



Bivalvos, organismos modelo en el biomonitoreo del riesgo ecotoxicológico de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) para los ecosistemas acuáticos

Illgner Ali Eddy Contreras-Almazo^{1,2,*} , Mariela González-Rentería²

(1) Centro de Desarrollo Tecnológico del Cesar (CDT). Valledupar - Cesar, Colombia.

(2) Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, Mexico.

*Autor de correspondencia: I. A. E. Contreras-Almazo [icontrerasalmazo@gmail.com]

> Recibido el 03 de febrero de 2021 - Aceptado el 14 de febrero de 2022

Como citar: Contreras-Almazo, I.A.E., Gonzalez-Renteria, M. 2022. Bivalvos, organismos modelo en el biomonitoreo del riesgo ecotoxicológico de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) para los ecosistemas acuáticos. *Ecosistemas* 31(2): 2167. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2167>

Bivalvos, organismos modelo en el biomonitoreo del riesgo ecotoxicológico de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) para los ecosistemas acuáticos

Resumen: La creciente producción y consumo de productos farmacéuticos es un problema mundial, debido entre otros factores a la automedicación, malas medidas de eliminación en centros hospitalarios, aguas residuales de farmacéuticas, y la excreción animal y humana. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son considerados los fármacos más consumidos a nivel mundial y de libre venta. La falta de normas jurídicas que limiten los rangos de emisión en cuerpos de agua ha sido uno de los principales factores en el aumento de estos contaminantes emergentes (CE) en los ecosistemas acuáticos. Los estudios basados en el monitoreo de estos compuestos farmacéuticos nos permiten comprender todos los aspectos relacionados con el destino, concentración, distribución, efectos y alteraciones fisiológicas que causan en la biota acuática; por tal motivo, es necesario resaltar la importancia de los bivalvos como organismos modelo y bioindicadores. Esta revisión presenta una visión general de los estudios ecotoxicológicos que monitorean AINE, y evalúan las respuestas de algunas especies de bivalvos en programas de biomonitoreo y pruebas de toxicidad. Se ha reportado que los AINE en ambientes acuáticos pueden tener efectos negativos en bivalvos silvestres, además de provocar biomagnificación de los contaminantes. Con este estudio se espera propiciar el interés por la investigación científica en esta área poco explorada y necesaria para la farmacovigilancia y el monitoreo de los ecosistemas acuáticos.

Palabras clave: agua; biomonitoreo; concentraciones; efectos; fármacos

Bivalves, model organisms in the biomonitoring of the ecotoxicological risk of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to aquatic ecosystems

Abstract: The growing production and consumption of pharmaceutical products is a global problem, due to self-medication, poor disposal measures in hospitals, pharmaceutical wastewater, animal, and human excretion, among others. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are considered the most widely used drugs worldwide and over the counter. The lack of legal norms that limit emission ranges in water bodies has been one of the main factors in the increase of these emerging pollutants (EC) in aquatic ecosystems. Studies based on the monitoring of these pharmaceutical compounds allow us to understand all aspects related to fate, concentration, distribution, effects, and physiological alterations that they cause in aquatic biota, for this reason, it is necessary to highlight the importance of bivalves as organisms, model and bioindicators. This review presents an overview of ecotoxicological studies that monitor NSAIDs and evaluates the responses of some species of bivalves in biomonitoring programs and toxicity tests. Negative effects of NSAIDs have been reported in aquatic environments to wild bivalves, in addition to causing biomagnification. With this study, it is expected to promote interest in scientific research in this little-explored area necessary for pharmacovigilance and biomonitoring of aquatic ecosystems.

Keywords: biomonitoring; concentrations; drugs; effects; water

Introducción

Las investigaciones sobre riesgo ecotoxicológico en organismos acuáticos en el mundo, han fijado su mirada sobre la presencia de residuos farmacéuticos y otros elementos de distinto origen y naturaleza química, los cuales hoy en día son considerados como contaminantes emergentes (CE) (Rosenfeld y Feng 2011; Sharma et al. 2019). Esta amenaza, hasta hace poco desconocida, está latente en los ecosistemas acuáticos de todo el mundo (Aus der Beek et al. 2016; Courtier et al. 2019). La presencia de fármacos se origina por los desechos y subproductos industriales, excreciones

humanas y animales, además de los fármacos presentes en la basura doméstica (Boxall et al. 2012). Los fármacos tienen como finalidad ser usados para tratamientos en medicina humana y veterinaria. Sin embargo, el uso inadecuado, automedicación, aguas residuales hospitalarias y de industrias farmacéuticas se combinan con los bajos o nulos niveles de degradación de fármacos en plantas de tratamiento de las aguas residuales (PTAR). Estos compuestos tienen por destino final los ecosistemas acuáticos (Yang et al. 2017) (Fig. 1), lo cual genera diversos impactos negativos sobre la biota acuática y severos problemas ecotoxicológicos (Fent et al. 2006; Mezzelani et al. 2018b).

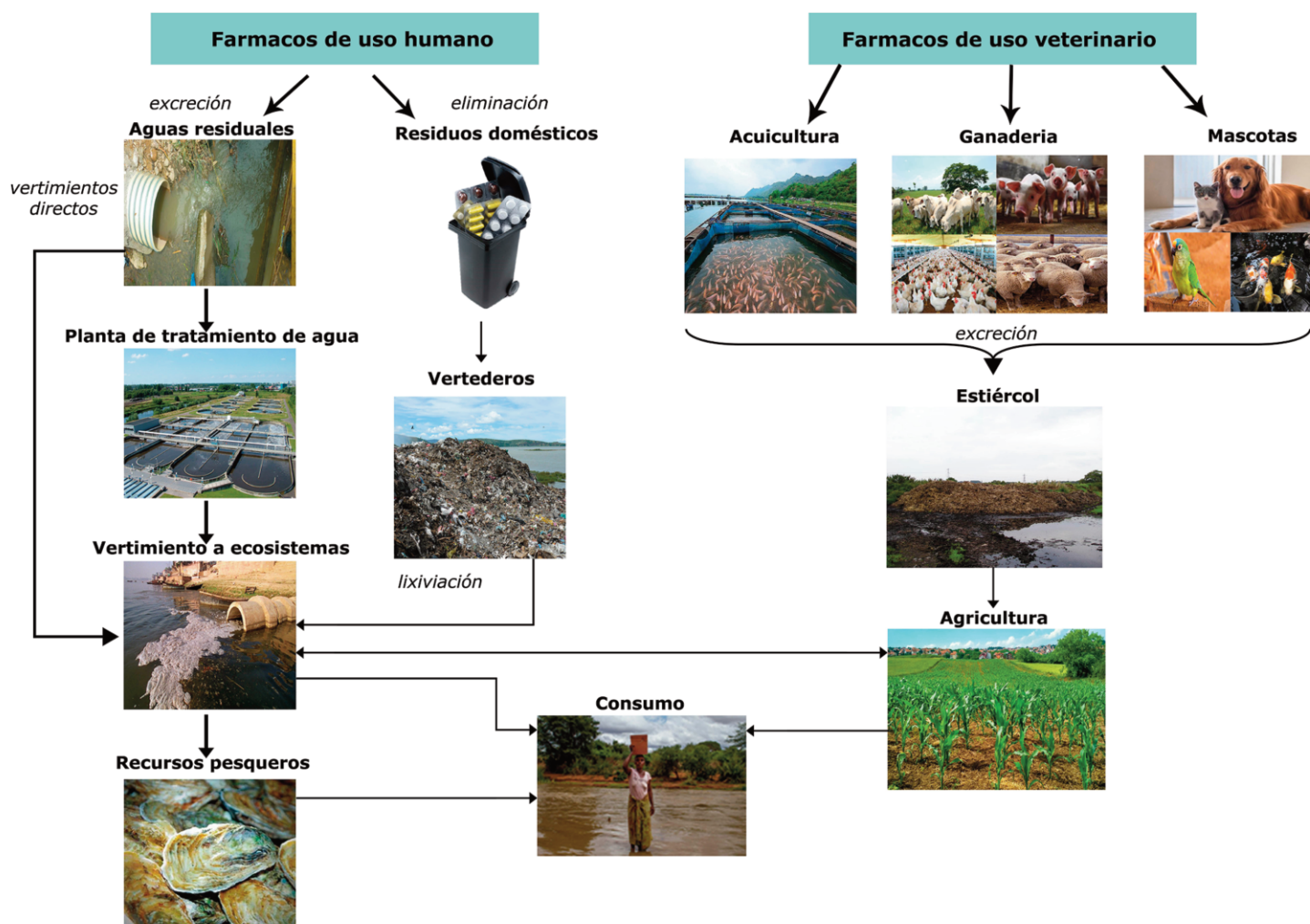


Figura 1. Fuentes de contaminación ambiental por fármacos.

