4444
Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

Victorino Alatriste
victorino.alatriste@correo.buap.mx
https://orcid.org/0000-0001-8680-5018
Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

RESUMEN

La contaminación ambiental es un tema de índole mundial que repercute directamente en la salud de los seres vivos, siendo un tema importante de estudio e investigación. Dentro de estos procesos de contaminación tenemos las aguas residuales, las cuales contienen mezclas complejas de sustancias químicas disruptoras endocrinas, metales pesados y fármacos que representan riesgos para la salud reproductiva. El presente trabajo analiza el uso de biomodelos en el estudio de la toxicidad reproductiva inducida por este tipo de contaminantes. Se profundiza en cómo *Daphnia magna* actúa como organismo centinela de alerta temprana debido a su alta sensibilidad. Por otro lado, *Danio rerio* permite realizar evaluaciones mecanísticas gracias a la homología genética, la transparencia embrionaria y la integración de vías de desenlaces adversos. Además, *Xenopus laevis* complementa el cribado de la alteración endocrina mediante ejes hormonales conservados. En cuanto a los modelos basados en mamíferos, particularmente los roedores, permiten extrapolar directamente los riesgos para la salud humana, revelando alteraciones en la foliculogénesis, la implantación y el comportamiento. Por otro lado, los enfoques *in silico* potencian la toxicología predictiva y reducen el uso de animales. De esta manera, las estrategias integradas que combinan enfoques *in silico, in vitro* e *in vivo* refuerzan la comprensión mecanística y la evaluación de riesgos.

Palabras clave: biomodelos, ecotoxicología, reproducción, disruptores

[1] Autor principal
Correspondencia: sophievazm@gmail.com

Biomodels as sentinel systems in reproductive ecotoxicology

ABSTRACT

Environmental pollution is a global issue with direct repercussions on the health of living organisms, making it a significant subject of research. Wastewater is a key factor in these pollution processes, containing complex mixtures of endocrine-disrupting chemicals, heavy metals, and pharmaceuticals that pose risks to reproductive health. This paper analyzes the use of biomodels to study reproductive toxicity induced by these types of contaminants. It examines how *Daphnia magna* serves as an early-warning sentinel organism due to its high sensitivity. Meanwhile, *Danio rerio* enables mechanistic assessments thanks to genetic homology, embryonic transparency, and the integration of adverse outcome pathways. Furthermore, *Xenopus laevis* complements endocrine disruption screening through conserved hormonal axes. Mammalian models—particularly rodents—allow for the direct extrapolation of human health risks, revealing alterations in folliculogenesis, implantation, and behavior. Additionally, *in silico* approaches enhance predictive toxicology and reduce animal usage. Thus, integrated strategies combining *silico, in vitro,* and *in vivo* approaches strengthen mechanistic understanding and risk assessment.

Keywords: biomodels, ecotoxicology, reproduction, disruptors

Artículo recibido 05 agosto 2026
Aceptado para publicación: 11 septiembre 2026

INTRODUCCIÓN

Las pruebas ecotoxicológicas se enfocan en establecer relaciones concentración-respuesta para contaminantes específicos a través de la medición de parámetros basados en la supervivencia, el crecimiento o la reproducción durante tiempos de exposición definidos (Jourdan *et al.,* 2023). En este sentido, es fundamental comprender cómo los contaminantes interactúan con el entorno y con los organismos mediante distintos procesos. Heugens *et al.* (2001) destacan tres factores importantes: en primer lugar, la biodisponibilidad determina en qué medida las condiciones ambientales modifican la fracción absorbible de un compuesto para su absorción por los organismos. En segundo lugar, la toxicocinética se ve influida por la temperatura, lo que puede alterar las tasas de absorción, metabolismo, eliminación y detoxificación de las sustancias. En tercer lugar, la sensibilidad fisiológica también desempeña un papel relevante, ya que condiciones como el estado nutricional o el estrés osmótico asociado a la salinidad pueden modificar la tolerancia al daño químico.

Esta disciplina adquiere especial relevancia al considerar la contaminación de los ecosistemas acuáticos por las aguas residuales. Las sustancias presentes pueden ser peligrosas para la salud humana y el medio ambiente debido a su alto contenido de compuestos procedentes de diversas industrias, residuos urbanos, desechos domésticos, servicios o efluentes hospitalarios (Jirova *et al*., 2016). Entre los contaminantes presentes se incluyen productos farmacéuticos y de cuidado personal, pesticidas, herbicidas, metales pesados, compuestos orgánicos persistentes, bifenilos policlorados, microplásticos, entre otros (Sonkar *et al.,* 2025). Incluso se ha reportado que existen más de 80 000 sustancias químicas de uso comercial consideradas como disruptores endócrinos y el riesgo de la mayoría de ellas aún no se ha evaluado (Ingaramo *et al*., 2020). En conjunto, estos compuestos representan riesgos graves para la salud de los organismos con los que entran en contacto.

En este contexto, se han desarrollado protocolos estandarizados que contemplan los procesos físicos y fisiológicos en estudios ecotoxicológicos mediante biomodelos, los cuales se mantienen en condiciones controladas de laboratorio (Jourdan *et al.,* 2023). En la ecotoxicología reproductiva, un biomodelo se entiende como un sistema biológico que puede abarcar desde organismos completos hasta unicelulares, y que se emplea para estudiar cómo agentes químicos, físicos o biológicos interfieren en los procesos reproductivos. Estos modelos permiten analizar alteraciones en parámetros como la fecundidad, la

gametogénesis, el desarrollo embrionario y la regulación endocrina, lo que facilita la identificación de efectos adversos en etapas críticas del ciclo de vida (Ankley *et al*., 2010; OECD, 2012). En particular, frente a los contaminantes presentes en las aguas residuales, los biomodelos constituyen herramientas clave para comprender los mecanismos de acción y establecer relaciones entre la exposición y el efecto (Bergman et al., 2013).

En cuanto a los efectos tóxicos detectados en los animales, se incluyen alteraciones del desarrollo sexual y de la función reproductiva (Anetor *et al*., 2022). Estudios han demostrado que la exposición a ciertos contaminantes afecta negativamente la función y la estructura de las gónadas. Por ejemplo, las mezclas de contaminantes orgánicos (disruptores endocrinos como perfluorooctanoato, bifenilo policlorado 153 y hexaclorobenceno) aumentan la migración de líneas celulares de tumores de la granulosa ovárica (Gogola-Mruk *et al.,* 2021). Lo anterior ocurre porque estos compuestos estimulan el aumento de la producción de la metaloproteinasa de matriz 2 (MMP2), la cual disuelve las uniones entre células (Gogola-Mruk *et al.,* 2021). Asimismo, los metales pesados afectan tanto al testículo como al ovario, alterando procesos como la espermatogénesis, la ovogénesis y la foliculogénesis (Massányi *et al*., 2020; Anetor *et al*., 2022). Por otro lado, en cuanto a herbicidas, Araújo-Ramos *et al.* (2021) mencionan que el glifosato actúa como disruptor endocrino ya que interactúa con el receptor de estrógenos ER-α, activando genes que normalmente responden al estrógeno. También los autores reportan una disminución de los niveles de la proteína StAR, lo que reduce la producción de progesterona, estradiol y testosterona. Aunque solo son algunos ejemplos, esta evidencia subraya la necesidad de emplear biomodelos que permitan caracterizar dichos efectos, comprender sus mecanismos y establecer relaciones en contextos ambientalmente relevantes.

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el uso de biomodelos ecotoxicológicos en el estudio de la reproducción, con especial atención a los contaminantes presentes en matrices ambientales como las aguas residuales. Frente a dichos contaminantes, los biomodelos constituyen herramientas clave para comprender los mecanismos de acción, evaluar efectos a nivel individual y poblacional, y establecer relaciones causales entre la exposición y el daño reproductivo.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión sistemática que abarca los aspectos más importantes de la literatura disponible sobre el uso de biomodelos para el estudio ecotoxicológico del impacto de las aguas residuales, tanto en animales de laboratorio como en organismos no blancos. Sin embargo, debido a la gran cantidad de bibliografía disponible sobre este tema, fue necesario optimizar la información mediante un análisis bibliométrico. Utilizando enfoques matemáticos y estadísticos, esta metodología resultó ser una excelente opción, al permitir evaluar e identificar el impacto de las publicaciones, facilitando así la selección de la materia para el análisis de diferentes artículos de investigación.

