Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Química

“Daño ecotoxicológico producido por concentraciones ambientalmente relevantes de imatinib y cisplatino en adultos de *Danio rerio*”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

P R E S E N T A

M. en C.Q. Gustavo Axel Elizalde Velázquez

DIRIGIDA POR:

Dr. Leobardo Manuel Gómez Oliván

Dra. Sandra García Medina

Dra. Ana María Téllez López

Toluca, Estado de México a 20 de Enero de 2025

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS 4
ÍNDICE DE TABLAS 5
RESUMEN 6
1. INTRODUCCIÓN 7
2. ANTECEDENTES 11
2.1. Cáncer 11
2.1.1. Prevalencia global del cáncer 12
2.1.2. Principales tipos de cáncer 14
2.1.3. Impacto socioeconómico del cáncer 15
2.2. Fármacos antineoplásicos 16
2.2.1. Evolución histórica del tratamiento oncológico 16
2.2.2. Clasificación de los fármacos antineoplásicos 19
2.2.3. Principales fármacos antineoplásicos 28
2.3. Cisplatino 29
2.3.1. Mecanismo de acción del cisplatino 30
2.3.2. Farmacocinética del cisplatino 32
2.3.3. Vías de entrada del cisplatino al ambiente 33
2.3.4. Remoción del cisplatino en PTAR 34
2.3.5. Ocurrencia del cisplatino en matrices ambientales 41
2.3.6. Perfil ecotoxicológico del cisplatino 45
2.4. Imatinib 54
2.4.1. Mecanismo de acción del imatinib 55
2.4.2. Farmacocinética del imatinib 57
2.4.3. Vías de entrada del imatinib al ambiente 57
2.4.4. Remoción del imatinib en PTAR 58
2.4.5. Ocurrencia del imatinib en matrices ambientales 67
2.4.6. Perfil ecotoxicológico del imatinib 71
2.5. Danio rerio 76
2.5.1. Características biológicas 77
2.5.2. Relevancia en toxicología ambiental 78
3. JUSTIFICACIÓN 80
4. HIPÓTESIS 82
5. OBJETIVOS 82
6. MÉTODO 84

6.1. Reactivos 84
6.2. Acondicionamiento de los peces 84
6.3. Protocolo de exposición 84
6.4. Pruebas conductuales (NovelTank Test) 85
6.5. Eutanasia y disección de los peces 85
6.6. Evaluación de los biomarcadores redox 86
6.7. Determinación de la actividad de la AChE 88
6.8. Cuantificación de la expresión de ARNm 89
6.9. Análisis estadístico 90
7. RESULTADOS 91
7.1. Patrones de comportamiento observados en el NovelTank Test. 91
7.2. Respuestas de los biomarcadores redox 94
7.3. Modulación de la actividad de la AChE 100
7.4. Perfiles de expresión de ARNm 102
8. DISCUSIÓN 107
9. CONCLUSIONES 119
REFERENCIAS 122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Diferencias fenotípicas y funcionales entre células somáticas normales y neoplásicas.* 11
Figura 2. *Tendencia global de la incidencia de cáncer entre 2000 y 2050.* 13
Figura 3. *Estructura química del cisplatino.* 30
Figura 4. *Vías moleculares implicadas en la inducción de la apoptosis por cisplatino.* 31
Figura 5. *Estructura química del imatinib.* 54
Figura 6. *Vías moleculares implicadas en la inhibición de la proliferación y la supervivencia celular inducida por imatinib* 56
Figura 7. *Características morfológicas de Danio rerio (Teleostei: Cyprinidae).* 77
Figura 8. *Integración de biomarcadores conductuales mediante gráficos de estrellas (IBR) en peces cebra expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B)* 93
Figura 9. *Actividad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, así como niveles de los biomarcadores de daño oxidativo LPX, HPC y PCC, en hígado, branquias, cerebro e intestino de Danio rerio expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B) durante 96 h.* 98
Figura 10. *Actividad de la AChE en el cerebro de pez cebra (Danio rerio) tras 96 horas de exposición a cisplatino (A) e imatinib (B).* 101
Figura 11. *Gráfico de barras circular que muestra la expresión de genes normalizada en hígado, branquias, cerebro e intestino de Danio rerio expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B) durante 96 h.* 106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Tipos de cáncer con mayor incidencia por grupo etario y sexo*. 15
Tabla 2. *Evolución histórica de los enfoques terapéuticos en la oncología.* 17
Tabla 3. *Clasificación de los fármacos antineoplásicos según su locus biológico y su mecanismo de acción molecular.* 21
Tabla 4. *Tecnologías fisicoquímicas avanzadas para la remoción, recuperación y transformación de cisplatino en matrices acuosas.* 36
Tabla 5. *Concentraciones reportadas y PEC de cisplatino en influentes, efluentes, y agua superficial.* 43
Tabla 6. *Efectos ecotoxicológicos del cisplatino en organismos acuáticos.* 47
Tabla 7. *Tecnologías biológicas, fisicoquímicas y de oxidación avanzada para la remoción y transformación de imatinib en matrices acuosas.* 60
Tabla 8. *Concentraciones reportadas y PEC de imatinib en influentes, efluentes y agua superficial.* 69
Tabla 9. *Efectos ecotoxicológicos del imatinib en organismos acuáticos.* 73
Tabla 10. *Condiciones experimentales y parámetros espectrofotométricos para la determinación de los biomarcadores de estrés oxidativo.* 87
Tabla 11. *Números de acceso y secuencias de cebadores empleados en el análisis de la expresión génica.* 89

RESUMEN

El incremento sostenido en la incidencia del cáncer ha conducido a un uso intensivo y prolongado de fármacos antineoplásicos, entre los que destacan el cisplatino y el imatinib por su consolidado posicionamiento terapéutico. Sin embargo, su amplia aplicación clínica ha suscitado crecientes preocupaciones ambientales, ya que ambos compuestos han sido detectados en efluentes municipales (<0.31 µg/L), hospitalarios (<140 µg/L) e incluso en aguas superficiales (<0.039 µg/L). Aunque existen algunos estudios sobre sus efectos tóxicos, el conocimiento disponible sigue siendo fragmentario, debido a que la mayoría de las investigaciones se ha realizado en invertebrados y a concentraciones varios órdenes de magnitud superiores a las ambientalmente reportadas. Asimismo, aún no se cuenta con evaluaciones integrales que articulen de manera simultánea respuestas bioquímicas, moleculares y conductuales. En este estudio se abordó esta brecha de conocimiento mediante la evaluación del estrés oxidativo, la expresión génica diferencial y las alteraciones conductuales en adultos de *Danio rerio* expuestos a cisplatino e imatinib. Los resultados mostraron que los peces cebra expuestos a cisplatino (2, 5 y 10 µg/L) e imatinib (0.1, 1 y 10 µg/L) presentaron alteraciones consistentes del comportamiento exploratorio, lo que generó fenotipos convergentes compatibles con estados análogos a la ansiedad, aunque sustentados en perfiles conductuales y fisiopatológicos diferenciados. Estas alteraciones se asociaron con una inhibición significativa de la actividad de la acetilcolinesterasa en el cerebro de *Danio rerio*, lo que indica una disrupción funcional del sistema colinérgico mediada por mecanismos distintos. Paralelamente, el estrés oxidativo emergió como un eje central de la toxicidad inducida por ambos fármacos, manifestándose mediante patrones tisulares específicos para cada compuesto y una clara tendencia dosis-dependiente en los biomarcadores de daño oxidativo. A nivel molecular, el cisplatino activó rutas asociadas al daño genómico, al estrés del retículo endoplásmico y a la disfunción mitocondrial, mientras que el imatinib promovió la activación de la apoptosis intrínseca junto con la supresión de respuestas adaptativas reguladas por AMPK. En síntesis, ambos fármacos inducen neurotoxicidad y efectos multiorgánicos en *Danio rerio* a concentraciones ambientalmente relevantes, lo que evidencia un potencial riesgo ecotoxicológico asociado a su presencia en ecosistemas acuáticos.

1. INTRODUCCIÓN

La creciente prevalencia del cáncer a escala mundial ha provocado un incremento sustancial y sostenido en la demanda de medicamentos antineoplásicos. Estudios recientes, por ejemplo, indican que las prescripciones de estos fármacos aumentaron un 85.6% entre 2016 y 2020, pasando de 28 594 a 53 063 unidades. Esta tendencia refleja no solo la expansión de las indicaciones oncológicas, sino también la consolidación de ciertos esquemas terapéuticos como estándares de cuidado (Shang et al., 2023). Sin embargo, es importante recalcar que este crecimiento no se distribuye de manera homogénea entre las distintas clases terapéuticas. Por el contrario, se concentra principalmente en agentes con un posicionamiento clínico ampliamente consolidado, entre los que destacan los compuestos basados en platino y los inhibidores de la tirosina cinasa.

En el caso de los agentes platinados, se ha reportado que aproximadamente el 50% de los pacientes oncológicos que reciben quimioterapia son tratados con regímenes sistémicos basados en platino. Dentro de esta clase farmacológica, el cisplatino es el representante más utilizado debido a su eficacia frente a múltiples tumores sólidos (Linares et al., 2023). En consecuencia, y pese a la existencia de efectos adversos graves ampliamente documentados en la literatura especializada, estos compuestos continúan formando parte de los protocolos terapéuticos de primera línea para diversos tipos de cáncer (Zhang et al., 2022a,b). De manera análoga, el mesilato de imatinib, un inhibidor de la tirosina cinasa de primera generación dirigido contra la oncoproteína BCR–ABL1, se ha consolidado como un fármaco de referencia en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica. En este contexto, su posicionamiento terapéutico se ha acompañado de incrementos sostenidos en su consumo en distintos contextos geográficos durante la última década (Olsen et al., 2021; Chen et al., 2022; Moreira et al., 2022; Lee et al., 2024).

No obstante, este uso intensivo y prolongado de cisplatino e imatinib conlleva implicaciones ambientales que trascienden su ámbito estrictamente terapéutico. La evidencia reciente sugiere que la administración continua de estos fármacos conduce inevitablemente a su liberación al medio ambiente, principalmente a través de efluentes hospitalarios y municipales. En este contexto, la presencia de cisplatino ha sido documentada con frecuencia en efluentes hospitalarios y en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), alcanzando concentraciones de hasta 150 µg/L. Esta situación pone de manifiesto su elevada

resistencia a los procesos convencionales de degradación química y biológica y evidencia las limitaciones inherentes de las tecnologías actuales de depuración (Lenz et al., 2007; Vyas et al., 2014; Isidori et al., 2016; Roque-Diaz et al., 2021). Por su parte, el imatinib exhibe un comportamiento ambiental aún más preocupante, estrechamente vinculado a su elevada estabilidad fisicoquímica y a su notable persistencia en el medio acuoso. Diversos estudios han documentado semividas superiores a un año en sistemas acuáticos. Asimismo, se han reportado tiempos de disipación de hasta 1621 días en sedimentos, lo que favorece su permanencia prolongada en el ambiente (Toński et al., 2021; Tkalec et al., 2021; Castellano-Hinojosa et al., 2024). De hecho, en los últimos años, la literatura especializada ha reportado reiteradamente la detección de imatinib en efluentes de PTAR, con rangos de concentración que oscilan entre decenas y centenas de ng/L. Este patrón sugiere que los procesos convencionales de tratamiento resultan insuficientes para su eliminación completa y que pueden generarse descargas continuas hacia cuerpos receptores (Olalla et al., 2018; Proctor et al., 2019).

En este escenario, la presencia documentada de cisplatino en efluentes hospitalarios y de imatinib en efluentes municipales, aunada a su alta estabilidad y recalcitrancia, plantea un contexto en el que ambos compuestos pueden alcanzar ecosistemas acuáticos y permanecer en ellos durante periodos prolongados, generando un riesgo potencialmente relevante para las comunidades biológicas. Por ejemplo, estudios recientes han demostrado que el imatinib puede inducir citotoxicidad dependiente de la concentración y del tiempo en cultivos de hepatocitos de pez cebra. Asimismo, puede reducir significativamente la actividad alimentaria en invertebrados planctónicos y provocar daño genotóxico en larvas de *Danio rerio* a concentraciones del orden de µg/L, cercanas a las consideradas ambientalmente relevantes (Novak et al., 2017; Yan et al., 2017; Novak et al., 2021). De manera complementaria, se ha descrito que el cisplatino, aun a niveles tan bajos como 0.1 µg/L, puede desencadenar estrés oxidativo, alteraciones en la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE), disfunción de la transmisión neuromuscular y cambios conductuales adversos en diversos invertebrados acuáticos (Trombini et al., 2016; Fonseca et al., 2017; Bownik et al., 2020; Ren et al., 2022). Además, concentraciones mayores, típicamente superiores a las registradas en efluentes, han sido asociadas con ototoxicidad, pérdida de células sensoriales y alteraciones fisiológicas en pez cebra (Giari et al., 2012; Hung et al., 2019; Hung et al.,

2022; Lee et al., 2022; Li et al., 2024). En conjunto, estos hallazgos sugieren que exposiciones agudas a concentraciones ambientalmente plausibles de cisplatino e imatinib podrían desencadenar efectos subletales de considerable relevancia ecológica.

Sin embargo, a pesar de la solidez de esta evidencia, persisten vacíos críticos en la comprensión de los efectos integrados de ambos fármacos a nivel del organismo completo, particularmente cuando se consideran simultáneamente variables bioquímicas, moleculares y conductuales. En el caso específico del imatinib, la mayoría de los estudios se han centrado en los efectos citotóxicos y genotóxicos. En contraste, sus posibles efectos neurotóxicos y neuroconductuales en peces adultos permanecen prácticamente inexplorados, pese al papel central de las tirosina cinasas en el desarrollo neuronal y la función sináptica (Nourbakhsh y Yadav, 2021; Shu et al., 2023). De forma análoga, si bien el cisplatino ha sido ampliamente evaluado en pez cebra, la mayor parte de las investigaciones ha empleado concentraciones relativamente elevadas y se ha centrado en órganos o sistemas aislados, como el oído interno, la línea lateral o los ionocitos cutáneos. En consecuencia, su impacto multiorgánico y su capacidad para inducir alteraciones conductuales análogas a la ansiedad a concentraciones cercanas a las reportadas en efluentes aún no han sido evaluados de manera sistemática. Esta fragmentación del conocimiento limita la extrapolación de los resultados a escenarios de exposición ambiental realista y dificulta la caracterización adecuada del riesgo ecológico asociado a estos compuestos.

Por ende, y dado el conjunto de consideraciones expuestas anteriormente, resulta imprescindible e imperativo desarrollar estudios integrales y multidisciplinarios que permitan vincular de manera efectiva la presencia ambiental documentada de cisplatino e imatinib con efectos biológicos tempranos y funcionalmente relevantes en vertebrados acuáticos expuestos a concentraciones plausibles. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo determinar si concentraciones ambientalmente relevantes de cisplatino e imatinib pueden inducir daño multiorgánico y comportamientos análogos a la ansiedad en adultos de Danio rerio, mediante un enfoque integral que abarcó la evaluación del estrés oxidativo agudo, el análisis de la expresión génica diferencial y la caracterización cuantitativa de alteraciones conductuales.

2. ANTECEDENTES

2.1. Cáncer

El cáncer se define como una enfermedad multifactorial caracterizada por la proliferación descontrolada de células somáticas que adquieren la capacidad de dividirse de forma autónoma, invadir tejidos adyacentes y, en etapas avanzadas, diseminarse hacia órganos distantes mediante procesos metastásicos (Figura 1) (OMS, 2025). Desde una perspectiva fisiopatológica, esta patología puede originarse en prácticamente cualquier tejido del organismo como resultado de alteraciones en los mecanismos que regulan el crecimiento, la diferenciación y el reemplazo celular bajo condiciones normales (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).

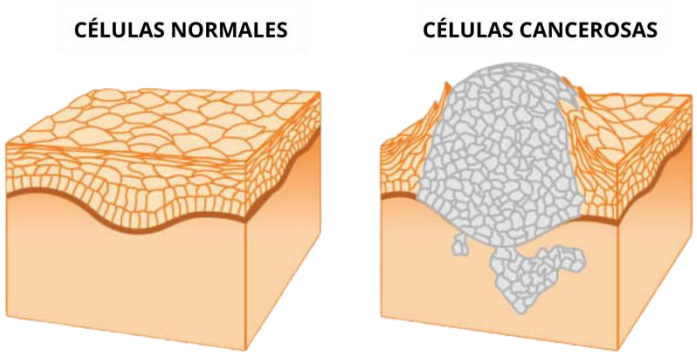


Figura 1. *Diferencias fenotípicas y funcionales entre células somáticas normales y neoplásicas*. Las células neoplásicas presentan alteraciones sustanciales en sus propiedades funcionales que incluyen proliferación independiente de señales mitogénicas, invasión tisular y acumulación de anomalías cariotípicas complejas (OMS, 2025).

A nivel molecular, la carcinogénesis se concibe como un proceso evolutivo multietápico impulsado por la alteración funcional de tres categorías principales de genes implicados en la regulación del crecimiento celular:

- Protooncogenes: Codifican proteínas que participan en la señalización proliferativa y en la supervivencia celular bajo condiciones fisiológicas (Kontomanolis et al., 2020). Sin embargo, mutaciones activadoras, amplificaciones génicas o reordenamientos cromosómicos pueden transformarlos en oncogenes capaces de estimular la

proliferación celular descontrolada y favorecer la evasión de la apoptosis (Prasad y Sitara, 2026).

- Genes supresores de tumores: Actúan como reguladores negativos del ciclo celular y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis tisular mediante la inhibición de la proliferación y la inducción de muerte celular programada cuando se detecta daño genómico (Prasad y Sitara, 2026). La pérdida de su función elimina barreras fisiológicas que limitan el crecimiento celular y facilita la expansión de clones celulares transformados (Otmani y Lewalle, 2021).
- Genes reparadores del ADN: Participan en sistemas especializados de vigilancia y reparación del material genético. Cuando estos mecanismos se alteran, se incrementa la tasa de mutación celular y se favorece la acumulación progresiva de alteraciones genómicas asociadas al desarrollo tumoral (Basu, 2018).

En conjunto, la interacción entre estos procesos moleculares explica la complejidad biológica del cáncer, su heterogeneidad clínica y su evolución dinámica, resultado de la interacción sostenida entre factores genéticos, ambientales y epigenéticos.