Figure 1. Sources of environmental contamination with drugs.

Debido a la problemática de los compuestos farmacéuticos en el medio ambiente, organizaciones internacionales encabezadas por la Unión Europea (UE) han manifestado su preocupación por la presencia y recurrencia de algunos fármacos en cuerpos de agua. Se ha estimado la presencia de 3000 compuestos farmacéuticos usados como terapéuticos en humanos, siendo los más recurrentes: antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE), anticonceptivos, β -bloqueantes, antidepresivos. Debido a esto, se han creado políticas ambientales para implementar medidas preventivas y correctivas (Directiva 2013/39/UE 2013). Los AINE representan el 15% de los fármacos reportados en PTAR, aguas superficiales, aguas subterráneas y ecosistemas acuáticos de todo el mundo. De acuerdo con (Courtier et al. 2019) el diclofenaco (DCF), ibuprofeno (IBU), paracetamol (PAR) y naproxeno (NAX) hacen parte de los 16 fármacos con mayor recurrencia en PTAR.

Para el caso de la Unión Europea, el mayor porcentaje de remoción de DCF en PTAR ha sido del 75% (Yang et al. 2017), lo preocupante de estas cifras es pensar ¿Cuál es la capacidad de remoción de fármacos en las PTAR de los países en vías de desarrollo? Este cuestionamiento deriva en el hecho que estos países presentan limitantes técnicas y tecnológicas para tratar aguas residuales, y no se tiene en cuenta la remoción de fármacos. Las PTAR no están diseñadas para eliminar este tipo de contaminantes (Peña-Guzmán et al. 2019). La preocupación por las dificultades de eliminación de estos compuestos se ha extendido a la Organización de las Naciones Unidas, en el que incluyeron en su sexto objetivo de desarrollo sustentable, promover la cooperación entre países en vías de desarrollo para mejorar el manejo y

aprovechamiento de los recursos hídricos. Esto también incluye mejorar tecnológicamente las PTAR para la remoción de contaminantes, incluidos los fármacos (Clark y Wu 2016).

Los AINE en medicina humana tienen como función inhibir la enzima ciclooxigenasa COX-1 y COX-2, encargadas de la síntesis de las prostaglandinas que actúan como mediadores de la inflamación a nivel periférico y central; sin embargo, algunas evaluaciones realizadas en pacientes expuestos a dosis prolongadas de AINE han evidenciado un aumento del riesgo cardiovascular, debido a un bloqueo permanente de la COX-1 y 2, lo cual puede interferir con funciones fisiológicas críticas, como la reproducción, el transporte de agua, la osmorregulación y la defensa inmune en organismos no objetivo (Rao y Knaus 1997).

En recientes estudios se ha reportado la presencia de CE, no solo en países desarrollados o altamente industrializados, sino también en países en vías de desarrollo. En este sentido, Aus der Beek et al. (2016) hicieron una recopilación de estudios entre los años 1987 y 2013, reportando en 71 países más de 631 sustancias farmacéuticas. Entre los fármacos pertenecientes al grupo de los AINE, el DCF fue el compuesto más frecuente en cuerpos de agua en 51 de los 71 países estudiados.

De acuerdo con reportes realizados por Peña-Guzmán et al. (2019) en el caso particular de América Latina, no se han realizado estudios entorno a la evaluación de compuestos farmacéuticos y sus efectos ecotoxicológicos sobre los organismos acuáticos. Añadido a esto, países en desarrollo carecen de las herramientas tecnológicas y políticas ambientales que regulen los límites establecidos para considerar un fármaco como contaminante. Como consecuencia de

esto, algunos estudios han reportado concentraciones de 2.28 µg/L de DCF en aguas superficiales en Sao Paulo, Brasil, y en ambientes marinos se ha reportado la presencia de 15 µg/L DCF (Mezzelani et al. 2018a; Peña-Guzmán et al. 2019).

En otros estudios realizados en PTAR y aguas superficiales en cuerpos de agua de Estados Unidos se han reportado concentraciones de 1 µg/L DCF (Burket et al. 2018; Ikkere et al. 2018). En los ambientes marinos costeros se han reportado concentraciones de AINE casi con los mismos rangos reportados en ambientes de agua dulce (Mezzelani et al. 2016b). En el caso de los estuarios los AINE también representan riesgo ecotoxicológico para los invertebrados presentes en estos ecosistemas. En un estudio realizado en el estuario río Arade de Portugal, se analizó la recurrencia de fármacos en aguas superficiales, y se reportó la presencia de IBU (9 – 28 ng/L), DCF (4 - 31 ng/L), NAX (7 – 17 ng/L) y PAR (19 - 88 ng/L) (Gonzalez-Rey et al. 2015). Según los criterios de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), el fármaco que supere el umbral de 10 ng/L en aguas superficiales es considerado un contaminante con potencial riesgo ambiental (Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 2018).

Aunque algunas de las concentraciones reportadas de AINE en los ecosistemas acuáticos sean consideradas bajas, se debe tener en cuenta que la farmacocinética de estos compuestos está diseñada para ser metabolizada por humanos o animales mamíferos, por lo tanto, cuando los AINE entran en contacto con organismos no objetivo pueden representar un problema grave. Los macroinvertebrados como bivalvos, poliquetos y crustáceos han sido los organismos más afectados, debido a su estilo de vida y estrategias de alimentación. Esto ha provocado que los organismos bioacumulen mayor cantidad de fármacos en su cuerpo en comparación con otros individuos (McEneff et al. 2013; Du et al. 2014). Sumado a esto, los bivalvos son organismos con un alto valor socio - económico, por sus índices de captura y consumo alimentario. Actualmente se considera que la ingestión de bivalvos contaminados es un riesgo para la salud humana (Almeida et al. 2020).

En este sentido, los bivalvos han sido utilizados como especies bioindicadoras en programas de monitoreo de calidad ambiental y en ensayos toxicológicos, gracias a sus características ecológicas, estilo de vida sedentaria y su potencial para evaluar los efectos toxicológicos por CE (Zhou et al. 2008; Páez-Osuna y Osuna-Martínez 2011; Świacka et al. 2019a).

Los estudios toxicológicos que se han realizado con bivalvos de origen marino y de agua dulce, han demostrado que los AINE como DCF, PAR y IBU inciden negativamente sobre ellos, debido a los compuestos activos y las propiedades físico - químicas de estos, ya que provocan alteraciones en procesos a nivel celular y subcelular (Mezzelani et al. 2016a; Almeida et al. 2020). De este modo, también existe evidencia de que la exposición crónica a AINE en bajas concentraciones provoca más alteraciones que la exposición a corto plazo en bivalvos, esto demuestra la complejidad del problema de los fármacos sobre la fisiología de los organismos acuáticos silvestres (Almeida et al. 2020), especialmente en individuos bentónicos que habitan en ríos y costas con influencia de descargas de aguas residuales provenientes de grandes ciudades (McEneff et al. 2013).

Existen diferentes métodos para determinar el riesgo ecotoxicológico en bivalvos, uno de ellos es el monitoreo en el hábitat donde se evalúan sus condiciones biológicas, ya sea en ríos con vertidos urbanos, playas con alta influencia antrópica, entre otros, y también en laboratorios donde son expuestos a diferentes fármacos para evaluar los efectos toxicológicos (Mezzelani et al. 2018a; Burket et al. 2019).

La presente revisión tiene como finalidad ampliar el panorama sobre la contaminación por fármacos AINE en ecosistemas acuáticos. Además, se pretende resaltar el uso de los bivalvos como modelo en la evaluación del riesgo ecotoxicológico, lo que permitirá propiciar el interés en la investigación científica en el área de contaminación acuática por CE.