La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en las bases de datos PubMed y Google Académico utilizando la estrategia de búsqueda: *"(Models OR Rodent OR Mouse OR Daphnia OR Xenopus OR Danio) AND analysis AND (contamination OR toxicology OR pollution OR importance*)". Posteriormente, los resultados obtenidos fueron depurados considerando únicamente artículos científicos, revisiones y capítulos de libro relacionados con las áreas de toxicología, ecología, ciencias biológicas, bioquímica, genética y biología molecular, química, ciencias ambientales, inmunología, microbiología, medicina y disciplinas multidisciplinarias. Asimismo, se excluyeron documentos que no presentaban relación directa con el objetivo del estudio o que contenían información redundante.

Una vez seleccionados los documentos, se analizaron los resultados de búsqueda mediante las herramientas gráficas proporcionadas por las propias bases de datos, permitiendo visualizar la distribución, frecuencia y evolución de las publicaciones relacionadas con biomodelos ecotoxicológicos (Qin *et al.,* 2020). Finalmente, la información recopilada se organizó en el gestor bibliográfico Mendeley para facilitar la clasificación, el almacenamiento y el análisis de los documentos seleccionados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de toxicidad por exposición a aguas residuales

Las aguas residuales y su toxicidad representan una fuente de preocupación para la salud pública. El comienzo de su tratamiento y el reúso crean una nueva problemática que afecta en gran medida a los países en desarrollo, lo que resalta la creciente contaminación química ambiental y el efecto nocivo que esta ocasiona en la reproducción humana y animal (Bustos-Obregón & Hartley, 2007).

De acuerdo con la UNESCO, se generan alrededor de 359 mil millones de metros cúbicos de aguas residuales en todo el mundo, de los cuales se estima que solo el 20-30% recibe un tratamiento adecuado antes de ser descargadas en el medio ambiente. Es decir, el 80% y el 70% del resto de las aguas residuales se vierten sin tratamiento previo, lo que conlleva consecuencias negativas para el medio ambiente y la salud humana (Tevalcor, 2023).

En México, aproximadamente el 70% del agua destinada al consumo presenta contaminación con agentes nocivos, colorantes y pigmentos (Barrios-Ziolo *et al.,* 2016), tóxicos, fármacos y productos de cuidado personal, así como con compuestos disruptores endócrinos (Estrada-Arriaga *et al.*, 2013). Dichos elementos provocan acumulación tanto en el suelo como en los entornos acuáticos. Esta bioacumulación, persistencia y toxicidad son finalmente absorbidas por los organismos e incorporadas a la cadena alimentaria (García-Carrillo *et al.,* 2020), generando efectos asociados principalmente con alteraciones hormonales, como disminución de fertilidad (Diamanti-Kandarakis *et al.,* 2009), además de enfermedades crónicas e infecciosas (*WHO*, 2020). Asimismo, se presentan daños neurológicos, trastornos de desarrollo y daño renal, debido a que los metales pesados interrumpen los procesos y estructuras celulares esenciales que, con el paso del tiempo, pueden ocasionar daños en el ADN, disfunciones celulares e incluso la muerte (Alewy-Almashhadany *et al.*, 2025).

Implicaciones de los biomodelos en ecotoxicología reproductiva femenina

El uso de aguas residuales, como agente tóxico, es fundamental para la evaluación de posibles efectos adversos en la salud. Como se mencionó, los productos químicos y disruptores endócrinos son compuestos que contribuyen a diversos trastornos y enfermedades. Sin embargo, para confirmar dicha toxicidad, se requiere del empleo de biomodelos que permitan registrar respuestas en diferentes etapas del desarrollo, ofreciendo resultados significativos y comparables (B-Patisaul *et al.,* 2019).

En este contexto, la toxicidad reproductiva femenina es uno de los campos más complejos de la toxicología moderna. El sistema reproductivo no funciona de manera aislada: depende de una coordinación fina entre ovarios, útero, placenta, sistema nervioso y múltiples señales hormonales que actúan de forma integrada a lo largo del tiempo. Por esta razón, evaluar su vulnerabilidad frente a contaminantes ambientales, como los presentes en aguas residuales, exige una mirada amplia y complementaria.

Durante décadas, los modelos en mamíferos, principalmente los roedores, han sido el estándar para estudiar toxicidad reproductiva debido a su similitud fisiológica con los humanos y su capacidad para reproducir procesos complejos como la gestación y la lactancia. Las guías regulatorias internacionales, como las del International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use en su documento ICH S5(R3) Guideline, establecen la necesidad de realizar estudios en al menos dos especies mamíferas: un roedor y un no roedor. Este enfoque permite caracterizar los riesgos reproductivos y de toxicidad del desarrollo asociados a productos farmacéuticos de uso humano. Sin embargo, también es reconocido que las respuestas observadas en animales no siempre predicen con exactitud los efectos en humanos, especialmente debido a diferencias en órganos clave como la placenta y el cerebro en desarrollo (Schmidt *et al.,* 2015). Estas variaciones limitan la extrapolación directa entre especies.

En conjunto, ningún modelo por sí solo puede captar toda la complejidad de la toxicidad reproductiva femenina. La combinación estratégica de sistemas *in silico, in vitro* e *in vivo* permite integrar relevancia humana, profundidad mecanística y complejidad biológica. Este enfoque híbrido no solo mejora la calidad científica de la evaluación de riesgos, sino que también responde a la necesidad ética y regulatoria de desarrollar una toxicología más predictiva, eficiente y alineada con la protección de la salud humana y ambiental.

Otro aspecto central es el cumplimiento de los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) (Russell & Burch, 1959). La incorporación de modelos alternativos como el pez cebra o el invertebrado *Daphnia magna* permite realizar cribados iniciales de alta sensibilidad y bajo costo antes de avanzar hacia estudios en mamíferos. *D. magna*, por ejemplo, es especialmente útil para detectar efectos reproductivos tempranos y transgeneracionales en ambientes acuáticos, actuando como sistema de alerta frente a mezclas complejas de contaminantes (Tkaczyk *et al.,* 2021a). Estas estrategias forman parte de los Enfoques Integrados para Pruebas y Evaluación, promovidos por la Organisation for Economic Co-operation and Development, que combinan información de múltiples fuentes para tomar decisiones más éticas y científicamente robustas (OECD, 2017).

Ecotoxicología en peces, anfibios e invertebrados

En etapas tempranas de investigación o en estudios ambientales que analizan mezclas complejas, como las aguas residuales, el uso exclusivo de modelos mamíferos resulta poco viable por razones éticas, económicas y logísticas. En este contexto, los biomodelos acuáticos, incluidos peces, anfibios e incluso invertebrados, han cobrado relevancia como herramientas de cribado y de alerta temprana en ecotoxicología reproductiva (Rosner *et al*., 2024). El pez cebra (*Danio rerio*) se ha consolidado como un modelo vertebrado que permite evaluar efectos sobre el desarrollo embrionario y la función endocrina con alta sensibilidad y rapidez. El ensayo de toxicidad del desarrollo en embriones de pez cebra presenta una sensibilidad cercana al 75 % para identificar compuestos teratogénicos en mamíferos, si bien su especificidad es más reducida (~43 %). Dichos valores confirman que, aunque útil para el cribado, no reemplaza a los modelos regulatorios establecidos (Van den Bulck *et al.,* 2011).

Adicionalmente, los ensayos de reproducción a corto plazo en peces adultos descritos por la Organisation for Economic Co-operation and Development en la OECD Test Guideline 229 permiten detectar alteraciones endocrinas mediante la cuantificación de vitelogenina, la fecundidad y el análisis histopatológico gonadal. Resultan particularmente útiles para identificar actividad estrogénica o antiestrogénica en matrices ambientales complejas. De manera complementaria, los anfibios, como *Xenopus laevis*, aportan información relevante sobre la disrupción de ejes endocrinos durante el desarrollo, especialmente en procesos de diferenciación sexual y metamorfosis, que dependen estrechamente de la señalización hormonal (OECD, 2012b).

Invertebrados como *Daphnia magna* permiten evaluar efectos transgeneracionales, alteraciones en fecundidad y cambios en ciclos reproductivos a bajo costo y con alto rendimiento experimental, contribuyendo al cumplimiento de los principios de las 3R y a estrategias integradas de evaluación (Ankley *et al.,* 2010). En conjunto, estos modelos no sustituyen a los estudios en mamíferos, pero amplían la cobertura de ventanas críticas de exposición y fortalecen el enfoque de “peso de la evidencia” en la evaluación del riesgo reproductivo femenino.