2.1.1. Prevalencia global del cáncer

Para el año 2000, la incidencia global del cáncer superó los 10 millones de nuevos casos y ocasionó más de 7 millones de defunciones, lo que representó aproximadamente el 13 % de la mortalidad total a nivel mundial (Shibuya et al., 2002). En 2022, esta tendencia no solo persistió, sino que se intensificó, registrándose aproximadamente 20 millones de nuevos diagnósticos (19 964 800) y alrededor de 9.7 millones de fallecimientos, lo que se tradujo en un riesgo acumulado de desarrollar cáncer de 1 en 5 personas a lo largo de la vida (Sociedad Americana del Cáncer, 2024). Si bien a la fecha no se dispone de estimaciones definitivas para 2025, proyecciones epidemiológicas recientes anticipan un incremento del 77 % en la incidencia global del cáncer hacia el año 2050, con una carga anual estimada de 35.3 millones de casos (Figura 2), atribuible principalmente al crecimiento poblacional sostenido y al envejecimiento progresivo de la estructura demográfica a escala mundial (Bray et al., 2024).

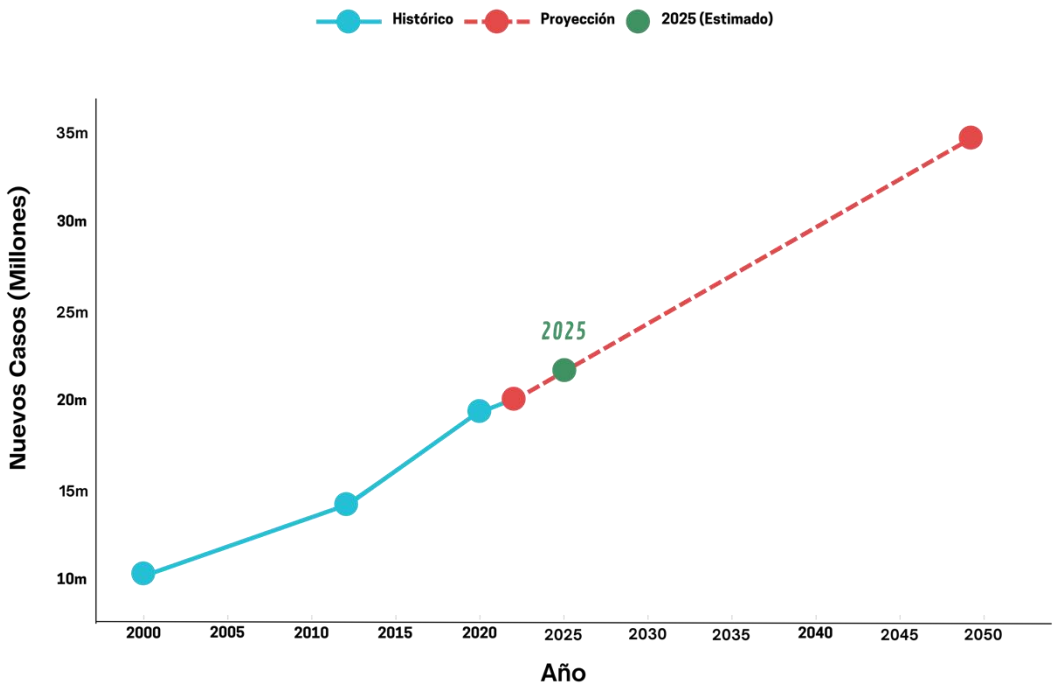


Figura 2. *Tendencia global de la incidencia de cáncer entre 2000 y 2050*. La gráfica ilustra un incremento sostenido en el número de nuevos casos a nivel mundial, con registros históricos que muestran un aumento de aproximadamente 10 a más de 20 millones de diagnósticos anuales, y proyecciones que prevén superar los 35 millones de casos para 2050 (Shibuya et al., 2002; Sociedad Americana del Cáncer, 2024; Bray et al., 2024).

2.1.2. Principales tipos de cáncer

Aunque la incidencia oncológica global muestra una tendencia creciente, su análisis desagregado por grupos etarios revela patrones epidemiológicos heterogéneos que obedecen a dinámicas biológicas, hormonales e infecciosas fundamentalmente distintas en cada fase del ciclo vital. En el estrato etario pediátrico (0 a 14 años), por ejemplo, las tasas de incidencia global del cáncer son relativamente bajas y las diferencias entre sexos son mínimas, aunque se observa una ligera predominancia en varones (Huang et al., 2023; Wang et al., 2024). Por el contrario, en el estrato etario de 15 a 24 años, denominado en la nosología epidemiológica como AYA, se presenta una etapa de transición oncológica en la que persisten tasas de incidencia relativamente moderadas, pero comienzan a manifestarse divergencias intersexuales que prefiguran los patrones de la edad adulta (Li et al., 2024). A modo de ilustración, en los varones de este rango etario predominan las neoplasias de origen gonadal

y linfoide (tumores germinales testiculares, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin), mientras que en las mujeres del mismo rango emergen neoplasias asociadas tanto a factores hormonales (carcinoma de mama) como a exposiciones infecciosas (carcinoma cervicouterino), y a factores aún no plenamente elucidados (tumores de tiroides) (Li et al., 2024; Yang et al., 2025).

No obstante, la transición a los 25 años constituye, en términos oncológicos, un umbral de inflexión crítico a partir del cual los patrones de incidencia no solo se estratifican progresivamente por edad cronológica, sino que se diferencian de manera fundamental y persistente según el sexo del individuo. Específicamente, en los subgrupos etarios de 25 a 39 años y de 40 a 54 años, fases correspondientes al ejercicio reproductivo y perimenopáusico en mujeres, las tasas agregadas de incidencia de cáncer muestran una supremacía consistente en el sexo femenino en comparación con el masculino (Bray et al., 2024). Esta supremacía femenina obedece, de manera primordial, a la prevalencia sustancial del carcinoma de mama, cuya incidencia en mujeres de 40 a 54 años representa aproximadamente una de cada cuatro neoplasias malignas, así como a la persistente carga del carcinoma cervicouterino, particularmente en regiones con menor cobertura de vacunación contra el VPH y de tamizaje cervical (Kehm et al., 2019). Por su parte, en la población de edad avanzada (55 años o más), se produce una inversión epidemiológica de magnitud notable, en la que la incidencia oncológica en hombres supera de manera consistente y exponencial la de las mujeres, atribuible principalmente a la carga oncológica significativa del cáncer de pulmón y del carcinoma de próstata (Sociedad Americana del Cáncer, 2024; Bray et al., 2024).

En síntesis, la arquitectura epidemiológica de la incidencia oncológica a lo largo del ciclo vital, desde la infancia hasta la senectud, no constituye un fenómeno monolítico, sino una progresión dinámica de perfiles de riesgo que se transforman fundamentalmente según la edad y el sexo, como se ilustra en la Tabla 1.

Tabla 1. *Tipos de cáncer con mayor incidencia por grupo etario y sexo.*

Rango	**0 a 14 años**	**15 a 24 años**	**> 25 años**	
			Mujeres	**Hombres**
1º	Leucemia (especialmente LLA)	Cáncer de tiroides	Cáncer de mama	Cáncer de pulmón
2º	Cáncer del SNC (cerebro y médula espinal)	Cáncer de mama, testículo, y cérvix	Cáncer de pulmón	Cáncer de próstata
3º	LH y LNH	LH y LNH	Cáncer colorrectal	Cáncer colorrectal
4º	Cáncer óseo	Leucemia (especialmente LMA)	Cáncer de cérvix	Cáncer de estomago

SNC: sistema nervioso central; **LLA:** leucemia linfoblástica aguda; **LMA:** leucemia mieloide aguda; **LH:** linfoma de Hodgkin; **LNH:** linfoma no Hodgkin.

2.1.3. Impacto socioeconómico del cáncer

Según estimaciones recientes, el costo económico agregado del cáncer alcanzará los 25.2 billones de dólares internacionales en el año 2050, lo que, en términos macroeconómicos, equivale a un "impuesto" implícito anual cercano al 0.55% del producto interno bruto mundial (Chen et al., 2023). En consecuencia, el cáncer no debe interpretarse únicamente como un problema sanitario, sino también como un fenómeno estructural que limita de manera persistente el crecimiento económico global, al exigir la reasignación sostenida de recursos productivos hacia actividades de prevención, diagnóstico, tratamiento y cuidados asociados. Sin embargo, es importante recalcar que dicha carga económica no se distribuye de forma uniforme entre las distintas entidades oncológicas. Por el contrario, el impacto financiero del cáncer se concentra de manera significativa en un subconjunto específico de neoplasias, las cuales explican una proporción sustancial del costo económico total. En particular, los cánceres de tráquea, bronquios y pulmón representan aproximadamente el 15.4 % del impacto económico global, seguidos por el cáncer colorrectal (10.9 %), el cáncer de mama (7.7 %), el cáncer de hígado (6.5 %) y las leucemias (6.3 %) (Chen et al., 2023). Esta concentración del impacto económico se explica, fundamentalmente, por la articulación de tres factores estructurales estrechamente interrelacionados. En primer lugar, estas neoplasias presentan una elevada incidencia poblacional, lo que genera una demanda sostenida y creciente de servicios de prevención, diagnóstico y atención oncológica (Sociedad Americana del Cáncer, 2024). En segundo término, se asocian con un impacto significativo sobre la mortalidad prematura, particularmente en grupos etarios en plena edad económicamente activa, lo que se traduce en pérdidas sustanciales de productividad y en una progresiva erosión del capital humano (Rumgay et al., 2023; Frick et al., 2023). Finalmente, su abordaje clínico exige con frecuencia esquemas terapéuticos prolongados, técnicamente complejos y de alto costo, los cuales intensifican de manera persistente la presión financiera sobre los sistemas de salud y, por esta vía, amplifican la carga económica global atribuible a estas neoplasias (Sociedad Americana del Cáncer, 2024; Chen et al., 2023).

2.2. Fármacos antineoplásicos

Los fármacos antineoplásicos, clasificados por la OMS dentro del sistema ATC bajo el código L01, constituyen una clase amplia y heterogénea de agentes terapéuticos cuyo objetivo central es interferir de manera selectiva en los procesos celulares, moleculares e inmunológicos que sustentan la iniciación, la progresión y la persistencia de las neoplasias malignas.

2.2.1. Evolución histórica del tratamiento oncológico

La evolución del tratamiento oncológico puede concebirse como un proceso histórico de transformación progresiva, en el cual la práctica clínica ha transitado desde abordajes predominantemente empíricos, centrados en la cirugía y orientados al alivio paliativo, hacia estrategias terapéuticas fundamentadas en el desarrollo racional y sistemático de agentes farmacológicos. Esta trayectoria, como se pude observar en la Tabla 2, se articula en torno a tres ejes complementarios:

1) Los avances metodológicos y regulatorios que posibilitaron el tránsito desde prácticas empíricas hacia programas estructurados de investigación traslacional.

2) Hitos clínicos relevantes, particularmente en leucemias y linfoma de Hodgkin, que demostraron la eficacia de enfoques combinados y sentaron las bases de protocolos terapéuticos estandarizados.

3) La consolidación de la quimioterapia como un programa global organizado de desarrollo de fármacos, que culminó en el diseño y la aplicación de terapias dirigidas contra dianas moleculares específicas.

Tabla 2. *Evolución histórica de los enfoques terapéuticos en la oncología*.

Etapa	Período	Características
Pre-moderna	3500 a.C. - 1900	En el antiguo Egipto, según los papiros de Edwin Smith y Ebers, el cáncer se consideraba una enfermedad incurable y se explicaba mediante concepciones esotéricas, lo que limitaba las opciones terapéuticas. Posteriormente, la medicina grecolatina articuló una interpretación etiológica más sistemática a partir de la teoría humoral de Hipócrates y Galeno, que atribuía la carcinogénesis a un exceso de bilis negra, legitimando así criterios

		empíricos de resecabilidad tumoral. En este contexto, y ante la ausencia de un conocimiento fisiopatológico verificable, el abordaje del cáncer desde la antigüedad hasta finales del siglo XIX se consolidó en un paradigma predominantemente quirúrgico y paliativo.
Pre-quimioterapéutica	1901 - 1940	A comienzos del siglo XX, la investigación en quimioterapia antineoplásica se estructuró en torno a un enfoque empírico de descubrimiento farmacológico, orientado a la identificación de agentes con actividad antitumoral mediante el empleo sistemático de modelos de tumores trasplantables en roedores como plataformas experimentales de cribado preclínico. En este marco, el objetivo de dicha estrategia era priorizar compuestos candidatos mediante bioensayos estandarizados de eficacia biológica, condicionados por una comprensión aún limitada de los mecanismos moleculares y celulares implicados en la carcinogénesis
Quimioterapéutica	1941 - 1959	A partir de la década de 1940, la quimioterapia experimentó un punto de inflexión con la introducción de agentes citotóxicos capaces de inducir remisiones incluso en la enfermedad sistémica. Este avance se fundamentó en la observación de mielosupresión causada por las mostazas nitrogenadas durante la segunda guerra mundial, lo que condujo al desarrollo de los primeros agentes alquilantes, como la mecloretamina, cuya acción sobre el ADN, mediante la formación de enlaces covalentes que bloquean la replicación y la transcripción, sentó las bases de la quimioterapia moderna. Simultáneamente, la incorporación de antimetabolitos tempranos (aminopterina, metotrexato, 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo) y de nuevos alquilantes y otros citotóxicos permitió diversificar los mecanismos de acción y ampliar significativamente el espectro terapéutico frente a neoplasias hematológicas y tumores sólidos.
Quimioterapéutica combinada	1960 - 1979	Durante la década de 1960 y principios de 1970, la incorporación de agentes citotóxicos como los alcaloides de la vinca y la procarbazina, en combinación con fármacos de mecanismos complementarios, permitió alcanzar remisiones completas en leucemia aguda infantil y en enfermedad avanzada de Hodgkin, desafiando la concepción predominante de que los cánceres

		avanzados eran intrínsecamente refractarios a la terapia farmacológica. Estos avances clínicos sentaron las bases de la quimioterapia adyuvante, en la que regímenes sistémicos se administran tras cirugía y/o radioterapia con el objetivo de erradicar micrometástasis subclínicas.
Pre-contemporánea	1980 - 2001	A partir de la década de 1980, los avances en biología molecular permitieron caracterizar las alteraciones genéticas y las disfunciones proteicas específicas implicadas en la oncogénesis, lo que impulsó el desarrollo de terapias dirigidas a dianas moleculares críticas. Este enfoque mecanístico condujo al diseño de inhibidores de la tirosina cinasa y otros agentes focalizados, capaces de bloquear rutas de señalización esenciales para la proliferación y la supervivencia celular tumoral, aumentando la selectividad terapéutica y reduciendo la toxicidad sistémica asociada a la quimioterapia convencional. De manera paralela, la comprensión progresiva de los mecanismos inmunológicos del tumor facilitó la introducción de estrategias terapéuticas innovadoras, como anticuerpos monoclonales e inhibidores de puntos de control inmunitario, que potencian la respuesta inmune antitumoral y consolidan la inmunoterapia como un componente central del manejo oncológico contemporáneo.
Contemporánea	2002 - Actualidad	En el umbral del tercer milenio, la oncología se sustenta en estrategias multimodales que integran cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapias dirigidas e inmunoterapia en esquemas cada vez más personalizados. Paralelamente, la incorporación de herramientas in silico, modelos in vitro y estudios preclínicos ha acelerado el desarrollo de nuevos fármacos biotecnológicos, incluidos CAR-T, vacunas antitumorales y terapias génicas, que ya muestran resultados prometedores y anticipan el inicio de una nueva revolución terapéutica, marcada por la convergencia entre la investigación molecular avanzada y la aplicación clínica de precisión.

Nota: Tabla elaborada a partir de la información descrita por: DeVita Jr y Chu (2008); Falzone et al. (2018); Instituto Nacional del Cáncer (2025); Spagnolo et al. (2025).

2.2.2. Clasificación de los fármacos antineoplásicos

Históricamente, los agentes antineoplásicos se habían organizado en un esquema taxonómico clásico que distinguía entre agentes alquilantes, antimetabolitos, productos naturales, hormonas, antagonistas y una categoría residual denominada misceláneos (Institutos Nacionales de Salud, 2024). Con el tiempo, esta última categoría incorporó progresivamente fármacos de creciente relevancia en la terapéutica oncológica contemporánea, revelando las limitaciones epistemológicas y operativas de dicho marco conceptual, especialmente su incapacidad para captar la complejidad mecanística y la diversidad funcional de los agentes disponible (Ostios-Garcia, 2024).

En respuesta a estas limitaciones, se han desarrollado múltiples estrategias de reclasificación que buscan articular criterios más precisos y funcionales. En este contexto, se han propuesto al menos cuatro ejes clasificatorios principales (Institutos Nacionales de Salud, 2024): (1) la indicación terapéutica, que agrupa a los fármacos según el tipo de neoplasia para la cual están aprobados (linfomas, leucemias, melanomas o tumores sólidos); (2) el mecanismo de acción, que contempla categorías como agentes alquilantes, antibióticos antineoplásicos, modificadores de la respuesta biológica, antiandrógenos, inhibidores de la topoisomerasa e inhibidores de proteínas cinasas; (3) la estructura química, que diferencia entre análogos del ácido fólico, complejos de coordinación de platino, análogos de purina o pirimidina y anticuerpos monoclonales; y (4) la selectividad biológica, que distingue agentes citotóxicos o inespecíficos frente a agentes no citotóxicos o dirigidos, en función de su grado de especificidad hacia blancos moleculares definidos.