Material y métodos

Se consultaron las bases de datos electrónicas Science Direct, Springer y Wiley con el objetivo de identificar estudios de los últimos 10 años (2010 - 2020) en que se evaluaron los efectos tóxicos, ecotoxicológicos, alteraciones fisiológicas, genéticas y reproductivas en los invertebrados bivalvos expuestos a AINE, tanto de ecosistemas acuáticos continentales como marinos. Dentro de los resultados obtenidos en cada base, se tuvieron en cuenta artículos científicos y revisiones, descartando libros, capítulos de libros y notas científicas. Las palabras claves utilizadas en las búsquedas fueron: Bivalvos, fármacos, AINE, ecosistemas, toxicología, ecotoxicología, estrés oxidativo y daño genético, en español e inglés. Se recopiló 133 artículos de los cuales se descartaron 50 por duplicidad, posterior a una revisión del título y resumen fueron descartados 63 por no cumplir con los criterios de selección, solo 20 artículos cumplieron con los criterios de inclusión. Se procedió a la extracción de datos, análisis y presentación de resultados.

Importancia del biomonitoreo de AINE en ecosistemas acuáticos mediante el uso de bivalvos como bioindicadores

Como se ha mencionado, los AINE son un grupo de fármacos con más frecuencia y ocurrencia en los ecosistemas acuáticos debido a su alto consumo, baja capacidad de degradación, alta persistencia, bioacumulación, alta solubilidad y baja volatilidad de los AINE (Ericson et al. 2010; Aus der Beek et al. 2016). Numerosos estudios han reportado la presencia de AINE en ecosistemas acuáticos y han puesto especial atención debido a las diferentes alteraciones que estos generan en organismos acuáticos no objetivo (De Solla et al. 2016).

Para el diagnóstico o evaluación rápida se utilizan los bioindicadores. Las evaluaciones son puntuales en el tiempo (una única fecha de muestreo) y usualmente se basa en la comparación entre sitios (p.ej. río-arriba y río-abajo de un foco de contaminación). Por otro lado, existe el biomonitoreo, el cual se basa en muestreos periódicos (p.ej. semestrales), para implementar un control de calidad o un programa de vigilancia a través del tiempo (usualmente años) (Springer 2010).

El primer investigador en realizar biomonitoreo de contaminantes utilizando bivalvos fue el profesor Edward D. Goldberg en Estados Unidos, a través del programa "Mussel Watch". El objetivo del biomonitoreo consistió en recopilar información sobre la contaminación costera por metales pesados, hidrocarburos y organoclorados; colectando mejillones y ostras en 100 puntos de muestreo durante tres años (Goldberg 1975; Farrington et al. 2016).

En los últimos años, los bivalvos han sido considerados los organismos ideales para el monitoreo de ecosistemas acuáticos con alta influencia antrópica (Świacka et al. 2019a; Almeida et al. 2020), ya que pueden mostrar respuestas como modificaciones en el comportamiento, fisiología, tolerancia o intolerancia a los contaminantes, entre otros (Baquero-Cárdenas et al. 2007). Estos, cumplen con las características descritas para un organismo indicador, tales como: tener la capacidad de bioacumular contaminantes, tener forma de vida sésil o sedentaria, amplia distribución, alta abundancia, fácil muestreo y manipulación, tolerante a las variaciones ambientales y climatológicas, presentar hábitos de alimentación simples, entre otros (Páez-Osuna y Osuna-Martínez 2011). Esto permite un mejor diagnóstico de la contaminación ambiental (Świacka et al. 2019a).

En este sentido, el mejillón *Mytilus galloprovincialis* es la especie de aguas marinas más utilizada en estudios de biomonitoreo, contaminación y bioensayos, exponiéndolos a diferentes concentraciones de fármacos para caracterizar los efectos fisiológicos y enzimáticos en el organismo. *Corbicula fluminea* es una especie de amplia distribución, también considerada especie invasora en varios países. Es muy utilizada para monitorear las efluentes o zonas de vertimiento de PTAR y contaminación en ecosistemas de agua dulce (Ilarri y Sousa 2012; Burket et al. 2019).

Bioacumulación de fármacos en bivalvos expuestos a AINE en laboratorio

Los invertebrados acuáticos están expuestos a descargas de contaminantes en sus hábitats naturales. Algunos como los bivalvos son aprovechados económicamente, son cultivados o capturados directamente en su entorno natural. La estrategia de alimentación por filtración permite que los bivalvos sean capaces de captar partículas orgánicas y plancton presente en la columna de agua, al igual que cualquier tipo de contaminante que se encuentre en el medio; entre estos, los fármacos. Estos se concentran en tejidos, especialmente en branquias, glándulas digestivas y músculo aductor (McEneff et al. 2014; Capolupo et al. 2017).

Los estudios de bioconcentración de productos farmacéuticos con bivalvos en el medio ambiente, presentan limitaciones, ya que es complicado conocer la variabilidad temporal y espacial de los fármacos en el ambiente con el uso exclusivo de bivalvos. Para ampliar la información, es necesario analizar muestras de agua y sedimentos para proporcionar información concreta, que permita biomonitorizar en escala espacio - temporal y estacional cada punto de muestreo. Lo relevante del uso de mejillones, almejas y ostras, es que estos pueden bioconcentrar en mayor medida los fármacos en tejidos que en muestras de agua y sedimento. Por esto, es más probable detectar CE en tejidos que en agua (Capolupo et al. 2017; Parolini 2020).

Los bivalvos son las especies más empleadas en el estudio de acumulación de metales pesados y compuestos derivados de hidrocarburos, ya que diferentes estudios realizados con mejillones, almejas y ostiones encabezan la lista de modelos experimentales para el diagnóstico de contaminación emergente, tanto en ecosistemas marinos como en agua dulce (Ilarri y Sousa 2014; Świacka et al. 2019a).

Los diversos estudios de bioacumulación de AINE que se han realizado incluyen la evaluación mediante diferentes especies de bivalvos *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus trossulus*, *Ruditapes philippinarum* y *Corbicula fluminea* (Campillo et al. 2015; Burket et al. 2019; Świacka et al. 2019b). Los residuos de AINE en invertebrados son relativamente altos y más frecuentes en comparación con otra clase de fármacos. El IBU, DCF y PAR han sido los de elevada recurrencia en aguas superficiales y con las mayores tasas de bioacumulación (Bueno et al. 2012; Ebele et al. 2017; Parolini 2020). Algunas de estas evaluaciones se hacen mediante pruebas de toxicidad y determinación del factor de bioacumulación sobre los modelos experimentales, algunos de los hallazgos más relevantes se encuentran integrados en la **Tabla 1**.

Las concentraciones de AINE reportados en tejidos de invertebrados están básicamente centradas en el uso de bivalvos del género *Mytilus*, siendo modelos experimentales para estudios *in vivo* de los riesgos biológicos y ecológicos que pueden ocasionar los AINE en ecosistemas (Świacka et al. 2019a). Los resultados mostrados en la **Tabla 1** indican el potencial ecotoxicológico que poseen el DCF y el IBU cuando entran en contacto con estos organismos, ya que presentaron mayor frecuencia de bioacumulación en bivalvos.

Ericson et al. (2010) reportaron que al exponer a *M. trossulus* durante ocho días a concentraciones de 1 µg/L de DCF bioacumuló 180 ng/g peso fresco (PF), a la concentración 10 000 µg/L de DCF acumuló en sus tejidos 82 000 ng/g PF. En estudio realizado por Courant et al. (2018) en el que utilizó *M. galloprovincialis* como modelo experimental y fue expuesto a concentraciones 1 y 100 µg/L de DCF, la acumulación de esta droga fue directamente proporcional a la dosis de exposición (1 µg/L; 6.5 ng/g PF); (100 µg/L: 520 ng/g PF).

Otro tipo de investigaciones como la de Costa et al. (2020) determinó los efectos del DCF en un eventual cambio climático. Se evaluó el efecto del DCF en dos especies del género *Ruditapes*; *R. philippinarum* y *R. decussatus*, las cuales fueron expuestas a 1 µg/L de DCF a diferentes temperaturas (17 °C y 21°C), dicho ensayo dio como resultado que a 17 °C los organismos presentaron

mayor acumulación (*R. philippinarum* 22 ng/g PF y *R. decussatus* 10 ng/g PF), y a 21°C los organismos acumularon menos DCF (*R. philippinarum* 15 ng/g PF y *R. decussatus* 6 ng/g PF), se determinó que a mayor temperatura, menor fue la bioacumulación de DCF; estos resultados sugieren que las almejas pueden desarrollar estrategias que puedan disminuir la bioacumulación de este fármaco. Uno de los mecanismos descritos para disminuir la bioacumulación está asociada con la reducción de la tasa de respiración y filtración del organismo como se observó en este estudio.