***Daphnia magna* como biomodelo temprano en la evaluación de toxicidad**

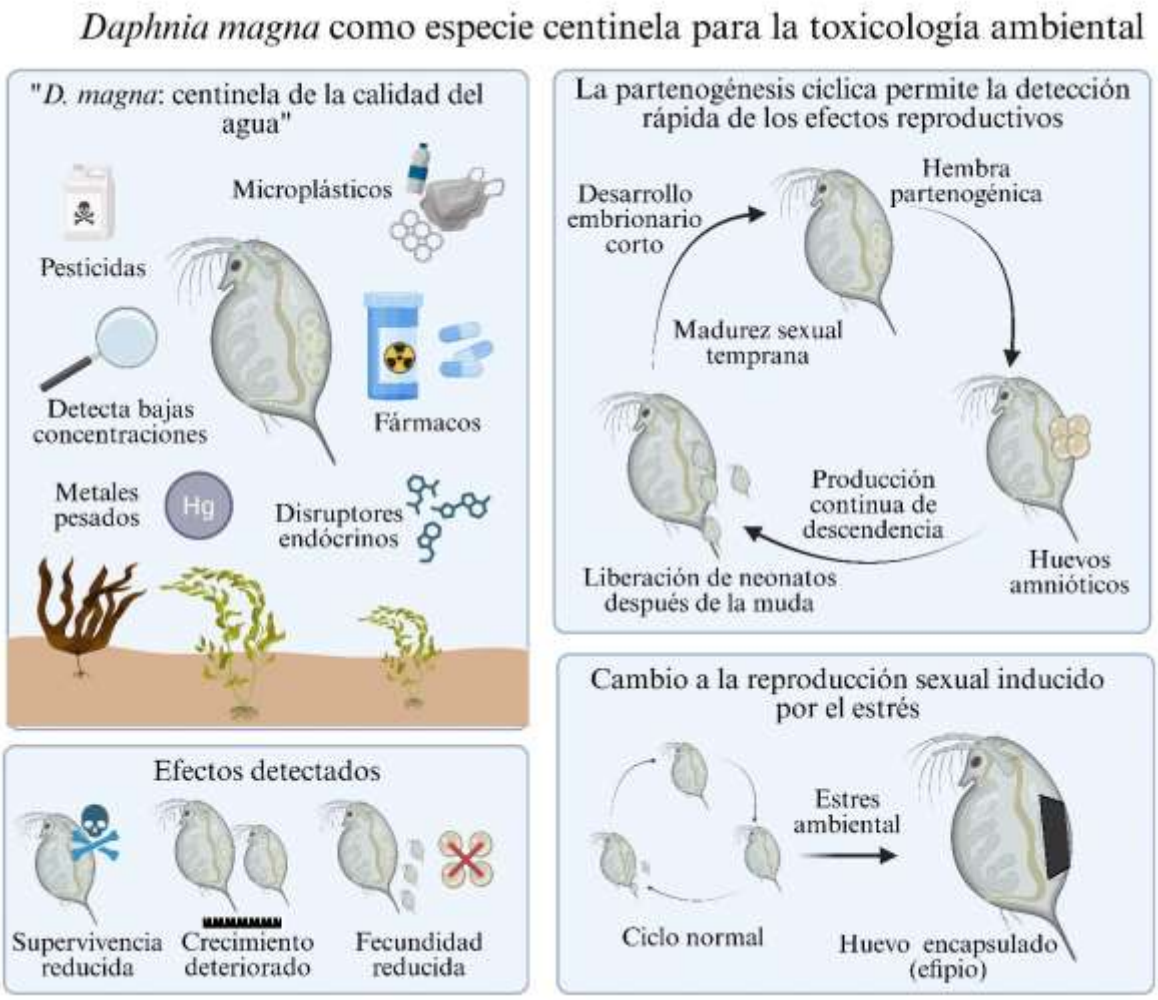
El empleo de invertebrados como biomodelos resulta fundamental en el estudio de la ecotoxicología reproductiva debido a su papel en el almacenamiento y la transferencia de energía en los sistemas

tróficos (DeFur, 2004; Lee *et al.,* 2019). Estos organismos ofrecen ventajas metodológicas críticas, tales como ciclos de vida cortos, alta fecundidad y facilidad de cultivo en condiciones controladas, lo que permite realizar evaluaciones multigeneracionales eficientes (DeFur, 2004). Su elevada sensibilidad frente a estresores ambientales y xenobióticos, incluidos los disruptores endocrinos y los fármacos citostáticos que alteran la integridad del ADN, los posiciona como importantes centinelas biológicos (Jureczko & Przystaś, 2024). Además, la conservación evolutiva de múltiples vías biológicas y sistemas hormonales permite que estos organismos prevean respuestas toxicológicas en otros vertebrados. En la investigación de la toxicidad reproductiva femenina asociada a contaminantes acuáticos, el invertebrado más ampliamente utilizado es *Daphnia magna*, conocida comúnmente como "pulga de agua" (Tkaczyk, 2021b).

Una de las principales ventajas de *D. magna* es su alta sensibilidad a los tóxicos ambientales. Diversos estudios han demostrado que responde a concentraciones muy bajas de pesticidas, fármacos, metales pesados y disruptores endocrinos, mostrando alteraciones en supervivencia, crecimiento y, especialmente, reproducción (OECD, 2012a; Tkaczyk *et al*., 2021b). Esta sensibilidad la convierte en un organismo centinela para evaluar la calidad de las aguas residuales y detectar riesgos potenciales antes de que afecten a otros organismos.

Su ciclo de vida permite evaluar afectaciones reproductivas debido a su capacidad de respuesta frente a cambios ambientales. Según Ebert (2005), esta especie presenta partenogénesis cíclica, donde las hembras producen nidadas de huevos amícticos y liberan neonatos genéticamente idénticos tras cada muda. Su rápido desarrollo embrionario, la maduración sexual temprana y la producción continua de descendencia permiten detectar alteraciones en la fecundidad, el tiempo de reproducción, la viabilidad embrionaria y la supervivencia de neonatos. Por otro lado, bajo condiciones de estrés ambiental, *D. magna* puede cambiar hacia una reproducción sexual, produciendo huevos de resistencia encapsulados en una estructura denominada *ephipium*. Esta transición constituye un importante indicador biológico de estrés fisiológico y ambiental (figura 1).

Figura 1. *Daphnia magna* como especie centinela en estudios de toxicología ambiental. El esquema representa la utilidad de *D. magna* para detectar contaminantes acuáticos. Asimismo, se ilustra su ciclo de partenogénesis cíclica y el cambio hacia la reproducción sexual inducido por condiciones de estrés ambiental.



Antes de realizar ensayos en peces o mamíferos, este modelo permite identificar si una muestra presenta actividad biológica capaz de alterar la reproducción. Por ejemplo, se ha demostrado que compuestos como bisfenoles, ftalatos y algunos anticonceptivos hormonales reducen significativamente la producción de neonatos en exposiciones crónicas (Marlatt *et al*., 2022; Tkaczyk *et al.,* 2021a). Si bien no reproduce por completo la fisiología de los vertebrados y, por tanto, no modela directamente procesos ováricos humanos, sí permite identificar alteraciones fundamentales en la energía reproductiva, la asignación de recursos y la viabilidad embrionaria.

Otra ventaja destacable es su eficiencia económica y la simplicidad de su mantenimiento. Los bioensayos con *D. magna* se caracterizan por su reducida demanda de espacio, su escaso requerimiento de volumen de muestra y la brevedad de los tiempos experimentales, lo que permite abordar estudios

con amplios intervalos de concentración o mezclas de elevada complejidad química. Dichas cualidades han favorecido su inclusión en normativas internacionales de referencia, como la OECD Test Guideline 211, destinada al ensayo de reproducción crónica para la evaluación de efectos subletales sobre la fecundidad (OECD, 2012a).

D. magna no sustituye a los modelos vertebrados cuando se requiere una extrapolación directa a la salud humana. Sin embargo, su alta sensibilidad, rapidez de respuesta y capacidad para detectar efectos reproductivos y transgeneracionales la convierten en una herramienta fundamental en estrategias escalonadas de evaluación de la toxicidad reproductiva femenina, especialmente en el ámbito de la ecotoxicología y la vigilancia ambiental.