No obstante, dado que cada marco enfatiza un nivel distinto de análisis, la coexistencia de múltiples sistemas clasificatorios ha generado una fragmentación conceptual, lo que dificulta la comparación transversal y la construcción de narrativas integradas en la literatura oncológica especializada (Ostios-Garcia, 2024). Por ello, con el propósito de superar estas barreras, ha surgido una propuesta de reclasificación centrada en el locus biológico de acción de los agentes antineoplásicos, cuya sistematización se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. *Clasificación de los fármacos antineoplásicos según su locus biológico y su mecanismo de acción molecular.*

Categoría	Locus biológico	Mecanismo de acción	Agentes representativos	Descripción
Fármacos dirigidos a la célula tumoral	Agentes con diana nuclear	Inductores de daño directo al ADN	Agentes alquilantes	Los agentes alquilantes, incluidos las mostazas nitrogenadas, los compuestos de platino, las nitrosoureas y los triazénicos, ejercen su efecto citotóxico mediante la formación de enlaces covalentes con nucleófilos del ADN, principalmente en posiciones como N7 y O6 de guanina, generando puentes cruzados intra- e intermoleculares que distorsionan la hélice. Estas alteraciones estructurales interfieren con la progresión de la horquilla de replicación y la transcripción, inducen la acumulación de roturas de doble cadena y activan las vías de respuesta al daño en el ADN dependientes de ATM/ATR.
		Interferencia con la síntesis de ácidos nucleicos	Antimetabolitos	Los antimetabolitos, incluyendo antifolatos, análogos de purinas y pirimidinas, y los inhibidores de la sintasa de timidilato, ejercen su acción citotóxica al actuar como sustratos falsos o inhibidores enzimáticos de rutas biosintéticas críticas para la síntesis de nucleótidos. Esta interferencia compromete la disponibilidad de desoxirribonucleótidos durante la fase S, provocando estrés replicativo, la activación de checkpoints dependientes de ATR/Chk1 y la detención del ciclo celular.
			Inhibidores de ribonucleótido reductasa, DNA-metiltransferasa y L-asparaginasa	Los inhibidores de la ribonucleótido reductasa interrumpen la conversión de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos, comprometiendo directamente la síntesis de ADN. Paralelamente, los inhibidores de la metiltransferasa del ADN inducen hipometilación del epigenoma, modulando patrones de expresión génica esenciales para la supervivencia tumoral. Por su parte, la L-asparaginasa priva a la célula de aminoácidos esenciales, lo que altera su metabolismo proteico. La convergencia de estos mecanismos impacta de forma coordinada en la replicación del ADN, la regulación génica y el metabolismo celular, culminando en la inhibición del crecimiento tumoral y en la inducción selectiva de muerte celular en las células neoplásicas.

Modulación de proteínas nucleares	Inhibidores de topoisomerasas I y II	Los inhibidores de topoisomerasas I y II ejercen su acción citotóxica al estabilizar los complejos transitorios formados entre la enzima y el ADN, transformando estas topoisomerasas, normalmente encargadas de aliviar tensiones durante la replicación y la transcripción, en generadoras de rupturas de cadena de ADN. Esta conversión de una función reparadora en una fuente de daño genómico compromete la integridad del ADN, detiene la progresión del ciclo celular y conduce a la muerte de las células neoplásicas.
	Antibióticos antitumorales	Los antibióticos antitumorales, como las antraciclinas, ejercen su efecto citotóxico mediante un mecanismo multimodal que combina la intercalación específica en la doble hélice del ADN y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). La interacción sinérgica de estos procesos altera la estabilidad genómica, induce estrés oxidativo intracelular y bloquea la replicación y transcripción del ADN, conduciendo de manera coordinada a la detención del ciclo celular y a la muerte de las células neoplásicas
	Inhibidores epigenéticos	Los inhibidores epigenéticos, particularmente los inhibidores de las desacetilasas de histona, ejercen su efecto terapéutico mediante la modulación del estado de acetilación de las histonas, lo que conlleva a modificaciones estructurales de la cromatina y una regulación más controlada de la expresión génica. De forma complementaria, los inhibidores de PARP se basan en el principio de letalidad sintética, explotando las deficiencias en la reparación del ADN por recombinación homóloga presentes en determinados tumores, lo que favorece la acumulación de daño genómico y culmina en la eliminación selectiva de las células neoplásicas.
	Inhibidores de HIF-2, chaperonas (ej. Hsp90) y cinasas dependientes de ciclinas (CDK4/6)	Los inhibidores dirigidos contra HIF-2, las chaperonas moleculares y las cinasas dependientes de ciclinas, en particular CDK4/6, interfieren de manera selectiva con la ejecución de procesos celulares esenciales para la viabilidad tumoral. En concreto, estos agentes alteran la respuesta adaptativa a la hipoxia,

			comprometen el plegamiento y la estabilidad funcional de las oncoproteínas y bloquean la progresión ordenada del ciclo celular, respectivamente, lo que, en conjunto, limita la supervivencia y la proliferación de las células neoplásicas.
Agentes con diana citoplasmática	Fármacos antimitóticos	Taxanos, alcaloides de la vinca, eribulina y epotilonas	Los taxanos, los alcaloides de la vinca, la eribulina y las epotilonas ejercen su efecto antineoplásico mediante su unión específica a la tubulina o a los microtúbulos polimerizados, alterando de forma diferencial la dinámica de ensamblaje y desensamblaje del huso mitótico. Esta disrupción de la estabilidad microtubular compromete la correcta progresión de la mitosis, conduce a un arresto sostenido en la fase M del ciclo celular y desencadena la muerte celular mediante mecanismos de catástrofe mitótica.
		Conjugados anticuerpo-fármaco con toxinas (auristatina y derivados de maytansina)	Los conjugados anticuerpo-fármaco que incorporan cargas citotóxicas, como las auristatinas o los derivados de la maytansina, se conciben como plataformas terapéuticas dirigidas al reconocimiento selectivo de antígenos sobreexpresados en la superficie de las células tumorales. Tras la unión específica al antígeno diana y la posterior internalización del complejo, la liberación controlada del agente citotóxico en el compartimento intracelular interfiere con la dinámica de los microtúbulos, induciendo el arresto mitótico y promoviendo la muerte selectiva de las células neoplásicas.
	Inhibidores de vías de señalización y metabolismo	Inhibidores de BRAF, MEK, KRAS, HRAS, PI3K, mTOR, BTK, IDH, y del proteasoma	Los inhibidores dirigidos frente a componentes estratégicos de las vías de señalización intracelular, junto con los inhibidores del proteasoma, ejercen su acción terapéutica mediante la interrupción selectiva de cascadas moleculares esenciales para la regulación de la supervivencia, el metabolismo y la homeostasis proteica. La inhibición de estos nodos críticos conlleva una alteración profunda de la transmisión de señales oncogénicas y de los mecanismos de control de proteínas aberrantes, lo que, de manera integrada, favorece la supresión del crecimiento tumoral y la inducción de estrés celular en las células neoplásicas.

			Moduladores de receptores hormonales citosólicos	Los moduladores de receptores hormonales localizados en el citosol, como los antiandrógenos de nueva generación y los moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM y SERD), ejercen su efecto terapéutico mediante la alteración de la transducción de señales esteroideas en fases previas a la translocación nuclear del complejo receptor-ligando. Esta interferencia temprana impide la activación transcripcional hormonodependiente, contribuyendo a la inhibición de programas génicos asociados a la proliferación y supervivencia celulares en tejidos hormonodependientes.
	Agentes con diana en la membrana celular tumoral	Receptores de tirosina cinasa y otras proteínas de superficie	Anticuerpos monoclonales, inhibidores de tirosina cinasa (TKI) e inmunoconjugados dirigidos contra EGFR, HER2, ALK, ROS1, MET, FGFR, NTRK, RET, KIT, antígenos hematológicos (CD20, CD22, CD30, CD33, CD38) y antígenos de superficie (Trop-2, SSTR)	Los anticuerpos monoclonales, los TKI y los inmunoconjugados dirigidos contra dianas expresadas en la membrana celular tumoral, incluidas proteínas de linaje hematológico y otros antígenos de superficie, ejercen su efecto terapéutico al interferir de manera selectiva con la señalización mediada por receptores transmembrana. Estos agentes actúan bloqueando la activación y la fosforilación de los dominios de tirosina de la cinasa, promoviendo la internalización y degradación de los receptores o activando mecanismos de citotoxicidad inmunomediada y, en el caso de los inmunoconjugados, la liberación intracelular de cargas citotóxicas. En conjunto, estos procesos alteran la función de la membrana tumoral, reducen las señales de proliferación y supervivencia celulares y favorecen la eliminación selectiva de las células neoplásicas.
Fármacos dirigidos a la vasculatura tumoral		Inhibidores de receptores endoteliales	TKI multi-diana (axitinib, sunitinib, sorafenib, pazopanib, regorafenib, cabozantinib, lenvatinib, tivozanib, vandetanib)	Los TKI de perfil multidiana se distinguen por inhibir de forma sostenida los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular. No obstante, de manera concomitante, estos agentes también interfieren con otras cinasas clave implicadas tanto en la angiogénesis tumoral como en la regulación de la proliferación celular, entre ellas PDGFR, c-KIT y RET, lo que integra un perfil farmacodinámico complejo que combina efectos antiangiogénicos y antiproliferativos con impacto directo sobre el crecimiento tumoral y su microambiente.

	Inhibidores de ligandos proangiogénicos	Bevacizumab y aflibercept	Bevacizumab y aflibercept ejercen su acción antiangiogénica mediante la neutralización del factor de crecimiento endotelial vascular, fundamentalmente VEGF-A y, en el caso de aflibercept, otras isoformas relacionadas, lo que impide la activación de los receptores VEGFR en el endotelio tumoral. La inhibición sostenida de esta vía proangiogénica conduce a una remodelación funcional de la vasculatura tumoral, caracterizada por cambios en la perfusión tisular y por una disminución de la presión intersticial, lo que contribuye de manera directa a la modulación del microambiente tumoral.
Fármacos dirigidos al sistema inmune	Inhibidores de puntos de control inmunitario	Anticuerpos frente a PD-1 (nivolumab, pembrolizumab, dostarlimab), PD-L1 (atezolizumab, durvalumab, avelumab), CTLA-4 (ipilimumab), LAG-3 (relatlimab)	Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los puntos de control inmunitario PD-1, PD-L1, CTLA-4 y LAG-3 ejercen su acción terapéutica al interferir con las vías inhibitorias que regulan negativamente la activación y la función efectora de los linfocitos T. El bloqueo de estas señales inmunosupresoras permite restaurar la actividad citotóxica de dichas células, revertir los estados de agotamiento funcional y reforzar la respuesta inmune antitumoral, lo que consolida a estos agentes como un pilar fundamental de la inmunoterapia oncológica contemporánea.
	Terapias de activación de células T	Terapias celulares adoptivas (CAR-T, TCR-T)	Las terapias celulares adoptivas constituyen una forma avanzada de inmunoterapia personalizada basada en la ingeniería genética de linfocitos T, cuyo objetivo es conferir una elevada especificidad antitumoral. En este contexto, los linfocitos CAR-T reconocen antígenos tumorales independientemente del complejo mayor de histocompatibilidad, mientras que las células TCR-T dependen de la presentación antigénica mediada por dicho complejo.
		Anticuerpos biespecíficos (BiTE y ImmTAC)	Los anticuerpos biespecíficos median la unión simultánea del complejo CD3/TCR de los linfocitos T con antígenos tumorales específicos, estableciendo una interacción funcional que fuerza la proximidad celular y da lugar a la formación de sinapsis inmunológicas artificiales. Este acoplamiento dirigido

			desencadena una activación localizada de los linfocitos T, con subsecuente señalización intracelular y la ejecución de una respuesta citotóxica focalizada frente a las células neoplásicas.
	Inmunomoduladores y otros agentes inmunoterápicos	Derivados de talidomida (lenalidomida y pomalidomida)	Los derivados de la talidomida se encuadran dentro del grupo de agentes inmunomoduladores y se distinguen por ejercer efectos pleiotrópicos que, de manera coordinada, regulan la producción de citocinas, modulan los procesos angiogénicos y potencian la función efectora de linfocitos T y células NK. La integración funcional de estos mecanismos permite una modulación simultánea de la respuesta inmunitaria y del microambiente tumoral, lo que contribuye a inhibir el crecimiento tumoral y a restringir la dinámica proliferativa neoplásica.
		Agentes inmunoactivadores locales (BCG intravesical e imiquimod)	Los agentes inmunomoduladores como el bacilo de Calmette-Guérin (BCG) administrado por vía intravesical y el imiquimod ejercen su efecto terapéutico mediante la activación coordinada de la inmunidad innata, lo que conduce a una intensificación de la presentación antigénica local. Este fenómeno favorece el reclutamiento y la activación secuencial de células inmunitarias efectoras, lo que amplifica la respuesta antitumoral en el microambiente tisular y contribuye al control local de la enfermedad.
		Citocinas recombinantes (interferones, IL-2), vacunas terapéuticas y virus oncolíticos (T-VEC)	Las citocinas recombinantes, junto con las vacunas terapéuticas, entre ellas sipuleucel-T, y los virus oncolíticos se caracterizan por su capacidad para modular, potenciar o inducir respuestas inmunitarias antitumorales, ya sean específicas o inespecíficas, mediante la activación directa de células efectoras del sistema inmune o la estimulación del reconocimiento inmunológico del tumor.
Fármacos dirigidos al sistema endocrino	Tejidos productores de estrógenos	Inhibidores de aromatasa (anastrozol, letrozol, exemestano)	Los inhibidores de la aromatasa, ya sean esteroideos o no esteroideos, bloquean la actividad de la enzima aromatasa de forma irreversible o reversible, respectivamente, interrumpiendo la conversión periférica de andrógenos en estrógenos y provocando una disminución significativa de los niveles

		circulantes de esta hormona. Esta reducción atenúa la activación de los receptores esteroideos en células tumorales hormonosensibles y modula la señalización intracelular mediada por estrógenos, lo que genera un efecto antiproliferativo sobre los tejidos dependientes de hormonas.
Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas	Análogos y antagonistas de GnRH (goserelina, leuprorelina, triptorelina, degarelix) y progestágenos.	Los análogos y antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) inhiben de manera sostenida la secreción hipofisaria de las hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH), lo que conduce a una reducción significativa de la síntesis gonadal de andrógenos y estrógenos. De manera complementaria, los progestágenos, como el megestrol, potencian este efecto mediante una acción antigonadotrópica y un efecto antiproliferativo directo sobre los tejidos diana dependientes de hormonas, integrando así una doble estrategia de control sobre la producción hormonal y la proliferación celular.
Corteza suprarrenal	Abiraterona y mitotano	La abiraterona actúa como inhibidor selectivo de la enzima 17-alfa-hidroxilasa/17,20-liasa, interrumpiendo de manera eficiente la síntesis de andrógenos tanto de origen suprarrenal como de origen testicular. Por su parte, el mitotano ejerce efectos adrenolíticos y antisecretores sobre los tumores de la corteza suprarrenal, modulando la función y la proliferación de las células adrenocorticales.

Nota: Tabla elaborada a partir de la información descrita por: Ostios-Garcia et al. (2024).

2.2.3. Principales fármacos antineoplásicos

Según los datos de ventas anuales, los inhibidores de puntos de control inmunológico y los anticuerpos monoclonales se han consolidado como los antineoplásicos de mayor facturación, desplazando de manera sostenida a las quimioterapias convencionales. A modo de ilustración, en 2023 el pembrolizumab (Keytruda) lideró las ventas mundiales, superando los 25 000 millones de dólares, seguido por daratumumab (Darzalex) con 11 700 millones y nivolumab (Opdivo) con más de 9 300 millones (Truccolo, 2024; Rashid, 2025). No obstante, este panorama, construido fundamentalmente a partir de indicadores económicos, no resulta directamente extrapolable al patrón real de utilización clínica de los antineoplásicos a escala global. Lo anterior se debe principalmente al sesgo inherente de las métricas de ventas, que tienden a sobrerrepresentar los mercados farmacéuticos de altos ingresos y a subestimar la realidad terapéutica de contextos con mayores limitaciones económicas, estructurales y asistenciales. En este marco, el análisis basado en datos de prescripción adquiere un valor analítico central, al ofrecer una aproximación más fiel al consumo farmacológico efectivo e integrar no solo la disponibilidad formal de los fármacos, sino también su accesibilidad clínica y su incorporación sostenida en la práctica asistencial cotidiana.

Así, desde una perspectiva centrada en el uso clínico efectivo, los estudios realizados en distintos contextos geográficos demuestran de manera consistente que los antineoplásicos más frecuentemente prescritos no coinciden con los agentes de mayor facturación. Por el contrario, tienden a corresponder a fármacos caracterizados por un uso poblacional amplio y una administración prolongada en el tiempo. En Estados Unidos, por ejemplo, los antineoplásicos más prescritos en 2024 fueron agentes hormonales como el anastrozol, que representó el 6.40 % de las recetas oncológicas dispensadas, seguido del letrozol (3.80 %) y del tamoxifeno (3.00 %) (Definitive Healthcare, 2025). De manera similar, un estudio sobre prescripciones hospitalarias en China entre 2017 y 2022 identificó al letrozol como el antineoplásico más prescrito, con 6 145 registros, equivalente al 25.66 % de todas las prescripciones oncológicas durante el periodo analizado, seguido por los inhibidores de BCR-ABL (imatinib, dasatinib, nilotinib) con 2 196 prescripciones (9.17 %) y los inhibidores de EGFR (gefitinib, erlotinib, osimertinib, almonertinib) con 2 013 prescripciones (8.40 %) (Lv et al., 2023). En conjunto, estos datos sugieren que, incluso en mercados con un acceso creciente a terapias innovadoras, los agentes hormonales y los inhibidores dirigidos

continúan desempeñando un papel central en la práctica clínica cotidiana. No obstante, en países de ingresos medios y bajos, esta divergencia entre facturación y uso clínico resulta aún más marcada, observándose una clara centralidad de los quimioterápicos clásicos. En países como Tanzania e India, por ejemplo, el cisplatino y el 5-fluorouracilo figuran entre los antineoplásicos más prescritos y se administran a más del 40 % de los pacientes oncológicos (Vijayalakshmi et al., 2020; Efraim et al., 2022).

En síntesis, a pesar del predominio discursivo y económico de los fármacos biológicos de nueva generación, los inhibidores de BCR-ABL, particularmente imatinib, así como los agentes citotóxicos clásicos, como el cisplatino, continúan ocupando un lugar central en la práctica clínica oncológica a escala global. Esta persistencia se sustenta en un cuerpo robusto de evidencia que respalda su eficacia clínica, así como en su amplia versatilidad terapéutica y en una accesibilidad relativa que favorece su incorporación sostenida en diversos contextos asistenciales, especialmente en sistemas sanitarios con recursos limitados.