Freitas et al. (2019) describió un efecto similar en la respuesta que tendría *M. galloprovincialis* al ser expuesto a 1 µg/L DCF ante un eventual cambio de temperatura. Freitas et al. (2019) determinó la capacidad que tiene *M. galloprovincialis* en bioacumular DCF ante cambios de salinidad a concentraciones de 30 (control), 25 y 35 UPS expuestos a 1 µg/L de DCF durante 28 días, resultó que a 35 UPS (11.5 ng/g PF) presentó la mayor acumulación y el tratamiento con salinidad control 30 UPS acumuló (7.4 ng/g PF). En la misma especie de mejillón Bonnefille et al. (2017) mostró que a 100 µg/L de DCF, *M. galloprovincialis* concentró 502 ng/g PF y 1836 ng/g a 600 µg/L DCF. Estos autores reportaron los metabolitos derivados de la metabolización de compuesto original y se obtuvieron 13 metabolitos de DCF. Estos estudios proporcionaron información sobre los procesos fisiológicos que se activan en el cuerpo de los bivalvos como respuesta a las alteraciones ocasionada por los AINE.

En un estudio comparativo sobre el factor de bioacumulación de (Mezzelani et al. 2016b) se sometieron mejillones de la especie *M. galloprovincialis* diferentes AINE (IBU, DCF y PAR) a 25 µg/L; lo que determina que el PAR como en otros estudios no presentó bioacumulación en tejido, pero DCF acumuló (3.7 ng/g) 10 veces más que para el IBU (0.4 ng/g), concluyendo que el DCF presenta mayor potencial ecotoxicológico que el IBU y el PAR, resaltando el riesgo que representa este fármaco en medios acuáticos. Otro estudio que enfatiza el potencial ecotoxicológico de DCF es el realizado por Świacka et al. (2019b) en su investigación con *M. trossulus*, donde los mejillones se expusieron a diclofenaco a una concentración de 133.33 µg/L durante cinco días, tras una fase de depuración de cinco días. La concentración más alta de diclofenaco 7.79 µg/g peso seco (PS) se reportó al día tres en tejidos. La concentración de diclofenaco en los tejidos disminuyó rápidamente a 0.86 µg/g PS el día cinco. Después de cinco días de depuración, la concentración de diclofenaco fue de 0.21 µg/g PS. Se encontraron metabolitos de diclofenaco hidroxilado tanto en tejidos de mejillones como en agua. Este estudio muestra que *M. trossulus* tiene el potencial de acumular diclofenaco y metabolizarlo a 4-OH y 5-OH diclofenaco, los cuales son los principales metabolitos excretados por los vertebrados.

En otros estudios con el ostión *C. gigas* expuesto a 1 y 100 µg/L de IBU durante siete días, demostraron un aumento proporcional entre concentración y bioacumulación en tejido, considerando que la concentración de exposición 100 µg/L *C. gigas* presentó bioacumulación 100 veces mayor de IBU a la concentración 100 µg/L (29.4 ng/g PF) que a 1 µg/L (0.22 ng/g PF) (Serrano et al. 2015). La cocción doméstica al vapor dio lugar a un aumento de los residuos farmacéuticos en el tejido de mejillón, datos reportados por McEneff et al. (2013) en su investigación. La cual se determinó que el tejido crudo de *Mytilus* spp. al ser expuesto a 1000 µg/L de DCF y ácido mefenámico (MA) bioacumuló 3250 ng/g PF de DCF y 4000 ng/g PF. Al someter estos tejidos a cocción doméstica por vapor dio lugar a un aumento de los residuos farmacéuticos, DCF aumentó a 9400 ng/g PF y MA 22 400 ng/g PF, señalando la relevancia ecotoxicológica que presentan los bivalvos expuestos a diferentes contaminantes, y estos se potencializan al momento de la cocción. Teniendo en cuenta estos resultados, es importante conocer cuáles son los cambios que sufren los tejidos contaminados de bivalvos y de otras especies de interés comercial al pasar por un proceso de cocción, debido a que existe el riesgo potencial de exposición de los seres humanos a productos farmacéuticos, metales pesados, entre otros CE, a través de la cadena alimentaria.

Tabla 1. Concentración de AINE en tejido de bivalvos expuestos en condiciones de laboratorio reportados en la bibliografía.**Table 1.** Concentration of NSAIDs in bivalve tissue exposed under laboratory conditions reported in the bibliography.

Fármaco	Concentración de exposición (µg/L)	Días de exposición (d)	Especie	Concentración en tejido (ng/g PF) *	Análisis instrumental	Referencia
DCF	1	7 d	<i>R. philippinarum</i> <i>R. decussatus</i>	22 10	Cromatografía líquida de alta resolución ultravioleta (HPLC-UV)	Costa et al. 2020
DCF	1	28 d	<i>M. galloprovincialis</i>	7.1	Cromatografía líquida de alta resolución ultravioleta (HPLC-UV)	Freitas et al. 2019
DCF	1	28 d	<i>M. galloprovincialis</i>	9.7	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Freitas et al. 2019
DCF	133	5 d	<i>M. trossulus</i>	555 (1 d); 1948 (3 d); 215 (5 d)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Świacka et al. 2019b
DCF	1; 100	3 d	<i>M. galloprovincialis</i>	6.5 (1.0 µg/L); 520 (100 µg/L)	Cromatografía líquida (LC) combinada con espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)	Courant et al. 2018
DCF IBU	2.5	60 d	<i>M. galloprovincialis</i>	0.56 (DCF) 11.3 (IBU)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Mezzelani et al. 2018a
DCF	100; 600	7 d	<i>M. galloprovincialis</i>	502 (100 µg/L); 1.836 (600 µg/L)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Bonnefille et al. 2017
DCF IBU PAR	25	14 d	<i>M. galloprovincialis</i>	3.7 (DCF) 0.4 (IBU) ND (PAR)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Mezzelani et al. 2016b
DCF IBU PAR	0.5	14 d	<i>M. galloprovincialis</i>	1.19 (DCF) ND (IBU) ND (PAR)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Mezzelani et al. 2016a
IBU	1; 100	7 d	<i>Crasostrea gigas</i>	0.22 (1.0 µg/L); 29.4 (100 µg/L)	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Serrano et al. 2015
DCF MA	1000	4 d	<i>Mytilus</i> spp.	3250 (DCF) 4000 (MA)	Reversed-phase: Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa / (RP-HPLC)	McEneff et al. 2013
DCF IBU	1; 1.000 10 000	21 d	<i>M. trossulus</i>	180 (1.0 µg/L DCF); 82 000 (10 000 µg/L DCF) NC IBU	Cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas (LC-MS)	Ericson et al. 2010
IBU	0.206; 2.06; 20.6; 206	7 d	<i>Dreissena polymorpha</i>	23.75(0.206 µg/L); 46 025 (2.06 µg/L); 99 725 (20.6 µg/L); 1183.55 (206 µg/L)	Cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas (LC – MS)	Contardo-Jara et al. 2011

Claves: (DCF) Diclofenaco; (IBU) Ibuprofeno; (PAR) Paracetamol; (MA) Mefenamic acid; (PF) peso fresco; (NC) no cuantificado; (ND) no detectado.

Bioacumulación de fármacos en bivalvos expuestos a AINE en campo

Los estudios sobre bioacumulación de CE en organismos acuáticos en sus entornos naturales han aumentado en la última década (Boxall et al. 2012; Stuart et al. 2012; Ebele et al. 2017; Sharma et al. 2019). La mayor parte de los estudios de bioacumulación en tejidos contaminados se han realizado en productos pesqueros, considerando su alto valor comercial a nivel mundial (Du et al. 2014; Burket et al. 2018). En el caso de los peces, son organismos de constante desplazamiento debido a la búsqueda de alimentos, hábitos migratorios y reproductivos, lo que dificulta conocer el tiempo y lugar de donde captaron los contaminantes o qué organismo dentro de su dieta natural está biomagnificando el contaminante bioacumulado en su tejido (Du et al. 2014). Sin embargo, los bivalvos, por sus características biológicas y ecológicas permiten biomonitorizar ecosistemas y determinar contaminación local con mayor facilidad (Capolupo et al. 2017). En la **Tabla 2** se pueden apreciar algunos de los principales estudios que refieren presencia de AINE en ecosistemas acuáticos.