Pez cebra (*Danio rerio*) como biomodelo en ecotoxicología reproductiva

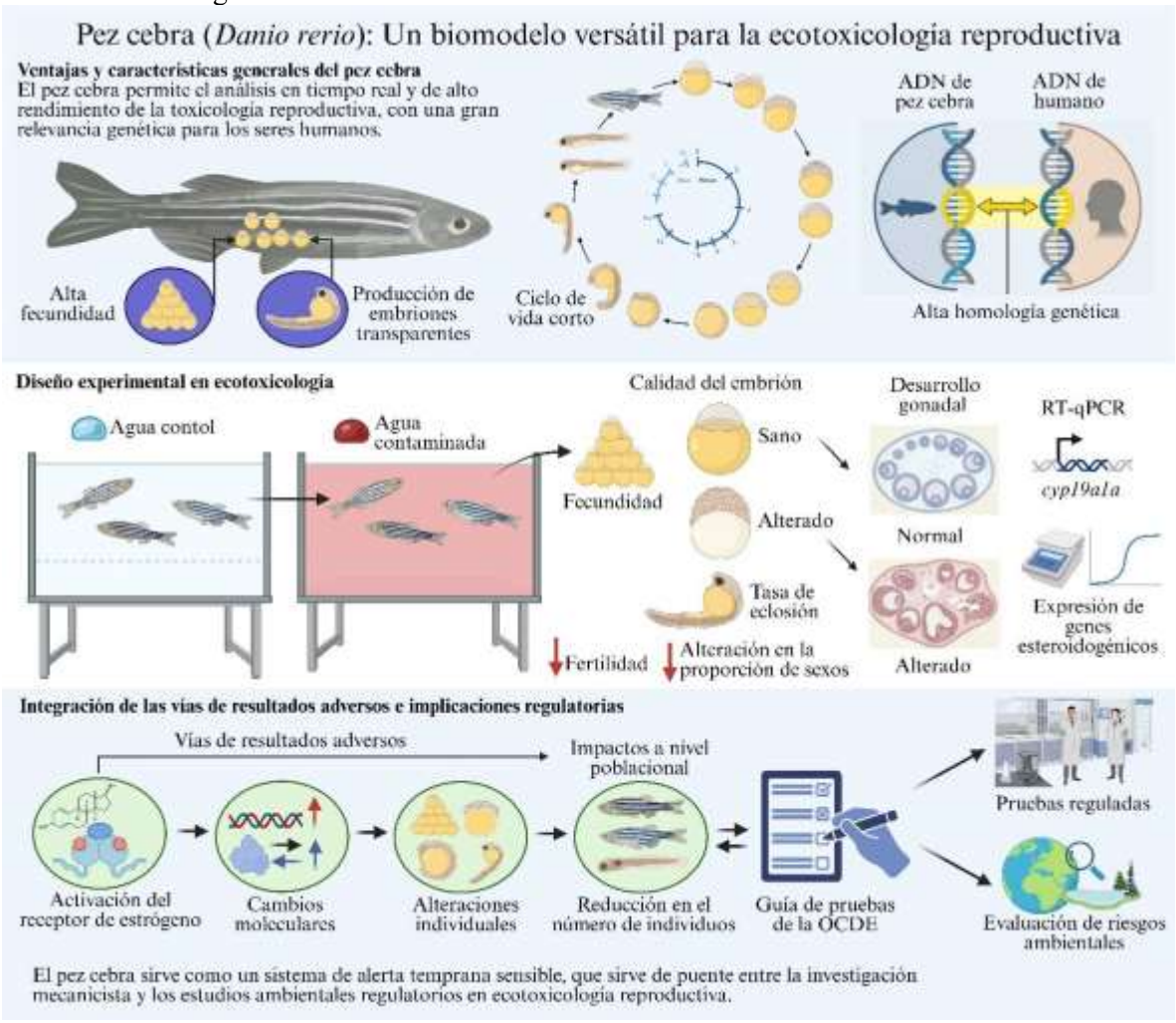
El pez cebra (*Danio rerio*) utilizado ampliamente como uno de los biomodelos vertebrados más robustos y versátiles en ecotoxicología reproductiva, particularmente en la evaluación de contaminantes presentes en aguas residuales. Su rápida embriogénesis, alta fecundidad, desarrollo externo y transparencia embrionaria permiten observar en tiempo real alteraciones morfológicas, endocrinas y reproductivas inducidas por mezclas químicas complejas. Además, comparte una elevada homología genética con humanos, incluyendo genes clave involucrados en la regulación del eje hipotálamo–hipófisis–gónada (HPG), lo que lo convierte en un modelo relevante para estudiar disrupción endocrina con potencial valor predictivo (Howe *et al.,* 2013).

En el contexto de toxicidad reproductiva femenina, el pez cebra permite evaluar parámetros como la fecundidad, la calidad ovocitaria, la tasa de eclosión, el desarrollo gonadal y la expresión de genes relacionados con esteroidogénesis. La exposición a efluentes de aguas residuales y a disruptores endocrinos de referencia ha demostrado inducir alteraciones en la diferenciación sexual, cambios en la proporción sexual, disminución de la fertilidad y modificaciones transcripcionales en vías hormonales (Kidd *et al.,* 2007; OECD, 2013). Estos efectos pueden manifestarse incluso a concentraciones ambientalmente relevantes, subrayando su sensibilidad como sistema de alerta temprana.

Adicionalmente, el pez cebra desempeña un papel central en el desarrollo e implementación de Vías de Resultado Adverso. Lo anterior permite integrar eventos moleculares tempranos, como la activación de receptores estrogénicos, con desenlaces reproductivos a nivel individual y poblacional (Ankley *et a*l.,

2010). Su aplicabilidad en ensayos estandarizados (OECD, 2013) fortalece su valor regulatorio y comparativo en estudios de riesgo ambiental. En conjunto, el uso del pez cebra complementa otros biomodelos acuáticos al proporcionar evidencia mecanística y funcional sobre los efectos de contaminantes en la reproducción femenina, sirviendo como puente entre sistemas invertebrados y modelos vertebrados. La información de esta sección se resume en la figura 2.

Figura 2. *Danio rerio* (pez cebra) como biomodelo en ecotoxicología reproductiva. Se ilustran las principales características que convierten al pez cebra en un modelo ampliamente utilizado en el estudio de contaminantes ambientales. Además, se muestra la integración de las vías de resultados adversos (Adverse Outcome Pathways, AOPs), destacando la utilidad de *D. rerio* en pruebas regulatorias y en la evaluación de riesgos ambientales conforme a lineamientos internacionales.



Rana de uñas africana (*Xenopus laevis*) como biomodelo complementario

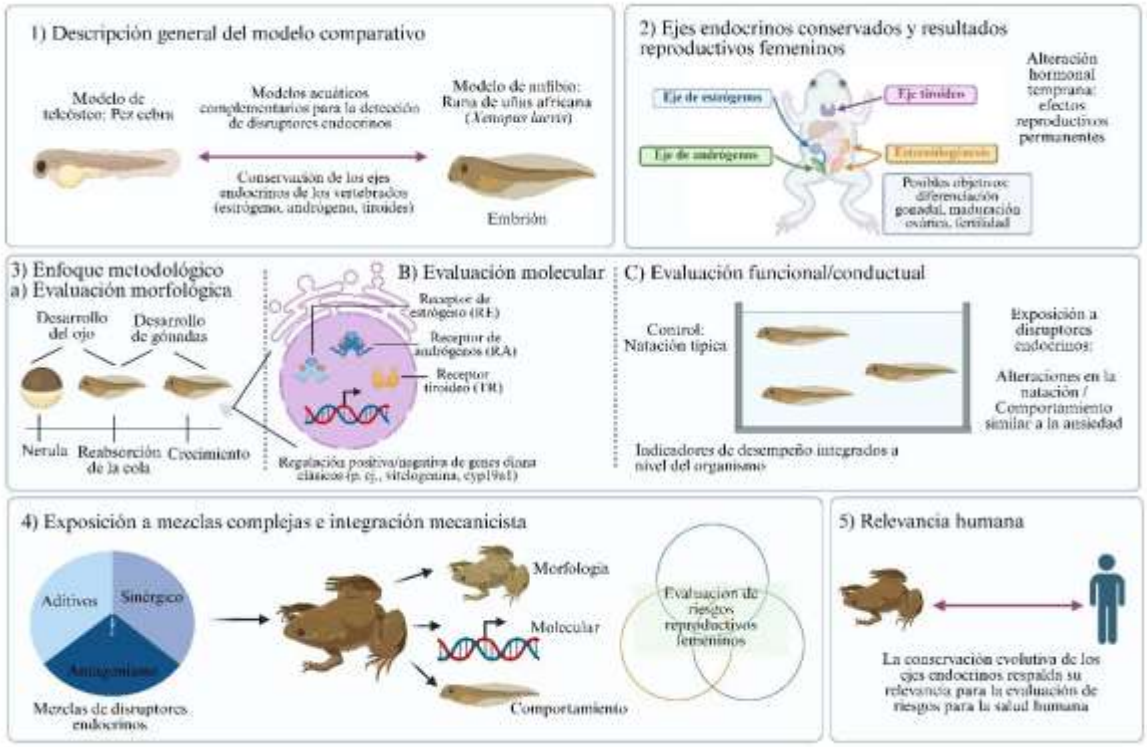
Los embriones de la rana de uñas africana (*Xenopus laevis*) se emplean de forma complementaria a modelos teleósteos como el pez cebra, con el objetivo de fortalecer la identificación de disruptores endocrinos relevantes para la toxicidad reproductiva y del desarrollo (Kloas *et al.*, 2009; OECD, 2009).