2.3. Cisplatino

El cisplatino (cis-diamminodicloroplatino(II), también denominado CDDP o cis-$[PtCl_2(NH_3)_2]$) es un compuesto de coordinación de geometría cuadrado-planar (Figura 3) y peso molecular de 300,05 g/mol, ampliamente usado como fármaco antineoplásico debido a su mecanismo de acción alquilante (Dasari y Tchounwou, 2014). Su relevancia clínica se consolidó al convertirse en el primer agente quimioterapéutico basado en platino aprobado por la FDA en 1978, hecho que marcó un hito en el tratamiento farmacológico del cáncer. Desde entonces, y a pesar de la introducción de otros agentes antineoplásicos innovadores, el cisplatino continúa ocupando un lugar central en la práctica oncológica, dado su amplio espectro de actividad frente a diversas neoplasias sólidas y hematológicas, incluyendo los cánceres de vejiga, cabeza, cuello, pulmón, ovario y testículo, así como ciertos linfomas (Thompson y Joy, 2024). Esta vigencia terapéutica se refleja en estimaciones epidemiológicas recientes, las cuales indican que más del 50% de las personas diagnosticadas anualmente con cáncer son potencialmente candidatas a recibir esquemas de tratamiento que incluyen cisplatino (Roque-Diaz et al., 2021).

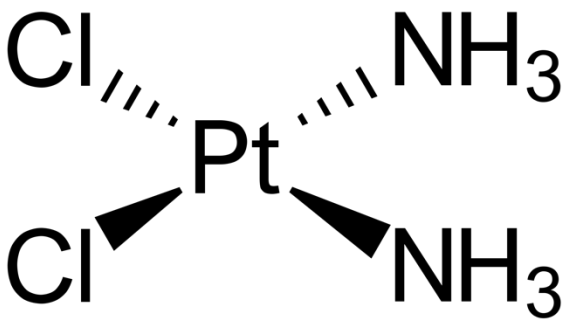


Figura 3. *Estructura química del cisplatino*. Desde una perspectiva química, el cisplatino consiste en un átomo central de platino(II) coordinado a dos ligandos amoníaco (NH_3) y dos iones cloruro (Cl^-), dispuestos en una configuración cis cuya conservación resulta crítica para su actividad farmacológica y citotóxica (Dasari y Tchounwou, 2014).

2.3.1. Mecanismo de acción del cisplatino

El cisplatino es una molécula pequeña y eléctricamente neutra, con un peso molecular aproximado de 300.1 Da en su estado nativo, lo que le permite atravesar la membrana celular mediante difusión pasiva (Thompson y Joy, 2024). No obstante, este mecanismo no constituye la única vía de internalización. Diversos estudios han demostrado que el cisplatino también puede ingresar activamente al interior celular a través de proteínas transportadoras específicas, entre las que destacan los transportadores de cobre, como Ctr1, así como miembros de la familia de proteínas de resistencia a múltiples fármacos, en particular MRP2 (Dasari y Tchounwou, 2014). Una vez en el compartimento intracelular, el cisplatino se encuentra expuesto a un entorno caracterizado por una concentración de cloruros sustancialmente inferior a la del plasma sanguíneo. Esta diferencia favorece un proceso de acuación progresiva, en el cual uno o ambos ligandos cloruro son sustituidos por moléculas de agua, dando lugar a la formación de especies altamente reactivas, tales como el monoaqua- y el diaquacisplatino (Lenz et al., 2005). Estas especies hidratadas presentan un marcado carácter electrofílico, lo que les permite interactuar con sitios nucleofílicos del ADN, en particular con las purinas, preferentemente en la posición N7 de los residuos de guanina, originando aductos tanto intramoleculares como intermoleculares (Dasari y Tchounwou, 2014). La formación de estos entrecruzamientos induce una distorsión estructural característica de la doble hélice del ADN, generando una curvatura o "kink" con un ángulo

aproximado de 30 – 40°, lo que dificulta su reconocimiento por los sistemas de reparación del ADN en las células tumorales (Steed, 2012). En este contexto, la acumulación progresiva y persistente de aductos y entrecruzamientos en el ADN no solo compromete la estabilidad genómica, sino que también actúa como un estímulo sostenido para la activación coordinada de múltiples vías de respuesta celular al daño genético, cuya convergencia funcional culmina finalmente en la inducción de la muerte celular programada (Figura 4).

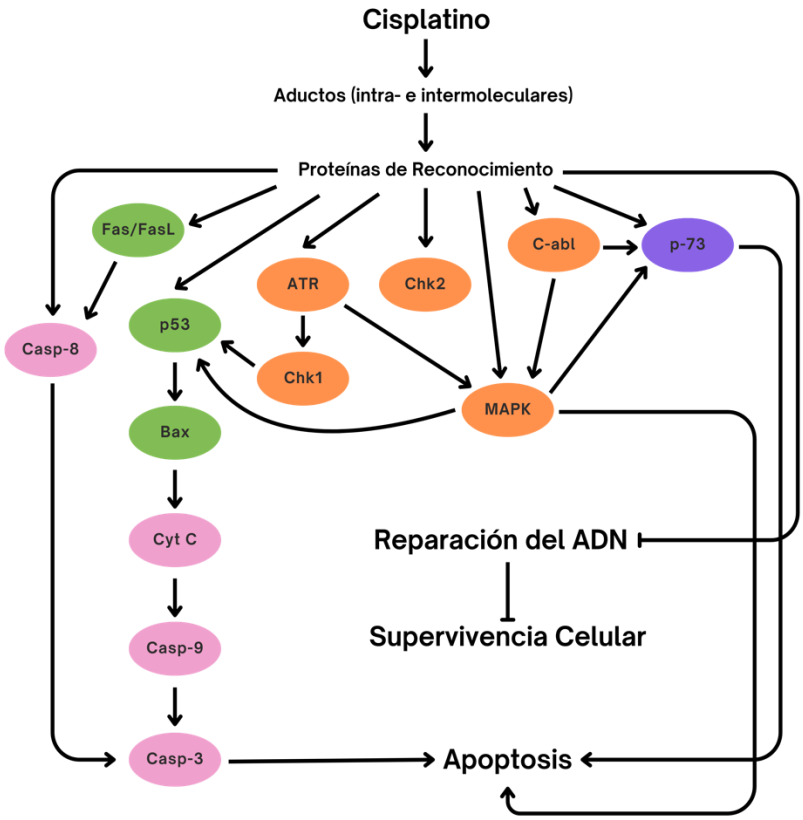


Figura 4. *Vías moleculares implicadas en la inducción de la apoptosis por cisplatino.* El cisplatino ejerce su efecto citotóxico principalmente mediante la formación de aductos con el ADN, lo que provoca daño genómico y activa la respuesta celular al estrés. Dichas lesiones son reconocidas por cinasas sensoras como ATR, que desencadenan vías de señalización dependientes de p53, p73 y MAPK, lo que integra la respuesta al daño del ADN. Esta señalización coordinada favorece la inducción tanto de la vía intrínseca como de la extrínseca de la apoptosis. La vía mitocondrial implica la liberación de citocromo c, la activación secuencial de la caspasa 9 y, finalmente, de la caspasa 3. De manera complementaria, la vía

extrínseca puede activarse mediante el sistema FasL/Fas, lo que conduce a la activación de la caspasa 8. La regulación de estos procesos depende de cinasas de control del ciclo celular, como Chk1 y Chk2, y de moduladores de la estabilidad de p53, como Mdm2, lo que conduce a la eliminación programada de las células tumorales (Thompson y Joy, 2024).

2.3.2. Farmacocinética del cisplatino

El cisplatino puede administrarse a través de distintas vías, entre las que destacan la vía intravenosa, empleada tanto en infusiones de corta duración (15–60 minutos) como en infusiones prolongadas (>6 horas), así como las vías intraarterial e intraperitoneal (Thompson y Joy, 2024). No obstante, estas últimas modalidades de administración suelen reservarse para esquemas terapéuticos multimodales altamente especializados o para ensayos clínicos, por lo que no constituyen la práctica clínica estándar en la mayoría de las indicaciones. Una vez adminsitrado, el cisplatino se distribuye ampliamente en el organismo, aunque de manera marcadamente heterogénea, lo que condiciona tanto su eficacia terapéutica como su perfil de toxicidad. Los principales sitios de acumulación son los riñones, el hígado y los intestinos, donde el compuesto puede persistir hasta por cuatro semanas. De forma complementaria, se han identificado concentraciones apreciables en otros tejidos, incluidos el músculo esquelético, la vejiga, los testículos, la próstata, el páncreas y el bazo (Crom, 1994), lo que pone de manifiesto su extensa afinidad tisular.

A diferencia de numerosos fármacos convencionales, el cisplatino parece ser menos dependiente del metabolismo enzimático clásico y más proclive a reacciones de desplazamiento químico con nucleófilos celulares. En particular, estudios recientes han demostrado que, a nivel renal, la glutatión S-transferasa (GST) cataliza la conjugación del cisplatino con glutatión, proceso que puede conducir posteriormente a la formación de un tiol altamente reactivo, estrechamente vinculado al desarrollo de nefrotoxicidad (McSweeney et al., 2021). Este comportamiento metabólico, junto con su marcada afinidad por proteínas y componentes tisulares, se refleja directamente en su proceso de eliminación. En este sentido, aunque el cisplatino presenta una vida media plasmática inicial breve, estimada entre 20 y 30 minutos, seguida de una vida media terminal aproximada de 24 horas (Gold y Raja, 2023), la eliminación del platino total, predominantemente unido a proteínas, ocurre de manera considerablemente más lenta. En consecuencia, la fase terminal de eliminación puede

prolongarse durante varios días o incluso semanas, lo que explica su persistencia tisular, su acumulación progresiva tras administraciones repetidas y la estrecha relación entre su cinética de eliminación y la aparición de efectos tóxicos tardíos (Thompson y Joy, 2024).

2.3.3. Vías de entrada del cisplatino al ambiente

La presencia de cisplatino en los sistemas acuáticos se explica predominantemente por su incorporación a las aguas residuales urbanas como consecuencia de la excreción urinaria generada por los pacientes oncológicos tratados en régimen ambulatorio. Este fenómeno deriva, fundamentalmente, de la combinación entre una vida media plasmática relativamente prolongada del fármaco y la corta duración de la estancia hospitalaria, lo que favorece que una fracción sustancial del cisplatino administrado sea excretada tras el alta médica y, por ende, fuera del entorno hospitalario (Lenz et al., 2005; Vyas et al., 2014; Roque-Díaz et al., 2021). En este contexto, diversos estudios han cuantificado la proporción del platino excretado directamente desde las instalaciones hospitalarias frente a la liberada de manera diferida a través del sistema de alcantarillado urbano. Por ejemplo, un estudio realizado en Viena en 2005 evidenció que únicamente el 27 ± 12 % del platino administrado se recupera en el efluente de un servicio oncológico hospitalario, lo que indica que la mayor parte del fármaco es excretada posteriormente en el ámbito domiciliario (Lenz et al., 2005). De manera concordante, una investigación llevada a cabo en el Reino Unido en 2014 estimó que solo alrededor del 22 % del platino administrado se descarga directamente desde el hospital, mientras que el porcentaje restante se incorpora al sistema de alcantarillado municipal como parte de las aguas residuales domésticas (Vyas et al., 2014). En consecuencia, la principal vía de entrada del cisplatino al medio acuático no corresponde al efluente hospitalario inmediato, sino a una descarga difusa asociada al uso ambulatorio del fármaco. No obstante, esta predominancia de la vía doméstica no invalida la relevancia ambiental de las aguas residuales hospitalarias, particularmente aquellas procedentes de servicios oncológicos especializados. De hecho, se ha documentado que las concentraciones totales de platino en estos efluentes pueden oscilar entre 4.7 y 145 μg/L durante periodos de hasta 28 días, lo que pone de manifiesto un potencial significativo de carga puntual sobre los sistemas de saneamiento y tratamiento (Lenz et al., 2005). Esta situación adquiere especial relevancia si se considera que las PTAR convencionales no están específicamente diseñadas para la

eliminación completa de compuestos citotóxicos. En este sentido, aunque se ha documentado una retención cercana al 92 % del cisplatino en los fangos activados, la fracción remanente sigue siendo descargada al medio acuático a un flujo estimado de 19.5 ng/s, lo que confirma la existencia de una vía continua de emisión ambiental y pone en evidencia las limitaciones estructurales de los sistemas de tratamiento convencionales para la remoción de compuestos citotóxicos (Vyas et al., 2014).

2.3.4. Remoción del cispaltino en PTAR

Según estudios recientes, los métodos convencionales empleados en las PTAR, tales como la coagulación, la floculación, la sedimentación y los tratamientos biológicos, presentan una eficacia limitada en la eliminación o degradación de citostáticos de platino, como el cisplatino y el carboplatino (Abdulbur-Alfakhoury et al., 2021; Roque-Díaz et al., 2021). En consecuencia, la comunidad científica ha reconocido de manera generalizada la necesidad urgente de desarrollar tecnologías más especializadas que permitan alcanzar tasas de remoción significativamente superiores a las obtenidas mediante los procesos convencionales. En este contexto, la adsorción se posiciona como una de las técnicas más versátiles y ampliamente investigadas, reportando eficiencias de eliminación que oscilan entre el 75 % y el 98.5 %, en función de las propiedades del material adsorbente y de las condiciones operativas empleadas (Farías y Ye, 2020; Dobrzyńska et al., 2021; Han et al., 2023a; Han et al., 2023b). No obstante, es importante señalar que dichas eficiencias han sido alcanzadas exclusivamente bajo condiciones de laboratorio estrictamente controladas de agitación, temperatura y pH. Asimismo, en la mayoría de los casos, la síntesis de estos materiales especializados requiere procesos de funcionalización química específicos, lo que implica costos de producción elevados y limitaciones significativas en la escalabilidad industrial, haciendo inviable su implementación masiva en instalaciones municipales.

Por otra parte, tecnologías avanzadas como la fotocatálisis heterogénea y los sistemas de plasma de descarga por barrera dieléctrica (DBD) también han demostrado una elevada eficacia en la transformación y eliminación del cisplatino (Tabla 4; Barbosa et al., 2023; Sauvageau et al., 2023). Sin embargo, estas alternativas enfrentan desafíos aún mayores en términos de viabilidad económica y escalabilidad. En particular, la aplicación de procesos fotocatalíticos a escala industrial se ve severamente restringida por la necesidad de

irradiación ultravioleta continua de alta potencia, lo que implica un consumo energético elevado e incompatible con el tratamiento de los grandes volúmenes de agua residual característicos de las PTAR. Adicionalmente, la generación de ácidos inorgánicos como subproductos de la oxidación de especies nitrogenadas, así como la necesidad de separar nanopartículas sedimentadas mediante procesos adicionales de sedimentación o centrifugación, incrementan considerablemente la complejidad operativa y los costos asociados al tratamiento secundario, tanto en sistemas fotocatalíticos como en tecnologías de plasma DBD. En este sentido, resulta evidente que los esfuerzos de la comunidad científica deben orientarse no solo hacia la maximización de las eficiencias de remoción bajo condiciones de laboratorio, sino también hacia el desarrollo de tecnologías híbridas, la optimización de la economía de escala en la síntesis de materiales adsorbentes y la integración de estos procesos avanzados en esquemas de tratamiento progresivo.

Tabla 4. *Tecnologías fisicoquímicas avanzadas para la remoción, recuperación y transformación de cisplatino en matrices acuosas.*

Método	Condiciones	Concentración	Tiempo	Resultados	Referencia
Adsorción	El material adsorbente empleado consistió en criogeles de poli(HEMA-co-MAAc), caracterizados por una estructura macroporosa con tamaños de poro entre 10 y 100 µm. Los ensayos de adsorción en lote se realizaron tras la hidratación previa de los criogeles secos en agua destilada, poniéndolos en contacto con soluciones acuosas de cisplatino (0.25–2 mg/mL) a una relación sólido/líquido de 10 mg/mL, a temperatura ambiente y bajo agitación en una mesa oscilante. Los estudios de equilibrio se realizaron durante hasta 24 h, mientras que los estudios cinéticos se extendieron hasta 48 h. Los ensayos de desorción y regeneración se llevaron a cabo en medios acuosos con control de la fuerza iónica y del pH (agua, soluciones de NaCl, tampón acetato a pH 3.5 o tampón NaOH a 2 mM).	0.25 – 2 mg/mL	48 h	Los criogeles de poli(HEMA-co-MAAc) exhibieron una elevada afinidad por el cisplatino, con capacidades de adsorción que aumentaron al incrementar el contenido de MAAc, alcanzando valores de hasta 150 mg de cisplatino por gramo de criogel en las isotermas. La cinética de adsorción del criogel óptimo se describió adecuadamente mediante un modelo de pseudo-segundo orden y un modelo de difusión intrapartícula en dos etapas, alcanzándose el equilibrio entre 24 y 48 h, según la concentración inicial. Los ensayos de desorción evidenciaron una fuerte interacción entre el cisplatino y los grupos carboxilo, con desorciones parciales que aumentaron al incrementar la fuerza iónica y que estuvieron influenciadas por cambios estructurales dependientes del pH. Finalmente, el empleo de NaOH 2 mM como agente desorbente permitió la reutilización del criogel durante al menos 14 ciclos consecutivos, con cargas de 50–60 mg/g por ciclo y una adsorción acumulada próxima a 650 mg/g, sin pérdida apreciable de la integridad estructural.	Farías y Ye, 2020
	El material adsorbente consistió en sílices mesoporosas tipo SBA-15 funcionalizadas con grupos tiocianato e impresas iónicamente con Pt(II). Los ensayos de adsorción en lote se llevaron a cabo utilizando partículas secas en una relación sólido/líquido de 1 g/L (5 mg de sorbente en 5 mL de solución), en contacto con disoluciones acuosas de Pt(II) preparadas en	70 – 100 mg/L	72 h	Los materiales ion-imprinted exhibieron una elevada capacidad de adsorción de especies de Pt(II), alcanzando capacidades máximas del orden de 76 – 78 mg de Pt por g de sorbente en los estudios de isotermas. Aproximadamente el 80% de la adsorción se alcanzó en la primera hora, estableciéndose el equilibrio en torno a 5 h, en contraste con las 72 h requeridas por los materiales	Dobrzyńska et al., 2021