Du et al. (2014) examinaron la transferencia trófica y bioacumulación de productos farmacéuticos en invertebrados presentes en la zona de influencia de descargas urbanas en el río Brazos, Texas. Entre los invertebrados capturados y analizados, se encuentran tres bivalvos de agua dulce (*C. fluminea*, *U. tetralasmus* y *U. imbecilis*). Estas presentaron diferentes grados de bioacumulación, la especie con mayor concentración de DCF fue *C. fluminea* (19 ng/g PF), seguido de *U. tetralasmus* (11 ng/g PF) y *U. imbecilis* con (3.7 ng/g PF) de DCF bioacumulado en sus tejidos. La misma metodología fue realizada por Ikkere et al. (2018) colectaron bivalvos de varios cuerpos de agua en Letonia. Esto proporcionó amplios resultados sobre la presencia y concentración de fármacos

considerados CE en las diferentes zonas de estudio. De los nueve AINE a detectar, solo se reportó la presencia de IBU (109 ng/g PF), con concentraciones entre 0.52 – 109 ng/g PF en tejidos de los mejillones. Cerca del 50% de los individuos colectados en los cuerpos de agua del país presentaron bioacumulación de IBU (**Tabla 2**). El 83% de las muestras excedieron los límites establecidos por la Directiva 2013/39 / UE. El IBU fue el AINE con mayor recurrencia en este estudio y los resultados observados fueron significativamente superiores a los detectados por otros autores (Ericson et al. 2010; Mezzelani et al. 2016b).

Los estudios de contaminación por fármacos son comúnmente realizados en zonas de desagüe de las PTAR, pero los organismos marinos también están expuestos a la contaminación por compuestos farmacéuticos, tal como reporta Caban et al. (2016) en su investigación en el golfo Dansk, Polonia. En dicho estudio se encontró bioconcentración de PAR (80 ng/g PF) y FLB (210 ng/g PF) en tejidos de *M. trossulus*. A diferencia de Mezzelani et al. (2016b) que no reportó presencia de PAR en tejidos de *M. galloprovincialis* en la zona turística de la bahía Portonovo, Italia, pero sí reportó la presencia de DCF (4 ng/g PF) e IBU (2.3 ng/g PF) (**Tabla 2**).

El biomonitorio y determinación de la contaminación de ecosistemas acuáticos mediante la utilización de bivalvos es cada vez más usado en ecotoxicología (Dodder et al. 2014). En campo, esta técnica busca colocar en jaulas los modelos experimentales (bivalvos) por un tiempo determinado en áreas con alta influencia antrópica o zonas de descargas domésticas o industriales. Una vez finalizado el tiempo de exposición se analizan los tejidos y determina la presencia de xenobióticos (metales pesados, fármacos, hidrocarburos, entre otros). La cuantificación de estos compuestos se realiza mediante las técnicas de espectroscopia de absorción atómica y cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), siendo

Tabla 2. Concentración de AINE en tejido de bivalvos expuestos y colectados en ecosistemas contaminados.

Table 2. Concentration of NSAIDs in exposed and collected bivalve tissue in contaminated ecosystems.

Especie	Día de exposición (d)	Localización	Droga	Concentración en tejido (ng/g PF)	Enjaulado/Silvestre	Referencia
<i>Corbicula fluminea</i>			DCF	19	Silvestre	
<i>Unio meris tetralasmus</i>		Rio Brazos - Texas, USA	DCF	11	Silvestre	Du et al. 2014
<i>Utterbackia imbecilis</i>			DCF	3.75	Silvestre	
<i>Lasmigona costata</i>	28 d	Río Grand - Michigan, USA	NAX	0.7	Enjaulado	De Solla et al. 2016
<i>C. fluminea</i>	42 d	Arroyo Pecan (Denton County), Texas, USA	PAR	9.5 (5 m) 7.5 (643 m) 7 (1762 m)	Enjaulado	Burket et al. 2019
<i>Mytilus galloprovincialis</i>		Bahía Portonovo (Mar Adriático), Italia	PAR	ND	Silvestre	Mezzelani et al. 2016b
			DCF	4		
			IBU	2.3		
			Ketoprofen	ND		
			Nimesulide	1.6		
<i>Unio tumidus</i> , <i>U. pictorum</i> , <i>Anodonta anatina</i> , <i>A. cygnea</i> , <i>Dreissena polymorpha</i> ,		Letonia	IBU	109	Silvestre	Ikkere et al. 2018
<i>M. trossulus</i>		Golfo de Dansk, Polonia	PAR	80	Silvestre	Caban et al. 2016
			FLB	210		
<i>M. galloprovincialis</i>	28 d	Laguna costera Pialassa Piomboni, Ravenna, Italia	DCF	4.6	Enjaulado	Capolupo et al. 2017

Claves: (DCF) Diclofenaco; (FLB) Flurbiprofeno; (IBU) Ibuprofeno; (NAX) Naproxeno; (PAR) Paracetamol; (PF) peso fresco; (NC) no cuantificado; (ND) no detectado.

esta última la más utilizada, que consiste en la separación de iones y compuestos químicos para determinar bioacumulación (Trujillo et al. 2009). El biomonitorio permite evaluar el potencial riesgo ecotoxicológico de los CE, así como lo menciona Ericson et al. (2010) quienes han estudiado los impactos ecotoxicológicos y la bioacumulación del IBU y DCF en *Mytilus edulis trossulus* del mar Báltico, esta investigación mostró la capacidad que tienen los mejillones de captar los fármacos, afectando negativamente su salud, especialmente en altas concentraciones. Los cambios y efectos que los AINE ejercen en las funciones fisiológicas de los bivalvos demostraron la importancia de realizar monitoreos constantes sobre los organismos acuáticos. El mar Báltico es susceptible a las alteraciones debido a cambios físico-químicos que sufre durante las diferentes estaciones climáticas anuales y a la liberación continua de CE. Esto genera gran preocupación, principalmente porque estas sustancias se acumulan en tejidos de los recursos pesqueros que son altamente consumidos en esta zona.

En otro estudio, De Solla et al. (2016) en su investigación. Se enjaularon mejillones *Lasmigona costata* durante cuatro semanas a 500 m de distancia de la zona de vertido en diferentes PTAR, ubicadas en el río Grande, Michigan; se detectaron 43 tipos de compuestos acumulados en los mejillones, de los cuales reportó la presencia de NAX (0.7 ng/g PF). También Capolupo et al. (2017) en su estudio en una zona industrial ubicado cerca de una laguna costera, en Revena, Italia- enjaularon cinco mejillones *M. galloprovincialis* por punto de muestreo para monitorear la presencia de hidrocarburos aromáticos, metales pesados y fármacos. Durante el tiempo de exposición los mejillones bioacumularon cantidades de 2.1 a 4.6 ng/g de DCF, de los siete fármacos objetivos en esta investigación, el DCF fue el único presente en tejidos de *M. galloprovincialis*.

Efectos inmunitarios y estrés oxidativo inducidos por AINE en bivalvos

Los AINES generan efectos en el desarrollo embrionario en bivalvos, tal como lo evidencia (Munari et al. (2016), las larvas de la almeja *R. philippinarum* expuestas a DCF (0.5 µg/L durante 9 h) mostraron una mortalidad del 62% y efectos negativos en las valvas, estos resultados también concuerdan con el estudio realizado por Fabbri et al. (2014) sobre el mejillón *M. galloprovincialis* donde se evidencia que el DCF afectó significativamente el desarrollo larvario desde la concentración más baja probada 0.01 µg/L, la cual indujo una disminución significativa en el desarrollo larvario del mejillón mostrando altas tasas de mortalidad y malformaciones de las valvas; en el caso del IBU también mostro pequeñas alteraciones en el desarrollo larvario solo en las concentraciones más altas 100 y 1000 µg/L.