El uso de embriones de *X. laevis* permite evaluar la alteración de ejes endocrinos conservados entre vertebrados (figura 3), particularmente aquellos relacionados con el estrógeno, andrógenos, hormona tiroidea y esteroidogénesis. Debido a la alta conservación evolutiva de estos sistemas hormonales, los efectos observados en modelos acuáticos pueden aportar evidencia relevante para la evaluación de riesgos en salud humana (Bergman *et al*., 2013; Zoeller *et al.*, 2012). Esta característica resulta especialmente pertinente en estudios de toxicidad reproductiva femenina, donde la disrupción temprana de señales hormonales puede traducirse en alteraciones permanentes en la diferenciación gonadal, la maduración ovárica o la fertilidad (Zoeller *et al.,* 2012).

En términos metodológicos, los análisis morfológicos de *X. laevis* incluyen la evaluación de alteraciones en el desarrollo embrionario y de estructuras dependientes de señalización hormonal, siguiendo estándares establecidos para la caracterización del desarrollo normal en esta especie (Nieuwkoop & Faber, 1994). Se estudia la expresión de genes diana regulados por receptores hormonales, particularmente aquellos involucrados en señalización tiroidea y esteroidea (Fini *et al.,* 2012). Complementariamente, los parámetros funcionales, como cambios conductuales en renacuajos, aportan evidencia de efectos adversos integrados a nivel del organismo, fortaleciendo la interpretación toxicológica (Ankley *et al*., 2010).

En el contexto específico de la exposición a mezclas complejas, estas pueden actuar simultáneamente sobre múltiples modalidades endocrinas, generando efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos (Backhaus & Faust, 2012). El análisis integrado de efectos morfológicos, moleculares y conductuales en este modelo permite capturar la complejidad de dichas interacciones, contribuyendo a una evaluación mecanísticamente informada del riesgo reproductivo femenino (Ankley *et al.,* 2010).

Figura 3. *Xenopus laevis* como biomodelo acuático para el estudio de disruptores endocrinos. Este anfibio se emplea en la evaluación de alteraciones endocrinas debido a la conservación evolutiva de los ejes hormonales relacionados con los estrógenos, los andrógenos, las hormonas tiroideas y los procesos de esteroidogénesis.

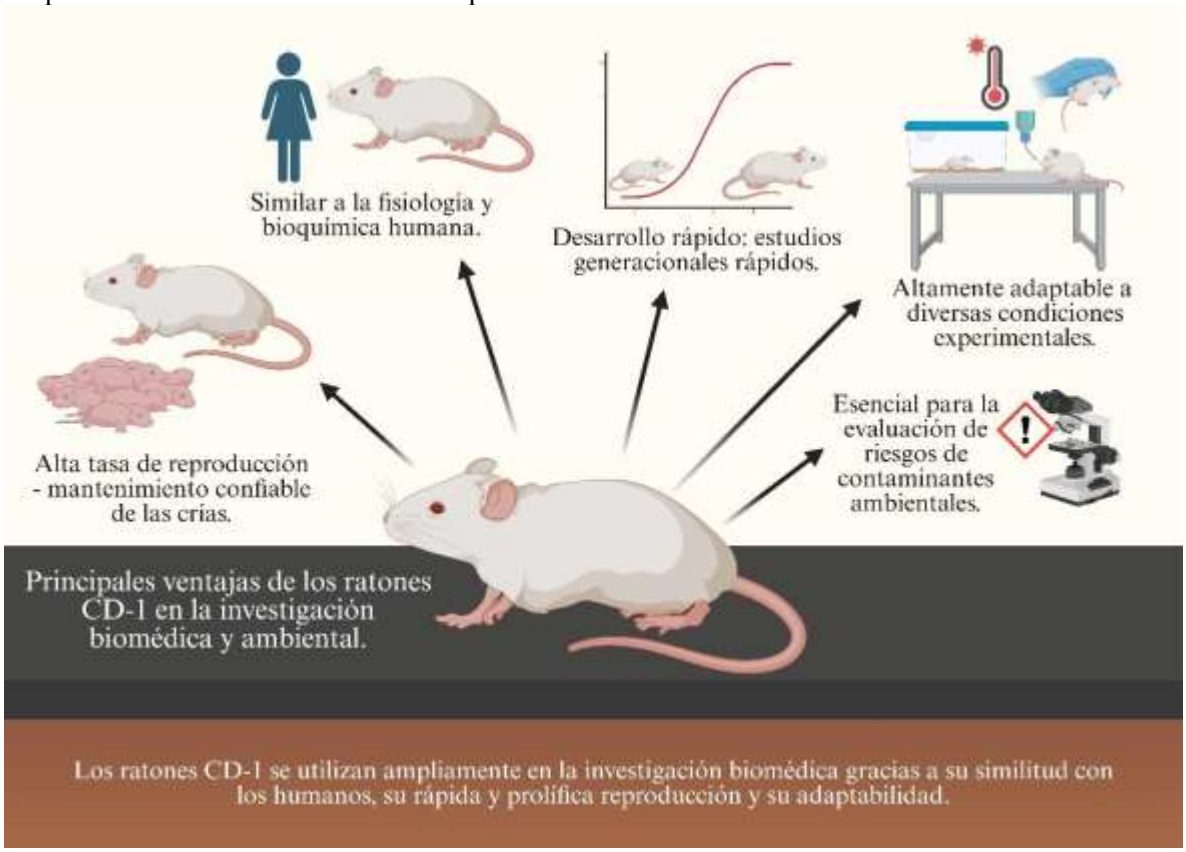


Parámetros evaluados en mamíferos (roedores)

Los mamíferos, y en especial los roedores, son una herramienta clave en el estudio de disruptores endócrinos y ecotoxicidad, junto con otros modelos animales. Su utilidad radica en la estrecha correspondencia entre los sistemas hormonal y conductual, que se manifiesta de manera similar en roedores y en humanos. (Patisaul *et al.,* 2018). Estas características permiten evaluar de manera integral los efectos fisiológicos, reproductivos y conductuales inducidos por diversos compuestos tóxicos presentes en el ambiente.

Entre los modelos más empleados destacan los ratones de la cepa CD-1 (figura 4), por ejemplo, ampliamente utilizados por sus similitudes fisiológicas y bioquímicas con el ser humano, lo que favorece una extrapolación más precisa de los posibles efectos biológicos y de los mecanismos involucrados (Maxi-Maxi, 2021). Además, su elevada capacidad reproductiva, rápido desarrollo y adaptabilidad a distintas condiciones experimentales los convierten en organismos de gran valor para la investigación biomédica y la evaluación de riesgos asociados a contaminantes ambientales.

Figura 4. Principales ventajas de los ratones CD-1 como biomodelos en investigación biomédica y ambiental: su similitud fisiológica con los humanos, alta capacidad reproductiva, rápido desarrollo y adaptabilidad a diversas condiciones experimentales.



Los contaminantes ejercen sus efectos tóxicos al unirse a hormonas gonadales (R-Bell, 2018) y a mecanismos de los disruptores endocrinos, que actúan principalmente a través de receptores nucleares de hormonas, como los de estrógeno, andrógeno y progesterona (Diamanti-Kandarakis, 2009).

Esta interferencia a nivel molecular se traduce en alteraciones de comportamientos sociales, que además son hormonodependientes, tales como los comportamientos afiliativos, sexuales, cuidados parentales y otros aspectos que son expresados especialmente cuando la exposición ocurre en periodos posnatales críticos (R-Bell, 2018).

Más allá de la conducta, la exposición prolongada a estos químicos disruptores representa un alto riesgo para la fertilidad, así como para la fecundación y el desarrollo de órganos gonadales. En mamíferos, se observa que la prolongada exposición a estas sustancias causa una afectación que va desde la desregulación de la expresión de los receptores hormonales, como la falta de desarrollo folicular, y de sus vías de señalización, hasta una significativa reducción de las tasas de implantación embrionaria (Caserta *et al*., 2021).