orina sintética (94% agua, 4.6% urea, 0.33% creatinina, 0.76% NaCl y 0.31% K_2SO_4, m/m). Las suspensiones se mantuvieron bajo agitación constante (120 rpm), a 25 ± 0.5 °C y presión atmosférica, evaluándose el efecto del pH en el intervalo 0.9 – 4.3 y seleccionándose pH 2.5 como condición operativa para los estudios sistemáticos. Los ensayos de desorción y regeneración se realizaron en medio acuoso empleando soluciones de HCl, HNO_3 y tiourea acidificada como agentes eluentes.			no impresos. La adsorción se mantuvo elevada (≥70% del valor máximo) en un amplio rango de pH ácido y mostró alta selectividad por Pt(II) en presencia de Au(III), Pd(II) y Ru(III). En los ensayos de adsorción–desorción empleando tiourea acidificada (1 mol/L en HCl al 5%) como agente eluente, se logró la desorción de aproximadamente el 92% del platino en cada ciclo durante al menos cinco ciclos consecutivos, sin pérdida apreciable de capacidad, lo que permitió una recuperación eficiente y repetida del metal previa a la saturación del material.	
El material adsorbente consistió en una esponja comercial de celulosa MetalZorb® (Sponge), previamente triturada y tamizada hasta obtener un polvo con tamaño de partícula ≤ 0.5 mm, empleada tanto en su forma nativa como tras su funcionalización mediante esterificación con ácido 3-mercaptopropiónico (MPA) o L-cisteína (Cys). Los ensayos de adsorción en lote se realizaron adicionando 10 mg de adsorbente (Sponge, MPA-Sponge o Cys-Sponge) a 2 mL de disolución acuosa de cisplatino, correspondiente a una relación sólido/líquido de 5 g/L, y sometiendo las suspensiones a agitación mecánica a 300 rpm. El pH se ajustó y controló en el intervalo dde 2 – 6 mediante soluciones de NaOH y HCl 0.1 mol/L, mientras que la temperatura de operación se fijó en 293, 318 o 343 K según el tipo de estudio (pH, cinética, isotermas o termodinámica). Finalizado el ensayo, las suspensiones se filtraron mediante	47 µg/L – 500 mg/L	24 h	Las esponjas funcionalizadas con grupos tiol presentaron una eficiencia de remoción notablemente superior a la del material original, alcanzando valores máximos de 88.9 ± 0.5% para MPA-Sponge y 75 ± 2% para Cys-Sponge, frente al 29 ± 4% obtenido con la esponja sin modificar. La adsorción fue rápida, con un incremento pronunciado en los primeros minutos y el establecimiento del equilibrio alrededor de 3 h. El ajuste a un modelo cinético de pseudo-segundo orden y a isotermas de Langmuir indicó un proceso dominado por quimiosorción en monocapa, asociado a la formación de complejos Pt–S en los sitios tiol. El aumento de la temperatura hasta 343 K favoreció significativamente la adsorción en las esponjas funcionalizadas, al promover la hidratación del complejo y su posterior coordinación con los grupos tiol.	Han et al., 2023[a]

	membranas de 0.22 μm y la concentración residual de Pt se determinó mediante ICP-MS.				
	El material adsorbente estuvo constituido por tres sólidos comerciales: sílice gel funcionalizada con cisteína (Si-Cys), sílice gel funcionalizada con 3-(dietilentriamino)propilo (Si-DETA) y una esponja de celulosa MetalZorb® modificada con un polímero quelante de polietilenimina–nitrilotriacético (Sponge). Los adsorbentes se emplearon tal como se suministraron, excepto la esponja, que se trituró, tamizó hasta un tamaño de partícula ≤ 0.5 mm, se lavó sucesivamente con HCl 1.0 mol/L y se secó a 80 °C durante 24 h. Los ensayos de adsorción en lote se realizaron poniendo en contacto 10 mL de disoluciones de Pt ($PtCl_4^{2-}$, cisplatino o carboplatino) con 50 mg de adsorbente (5 g/L), bajo agitación mecánica a 300 rpm y con el pH ajustado en el intervalo 2 – 6. Los estudios cinéticos con cisplatino se efectuaron a 293 K, variando el tiempo de contacto entre 1 y 180 min, mientras que los ensayos termodinámicos se llevaron a cabo a 293, 318 y 343 K, manteniendo constantes el resto de las condiciones experimentales.	235 y 470 μg/L	24 h	Los resultados mostraron que el adsorbente Si-Cys presentó la mayor afinidad por el cisplatino, alcanzando capacidades máximas de adsorción del orden de 10^2 mg de Pt/g y eficiencias de eliminación claramente superiores a las de Si-DETA y de Sponge en todo el intervalo de concentraciones evaluado. La cinética de adsorción se describió adecuadamente mediante un modelo de pseudo-segundo orden, con una etapa inicial rápida y el establecimiento del equilibrio en torno a 40 min, mientras que las isotermas se ajustaron mayoritariamente al modelo de Langmuir. El análisis termodinámico indicó que la adsorción de cisplatino sobre Si-Cys es un proceso endotérmico y de naturaleza quimiosortiva ($\Delta H° \approx$ 44 kJ/mol), con incrementos significativos de la capacidad y del porcentaje de remoción al aumentar la temperatura, alcanzándose eficiencias de hasta 98.5 ± 0.1% a 343 K. En contraste, Si-DETA y Sponge mostraron remociones sensiblemente inferiores (≈30 – 40% a 293 K), lo que pone de manifiesto el papel determinante de los grupos tiol en la complejación de Pt(II).	Han et al., 2023b
Fotocatálisis	El material fotocatalítico empleado consistió en un nanocompuesto kaolinita–titanio (Kaol-TiO_2-400). Los ensayos de fotodegradación en lote se llevaron a cabo mediante la dispersión de 0.05 g de fotocatalizador en 5 cm^3 de una disolución acuosa de cisplatino, con una relación sólido/líquido de 10 g/L, bajo irradiación UV (λ	15 mg/L	24 h	Los nanocompuestos Kaol-TiO_2-400 lograron reducir la concentración de cisplatino de 15.0 a 5.0 mg/L en 90 min, con porcentajes de remoción superiores al 88% según los estudios cinéticos y de liberación de cloruros, y hasta aproximadamente un 95% tras 24 h de irradiación, de acuerdo con la disminución de la señal en HPLC. La cinética de fotodegradación se describió adecuadamente	Barbosa et al., 2023

	= 254 nm, P = 96 W), a temperatura próxima a la ambiente y con agitación constante.			mediante un modelo de pseudo-segundo orden con decaimiento exponencial, evidenciando etapas rápidas de acuación y ruptura de los enlaces Pt–Cl y Pt–NH_3, asociadas a la formación de complejos aquo, a la liberación estequiométrica de Cl^- y a la fotorreducción de Pt(II) a Pt^0 depositado sobre la superficie del fotocatalizador. Los ensayos de reutilización confirmaron la elevada estabilidad del Kaol-TiO_2-400, manteniéndose eficiencias de fotodegradación cercanas al 88% durante al menos seis ciclos consecutivos, sin pérdidas apreciables de actividad ni lixiviación de la fase activa.	
Plasma DBD	El sistema experimental consistió en un reactor de DBD equipado con cuvetas de cuarzo Spectrosil® como dieléctricos y un cassette de recirculación de HDPE, a través del cual se hizo circular la disolución de cisplatino, conectada a tierra mediante electrodos de platino. El gas de trabajo (Ar + 5% H_2, 99.999–99.9995%) se inyectó en el espacio de 3 mm entre los dieléctricos y la interfase líquido–plasma. Las condiciones operativas fueron un caudal de gas de 100 mL·min^{-1}, una tensión aplicada de 15 kV pico a pico y una frecuencia de 25 kHz. Para los ensayos de degradación, las disoluciones de cisplatino se introdujeron en el cassette y se sometieron a tratamiento con plasma durante 30 min, en triplicado, manteniendo la recirculación continua en la zona de descarga para maximizar la exposición a las especies reactivas generadas en la interfase gas–líquido.	2 mM	30 min	Los balances de platino determinados por MP-AES indicaron recuperaciones totales de aproximadamente 94%, correspondiendo la mayor fracción al platino presente como nanopartículas sedimentadas, con proporciones menores en el sobrenadante y en las soluciones de lavado del reactor. Los tratamientos indujeron una acidificación moderada del medio, coherente con la formación de ácido nítrico a partir del nitrógeno y del oxígeno del aire incorporados a la descarga. Los análisis por espectroscopía UV–Vis y DLS evidenciaron la desaparición progresiva de las señales asociadas a especies moleculares de platino y la aparición de características propias de nanopartículas coloidales en el rango nanométrico. La caracterización de las nanopartículas aisladas mediante HRTEM y STEM reveló tamaños de 1–10 nm, morfología mayoritariamente esférica y tendencia a la aglomeración en clústeres, mientras que los mapas EDX/EELS confirmaron un	Sauvageau et al., 2023

marcado enriquecimiento en platino, con un contenido mínimo de cloro detectable.

2.3.5. Ocurrencia del cisplatino en matrices ambientales

Aunque hasta la fecha no se han reportado concentraciones cuantificadas de cisplatino en aguas superficiales (Tabla 5), esta ausencia de detección no debe interpretarse como evidencia de su inexistencia ambiental. Por el contrario, responde principalmente a deficiencias estructurales en los enfoques analíticos y en los programas de monitoreo ambiental vigentes, que no han sido concebidos para la identificación de fármacos citostáticos a niveles trazables. En este sentido, la falta de registros se debe más a limitaciones metodológicas que a una ausencia real del compuesto en el medio acuático. Entre dichas limitaciones se encuentran, de manera destacada, la sensibilidad insuficiente de las técnicas analíticas de uso rutinario, cuyos límites de cuantificación suelen situarse por encima de las concentraciones esperadas en el orden de ng/L, las interferencias derivadas de matrices ambientales complejas y altamente variables, así como la especiación dinámica del platino, que dificulta la detección selectiva del cisplatino. A ello se suma la baja frecuencia de muestreo y el carácter no focalizado de los programas de vigilancia ambiental, tradicionalmente orientados a contaminantes convencionales y no a fármacos citotóxicos.

No obstante, la imposibilidad de detectarlo en aguas superficiales contrasta claramente con la evidencia disponible en matrices acuosas asociadas al ciclo urbano del agua. En este sentido, diversos estudios han documentado de manera consistente la presencia de cisplatino en influentes y efluentes de PTAR, así como en descargas hospitalarias directas (Lenz et al., 2005; Vyas et al., 2014; Vidmar et al., 2015; Isidori et al., 2016; Ghafuri et al., 2018; Santana-Viera et al., 2020) , lo que permite trazar su ruta ambiental desde el punto de uso hasta su liberación al medio ambiente. En Austria y en el Reino Unido, por ejemplo, se han reportado concentraciones en efluentes hospitalarios de 4.7 – 145 ng/L y 95 – 140 μg/L, respectivamente, lo que pone de manifiesto la existencia de fuentes puntuales con cargas elevadas en el origen (Lenz et al., 2005; Vyas et al., 2014). De manera concordante, investigaciones realizadas en Eslovenia (23 – 352 ng/L), España (3.97 – 13 913 ng/L) e Irán (0.17 – 0.72 μg/L) han confirmado que el cisplatino persiste en las aguas residuales durante el tratamiento convencional, con eficiencias de remoción generalmente inferiores al 50% (Vidmar et al., 2015; Isidori et al., 2016; Santana-Viera et al., 2020; Ghafuri et al., 2018). Por ende, la detección reiterada de cisplatino en efluentes tratados, junto con las concentraciones ambientales previstas (PEC) estimadas entre 0.0141 y 0.680 ng/L para aguas

superficiales en países como India, Portugal y Bélgica (Cristóvão et al., 2020), sustenta la conclusión de que este citostático alcanza efectivamente los ecosistemas acuáticos, lo que implica un riesgo ecotoxicológico potencialmente significativo para organismos no objetivo, incluso a concentraciones subletales.

Tabla 5. *Concentraciones reportadas y PEC de cisplatino en influentes, efluentes, y agua superficial.*

País	Método	Concentración			PEC en agua superficial	Referencia
		Influente de PTAR	Efluente de PTAR	Efluente Hospitalario		
Austria	La cuantificación del cisplatino se llevó a cabo mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), empleando un equipo cuadrupolar ELAN DRC II y ^{115}In como estándar interno.	N.A	N.A	4.7 – 145 ng/L	ND	Lenz et al., 2005
Reino Unido	La cuantificación del cisplatino se realizó mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) con celda de colisión, determinando el platino total como ^{195}Pt tanto en muestras filtradas como en muestras sometidas a digestión.	N.A	N.A	95 – 140 µg/L	ND	Vyas et al., 2014
Eslovenia	La concentración de cisplatino se determino mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).	0.0225 – 0.0241 µg/L 23 – 27 ng/L	0.0117 – 0.0139 µg/L <LOD	0.344 – 0.360 µg/L 226 – 352 ng/L	ND	Vidmar et al., 2015 Isidori et al., 2016
España	La concentración de cisplatino se determino mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).	0.0068 – 0.0090 µg/L	0.0051 – 0.0067 µg/L	0.0128 – 0.016 µg/L	ND	Vidmar et al., 2015
	La cuantificación se realizó mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), tras una etapa integrada de extracción y preconcentración de los analitos	3.97 – 38.68 ng/L	56.08 – 75.79 ng/L	81.94 – 13 913 ng/L	ND	Santana-Viera et al., 2020

	utilizando cartuchos de extracción en fase sólida de intercambio iónico.					
Irán	La cuantificación del cisplatino se llevó a cabo mediante extracción en fase sólida fuera de línea (SPE, cartuchos ENVC), seguida de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem con ionización por electrospray (LC–ESI–MS/MS), operando en modo de monitorización de reacciones múltiples (MRM) mediante un analizador de triple cuadrupolo.	0.32 – 0.72 µg/L	0.17 – 0.31 µg/L	ND	ND	Ghafuri et al., 2018
India Portugal Bélgica	Las concentraciones ambientales previstas se estimaron mediante un modelo de riesgo ambiental basado en el consumo, que integra de forma coherente la excreción, la eliminación en PTAR y la dilución ambiental, de acuerdo con las guías de evaluación del riesgo ambiental de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA).	ND ND ND	ND ND ND	ND ND ND	0.0141 ng/L 0.147 ng/L 0.680 ng/L	Cristóvão et al., 2020

ND: no disponible

2.3.6. Perfil ecotoxicológico del cisplatino

Los estudios ecotoxicológicos de cisplatino realizados en invertebrados superiores y vertebrados acuáticos han operado predominantemente a concentraciones varios órdenes de magnitud por encima de las ambientalmente plausibles (0.1 – 13 913 ng/L; Tabla 6). En *Daphnia magna*, por ejemplo, se han utilizado concentraciones de 125 – 1 000 µg/L, es decir, entre 10 000 y 100 000 veces superiores a los niveles reportados en efluentes, bajo las cuales se observaron efectos como la inhibición progresiva de la actividad natatoria, la reducción de la frecuencia de saltos y la depresión del ritmo cardíaco. De manera similar, en peces adultos de *Danio rerio*, la toxicidad letal se manifestó a concentraciones de 64 500 – 81 300 µg/L, valores completamente desalineados con escenarios de exposición realista y que, además, suelen evaluarse bajo diseños experimentales orientados a endpoints agudos o letales, lo que restringe severamente su aplicabilidad para la evaluación del riesgo ecotoxicológico.

Ahora bien, en lo que respecta a los estudios que han aproximado sus concentraciones experimentales a niveles de exposición ambiental realistas, se observa un patrón de respuesta distinto, caracterizado principalmente por alteraciones bioquímicas y moleculares. A modo de ejemplo, en el bivalvo *Mytilus galloprovincialis*, la exposición a 0.1 µg/L durante 14 días indujo una desregulación progresiva del sistema antioxidante en las branquias, evidenciada por una reducción de la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), peroxidación lipídica (LPX) sostenida y genotoxicidad detectable mediante el ensayo del cometa. Asimismo, en el poliqueto *Nereis diversicolor*, concentraciones de 0.0001 – 0.1 µg/L provocaron la inhibición de enzimas antioxidantes clave como SOD, catalasa (CAT) y GST, acompañada de alteraciones comportamentales observables, como una reducción de la cinética de enterramiento. No obstante, es importante destacar que en ambos casos los efectos documentados se limitaron principalmente a biomarcadores bioquímicos tempranos, sin una vinculación clara con alteraciones funcionales integradas que pudieran manifestarse a escala fisiológica global o poblacional. En consecuencia, aunque se ha acumulado un volumen considerable de evidencia sobre los mecanismos de toxicidad del cisplatino a nivel celular, molecular y tisular, permanece ampliamente inexplorada su capacidad para inducir alteraciones multiorgánicas y comportamentales a concentraciones subletales ambientalmente relevantes. Por ello, resulta imprescindible desarrollar estudios integrales y

multidisciplinarios que operen dentro del rango de concentraciones ambientalmente plausibles (ng/L – µg/L) y que evalúen simultáneamente biomarcadores tempranos, funciones cardiovasculares y neuronales, así como comportamientos funcionales críticos para la supervivencia y la reproducción.