En organismos adultos la exposición a los AINE produce alteraciones en la modulación de los parámetros inmunitarios como es el caso de *R. philippinarum* (Ahmad et al. 2018; Munari et al. 2018, 2019). Es decir, la exposición a DCF (0.05 y 0.50 mg/L) afectó de manera general la forma en que los hemocitos de *R. philippinarum* responden inmunológicamente ante patógenos (Munari et al. 2018, 2019); mientras que en el estudio de Aguirre-Martínez et al. (2013) el IBU (0.1- 50 µg/L) fue responsable de la alteración de los parámetros inmunológicos de la almeja (*R. philippinarum*), incluso en concentraciones ambientales, como lo revela la disminución de estabilidad de la membrana lisosomal de los hemocitos, lo cual es dependiente de la concentración y el tiempo. Por otro lado, en la misma especie de almeja *R. philippinarum*, los efectos significativos sobre la inmunotoxicidad (evaluados como el recuento total de hemocitos, la disminución de la actividad pinocítica, la proliferación de hemocitos y los aumentos de la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa solo fueron significativos en concentraciones que no fueron ambientalmente realistas (> 500 µg/L) (Matozzo et al. 2012).

El estrés oxidativo es uno de los principales biomarcadores que se activan ante la presencia de AINE, diferentes autores evidencian una inducción del estrés oxidativo y neurotoxicidad desde las

primeras 24 h de exposición. La exposición induce cambios en las respuestas bioquímicas de los bivalvos, esto prueba el papel nocivo de los productos farmacéuticos y da lugar a efectos negativos, tales como cambios en las actividades enzimáticas, niveles de peroxidación lipídica y metalotioneína, relacionados con la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), especialmente después de una exposición a corto plazo (Correia et al. 2016; Lee et al. 2017; Carella et al. 2018; Trombini et al. 2019; Barbosa et al. 2020).

El estudio anteriormente referido, Gonzalez-Rey y Bebianno (2011, 2012) también investigaron los impactos del IBU sobre el sistema antioxidante y endocrino de los mejillones *M. galloprovincialis* expuestos durante 14 días a las concentraciones ambientales en la que el fármaco fue reportado en estudios de campo (250 ng/L). El IBU provocó fluctuaciones significativas de varios biomarcadores de estrés oxidativo en los mejillones, aumentó la actividad de la enzima superóxido dismutasa, una reducción de las actividades de las enzimas antioxidantes y de desintoxicación (catalasa, glutatión reductasa y glutatión transferasa) y un aumento de los niveles de peroxidación lipídica.

En la investigación realizada por Milan et al. (2013) reportan los efectos en cambios en la transcripción de múltiples genes involucrados en la biotransformación y metabolismo, tales como las vías de señalización del receptor peroxisomal proliferator-activated (PPAR), las cuales se regularon transcripcionalmente en respuesta a la exposición a IBU: estos codifican la expresión de acetil-coenzima A aciltransferasa 1 (ACAA1), fosfoenolpiruvato carboxiquinasa 1 (PCK1) y estearoil-CoA desaturasa (SCD), donde SCD está estrechamente relacionada con la expresión de gen *PPARγ*, en humanos es una enzima clave en el metabolismo de lípidos y ácidos grasos.

De acuerdo con la investigación de Contardo-Jara et al. (2011) la exposición de mejillones a concentraciones bajas y continuas de IBU provoca que se acumule en el tejido. Las alteraciones fisiológicas como el daño oxidativo, la biotransformación y las alteraciones en la transcripción de genes de importancia metabólica, proporcionan información relevante sobre las funciones celulares que se alteran cuando estos organismos son expuestos a AINE. Otro estudio más reciente realizado por Burket et al. (2019) en el arroyo Pecan – Texas, se evidenció que *C. fluminea* acumuló rápidamente productos farmacéuticos dentro de los primeros siete días de exposición en el arroyo contaminado. Dentro de este corto período de tiempo, los organismos mostraron evidencias de estrés oxidativo, debido a la alta carga de contaminantes. Este estudio reveló que en ambientes áridos y semiáridos como el de Texas, las corrientes dependientes de los afluentes representan el peor escenario de exposición por los productos químicos que se incorporan por el desagüe. Los organismos están más expuestos y la tasa de eliminación o desnaturalización de los compuestos farmacéuticos es baja.

Conclusiones y proyecciones futuras

La presencia de fármacos en los ecosistemas acuáticos es un problema reconocido y creciente a nivel mundial, ya que su liberación puede generar diversos efectos en los organismos acuáticos (Boxall et al. 2012). En esta revisión, se determinó que los AINE son fármacos persistentes y recurrentes en los sistemas acuáticos. Esto probablemente se asocia a que son compuestos de libre venta y de mayor consumo. Es por esto que los compuestos farmacéuticos como el DCF, PAR, NAX e IBU se han integrado a la lista de contaminantes de vigilancia prioritarios emitida por la Unión Europea y la Food and Drug Administration (FDA) (Aitken y Murray 2015).

En el biomonitorio de los ecosistemas acuáticos se ha demostrado que los bivalvos son bioindicadores idóneos de contaminación. Estos brindan información sobre la presencia y bioacumulación de contaminantes como los mencionados en esta revisión; además revelan información mediante biomarcadores fisiológicos, genéticos y tisulares, que permiten estimar y valorar los posibles impactos en el ambiente.

Los bivalvos expuestos a los AINE han presentado alteraciones en la respuesta inmunológica, expresión de genes, estrés oxidativo, fragmentación de ADN, además de toxicidad aguda. Algunas de las principales especies estudiadas fueron *Mytilus edulis trossulus*, *Mytilus* sp., *M. galloprovincialis*, *R. philippinarum* y *C. fluminea* entre otras (Parolini et al. 2011; Matozzo et al. 2012; Milan et al. 2013; Munari et al. 2018). Los estudios revisados, demostraron que los AINES también tienen efectos a nivel reproductivo, ya que estos actúan como disruptores en procesos endocrinos, afectan la supervivencia de espermatozoides, generan altas tasas de mortalidad de embriones y larvas expuestas a AINE, sería de utilidad incluir análisis que involucre madures de ovocitos, tasa de fecundidad y calidad espermática como motilidad y capacidad fecundante. Estos efectos se han reportado en otras especies, lo que indica que los AINES repercuten sobre la biota de los ecosistemas acuáticos. Se incluyen especies de vertebrados como peces, invertebrados acuáticos como *Daphnia* spp. *Artemia* spp. entre otros. Asociado a esto, es necesaria la generación de estudios que incluyan la biomagnificación en la que las concentraciones residuales de contaminantes se transfieren a todos los niveles tróficos superiores, como el caso de peces carnívoros y humanos. (Gonzalez-Rey y Bebianno 2014; Moreno-González et al. 2016; Parolini 2020). La principal vía de exposición para evaluar el factor de transferencia trófica de los fármacos en organismos acuáticos es través de su dieta; sin embargo, algunas especies acuáticas como los bivalvos absorben sustancias químicas a través de la vía respiratoria (Du et al. 2014; Zenker et al. 2014). Por lo que es imperativo continuar con la investigación de dichos mecanismos.

De acuerdo con los hallazgos de esta revisión, es prioritario la realización de estudios destinados a investigar la toxicidad y efectos de las mezclas de AINE en los ecosistemas acuáticos. Esto permitirá caracterizar y determinar los efectos adversos, así como el riesgo ecológico sobre las poblaciones de bivalvos presentes en ecosistemas estratégicos, tales como, sistemas de manglar, lagunas costeras y arrecifes de coral. La falta de estudios de AINE en ecosistemas lentos, tales como lagos, lagunas, ciénagas y zonas pantanosas es de alta importancia ecológica si se tiene en cuenta que estos ecosistemas cumplen importantes procesos biogeoquímicos, y el bajo nivel de recambio de agua en estos, aumentaría la concentración de todo contaminante emergente como se ha evidenciado en los estudios descritos, por lo tanto, los organismos presentes en estos tipos de ecosistemas acuáticos presentarían un mayor nivel de exposición y riesgo ecotoxicológicos. Los estudios aquí referenciados fueron realizados en su mayoría en Europa y Estados Unidos, pero se desconocen estudios o programas de biomonitorio de fármacos en países latinoamericanos y africanos donde se utilicen bivalvos como organismos modelo, con el fin de determinar contaminación por fármacos como los AINE en los ecosistemas acuáticos de estos países. Es urgente que en estos países se realicen estudios sobre contaminantes emergentes y se puedan determinar los efectos ecotoxicológicos de los AINE, para crear estrategias ambientales, normatividades regulatorias y políticas públicas para reducir la presencia de estos fármacos en los ecosistemas acuáticos (Klatte et al. 2017).