Resultados relevantes y sensibilidad del modelo murino

Efecto del bisfenol A en el comportamiento

Gioiosa *et al.* (2015) realizaron un estudio experimental sobre la evaluación de riesgos de sustancias químicas disruptoras endocrinas. El objetivo fue medir los efectos de la exposición durante el desarrollo a dosis bajas de bisfenol A (BPA) en el comportamiento y la fisiología de los ratones (*Mus musculus*). Se utilizó el ratón de laboratorio como modelo principal para investigar los efectos de la exposición prenatal a xenoestrógenos sobre la fisiología. Como ciertos tipos de sistemas de comportamiento que se expresan de manera diferente en hombres y mujeres.

Los resultados mostraron que la exposición prenatal y postnatal al bisfenol A en ratones resultó en una interrupción a largo plazo de los comportamientos sexualmente dismórficos. Dicha exposición resultó en alteraciones del comportamiento principalmente en las mujeres; estos comportamientos se tradujeron en una combinación de "defeminización" y "masculinización". Por el contrario, los hombres expuestos mostraron un comportamiento de tipo femenino en algunas medidas. Tales comportamientos sexuales fueron observados antes de la pubertad, por lo que un resultado general de la investigación sugiere una interferencia del BPA en los procesos de desarrollo y organización del sistema nervioso central y en los sistemas receptores de hormonas en ambos sexos.

Estos hallazgos proporcionan evidencia de los riesgos potenciales que la exposición al desarrollo a dosis bajas del BPA puede presentar para la salud humana, siendo los fetos y los bebés altamente vulnerables, y demuestran la necesidad urgente de desarrollar estrategias para evaluar los peligros de los disruptores endocrinos. Este hallazgo guarda relación con la frecuencia con que se observan relaciones dosis-respuesta no monótonas en endocrinología. No obstante, pese a que estas curvas son comunes, los procedimientos actuales de evaluación de riesgos por exposición a contaminantes ambientales todavía no las han integrado.

Efecto de los microplásticos en el ovario

Por otro lado, en un estudio realizado por Liu *et al.* (2022), se analizó la toxicidad reproductiva femenina en ratones, induciendo microplásticos de poliestireno (PS-MP) en ratones hembra de cinco semanas de edad, durante 35 días. Como justificación, se utilizó la contaminación ambiental, junto con la creciente

preocupación que los microplásticos han suscitado por su potencial toxicidad en humanos y animales, especialmente por la deposición en órganos y tejidos.

Para explorar los efectos de los microplásticos de poliestireno (PS-MP) sobre el sistema reproductivo femenino, se administró por vía oral agua ultrapura con o sin PS-MP a ratones hembra. Se establecieron tres grupos experimentales: control, tratado con PS-MP no fluorescentes y tratado con PS-MP fluorescentes (G-PS-MP); estos últimos para facilitar la identificación de la acumulación de partículas en los tejidos.

A continuación, se llevaron a cabo cuatro ensayos complementarios. En el primero, se evaluó la acumulación de G-PS-MP en diversos tejidos y órganos. El segundo consistió en el registro de los efectos fisiológicos básicos, mediante la medición del consumo de alimento y agua, así como del peso corporal. En el tercer ensayo, se analizaron los efectos de los PS-MP sobre los ovarios, comparando el grupo control y el tratado con PS-MP; para ello, se cuantificaron los niveles de expresión relativa de genes asociados con inflamación ovárica, estrés oxidativo y apoptosis. Finalmente, el cuarto ensayo examinó el impacto de los PS-MP en la calidad y competencia de desarrollo de los ovocitos, evaluando parámetros como la calidad mitocondrial, la activación partenogenética, la primera extrusión del cuerpo polar y la tasa de descomposición de la vesícula germinal, nuevamente entre el grupo control y el tratado.

Los resultados mostraron que los PS-MP pueden acumularse en el corazón, el hígado, el bazo, el pulmón, el riñón, el cerebro, el intestino grueso y delgado, el útero, el ovario y la sangre de los ratones expuestos. Además, inducir inflamación en los ovarios y reducir la calidad de los ovocitos en los ratones. Ilustraron que la exposición al poliestireno aumentó el nivel de interleucina 6 (IL-6), que indica la presencia de inflamación ovárica después del tratamiento con PS-MP. Además, disminuyó el nivel de malondialdehído (MDA), un parámetro que refleja el potencial antioxidante del cuerpo, la tasa de peroxidación lipídica y la fuerza del cuerpo en los ovarios del ratón. También mostraron una reducción en la primera tasa de extrusión del cuerpo polar y la tasa de supervivencia de los ovocitos superovulados. Por otro lado, los PS-MP minimizaron el nivel de glutatión, el potencial de membrana mitocondrial y el calcio del retículo endoplasmático y aumentaron las especies reactivas de oxígeno en los ovocitos.

Aunque no se encontraron diferencias en el desarrollo *in vitro* de embriones entre los grupos control y tratados, los hallazgos del estudio sugieren que la exposición a PS-MP puede inducir toxicidad

reproductiva en las ratonas, pues la disminución de la calidad de los óvulos puede afectar el desarrollo *in vivo*. Proporcionando una base para estudiar el mecanismo molecular tóxico de la disfunción reproductiva inducida por la exposición en mamíferos femeninos a PS-MP.

Mamíferos y explosión a metales pesados

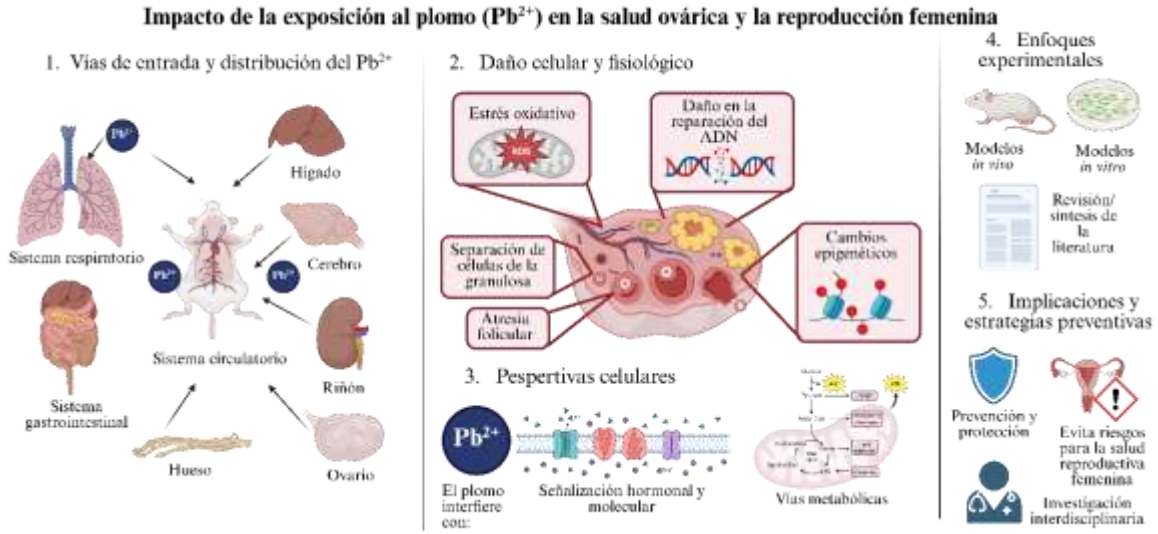
Finalmente, Trujillo-Vázquez *et al.* (2021) presentan una revisión que consolida la evidencia previa sobre toxicidad reproductiva. Dicho análisis aborda específicamente la exposición al plomo y sus efectos en ovarios y salud reproductiva femenina, considerando modelos en roedores, humanos y cultivos in vitro de tejido ovárico.

La investigación se centra en los daños celulares y fisiológicos inducidos por el plomo (Pb^{2+}), entre los que destacan el desequilibrio del balance redox, la desorganización de las células de granulosa foliculares y el incremento de la atresia folicular. Estos efectos son posibles gracias a que el Pb^{2+} se absorbe principalmente por vía respiratoria y gastrointestinal, distribuyéndose posteriormente a órganos como hígado, cerebro, riñones, gónadas y huesos. Una vez internalizado, el metal también interfiere en procesos nucleares como la reparación del ADN y la acetilación de histonas. Dichas alteraciones encuentran su origen en las propiedades químicas del Pb^{2+}, las cuales determinan su capacidad para modificar rutas metabólicas y vías de señalización hormonal y molecular.