Tabla 6. *Efectos ecotoxicológicos del cisplatino en organismos acuáticos.*

Especie	Concentración	Tiempo	Resultados	Referencia
Mytilus galloprovincialis	0.1 µg/L	14 d	En las branquias, se observó una desregulación progresiva del sistema antioxidante, caracterizada por una marcada reducción de la actividad de la SOD al día 14 (4,9 veces inferior a la del control), sin modificaciones en la actividad de la CAT y con una respuesta transitoria de la glutatión peroxidasa total. En contraste, la glándula digestiva presentó una activación sostenida de las defensas antioxidantes, evidenciada por incrementos significativos de la actividad de SOD a los días 3 y 14 (hasta 3,5 veces la del control), un aumento tardío de CAT (2,4 veces) y un patrón fluctuante de T-GPx. Este desequilibrio redox se tradujo en un aumento temprano de la LPX en ambos tejidos, más acentuado y persistente en la glándula digestiva (1,8 y 2 veces el control a los días 3 y 7, respectivamente) y de carácter transitorio en las branquias al día 3 (1,7 veces el control). De forma concordante, el ensayo del cometa en hemocitos reveló un incremento sostenido del daño en el ADN a lo largo de todo el período experimental, lo que indica una genotoxicidad persistente incluso a concentraciones ambientalmente relevantes de cisplatino. Finalmente, la actividad de la AChE no se alteró en las branquias, pero sí aumentó significativamente en la glándula digestiva tras 14 días de exposición, lo que sugiere un efecto neurotóxico subletal específico de este órgano.	Trombini et al., 2016
Nereis diversicolor	0.0001, 0.01, y 0.1 µg/L	14 d	Funcionalmente, los gusanos expuestos a 0.01 y 0.1 µg/L de cisplatino presentaron una cinética de enterramiento más lenta, evidenciada principalmente por una mayor proporción de individuos que no lograron enterrarse por completo, en contraste con el grupo control, en el que todos los organismos se enterraron antes de los 8 minutos. De forma concordante, en la concentración más alta se detectaron efectos neurotóxicos asociados a la alteración de la actividad de la AChE. A nivel bioquímico, el cisplatino indujo la inhibición de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, así como de la GST, acompañada	Fonseca et al., 2017

			de un aumento en los niveles de proteínas tipo metalotioneína (MTLPs) como respuesta compensatoria. Este desequilibrio redox se tradujo en un incremento de la LPX, indicativo de daño oxidativo en las membranas celulares al final del período de exposición. En cuanto al componente genotóxico, el ensayo del cometa en celomocitos no evidenció un aumento significativo del daño en el ADN tras 14 días de exposición, lo que sugiere la ausencia de genotoxicidad detectable en este tejido bajo las condiciones ensayadas, pese al entorno prooxidante generado.	
Daphnia magna	125 - 1000 µg/L	120 h	En los parámetros locomotores, se observó una inhibición progresiva de la actividad de nado, reflejada en una marcada reducción de la velocidad a concentraciones medias y altas (200 – 500 µg/L a partir de las 24 h), con inmovilización casi total a 1000 µg/L a partir de las 72 h. En paralelo, la distancia recorrida disminuyó de forma temprana incluso a la concentración más baja (125 µg/L a las 72 h), lo que evidencia una elevada sensibilidad de este parámetro. La frecuencia de hopping (saltos) también se redujo significativamente a 200 – 1000 µg/L a partir de las 24 h, alcanzando valores mínimos a las 120 h en 200 y 500 µg/L, mientras que a 125 µg/L se mantuvo cercana al control en las fases iniciales. En cuanto a los parámetros fisiológicos, la frecuencia cardíaca mostró una respuesta bimodal. A bajas concentraciones (125 µg/L), se registró una estimulación transitoria del ritmo cardíaco, con un máximo a las 48 h, lo que indica una respuesta compensatoria inicial al estrés. En contraste, a concentraciones medias y altas (500 y 1000 µg/L) se observó una depresión marcada del ritmo cardíaco desde las 48 h, particularmente severa a las 120 h en 500 µg/L y drástica en 1000 µg/L, lo que sugiere un colapso progresivo de la función cardiovascular. La actividad de las patas torácicas siguió un patrón similar, con estimulación temprana a 125 y 200 µg/L (24 – 48 h) e inhibición pronunciada a 1000 µg/L desde las 24 h y a 500 µg/L a las 120 h.	Bownik et al., 2020
	2 - 500 µg/L	21 d	En el sistema digestivo, los genes transportadores atp1a, atp1b, slc15a1, slc7a9_15 y slc8a presentaron una subexpresión de 3 – 4	Ren et al., 2022

			veces respecto al control a 500 µg/L, acompañada de una disminución de las lipasas (lipa) y de proteínas implicadas en el metabolismo lipídico (npc2). Esta desregulación se tradujo en una reducción del 12.13 % de la longitud corporal al día 7 y en un menor aprovechamiento de carbohidratos, reflejándose fenotípicamente en una disminución del número de crías (de 13 – 27 en el control a 8 – 13 en los expuestos) y en un retraso de la primera puesta. Por su parte, el sistema endocrino presentó una represión sostenida de los genes de esteroidogénesis ovárica (lhcgr y hsd3b), lo que afectó la síntesis de estradiol 17-β, así como una subexpresión de genes de la vía de la relaxina (adcy3 y adcy5), esenciales para la maduración ovocitaria y la calidad embrionaria. Paralelamente, la represión de genes insulinodependientes (ryr2 y slc2a1) alteró la regulación del crecimiento, lo cual es coherente con el retraso en la gestación y la reducción de la talla corporal. En cuanto al sistema nervioso, se observaron reducciones de 2 – 3 veces respecto al control a 500 µg/L en genes relacionados con receptores neuroactivos (gabra, gabbr, htr1/2 y drd1n), en la matriz extracelular neuronal (thbs2s y reln) y en proteínas clave para la sinaptogénesis y la neurotransmisión GABAérgica, lo que indica un efecto neurotóxico subletal con repercusiones en la reproducción y el desarrollo. Finalmente, el sistema circulatorio mostró una represión sostenida de genes críticos para la función cardíaca y la contracción miocárdica, incluyendo atp1a, atp1b, cacna2d1, cacna2d3 y ryr2, con magnitudes superiores a dos veces respecto al control. Esta desregulación se relacionó con la inhibición de la función cardíaca y con la mortalidad observada a partir del día 12 en los organismos expuestos a 500 µg/L.	
Danio rerio	10 000 – 1 000 000 µg/L	120 h	En los embriones de pez cebra expuestos a cisplatino, se evidenció una alteración progresiva de la supervivencia y del proceso de eclosión, con efectos detectables incluso en el rango de exposición más bajo (10 000 – 50 000 µg/L). A concentraciones de 20 000 – 50 000 µg/L, la proporción de huevos vivos que permanecieron sin eclosionar hasta las 120 horas post-fertilización fue	Kovács et al., 2016

		significativamente mayor que en el control, lo que indica una afectación funcional temprana que precede a la mortalidad franca. De manera concordante, la LC50 descendió de aproximadamente 349 900 µg/L a las 48 horas a 81 300 µg/L a las 120 horas, reflejando una acumulación temporal del daño tóxico durante el desarrollo temprano. En peces adultos, la exposición a cisplatino durante 96 horas mostró una toxicidad moderada, con una LC50 cercana a 64 500 µg/L, sin observarse alteraciones subletales evidentes en el comportamiento o en la morfología externa dentro del intervalo experimental.	
300 – 300 000 µg/L	96 h	En las células ciliadas de la línea lateral (neuromasto L1) se observó una desregulación progresiva de la función sensorial, reflejada en una reducción del influjo de Ca^{2+} de más del 20 % respecto al control a 300 µg/L, la cual se acentuó aún más a 3 000 y 30 000 µg/L. Esta alteración se acompañó de una reducción significativa del número de células ciliadas, que alcanzó aproximadamente el 50 % del control a 3 000 µg/L y el 20 % del control a 30 000 µg/L. Por su parte, los ionocitos cutáneos (células H^+-ATPasa-ricas y Na^+-K^+-ATPasa-ricas) mostraron alteraciones funcionales más tardías, con decrementos significativos en la densidad celular únicamente a 30 000 µg/L, mientras que a 15 000 µg/L no se registraron cambios sustanciales. Esta desregulación progresiva del sistema iónico condujo a un desequilibrio electrolítico temprano y persistente, más acentuado en la glándula digestiva cutánea, con reducciones sostenidas de Na^+, Cl^- y Ca^{2+} (30 – 40 % a 30 000 µg/L) durante las 96 horas del experimento. De manera concordante, la capacidad de secreción ácida, evaluada mediante el gradiente de H^+ en el saco vitelino, mostró descensos significativos a 15 000 y 30 000 µg/L, lo que indica efectos funcionales tempranos incluso a concentraciones moderadas de cisplatino. Finalmente, la acumulación corporal de platino aumentó de manera dosis-dependiente y se correlacionó directamente con alteraciones morfológicas de los haces estereociliados observadas mediante microscopía electrónica de barrido a 3 000 y 30 000 µg/L, lo que sugiere un efecto citotóxico	Hung et al., 2019

		selectivo sobre las células sensoriales en etapas tempranas del desarrollo embrionario.	
15 000 - 300 000 µg/L	96 h	En los ionocitos cutáneos ricos en mitocondrias (células H^+-ATPasa y Na^+-K^+-ATPasa-ricas) se detectó una desregulación progresiva de la función mitocondrial, con una disminución del 16.4 % respecto al control a 15 000 µg/L, que se intensificó a 30 000 µg/L, alcanzando un descenso del 43.3 %. A esta alteración se sumó un aumento dosis-dependiente del estrés oxidativo citoplasmático, con incrementos del porcentaje de ionocitos CellROX+ del 23.7 % a 15 000 µg/L y del 31.7 % a 30 000 µg/L. Por su parte, el estrés oxidativo mitocondrial, evaluado mediante MitoSOX, mostró alteraciones más tardías, con aumentos significativos en el número de células positivas y en la intensidad de fluorescencia únicamente a 30 000 µg/L, sin cambios relevantes a 15 000 µg/L. Esta disfunción progresiva del sistema antioxidante mitocondrial desencadenó una activación diferencial de las defensas enzimáticas, con la expresión de cat aumentando en ambas concentraciones, mientras que la de la sod1, la sod2 y la glutatión peroxidasa 1a (gpx1a) aumentó solo a 30 000 µg/L. De manera consistente, la respuesta apoptótica, evaluada con acridina naranja (AO), presentó cambios mínimos a 15 000 µg/L, pero aumentos significativos (aproximadamente 2.5 veces respecto al control) a 30 000 µg/L, acompañados de inducción del gen pro-apoptótico casp3a únicamente a esta concentración más alta, lo que sugiere un efecto citotóxico selectivo sobre los ionocitos durante etapas tempranas del desarrollo embrionario.	Hung et al., 2022
15 000 - 300 000 µg/L	2 h	En los neuromastos de la línea lateral, se observó una desregulación progresiva de la función sensorial de las células ciliadas, reflejada en una marcada reducción de la captación de FM1-43 (aproximadamente 40 % por debajo del control) a 75 000 µg/L, con disminuciones igualmente significativas a 300 000 µg/L. Esta alteración funcional se acompañó de una reducción notable en el número absoluto de células ciliadas, alcanzando aproximadamente el 60 % de pérdida a 75 000 µg/L y hasta el 80 % a 300 000 µg/L, mostrando una correlación	Lee et al., 2022

		dosis-dependiente con la exposición a cisplatino. Simultáneamente, la respuesta inflamatoria de los macrófagos tisulares presentó cambios tempranos, con incrementos pronunciados en la fagocitosis de restos celulares entre las 4 y 8 horas post-exposición. No obstante, la densidad total de macrófagos reclutados en los neuromastos no difirió significativamente de la de los controles, y la depleción selectiva de macrófagos no modificó el grado de pérdida de células ciliadas en ninguna de las concentraciones evaluadas. Esta progresión diferencial del daño sensorial condujo a un deterioro temprano y persistente de la función comportamental, evidenciado por la incapacidad de las larvas para mantener la orientación frente al flujo hidráulico a 75 000 y 300 000 μg/L.	
1 mg/kg	30 d	En los peces adultos expuestos a cisplatino se observó una desregulación progresiva del estado fisiológico general, reflejada inicialmente en una pérdida significativa de peso corporal y en la reducción del índice de masa corporal. A nivel intestinal, la administración de cisplatino provocó un daño estructural notable, caracterizado por pérdida de la membrana basal, formación de espacios vacuolados y desorganización del epitelio cilíndrico con borde en cepillo, en contraste con la arquitectura homogénea y continua observada en el grupo control, donde las células columnares permanecieron polarizadas y unidas mediante complejos de unión bien definidos. En los ovarios, el cisplatino indujo una desorganización evidente de la arquitectura folicular, con disminución del número de folículos, alteración en la disposición de los ovocitos y ruptura de las membranas basales, mientras que en los controles se mantuvo una morfología ovárica normal, con ovocitos centralmente localizados y granulosa bien organizada. En términos de estrés oxidativo, la exposición a cisplatino generó un incremento significativo de los marcadores de daño oxidativo y de la respuesta antioxidante en intestino y ovarios, evidenciado por elevación de la LPX y de las actividades de glutatión peroxidasa, glutatión reductasa,	Kandati et al., 2023

CAT y SOD en comparación con el grupo control, indicando un estado de sobrecarga de ROS.

2.4. Imatinib

El imatinib (4-[(4-metilpiperazin-1-il)metil]-N-[4-metil-3-[(4-(piridin-3-il)pirimidin-2-il)amino]fenil]bencamida), utilizado clínicamente en su forma de mesilato ($C_{29}H_{31}N_7O \cdot CH_4O_3S$), es un inhibidor orgánico de tirosina cinasa de conformación molecular flexible (Figura 5) y peso molecular de 589.7 g/mol , desarrollado como terapia dirigida para la leucemia mieloide crónica, los tumores del estroma gastrointestinal y otras neoplasias malignas dependientes de la señalización mediada por cinasas (Peng et al., 2005; Haguet et al., 2018). Su introducción en la práctica clínica en 2001, como el primer inhibidor selectivo de la actividad catalítica de BCR-ABL1, marcó un punto de inflexión en la oncología moderna al demostrar de manera concluyente que la inhibición molecular dirigida podía traducirse en respuestas clínicas rápidas, profundas y sostenidas, consolidando así las bases conceptuales para el desarrollo de TKI de nueva generación (Muller, 2009; Iqbal et al., 2014). No obstante, es importante subrayar que, pese a esta evolución farmacológica, el imatinib ha conservado una relevancia clínica significativa y continúa siendo uno de los agentes más ampliamente utilizados en diversos sistemas de salud, incluidos los de Noruega, Portugal y China (Olsen et al., 2021; Chen et al., 2022; Lee et al., 2024).

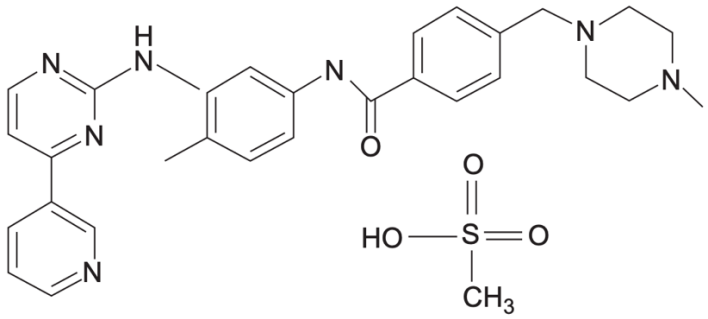


Figura 5. *Estructura química del imatinib.* El imatinib consiste en un núcleo pirimidinilaminofenilo unido a una benzamida y a un grupo piperazínico metil, con múltiples centros donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno (NH, C=O, N heterocíclicos) y regiones hidrofóbicas que favorecen su unión competitiva al sitio ATP de BCR-ABL1 (Al-Hadiya et al., 2010; Vologzhanina et al., 2020).

2.4.1. Mecanismo de acción del imatinib

El imatinib es un catión orgánico débil a pH fisiológico, por lo que su entrada a la célula se realiza preferentemente mediante transportadores activos de cationes orgánicos. En este sentido, estudios recientes han identificado a la proteína 1 de extrusión de múltiples fármacos y toxinas (MATE1) como el principal transportador de imatinib en células blanco objetivo (Harrach et al., 2016). No obstante, también se ha indicado que otros transportadores del tipo catiónicos orgánicos (SLC22A), como OCT1, OCT2 y OCT3, pueden transportar imatinib in vitro (Lozano et al., 2013), aunque su relevancia in vivo parece ser menor. De hecho, estudios en modelos animales y en pacientes indican que la ausencia de OCT1 no altera significativamente la farmacocinética de imatinib, mientras que niveles bajos de MATE1 se asocian con falla terapéutica (Nies et al., 2014; Harrach et al., 2016). Una vez en el citosol, una fracción minoritaria de imatinib es capturada y exportada por bombas de eflujo, como la P-glicoproteína y BCRP/ABCG2, que reducen su concentración intracelular y contribuyen al desarrollo de resistencia farmacológica (Eadie et al., 2014; Redaelli et al., 2015). En contraste, la mayor parte del fármaco se une al dominio ATPasa de BCR-ABL en su conformación inactiva. De este modo, el imatinib actúa como un inhibidor competitivo de la ATP, impidiendo la transferencia de grupos fosfato a las proteínas diana y provocando la interrupción de las señales proliferativas dependientes de BCR-ABL (Peng et al., 2005; Flynn & Gerriets, 2023; Gvozdeva et al., 2025). Por ejemplo, estudios recientes han reportado que el imatinib inhibe la activación de STAT5, un factor de transcripción clave para la supervivencia y la proliferación celulares (Putri et al., 2019). Asimismo, otros trabajos han señalado que el imatinib puede bloquear cascadas de señalización relevantes, como Ras–MAPK y PI3K–Akt, que normalmente promueven el crecimiento celular y evitan la apoptosis (Zhang et al., 2012). Por ende, el efecto intracelular del imatinib consiste en la desconexión de las vías oncogénicas mediadas por BCR-ABL y por cinasas afines (Figura 6), lo que conduce a la detención del crecimiento y a la muerte de la célula tumoral.