Contribución de los autores

Illgner A. E. Contreras-Almazo: Investigación, análisis formal, Redacción – borrador inicial. Mariela González-Rentería: Supervisión, Curaduría de datos, Redacción – Revisión y edición.

Referencias

Aguirre-Martínez, G.V., Buratti, S., Fabbri, E., DelValls, A.T., Martín-Díaz, M.L. 2013. Using lysosomal membrane stability of haemocytes in *Ruditapes philippinarum* as a biomarker of cellular stress to assess contamination by caffeine, ibuprofen, carbamazepine and novobiocin. *Journal of Environmental Sciences (China)* 25: 1408-1418.

- Ahmad, T.B., Liu, L., Kotiw, M., Benkendorff, K. 2018. Review of anti-inflammatory, immune-modulatory and wound healing properties of molluscs. *Journal of Ethnopharmacology* 210: 156-178.
- Aitken, M., Murray, M. 2015. *Global Medicines Use in 2020: Outlook and Implications*. IMS Institute for Healthcare Informatics, Parsippany, NJ, Estados Unidos.
- Almeida, Â., Solé, M., Soares, A.M.V.M., Freitas, R. 2020. Anti-inflammatory drugs in the marine environment: Bioconcentration, metabolism and sub-lethal effects in marine bivalves. *Environmental Pollution* 263: 1-11.
- Aus der Beek, T., Weber, F.A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., Küster, A. 2016. Pharmaceuticals in the Environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35: 823-835.
- Baqueiro-Cárdenas, E.R., Borabe, L., Goldaracena-Islas, C.G., Rodríguez-Navarro, J. 2007. Los moluscos y la contaminación. Una revisión. *Revista mexicana de biodiversidad* 78: 1-7.
- Barbosa, I., Pizarro, I., Freitas, R., Nunes, B. 2020. Antioxidative and neurotoxicity effects of acute and chronic exposure of the estuarine polychaete *Hediste diversicolor* to paracetamol. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 77: 103377.
- Bonnefille, B., Arpin-Pont, L., Gomez, E., Fenet, H., Courant, F. 2017. Metabolic profiling identification of metabolites formed in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) after diclofenac exposure. *Science of the Total Environment* 583: 257-268.
- Boxall, A.B.A., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E. et al. 2012. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environmental Health Perspectives* 120: 1221-1229.
- 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* 164: 267-273.
- Burket, S.R., Sapozhnikova, Y., Zheng, J.S., Chung, S.S., Brooks, B.W. 2018. At the Intersection of Urbanization, Water, and Food Security: Determination of Select Contaminants of Emerging Concern in Mussels and Oysters from Hong Kong. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66: 5009-5017.
- Burket, S.R., White, M., Ramirez, A.J., Stanley, J.K., Banks, K.E., Waller, W.T., Chambliss, C.K., et al. 2019. *Corbicula fluminea* rapidly accumulate pharmaceuticals from an effluent dependent urban stream. *Chemosphere* 224: 873-883.
- Caban, M., Szaniawska, A., Stepnowski, P. 2016. Screening of 17 α -ethynylestradiol and non-steroidal anti-inflammatory pharmaceuticals accumulation in *Mytilus edulis trossulus* (Gould, 1890) collected from the Gulf of Gdańsk. *Oceanological and Hydrobiological Studies* 45: 605-614.
- Campillo, J.A., Sevilla, A., Albentosa, M., Bernal, C., Lozano, A.B., Cánovas, M., León, V.M. 2015. Metabolomic responses in caged clams, *Ruditapes decussatus*, exposed to agricultural and urban inputs in a Mediterranean coastal lagoon (Mar Menor, SE Spain). *Science of the Total Environment* 524-525: 136-147.
- Capolupo, M., Franzellitti, S., Kiwan, A., Valbonesi, P., Dinelli, E., Pignotti, E., Birke, M., et al. 2017. A comprehensive evaluation of the environmental quality of a coastal lagoon (Ravenna, Italy): Integrating chemical and physiological analyses in mussels as a biomonitoring strategy. *Science of the Total Environment* 598: 146-159.
- Carella, F., Aceto, S., Mangoni, O., Mollica, M.P., Cavaliere, G., Trinchese, G., Aniello, F., et al. 2018. Assessment of the health status of mussels *Mytilus galloprovincialis* along the campania coastal areas: A multidisciplinary approach. *Frontiers in Physiology* 9: 1-16.
- Clark, H., Wu, H. 2016. Sustainable development goals: 17 goals to transform our world. En: *Furthering the Work of the United Nations. Highlights of the Tenure of Secretary-General Ban Ki-moon 2007-2016*, pp 36-54. United Nations Publications, Nueva York, NY, Estados Unidos. Doi: 10.18356/69725e5a-en.
- Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 2018. *Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use-Draft*. (15 November 2018), EMEA/CHMP/SWP/4447/00 Rev. 1. European Medicines Agency, Londres. Reino Unido.
- Contardo-Jara, V., Lorenz, C., Pflugmacher, S., Nützmann, G., Kloas, W., Wiegand, C. 2011. Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology* 105: 428-437.