La capacidad del Pb^{2+} para afectar la salud y el estado redox celular resulta clave para interpretar estudios experimentales que simulan escenarios reales. Aunque las concentraciones utilizadas en laboratorio no siempre equivalen a las presentes en el ambiente, estos trabajos permiten dilucidar los mecanismos de daño del metal. Para complementar el conocimiento existente, resulta valioso recurrir a enfoques interdisciplinarios y revisiones de la literatura.

Finalmente, comprender los mecanismos de acción del Pb^{2+} en el ovario es fundamental para evaluar el riesgo real que representan los contaminantes para la salud reproductiva femenina. Dicha comprensión favorecerá el desarrollo de estrategias de prevención y protección eficaces (figura 5).

Figura 5. Impacto de la exposición al plomo (Pb^{2+}) sobre la salud ovárica y la reproducción femenina. Se ilustran las principales vías de entrada y distribución sistémica del plomo, así como sus efectos celulares y fisiológicos en el ovario. Además, se representan los posibles mecanismos moleculares involucrados, las estrategias experimentales empleadas para su estudio y las implicaciones preventivas orientadas a la protección de la salud reproductiva femenina.



Métodos *in silico* para la predicción de disruptores endocrinos y la evaluación del riesgo reproductivo femenino

Los métodos *in silico* utilizan herramientas computacionales para predecir la actividad biológica y el potencial tóxico de una sustancia a partir de su estructura química. Entre las estrategias más empleadas se encuentran los modelos QSAR (Relación Cuantitativa Estructura-Actividad), que correlacionan propiedades fisicoquímicas con efectos adversos; el acoplamiento molecular (*molecular docking*), que predice la afinidad de unión de contaminantes a receptores hormonales como el receptor de estrógeno (ERα); y la dinámica molecular, que permite analizar cambios conformacionales asociados a la activación o inhibición de vías endocrinas (Madden *et al*., 2019; Raies & Bajic, 2016). Asimismo, enfoques basados en inteligencia artificial y aprendizaje automático han demostrado utilidad para analizar grandes bases de datos toxicológicas, por ejemplo, Tox21, e identificar patrones predictivos de disrupción endocrina y teratogenicidad (Mayr *et al.,* 2016).

Estos modelos permiten identificar potenciales disruptores endocrinos que interfieren con la señalización estrogénica o progestagénica antes de realizar estudios *in vivo*. Por ejemplo, estudios de *docking* han evaluado la interacción de análogos del bisfenol A con ERα humano para estimar su potencia estrogénica relativa (Delfosse *et al*., 2012). En conjunto, estos enfoques ofrecen un cribado de

alto rendimiento, reducen el uso de animales y proporcionan información mecanística relevante para la evaluación del riesgo reproductivo femenino.

CONCLUSIONES

Los biomodelos ecotoxicológicos son herramientas esenciales para comprender el daño reproductivo causado por contaminantes en aguas residuales. Estos sistemas permiten identificar mecanismos de acción y establecer relaciones causales entre la exposición y el efecto observado. Organismos como *Daphnia magna* y el pez cebra funcionan como centinelas eficaces de alerta temprana. Por otro lado, los modelos de mamíferos facilitan la evaluación de riesgos directos para la salud humana. Sin embargo, es necesario reconocer que las concentraciones en laboratorio no siempre reflejan la complejidad de mezclas de contaminantes presentes en el ambiente. Debido a esto, el análisis y extrapolación de resultados entre especies deben ser interpretados con precaución. Por ello, el uso de *Daphnia magna* y el pez cebra como modelos experimentales, junto con la decisión de reservar los roedores para fases posteriores, responde a una estrategia alineada con el principio de las 3R, donde cada especie ocupa un lugar en función del objetivo, no de su rango filogenético.

Finalmente, la integración de métodos *in silico* y biológicos fortalece la toxicología predictiva y abre la puerta a su incorporación en marcos regulatorios, como las Vías de Resultados Adversos (Adverse Outcome Pathways, AOPs) de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD). Lo anterior perfila un futuro donde los modelos computacionales podrían reducir drásticamente la necesidad de pruebas con organismos vivos. Esta visión integral es fundamental para garantizar la protección de la salud ambiental y reproductiva frente al creciente vertido de sustancias químicas disruptoras endocrinas, metales pesados y fármacos en aguas residuales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ankley, G. T., Bennett, R. S., Erickson, R. J., Hoff, D. J., Hornung, M. W., Johnson, R. D., . Villeneuve, D. L. (2010). Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. *Environ Toxicol Chem*, 29(3), 730-741. https://doi.org/10.1002/etc.34

Alewy-Almashhadany, D., Farooq-Rashid, R., Ibrahim-Altaif, K., Hayyas-Mohammed, S., Ismael-Mohammed, H., & Mahdi-Al-Bader, S. (2025). Heavy metal(loid) bioaccumulation in fish and its implications for human health. *Italian Journal of Food Safety, 14*(1). https://doi.org/10.4081/ijfs.2024.12782

Anetor, G. O., Nwobi, N. L., Igharo, G. O., Sonuga, O. O., & Anetor, J. I. (2022). Environmental pollutants and oxidative stress in terrestrial and aquatic organisms: examination of the total picture and implications for human health. *Frontiers in Physiology*, *13*, 931386. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.931386

Backhaus, T., & Faust, M. (2012). Predictive Environmental Risk Assessment of Chemical Mixtures: A Conceptual Framework. *Environmental Science & Technology*, 46(5), 2564-2573. https://doi.org/10.1021/es2034125

Bergman, Å., Heindel, J. J., Jobling, S., Kidd, K., Zoeller, T. R., & Organization, W. H. (2013). State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012: *World Health Organization*.

B-Patisaul, H., E-Fenton, S., & Aylor, D. (2019). Animal Models of Endocrine Disruption. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 32*(3), 283–297. https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.03.011

Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., Alexánder-Agudelo, E., & Cardona-Gallo, S. A. (2016). Estudio de la toxicidad asociada al vertimiento de aguas residuales con la presencia de colorantes y pigmentos en el área metropolitana del Valle de Aburrá. *Revista EIA, 13*(26), 61–74. https://doi.org/10.24050/reia.v13i26.742

Bustos-Obregón, E., & Hartley, R. (2007). Contaminación química ambiental y daño espermatogénico. *Revista Internacional de Andrología, 5*(4), 323–427. https://doi.org/10.1016/S1698-031X(07)74080-3

Caserta, D., Costanzi, F., De Marco, M., Benedetto, L., Matteucci, E., Assorgi, C., Pacilli, M., Besharat, A., Bellati, F., & Ruscito, I. (2021). Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on Endometrial Receptivity and Embryo Implantation: A Systematic Review of 34 Mouse Model Studies. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 18*(13), 6840. https://doi.org/10.3390/ijerph18136840

de Araújo-Ramos, A. T., Passoni, M. T., Romano, M. A., Romano, R. M., & Martino-Andrade, A. J. (2021). Controversies on endocrine and reproductive effects of glyphosate and glyphosate-based herbicides: a mini-review. *Frontiers in Endocrinology*, *12*, 627210. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.627210

DeFur, P. L. (2004). Use and role of invertebrate models in endocrine disruptor research and testing. *ILAR journal*, 45(4), 484-493. https://doi.org/10.1093/ilar.45.4.484

Delfosse, V., Grimaldi, M., Pons, J. L., Boulahtouf, A., Le Maire, A., Cavailles, V., ... & Balaguer, P. (2012). Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(37), 14930-14935. https://doi.org/10.1073/pnas.1203574109

Diamanti-Kandarakis, E., Pierre-Bourguignon, J., Giudice, L., Hauser, R., Prins, G., Soto, A., Zoeller, T., & Gore, A. (2009). Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews, 30*(4), 293–342. https://doi.org/10.1210/er.2009-0002

Ebert, D. (2005). Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in Daphnia. Chapter 2, Introduction to Daphnia Biology. *National Library of Medicine*.

Estrada-Arriaga, E. B., Mijaylova-Nacheva, P., Moeller-Chavez, G., Mantilla-Morales, G., Ramírez-Salinas, N., & Sánchez-Zarza, M. (2013). Presencia y tratamiento de compuestos disruptores endócrinos en aguas residuales de la Ciudad de México empleando un biorreactor con membranas sumergidas. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, *14*(2), 275–284. https://doi.org/10.1016/S1405-7743(13)72242-X.