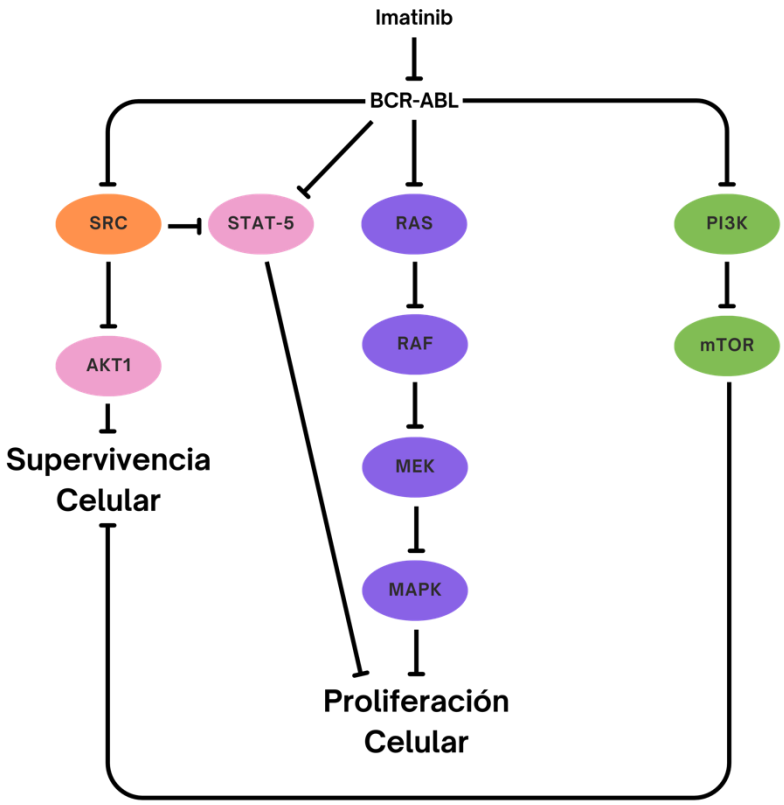


Figura 6. *Vías moleculares implicadas en la inhibición de la proliferación y la supervivencia celular inducida por imatinib.* El imatinib ejerce su acción antitumoral mediante la inhibición selectiva de la tirosina cinasa BCR-ABL1, lo que bloquea su autofosforilación y la activación de señales intracelulares dependientes de esta oncoproteína. Como consecuencia directa, se interrumpen de forma integrada las principales vías responsables de la proliferación y la supervivencia celular, en particular el eje RAS–RAF–MEK–MAPK y la vía PI3K–AKT–mTOR, con la consiguiente reducción de la expresión de genes implicados en la progresión del ciclo celular y en la resistencia a la muerte celular. De manera complementaria, la inhibición de BCR-ABL1 atenúa la activación de STAT-5 y de cinasas de la familia SRC, disminuyendo la expresión de proteínas antiapoptóticas como BCL-XL y MCL-1 y favoreciendo la activación de las caspasas efectoras. En conjunto, estos procesos convergen en la inducción de la apoptosis programada en las células leucémicas BCR-ABL1-positivas (Khajapeer y Baskaran, 2015; Repsold et al., 2017).

2.4.2. Farmacocinética del imatinib

El imatinib es un inhibidor selectivo de las tirosina cinasa que se administra exclusivamente por vía oral. Tras su administración, el fármaco se absorbe casi por completo a nivel gastrointestinal, alcanzando su concentración plasmática máxima, por lo general, entre las 2 y las 4 horas posteriores a la ingesta (von Mehren et al., 2011). De hecho, de acuerdo con el sistema de clasificación biofarmacéutica, el imatinib se clasifica como un fármaco de alta solubilidad y alta permeabilidad (BCS clase I), característica que explica tanto la elevada eficiencia de su absorción, cercana al 98%, como la baja variabilidad interindividual atribuible a factores gastrointestinales (Mohajeri et al., 2015; Park et al., 2021). Una vez incorporado a la circulación sistémica, el imatinib presenta una amplia distribución tisular y un elevado grado de unión a proteínas plasmáticas, estimado en aproximadamente un 95%, lo que, en conjunto con su extensa penetración extravascular, contribuye de manera relevante tanto a su eficacia terapéutica como a la aparición de determinadas reacciones adversas (Peng et al., 2005).

En lo que respecta a su metabolismo, la evidencia disponible indica que este proceso ocurre predominantemente en el hígado, siendo la isoenzima CYP3A4 la principal responsable de su biotransformación. Asimismo, se ha descrito que el principal metabolito formado es el N-desmetil-imatinib (CGP74588), que conserva una actividad farmacológica comparable a la del compuesto original (Filppula et al., 2012). La eliminación del imatinib y de sus metabolitos tiene lugar fundamentalmente por las vías biliar y fecal, representando aproximadamente el 68% de la dosis administrada, mientras que la excreción renal es limitada y corresponde a una fracción menor del fármaco en su forma inalterada. Finalmente, la vida media terminal del imatinib es de aproximadamente 18 horas, mientras que la de su principal metabolito activo se sitúa en torno a 40 horas (Nebot et al., 2010; Mohajeri et al., 2015; Loer et al., 2024).

2.4.3. Vías de entrada del imatinib al ambiente

El imatinib es un fármaco antineoplásico de administración oral, caracterizado por un uso predominantemente ambulatorio y una vida media plasmática de aproximadamente 18 horas (Nebot et al., 2010; Mohajeri et al., 2015; Loer et al., 2024). En consecuencia, su principal vía de entrada al medio acuático no se limita a los efluentes hospitalarios, sino que corresponde a una descarga difusa y continua asociada a su excreción en entornos doméstico.

En este contexto, los pacientes, tras recibir la medicación en clínicas oncológicas, eliminan el compuesto en sus hogares en los días posteriores al tratamiento, lo que favorece la incorporación del fármaco y de sus metabolitos al sistema de alcantarillado municipal (Parrella et al., 2014). No obstante, hasta la fecha no se han identificado estudios que evalúen de manera comparativa la proporción de imatinib excretado directamente desde instalaciones hospitalarias frente a la liberada de forma diferida a través del sistema de alcantarillado urbano. La evidencia disponible se limita a un único estudio que reporta concentraciones de imatinib en efluentes de PTAR superiores a las detectadas en efluentes hospitalarios (Mišík et al., 2019), hallazgo que además pone de manifiesto las limitaciones de las PTAR convencionales para la eliminación de compuestos farmacéuticos polarizados, permitiendo que aproximadamente el 98 % del imatinib que ingresa a estas instalaciones atraviese los procesos de tratamiento sin experimentar una degradación significativa (Booker et al., 2014).

2.4.4. Remoción del imatinib en PTAR

A la luz de la evidencia disponible (Tabla 7), puede afirmarse que el imatinib se comporta como un contaminante marcadamente recalcitrante frente a los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales (Lumbaque et al., 2021; Tkalec et al., 2021). En este contexto, los estudios orientados al tratamiento biológico muestran que la biodegradación mediante lodos activados procedentes de una PTAR municipal solo permite una eliminación rápida y prácticamente completa del compuesto bajo condiciones altamente específicas, tales como elevadas concentraciones de biomasa y el empleo de un medio mineral carente de una fuente externa de carbono. Sin embargo, cuando se consideran escenarios más representativos de la operación real de una PTAR, las eficiencias de remoción disminuyen significativamente, situándose entre el 22 y el 70 % tras 24 h de tratamiento (Tkalec et al., 2021). Asimismo, la atenuación parcial del imatinib en estos sistemas se acompaña de la formación de múltiples productos de transformación, entre los que destaca el TP235, que permanece relativamente estable en el medio acuoso y plantea interrogantes adicionales respecto de su potencial toxicidad y persistencia ambiental.

Ante la limitada eficacia de los tratamientos convencionales, un número considerable de investigaciones ha abordado el desarrollo y la evaluación de procesos más especializados, fundamentalmente basados en tecnologías de oxidación avanzada y en tratamientos

electroquímicos. En este marco, métodos como el electro-Fenton, la oxidación anódica con electrodos de nueva generación, la fotocatálisis heterogénea, la fotooxidación asistida por agentes oxidantes fuertes y los procesos Fenton clásicos han reportado tasas de remoción muy elevadas, frecuentemente cercanas a la eliminación total del imatinib (Turkay et al., 2018; Secrétan et al., 2019; Yang et al., 2019; Ghrib et al., 2019; Yang et al., 2020; Tolić Čop et al., 2022; Samzadeh et al., 2022). No obstante, resulta imprescindible subrayar que dichas eficiencias se alcanzan en condiciones experimentales estrictamente controladas y optimizadas. En la mayoría de los casos, por ejemplo, estos procesos requieren operar a valores de pH alejados de la neutralidad (≈3 – 5) (Secrétan et al., 2019; Yang et al., 2019; Ghrib et al., 2019; Yang et al., 2020), emplear concentraciones relativamente altas de reactivos químicos (H_2O_2, Fe^{2+}, persulfato) (Yang et al., 2019; Ghrib et al., 2019; Yang et al., 2020; Samzadeh et al., 2022), utilizar materiales catalíticos o electrodos de alto costo (BDD, grafeno, TiO_2 de alta pureza) (Turkay et al., 2018; Secrétan et al., 2019; Tolić Čop et al., 2022) y asumir consumos energéticos significativos asociados a la aplicación de corrientes eléctricas o a la irradiación UV de alta intensidad (Turkay et al., 2018; Secrétan et al., 2019; Yang et al., 2019; Ghrib et al., 2019; Yang et al., 2020; Tolić Čop et al., 2022; Samzadeh et al., 2022). Adicionalmente, una proporción sustancial de los estudios disponibles se realizan en agua ultrapura o en matrices simplificadas, donde la competencia ejercida por la materia orgánica disuelta y otros constituyentes característicos de aguas residuales reales es mínima. En consecuencia, estos procesos avanzados se perfilan principalmente como alternativas complementarias o tratamientos terciarios dirigidos a corrientes específicas con alta carga farmacéutica, como los efluentes hospitalarios, más que como soluciones de aplicación generalizada en los PTAR municipales. Por ende, las futuras líneas de investigación deberían orientarse no solo a maximizar la eficiencia de remoción bajo condiciones controladas, sino también a la integración de procesos híbridos, la optimización de costos y el diseño de esquemas de tratamiento progresivo que permitan una gestión técnica y ambientalmente sostenible de contaminantes emergentes, como el imatinib.

Tabla 7. *Tecnologías biológicas, fisicoquímicas y de oxidación avanzada para la remoción y transformación de imatinib en matrices acuosas.*

Método	Condiciones	Concentración	Tiempo	Resultados	Referencia
Biodegradación	Los ensayos se realizaron en botellas de vidrio de 0.5 L, con un volumen efectivo de 0.4 L, aireadas continuamente mediante una bomba de acuario para mantener condiciones aerobias. A cada botella se añadieron 10 o 50 mL de lodo activado asentado, procedente de una planta municipal de tratamiento de agua residual que trata residuos domésticos, industriales y hospitalarios. Para modular la disponibilidad de carbono orgánico, se emplearon dos medios líquidos, un medio nutriente-mineral y un medio mineral. El medio nutriente-mineral se preparó en agua de grifo e incluyó fuentes orgánicas de carbono, junto con sales inorgánicas y $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (5 mg/L), mientras que el medio mineral presentó una composición análoga, pero sin aportes orgánicos de carbono. Con el fin de discriminar entre la degradación biótica, los procesos abióticos y la sorción, se llevaron a cabo ensayos con biomasa inhibida con formaldehído, añadiéndose en los sistemas de control un volumen equivalente de agua desionizada. Todas las incubaciones se efectuaron a temperatura ambiente y en ausencia de luz UV y visible, de modo que se excluyó la contribución de procesos fotodegradativos.	ND	8 d	A diferencia del control en agua destilada y de los sistemas con biomasa inhibida por formaldehído, dónde el imatinib permaneció estable durante los ocho días de ensayo, la degradación sólo se observó en presencia de biomasa activa. En las botellas con mayor carga de lodo se alcanzaron remociones de aproximadamente 70% y 100% tras el primer día, mientras que en aquellas con menor concentración de biomasa las eliminaciones se limitaron a alrededor de 22% y 70% en el mismo intervalo. Asimismo, la degradación fue más rápida en el medio mineral sin fuente externa de carbono que en el medio nutriente-mineral, lo que sugiere que el imatinib se utilizó como fuente única de carbono. Durante el proceso de biotransformación se identificaron ocho productos de transformación, seis de ellos no descritos previamente, entre los cuales destacó el TP235, identificado como ácido 4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzoico, que se detectó en concentraciones relativamente constantes una vez formado.	Tkalec et al., 2021
Electro-Fenton	En todos los ensayos se empleó una celda cilíndrica de vidrio no dividida, con un volumen efectivo de 150 mL, operada bajo agitación	34.5 mg/L	8h	Los resultados demostraron una degradación prácticamente cuantitativa del imatinib (≈100%) en un tiempo máximo de 1 h con ambos cátodos.	Yang et al., 2019

magnética continua para asegurar la homogeneidad de la disolución. El ánodo consistió en un electrodo DSA de 3 × 4 cm^2, mientras que el cátodo fue, alternativamente, un fieltro de carbono sin modificar o un fieltro de carbono modificado con grafeno exfoliado electroquímicamente, ambos con la misma área geométrica expuesta. La disolución de trabajo se preparó con imatinib (34.5 mg/L) en agua ultrapura, empleando Na_2SO_4 0.05 M como electrolito de soporte. El hierro catalítico se incorporó como $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, ajustándose la concentración de Fe^{2+} típicamente a 0.1 mM y el pH a 3.0 mediante soluciones de H_2SO_4 y NaOH 1 M. Durante la electrólisis, se burbujeó aire comprimido de forma continua a 1 L/min para asegurar una disolución saturada de oxígeno, condición necesaria para la generación catódica de H_2O_2. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente, aplicando densidades de corriente entre 4.16 y 58.33 mA/cm^2, y se evaluó sistemáticamente el efecto de la intensidad de corriente y de la concentración de Fe^{2+} sobre la cinética de degradación del imatinib y la eficiencia de mineralización.			Sin embargo, la cinética del proceso fue significativamente más rápida en el electrodo EEGr-CF, donde la eliminación del fármaco se completó a los 15 min, mientras que con el fieltro de carbono no modificado la remoción se limitó a aproximadamente el 82% en el mismo intervalo. En términos de mineralización, el seguimiento del carbono orgánico total indicó que, bajo condiciones óptimas de operación (0.1 mM de Fe^{2+} y 16.66 mA/cm^2), el sistema con EEGr-CF logró una eliminación prácticamente completa del TOC tras 480 min de electrólisis, en contraste con el cátodo convencional, que presentó una eficiencia limitada a alrededor del 75%. Adicionalmente, el cátodo modificado con grafeno mostró un menor consumo energético específico, reflejando un aprovechamiento más eficiente de la corriente aplicada para la generación de radicales hidroxilo. El análisis de los productos de reacción evidenció la formación de ácidos carboxílicos de cadena corta como intermediarios finales antes de la mineralización completa, mientras que el nitrógeno del imatinib se transformó predominantemente en NH_4^+ y, en menor medida, en NO_3^-, sin detectarse cantidades significativas de NO_2^-.	
Las disoluciones acuosas de imatinib fueron sometidas a procesos electroquímicos avanzados de oxidación, específicamente electro-Fenton y oxidación anódica con H_2O_2, empleando una celda electrolítica de vidrio no dividida con un volumen efectivo de aproximadamente 230–250 mL. El sistema	34.5 mg/L	8h	En las celdas BDD/CF operadas en modo electro-Fenton, la eliminación del imatinib fue prácticamente cuantitativa (≈100%) en tiempos del orden de 10 minutos en todo el intervalo de densidades de corriente estudiado (2.08 – 20.8 mA/cm^2), mientras que con Ti_4O_7 también se alcanzó la remoción completa, aunque en tiempos	Yang et al., 2020

	estuvo equipado con un ánodo plano ubicado en el centro del reactor (DSA, Pt, Ti_4O_7 o BDD; 4 cm × 6 cm × 0.2 cm) y un cátodo de fieltro de carbono de elevada área superficial (14 cm × 5 cm × 0.5 cm) dispuesto sobre la pared interna de la celda. Las electrólisis se realizaron a temperatura ambiente, sin aporte térmico externo ("cold mineralization"), aplicando densidades de corriente comprendidas entre 2.08 y 20.8 mA/cm², tanto en los ensayos de electro-Fenton como en los de oxidación anódica con H_2O_2. En el modo electro-Fenton, el medio reactivo estuvo compuesto por imatinib, Na_2SO_4 a 50 mM y Fe^{2+} a 0.1 mM, ajustado a pH 3, mientras que en el modo AO-H_2O_2 se mantuvieron idénticas condiciones hidrodinámicas, de pH y de electrolito, omitiéndose la adición de Fe^{2+}.			ligeramente superiores (≈30 – 40 minutos) a corrientes elevadas. En cuanto a la mineralización, el seguimiento del carbono orgánico total mostró que el ánodo de BDD permitió una mineralización completa de la disolución tras 4 – 8 horas de electrólisis, según la intensidad aplicada, reduciendo el TOC inicial (24.1 mg C/L) hasta valores prácticamente nulos tanto en modo electro-Fenton como en AO-H_2O_2. Bajo condiciones comparables, el ánodo Ti_4O_7 exhibió una capacidad de mineralización superior a la de Pt y DSA, alcanzando remociones de TOC de aproximadamente 82% en electro-Fenton y 73% en AO-H_2O_2 tras 8 horas a 12.5 mA/cm², mientras que Pt y DSA se limitaron a eficiencias cercanas al 78 – 80% y al 61%, respectivamente.	
Enzimática	Las soluciones de reacción se prepararon a partir de una disolución madre de imatinib en metanol, que posteriormente se diluyó en agua destilada ultrapura (18.6 MΩ·cm) o en agua residual diseñada para reproducir la carga orgánica típica de efluentes hospitalarios (TOC ≈ 65.7 mg C/L; DQO ≈ 277.6 mg O_2/L). Las reacciones se llevaron a cabo en un tampón succínico/láctico de 100 mmol/L, ajustado a pH 4.5, una condición seleccionada por conferir mayor estabilidad catalítica a la manganeso peroxidasa (MnP). El tratamiento enzimático se realizó a una temperatura constante de 50 °C, empleando viales de 2 mL, agitados en un agitador rotatorio a 200 rpm durante 8 h, y variando de forma	1 mg/L	8 h	La combinación óptima de MnP (≈1.12 – 1.13 U/L), H_2O_2 (≈1.87 mmol/L) y Mn^{2+} (≈0.75 mmol/L), en tampón succínico/láctico 100 mmol/L a pH 4.5 y a 50 °C, permitió alcanzar en agua destilada una degradación rápida del imatinib, cercana al 65% tras 4 h, con un incremento marginal hasta el 68% ± 4 al final de 8 h de tratamiento. En contraste, en agua residual simulada la eficiencia fue sensiblemente inferior, con remociones de ~34% a las 4 h y de 47% ± 7 a las 8 h, lo que pone de manifiesto el efecto competitivo de la materia orgánica disuelta sobre las especies oxidantes generadas, reflejado asimismo en un mayor consumo de H_2O_2 (≈30% en agua destilada frente a ≈45% en agua residual	Lumbaque et al., 2021