- Correia, B., Freitas, R., Figueira, E., Soares, A.M.V.M., Nunes, B. 2016. Oxidative effects of the pharmaceutical drug paracetamol on the edible clam *Ruditapes philippinarum* under different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology* 179: 116-124.
- Costa, S., Coppola, F., Pretti, C., Intorre, L., Meucci, V., Soares, A.M.V.M., Freitas, R., et al. 2020. The influence of climate change related factors on the response of two clam species to diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 189: 109899.
- Courant, F., Arpin-Pont, L., Bonnefille, B., Vacher, S., Picot-Groz, M., Gomez, E., Fenet, H. 2018. Exposure of marine mussels to diclofenac: modulation of prostaglandin biosynthesis. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 6087-6094.
- Courtier, A., Cadiere, A., Roig, B. 2019. Human pharmaceuticals: Why and how to reduce their presence in the environment. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 15: 77-82.
- De Solla, S.R., Gilroy, A.M., Klinck, J.S., King, L.E., McInnis, R., Struger, J., Backus, S.M., et al. 2016. Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Lasmigona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere* 146: 486-496.
- Dodder, N.G., Maruya, K.A., Lee Ferguson, P., Grace, R., Klosterhaus, S., La Guardia, M.J., Lauenstein, G.G., et al. 2014. Occurrence of contaminants of emerging concern in mussels (*Mytilus* spp.) along the California coast and the influence of land use, storm water discharge, and treated wastewater effluent. *Marine Pollution Bulletin* 81: 340-346.
- Du, B., Haddad, S.P., Luek, A., Scott, W.C., Saari, G.N., Kristofco, L.A., Connors, K.A. et al. 2014. Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369: 1-10.
- Ebele, A.J., Abou-Elwafa Abdallah, M., Harrad, S. 2017. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants* 3: 1-16.
- Ericson, H., Thorsén, G., Kumblad, L. 2010. Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology* 99: 223-231.
- Fabbri, R., Montagna, M., Balbi, T., Raffo, E., Palumbo, F., Canesi, L. 2014. Adaptation of the bivalve embryotoxicity assay for the high throughput screening of emerging contaminants in *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Environmental Research* 99: 1-8.
- Farrington, J.W., Tripp, B.W., Tanabe, S., Subramanian, A., Sericano, J.L., Wade, T.L., Knap, A.H. 2016. Edward D. Goldberg's proposal of "the Mussel Watch": Reflections after 40 years. *Marine Pollution Bulletin* 110: 501-510.
- Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 76: 122-159.
- Freitas, R., Coppola, F., Costa, S., Manzini, C., Intorre, L., Meucci, V., Soares, A.M.V.M., et al. 2019. Does salinity modulates the response of *Mytilus galloprovincialis* exposed to triclosan and diclofenac? *Environmental Pollution* 251: 756-765.
- Goldberg, E.D. 1975. The mussel watch - A first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin* 6: 111.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M.J. 2011. Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) ibuprofen distresses antioxidant defense system in mussel *Mytilus galloprovincialis* gills. *Aquatic Toxicology* 105: 264-269.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M.J. 2012. Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) ibuprofen induce antioxidant stress and endocrine disruption in mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Environmental Toxicology and Pharmacology* 33: 361-371.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M.J. 2014. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) diclofenac exposure in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology* 148: 818-831.
- Gonzalez-Rey, M., Tapie, N., Le Menach, K., Dévier, M.H., Budzinski, H., Bebianno, M.J. 2015. Occurrence of pharmaceutical compounds and pesticides in aquatic systems. *Marine Pollution Bulletin* 96: 384-400.
- Ikkere, L.E., Perkons, I., Sire, J., Pugajeva, I., Bartkevics, V. 2018. Occurrence of polybrominated diphenyl ethers, perfluorinated compounds, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in freshwater mussels from Latvia. *Chemosphere* 213: 507-516.
- Illari, M., Sousa, R. 2012. *Corbicula fluminea* Müller (Asian Clam). En: Francis, A.R. (ed.), *A handbook of Global Freshwater Invasive Species*, pp. 465. Taylor and Francis Group, Nueva York, Estados Unidos.
- Klatte, S., Schaefer, H.C., Hempel, M. 2017. Pharmaceuticals in the environment – A short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 5: 61-66.
- Lee, D.H., Rhee, Y.J., Choi, K.S., Nam, S.E., Eom, H.J., Rhee, J.S. 2017. Sublethal concentrations of atrazine promote molecular and biochemical changes in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 9: 50-58.
- Matozzo, V., Rova, S., Marin, M.G. 2012. The nonsteroidal anti-inflammatory drug, ibuprofen, affects the immune parameters in the clam *Ruditapes philippinarum*. *Marine Environmental Research* 79: 116-121.
- McNeff, G., Barron, L., Kelleher, B., Paull, B., Quinn, B. 2013. The determination of pharmaceutical residues in cooked and uncooked marine bivalves using pressurised liquid extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 9509-9521.
- McNeff, G., Barron, L., Kelleher, B., Paull, B., Quinn, B. 2014. A year-long study of the spatial occurrence and relative distribution of pharmaceutical residues in sewage effluent, receiving marine waters and marine bivalves. *Science of the Total Environment* 476-477: 317-326.
- Mezzelani, M., Gorbi, S., Fattorini, D., d'Errico, G., Benedetti, M., Milan, M., Bargelloni, L., et al. 2016a. Transcriptional and cellular effects of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in experimentally exposed mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology* 180: 306-319.
- Mezzelani, M., Gorbi, S., Da Ros, Z., Fattorini, D., d'Errico, G., Milan, M., Bargelloni, L., Regoli, F. 2016b. Ecotoxicological potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in marine organisms: Bioavailability, biomarkers and natural occurrence in *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Environmental Research* 121: 31-39.
- Mezzelani, M., Gorbi, S., Fattorini, D., d'Errico, G., Consolandi, G., Milan, M., Bargelloni, L., et al. 2018a. Long-term exposure of *Mytilus galloprovincialis* to diclofenac, ibuprofen and Ketoprofen: Insights into bioavailability, biomarkers and transcriptomic changes. *Chemosphere* 198: 238-248.
- Mezzelani, M., Gorbi, S., Regoli, F. 2018b. Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. *Marine Environmental Research* 140: 41-60.
- Milan, M., Pauletto, M., Patarnello, T., Bargelloni, L., Marin, M.G., Matozzo, V. 2013. Gene transcription and biomarker responses in the clam *Ruditapes philippinarum* after exposure to ibuprofen. *Aquatic Toxicology* 126: 17-29.
- Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Huerta, B., Barceló, D., León, V.M. 2016. Do pharmaceuticals bioaccumulate in marine molluscs and fish from a coastal lagoon? *Environmental Research* 146: 282-298.
- Munari, M., Chemello, G., Finos, L., Ingrosso, G., Giani, M., Marin, M.G. 2016. Coping with seawater acidification and the emerging contaminant diclofenac at the larval stage: A tale from the clam *Ruditapes philippinarum*. *Chemosphere* 160: 293-302.
- Munari, M., Matozzo, V., Gagné, F., Chemello, G., Riedl, V., Finos, L., Pastore, P. et al. 2018. Does exposure to reduced pH and diclofenac induce oxidative stress in marine bivalves? A comparative study with the mussel *Mytilus galloprovincialis* and the clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Pollution* 240: 925-937.
- Munari, M., Matozzo, V., Chemello, G., Riedl, V., Pastore, P., Badocco, D., Marin, M.G. 2019. Seawater acidification and emerging contaminants: A dangerous marriage for haemocytes of marine bivalves. *Environmental Research* 175: 11-21.
- Páez-Osuna, F., Osuna-Martínez, C. 2011. Biomonitoring of coastal pollution with reference to the situation in the Mexican coasts: A review on the utilization of organisms [Biomonitoreo de la contaminación costera con referencia a las costas mexicanas: Una revisión sobre los organismos utilizados]. *Hidrobiológica* 21: 229-238.
- Parolini, M. 2020. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. *Science of the Total Environment* 740: 140043.
- Parolini, M., Binelli, A., Provini, A. 2011. Chronic effects induced by ibuprofen on the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 1586-1594.
- Peña-Guzmán, C., Ulloa-Sánchez, S., Mora, K., Helena-Bustos, R., Lopez-Barrera, E., Alvarez, J., Rodríguez-Pinzón, M. 2019. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. *Journal of Environmental Management* 237: 408-423.

- Rao, P.N.P., Knaus, E.E. 1997. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 11: 81-110s.
- Rosenfeld, P.E., Feng, L.G.H. 2011. Emerging Contaminants. En: Rosenfeld, P.E., Feng, L.G.H. (eds.), *Risks of Hazardous Wastes*, pp. 215-222. William Andrew Publishing. Norwich, NY, Estados Unidos.
- Serrano, M.A.S., Gonzalez-Rey, M., Mattos, J.J., Flores-Nunes, F., Mello, Á.C.P., Zacchi, F.L., Piazza, C.E., et al. 2015. Differential gene transcription, biochemical responses, and cytotoxicity assessment in Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to ibuprofen. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 17375-17385.
- Sharma, B.M., Bečanová, J., Scheringer, M., Sharma, A., Bharat, G.K., Whitehead, P.G., Klánová, J., et al. 2019. Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India. *Science of the Total Environment* 646: 1459-1467.
- Springer, M. 2010. Capítulo 3. Biomonitorio acuático. *Revista de Biología Tropical* 58: 53-59.
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., Hart, A. 2012. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment* 416: 1-21.
- Świacka, K., Maculewicz, J., Smolarz, K., Szaniawska, A., Caban, M. 2019a. Mytilidae as model organisms in the marine ecotoxicology of pharmaceuticals - A review. *Environmental Pollution* 254: 1-16.
- Świacka, K., Szaniawska, A., Caban, M. 2019b. Evaluation of bioconcentration and metabolism of diclofenac in mussels *Mytilus trossulus* - laboratory study. *Marine Pollution Bulletin* 141: 249-255.
- Trombini, C., Hampel, M., Blasco, J. 2019. Assessing the effect of human pharmaceuticals (carbamazepine, diclofenac and ibuprofen) on the marine clam *Ruditapes philippinarum*: An integrative and multibiomarker approach. *Aquatic Toxicology* 208: 146-156.
- Trujillo, E., Fonseca, G., García, M.A. 2009. Evaluación de la Cromatografía Iónica para Fomentar su Uso en la Investigación y Estudios de Posgrado en Ciencias del Agua. *Formación Universitaria* 2(1): 7-16.
- UE 2013. Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 226/1.
- Yang, Y., Ok, Y.S., Kim, K.H., Kwon, E.E., Tsang, Y.F. 2017. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. *Science of the Total Environment* 596-597: 303-320.
- Zenker, A., Cicero, M.R., Prestinaci, F., Bottoni, P., Carere, M. 2014. Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of Environmental Management* 133: 378-387.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G. 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606: 135-150.