Fini, J. B., Mével, S. L., Palmier, K., Darras, V. M., Punzon, I., Richardson, S. J., ... & Demeneix, B. A. (2012). Thyroid hormone signaling in the Xenopus laevis embryo is functional and susceptible to endocrine disruption. *Endocrinology*, *153*(10), 5068-5081. https://doi.org/10.1210/en.2012-1463

García-Carrillo, M., Luna-Ortega, G., Gallegos-Robles, M., Preciado-Rangel, P., Cervantes-Vázquez, M., & González-Salas, U. (2020). Impacto de aguas residuales sobre algunas propiedades y acumulación de metales pesados en el suelo. *Terra Latinoamericana*, *38*(4), 907–916. https://doi.org/10.28940/terra.v38i4.556

Gioiosa, L., Palanza, P., Permigiani, S., & Vom-Saal, F. (2015). Risk Evaluation of Endocrine-Disrupting Chemicals: Effects of Developmental Exposure to Low Doses of Bisphenol A on Behavior and Physiology in Mice (*Mus musculus*). *Dose Response, 13*(4). https://doi.org/10.1177/1559325815610760

Gogola-Mruk, J., Hoffmann-Młodzianowska, M., Kamińska, K., & Ptak, A. (2021). Mixtures of persistent organic pollutants increase ovarian granulosa tumor cell line migration and spheroid invasion by upregulating MMP2 expression and activity via IGF1R. *Toxicology*, *452*, 152715. https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152715

Heugens, E. H., Hendriks, A. J., Dekker, T., Straalen, N. M. V., & Admiraal, W. (2001). A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical reviews in toxicology*, *31*(3), 247-284. https://doi.org/10.1080/20014091111695

Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., ... & Teucke, M. (2013). The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, *496*(7446), 498-503. https://doi.org/10.1038/nature12111

Ingaramo, P., Alarcón, R., Munoz-de-Toro, M., & Luque, E. H. (2020). Are glyphosate and glyphosate-based herbicides endocrine disruptors that alter female fertility?. *Molecular and cellular endocrinology*, *518*, 110934. 10.1016/j.mce.2020.110934

Jirova, G., Wittlingerova, Z., Zimova, M., Vlkova, A., Wittlerova, M., Dvorakova, M., & Jirova, D. (2016). Bioindicators of wastewater ecotoxicity. *Neuro Endocrinol Lett*, *37*(Suppl 1), 17-24.

Jourdan, J., Bundschuh, M., Copilaș-Ciocianu, D., Fišer, C., Grabowski, M., Hupało, K., ... & Oehlmann, J. (2023). Cryptic species in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *42*(9), 1889-1914. https://doi.org/10.1002/etc.5696

Jureczko, M., & Przystaś, W. (2024). Toxicity toward freshwater and marine water organisms of the cytostatic drugs bleomycin and vincristine and their binary mixture. *Science of the Total Environment*, 933, 173175. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173175

Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the national academy of sciences*, *104*(21), 8897-8901. https://doi.org/10.1073/pnas.060956810

Kloas, W., Urbatzka, R., Opitz, R., Würtz, S., Behrends, T., Hermelink, B., ... & Lutz, I. (2009). Endocrine disruption in aquatic vertebrates. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1163*(1), 187-200. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04453.x

Lee, B. Y., Choi, B. S., Kim, M. S., Park, J. C., Jeong, C. B., Han, J., & Lee, J. S. (2019). The genome of the freshwater water flea Daphnia magna: A potential use for freshwater molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 210, 69-84. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.02.009

Liu, Z., Zhuan, Q., Zhang, L., Meng, L., Fu, X., & Hou, Y. (2022). Polystyrene microplastics induced female reproductive toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials, 424*(Part C), 127629. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127629

Madden, J. C., Pawar, G., Cronin, M. T. D., Webb, S., Tan, Y.-M., & Paini, A. (2019). In silico resources to assist in the development and evaluation of physiologically-based kinetic models. *Computational Toxicology*, 11, 33-49. https://doi.org/10.1016/j.comtox.2019.03.001

Marlatt, V. L., Bayen, S., Castaneda-Cortès, D., Delbès, G., Grigorova, P., Langlois, V. S., . . . Van Der Kraak, G. (2022). Impacts of endocrine disrupting chemicals on reproduction in wildlife and humans. *Environ Res*, 208, 112584. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112584

Massányi, P., Massányi, M., Madeddu, R., Stawarz, R., & Lukáč, N. (2020). Effects of cadmium, lead, and mercury on the structure and function of reproductive organs. *Toxics*, *8*(4), 94. https://doi.org/10.3390/toxics8040094

Maxi-Maxi, E. (2021). *Propuesta de un Sistema de categorización conductual en ratones de la cepa CD1*. [Tesis de licenciatura, Universidad Católica de Cuenca]. https://dspace.ucacue.edu.ec/server/api/core/bitstreams/20fae9c4-d7c0-4501-aaf7-4e9614e4280e/content

Mayr, A., Klambauer, G., Unterthiner, T., & Hochreiter, S. (2016). DeepTox: toxicity prediction using deep learning. *Frontiers in environmental science*, *3*, 167215. https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00080

Nieuwkoop, P. D., & Faber, J. (1994). *Normal table of Xenopus laevis (Daudin): a systematical and chronological survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis*.

Qin, F., Du, J., Gao, J., Liu, G., Song, Y., Yang, A., ... & Wang, Q. (2020). Bibliometric profile of global microplastics research from 2004 to 2019. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(16), 5639. https://doi.org/10.3390/ijerph17165639

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2009). Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264076303-en.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2012a). Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264185203-en.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2012b). Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264185265-en.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2013). Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264203709-en.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2017). Guidance Document for the Use of Adverse Outcome Pathways in Developing Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA). In (Vol. OECD Series on Testing and Assessment, No. 260). Paris: OECD Publishing.

Patisaul, H. B., Fenton, S. E., & Aylor, D. (2018). Animal models of endocrine disruption. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, *32*(3), 283-297. 10.1016/j.beem.2018.03.011

Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, *6*(2), 147-172. https://doi.org/10.1002/wcms.1240Digital Object Identifier (DOI)

R-Bell, M. (2018). Comparación del desarrollo posnatal de las hormonas gonadales y los comportamientos sociales asociados en ratas, ratones y humanos. *Endocrinology, 159*(7), 2596–2614. https://doi.org/10.1210/en.2018-00220

Rosner, A., Ballarin, L., Barnay-Verdier, S., Borisenko, I., Drago, L., Drobne, D., ... & Cambier, S. (2024). A broad-taxa approach as an important concept in ecotoxicological studies and pollution monitoring. *Biological Reviews*, 99(1), 131-176. https://doi.org/10.1111/brv.13015

Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). The principles of humane experimental technique.

Schmidt, A., Morales-Prieto, D. M., Pastuschek, J., Fröhlich, K., & Markert, U. R. (2015). Only humans have human placentas: molecular differences between mice and humans. *Journal of reproductive immunology*, *108*, 65-71. 10.1016/j.jri.2015.03.001

Sonkar, V., Sasidharan, S. S., Jambu, S. C., Rengan, A. K., Kreft, J. U., Thatikonda, S., ... & Viswanathan, A. (2025). A multi-endpoint approach to ecotoxicological assessment of wastewater polluted rivers using zebrafish. *Environmental Research*, *282*, 121996. https://doi.org/10.1016/j.envres.2025.121996

Tevalcor. (2023). *Problemática de las aguas residuales*. https://tevalcor.com/problematica-aguas-residuales/

Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021a). Daphnia magna model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment*, *763*, 143038. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038

Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021b). Daphnia magna model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of The Total Environment*, 763, 143038. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038

Trujillo-Vázquez, S., Bonilla-González, E., Valencia-Quintana, R., Sánchez-Alarcon, J., López-Durán, R., & Gómez-Olivares, J. (2021). Exposición al plomo: Conocimientos sobre los efectos en ovarios y el impacto a la salud reproductora femenina. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *24*, Article e366. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.366

Van den Bulck, K., Hill, A., Mesens, N., Diekman, H., De Schaepdrijver, L., & Lammens, L. (2011). Zebrafish developmental toxicity assay: A fishy solution to reproductive toxicity screening, or

just a red herring?. *Reproductive Toxicology*, 32(2), 213-219. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.06.119

World Health Organization. (2020). *Water, sanitation, hygiene and health: A primer for health professionals*. https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-WSH-19.149

Zoeller, R. T., Brown, T. R., Doan, L. L., Gore, A. C., Skakkebaek, N. E., Soto, A. M., Vom Saal, F. S. (2012). Endocrine-Disrupting Chemicals and Public Health Protection: A Statement of Principles from The Endocrine Society. *Endocrinology*, 153(9), 4097-4110. https://doi.org/10.1210/en.2012-1422