	sistemática las concentraciones iniciales de MnP (0.25 – 2 U/L), H_2O_2 (0.01 – 3 mmol/L) y Mn^{2+} (0.01 – 1.5 mmol/L).			simulada). El seguimiento cromatográfico confirmó que la desaparición del pico de imatinib estuvo acompañada por la formación de al menos 16 productos de transformación, asociados principalmente a reacciones de hidroxilación, apertura de anillos y clivaje oxidativo del anillo de piperazina.	
Fenton	Las disoluciones de trabajo fueron tratadas mediante el reactivo de Fenton, compuesto por peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) como fuente de iones Fe^{2+}, estableciéndose concentraciones de H_2O_2 entre 0.340 y 1.70 g/L y de Fe^{2+} entre 0.028 y 0.168 g/L. Los ensayos se realizaron en un reactor de vidrio abierto, con un volumen efectivo de 250 mL, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y bajo agitación magnética constante. El pH inicial se ajustó a 3.0 mediante la adición de ácido sulfúrico, una condición óptima para mantener la estabilidad del Fe^{2+} en solución y favorecer la generación eficiente de radicales hidroxilo a partir de la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno.	0.0265 – 1.0 g/L	ND	A bajas concentraciones de imatinib (0.0265 g/L), se alcanzó una eliminación prácticamente cuantitativa (≈100%) en todas las combinaciones evaluadas de peróxido de hidrógeno e ion ferroso, incluso con dosis reducidas de los reactivos (0.340 g/L de H_2O_2 y 0.028 g/L de Fe^{2+}). En estas condiciones diluidas, la oxidación condujo, además, a una mineralización casi completa del carbono orgánico, evidenciada por la disminución del TOC de 14.9 µg/L a 0.11 µg/L. En contraste, a una concentración inicial de imatinib de 1.00 g/L, la eficiencia del proceso pasó a depender de manera crítica de la dosis de Fe^{2+}, ya que las concentraciones más bajas (0.028 g/L) resultaron insuficientes para lograr una remoción elevada, mientras que el incremento del Fe^{2+} hasta aproximadamente 0.168 g/L permitió alcanzar eficiencias cercanas al 98.9%, manteniéndose efectiva la influencia del H_2O_2 dentro del intervalo de 0.340 – 1.70 g/L.	Ghrib et al., 2019
Fotocatálisis	Las disoluciones se prepararon en agua ultrapura, incorporando TiO_2 Aeroxide P25 (21 nm, 35–65 m^2/g, ≥99.5% de pureza) a una concentración de 500 mg/L, de modo que se estableció una relación fármaco/fotocatalizador representativa de condiciones ambientales	0.1 g/L	240 min	La fotocatálisis con TiO_2 permitió la desaparición completa del pico cromatográfico correspondiente al imatinib tras 240 minutos de irradiación, siguiendo una cinética de pseudo-primer orden con una constante aparente de 0.0266/min en ausencia de atrapadores. La degradación del principio activo	Secrétan et al., 2019

simuladas. La irradiación se realizó en una cámara QSUN-XE-1 equipada con una lámpara de xenón (300–800 nm) y filtro Daylight-Q, que reproduce el iluminante estándar D65, operando a una irradiancia constante de 1.5 W/m a 420 nm, una iluminancia visible aproximada de 119 600 lx y una irradiancia UVA de 66.5 W/m². La temperatura se mantuvo controlada en 25 ± 0.5 °C para garantizar condiciones isotermas, y las suspensiones se agitaron continuamente tanto durante el periodo de preequilibrio en oscuridad como durante la irradiación. El pH del medio no se reguló mediante tampones, manteniéndose en el intervalo 5.5–6.9, predominantemente entre 5.7 y 6.0, rango en el que el imatinib se encuentra mayoritariamente en su forma protonada sobre el nitrógeno de la piperazina.			se acompañó de la formación de doce productos de transformación (TP164, TP172, TP188, TP233, TP380, TP425, TP485, TP509-1, TP509-2, TP509-3, TP523 y TP539), cuyos perfiles temporales evidenciaron rutas de oxidación diferenciadas, fundamentadas en la adición de radicales ·OH, la abstracción de hidrógeno y la transferencia monoelectrónica.	
Las disoluciones de imatinib se trataron mediante fotocatálisis heterogénea utilizando dióxido de titanio (TiO_2, Aeroxide P25) inmovilizado sobre una malla de fibra de vidrio como fase catalítica, en un reactor fotocatalítico rectangular abierto (17.5 × 4.6 × 3.3 cm) equipado con dos lámparas UV-A de 6 W (máximo a 365 nm, 47.93 ± 0.26 W/m²) y alojado en una cámara oscura para asegurar una irradiación exclusivamente controlada. La solución estándar de imatinib se preparó en agua ultrapura Milli-Q y los ensayos se realizaron con un volumen efectivo de 100 mL, manteniéndose la carga de TiO_2 inmovilizado en aproximadamente 0.00356 g/cm². Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura	5, 10, y 15 mg/L	ND	A pH 5 y con una concentración inicial de imatinib de 5 mg/L, la degradación siguió una cinética de pseudo-primer orden, con una constante aparente k = 0.0168/min y un tiempo de semivida de 41.26 min, lo que permitió alcanzar eficiencias de eliminación elevadas tras pocas semividas (≈80 – 100 min). El aumento del pH (5 → 9) y de la concentración inicial (5 → 15 mg/L) condujo a una disminución sistemática de k, confirmando que condiciones ligeramente ácidas y concentraciones moderadas favorecen la adsorción del contaminante sobre el TiO_2 y la generación eficiente de ROS. La presencia de componentes típicos de aguas reales, como nitratos, cloruros, fosfatos, bicarbonatos y ácidos húmicos (5 – 250 mg/L), redujo en general la velocidad de	Tolić Čop et al., 2022

	controlada (25 ± 1 °C), con refrigeración del reactor para evitar incrementos térmicos y minimizar los efectos no fotoinducidos, y con recirculación continua de la disolución para garantizar la homogeneidad del sistema y el contacto efectivo con la superficie catalítica. El pH se ajustó en el intervalo 5 – 9 mediante la adición de soluciones de HCl y NaOH (0.01 – 0.1 M).			degradación y aumentó los tiempos de semivida de 41.26 min a 130 min. Bajo condiciones óptimas, se identificaron siete productos de degradación mediante HPLC-QqTOF, mayoritariamente generados por la adición de ·OH, la abstracción de hidrógeno y desalquilaciones sucesivas, los cuales alcanzaron concentraciones máximas entre 30 y 180 min y desaparecieron casi por completo tras aproximadamente 360 min de irradiación.	
Fotooxidativo	Las reacciones se realizaron en un fotoreactor de vidrio con camisa de recirculación de agua, operado en modo discontinuo, con un volumen efectivo de 0.1 L y agitación magnética constante a 550 rpm. La irradiación se llevó a cabo mediante una lámpara de mercurio de baja presión (Pen-Ray, 254 nm), con una potencia actínica de 1.037×10^{-6} E/s, dispuesta de modo que la radiación UV-C incidiera directamente sobre el volumen útil de reacción. En los procesos de oxidación avanzada se emplearon peróxido de hidrógeno (H_2O_2, 30%) y persulfato de sodio ($Na_2S_2O_8$, grado p.a.) como agentes oxidantes, ajustando la relación molar fármaco:oxidante (P:OX) a tres niveles (1:10, 1:105 y 1:200) con el fin de evaluar el efecto de la dosis de oxidante. Los ensayos se efectuaron a una temperatura prácticamente constante de 25.0 ± 0.2 °C y a pH ajustado a 4, 7 o 10 mediante la adición de soluciones de NaOH 0.05 M y/o H_2SO_4.	0.0589g/L	90 min	Las constantes aparentes de reacción fueron del orden de $4.1 – 4.3 \times 10^{-2}$/s para UV-C/H_2O_2 y de $7.4 – 7.6 \times 10^{-2}$/s para UV-C/$S_2O_8^{2-}$, lo que evidencia una velocidad de oxidación claramente superior en presencia de persulfato activado por radiación UV-C. Considerando un tiempo de reacción de 60 s, la fotólisis UV-C aislada permitió eliminar aproximadamente el 37.5% del imatinib, mientras que la adición de H_2O_2 elevó la eficiencia de remoción hasta alrededor del 93.5% y el empleo de $S_2O_8^{2-}$ permitió alcanzar valores cercanos al 99.0%. Inicialmente, las disoluciones presentaron un carácter marcadamente recalcitrante, reflejado en una relación BOD_5/COD de aproximadamente 0.053; sin embargo, tras 90 min de tratamiento, los procesos UV-C/H_2O_2 y, con mayor eficacia, UV-C/$S_2O_8^{2-}$ incrementaron sustancialmente la biodegradabilidad y favorecieron una reducción significativa del TOC.	Samzadeh et al., 2022
Oxidación anódica	Las disoluciones acuosas de trabajo se sometieron a oxidación anódica en una celda electroquímica de un solo compartimento, con	0.5 mg/L	30 min	Entre los electrodos evaluados, el ánodo Ti/RuO_2 presentó la mayor eficiencia, alcanzando más del 99% de degradación en aproximadamente 10 min	Turkay et al., 2018

		un volumen efectivo de 350 mL, operada a temperatura ambiente y bajo agitación magnética intensa. El sistema se configuró con un ánodo de óxidos metálicos mixtos o de diamante dopado con boro, de un área geométrica de 25 cm², y un cátodo de acero inoxidable de igual área. La alimentación eléctrica se proporcionó mediante una fuente de corriente continua digital (0 – 20 A, 0 – 40 V), lo que permitió aplicar densidades de corriente controladas de 15, 30 y 45 mA/cm². Durante los ensayos cinéticos, el pH inicial se ajustó en el intervalo 4 – 9 mediante soluciones de H_2SO_4 y NaOH 0.1 M, empleándose sistemas tampón específicos (ftalato, fosfato y borato). Asimismo, se evaluó el efecto del electrólito de soporte al sustituir Na_2SO_4 por NaCl 0.1 M, manteniéndose constantes la densidad de corriente (30 mA/cm²), el pH inicial (7) y el volumen de trabajo.	de electrólisis a pH neutro y con una densidad de corriente de 30 mA/cm², mientras que otros ánodos de óxidos metálicos mixtos lograron eficiencias del 88% al 99% en 15 min. En contraste, los electrodos SnO_2/Pt y BDD mostraron una remoción prácticamente nula en el mismo intervalo. La eficiencia del proceso estuvo fuertemente condicionada por los parámetros operativos, en particular la densidad de corriente, el pH inicial y la naturaleza del electrólito de soporte. Un incremento moderado de la densidad de corriente, de 15 a 30 mA/cm², aceleró la degradación, mientras que valores más elevados (45 mA/cm²) redujeron la eficiencia aparente debido al favorecimiento de reacciones competitivas, como la evolución de oxígeno. Asimismo, la degradación fue más rápida en condiciones neutras que en medios ácidos o fuertemente alcalinos, y el uso de Na_2SO_4 condujo a cinéticas superiores a las obtenidas con NaCl, atribuibles a la posible formación de especies de persulfato. Mediante LC-MS/MS y cálculos de teoría del funcional de la densidad se identificaron diversos productos de transformación y se propusieron rutas de degradación consistentes con la ruptura preferente de enlaces C–N y la generación de fragmentos intermedios con m/z 394, 222 y 217 g/mol, que evolucionan posteriormente hacia especies más oxidadas y menos estables.

ND: no disponible

2.4.5. Ocurrencia del imatinib en matrices ambientales

A pesar de que hasta la fecha únicamente un estudio ha documentado la presencia de imatinib en aguas superficiales (Proctor et al., 2019; Tabla 8), esta evidencia analítica limitada no debe interpretarse como indicativa de su ausencia en el ambiente acuático. Por el contrario, la escasez de datos disponibles refleja, en gran medida, la manera en que los esquemas de vigilancia ambiental han relegado a los inhibidores de la tirosina cinasa, los cuales rara vez se incorporan como analitos prioritarios en los programas de monitoreo y, cuando son considerados, suelen quedar fuera del alcance de los métodos analíticos convencionales empleados de forma rutinaria. A ello se añaden las interferencias propias de matrices ambientales complejas, la marcada variabilidad temporal de los caudales y la naturaleza intrínsecamente pulsátil de las descargas procedentes de servicios oncológicos, factores que requieren diseños de muestreo con elevada resolución temporal para capturar de forma representativa los episodios de máxima concentración (Güray et al., 2025). En consecuencia, la ausencia de registros positivos debe entenderse como una limitación estructural de los enfoques analíticos y de monitoreo, y no como evidencia de que el fármaco no alcance los cuerpos de agua receptores. De hecho, esta aparente invisibilidad en aguas superficiales contrasta sustancialmente con la evidencia generada en matrices directamente asociadas al ciclo urbano del agua, lo que respalda aún más la convicción de que el imatinib llega a los sistemas de saneamiento como consecuencia de su uso terapéutico (Negreira et al., 2013; Isidori et al., 2016; Olalla et al., 2018). En el Reino Unido, por ejemplo, se han reportado concentraciones comprendidas entre decenas y poco más de un centenar de ng/L tanto en influentes (74.4 – 103.2 ng/L) como en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (103.7 – 182.9 ng/L). De forma concordante, estudios realizados en España han descrito concentraciones de imatinib en efluentes hospitalarios que alcanzan varios cientos de ng/L, lo que confirma el papel de los hospitales como fuentes puntuales de emisión (Olalla et al., 2018). Asimismo, las PEC, estimadas mediante modelos de riesgo ambiental desarrollados conforme a las guías de la EPA, sitúan al imatinib en un rango de unidades a decenas de ng/L en aguas superficiales, con valores reportados de hasta 2.6 ng/L en España, <19.95 ng/L en Francia y <41.8 ng/L en escenarios conservadores recientes (Besse et al., 2012; Domínguez-García et al., 2022; Counago-Fernández et al., 2024). En este contexto, la limitada disponibilidad de datos cuantificados en aguas superficiales debe interpretarse como

un vacío analítico y de diseño de monitoreo que impide dimensionar con precisión la magnitud de la contaminación, pero no como una negación de la presencia ambiental del compuesto. En consecuencia, el imatinib debe considerarse un contaminante emergente de preocupación, cuyo aporte continuo y potencialmente persistente al medio acuático implica un riesgo ecotoxicológico relevante para organismos no objetivo.

Tabla 8. *Concentraciones reportadas y PEC de imatinib en influentes, efluentes y agua superficial.*

País	Método	Concentración			PEC en agua superficial	Referencia
		Influente de PTAR	Efluente de PTAR	Efluente Hospitalario		
Eslovenia	La cuantificación de imatinib se realizó mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC–MS/MS), integrada a un sistema de extracción en fase sólida en línea (on-line SPE–LC–MS/MS), con ionización por electrospray en modo positivo, empleando un sistema Symbiosis Pico acoplado a un espectrómetro de masas 4000 QTRAP.	<LQ	ND	ND	ND	Isidori et al., 2016
España	La cuantificación de imatinib se realizó mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC–MS/MS), integrada a un sistema de extracción en fase sólida en línea (on-line SPE–LC–MS/MS), con ionización por electrospray en modo positivo, empleando un sistema Symbiosis Pico acoplado a un espectrómetro de masas 4000 QTRAP.	<LQ	ND	ND	ND	Negreira et al., 2013
		ND	ND	<399 ng/L	ND	Olalla et al., 2018
	Las PEC se estimaron mediante un modelo de riesgo ambiental basado en el consumo, que integra de forma coherente la excreción, la eliminación en PTAR y la dilución ambiental, de	ND	ND	<70.7 ng/L	2.6 ng/L	Dominguez-García et al., 2022
		ND	ND	ND	<41.8 ng/L	Counago-Fernandez et al., 2024

	acuerdo con las guías de evaluación del riesgo ambiental de la EMA.					
Francia	Las PEC se estimaron mediante un modelo de riesgo ambiental basado en el consumo, que integra de forma coherente la excreción, la eliminación en PTAR y la dilución ambiental, de acuerdo con las guías de evaluación del riesgo ambiental de la EMA.	ND	ND	ND	<19.95 ng/L	Besse et al., 2012
Reino Unido	La cuantificación de imatinib se realizó mediante cromatografía líquida de ultra-alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC–MS/MS), integrada con un sistema de extracción en fase sólida con cartuchos HLB (para matrices líquidas) o con cartuchos MCX de intercambio catiónico de modo mixto (para matrices sólidas).	74.4 – 103.2 ng/L	103.7 – 182.9 ng/L	ND	37 – 39.6 ng/L*	Proctor et al., 2019

ND: no disponible; **LQ:** limite de cuantificacón (180 ng/L); * concentraciones ambientalmente medidas.

2.4.6. Perfil ecotoxicológico del imatinib

Un rasgo metodológico común y determinante de los cuatro estudios que han documentado efectos adversos del imatinib en organismos acuáticos radica en el empleo de rangos de concentración que exceden en varios órdenes de magnitud los niveles detectados incluso en efluentes hospitalarios y urbanos (Tabla 9), lo que condiciona de manera sustancial la interpretación de los resultados y restringe su extrapolación directa a escenarios ambientalmente realistas. En consecuencia, la evidencia disponible debe abordarse primordialmente desde una perspectiva mecanística, ya que, si bien no reproduce condiciones de exposición ambientalmente plausibles, resulta altamente informativa para identificar procesos biológicos particularmente sensibles y delimitar los posibles mecanismos de acción de este inhibidor de la tirosina cinasa. En este sentido, los efectos observados se manifiestan de forma consistente como alteraciones subletales persistentes más que como toxicidad aguda generalizada. Por ejemplo, en el rotífero *Brachionus calyciflorus*, la exposición a imatinib indujo una inhibición dosis-dependiente de la filtración, la ingestión y la actividad de la AChE, con una recuperación solo parcial tras la retirada del compuesto, lo que sugiere una disrupción funcional sostenida y la activación de respuestas anabólicas asociadas a estrés químico, más que un colapso metabólico agudo (Yan et al., 2017). De manera concordante, en embriones de *Xenopus laevis*, la exposición al fármaco no comprometió la viabilidad ni el crecimiento global, pero sí desencadenó efectos teratogénicos de dependencia de la dosis, predominantemente cefálicos y oculares, poniendo de relieve una vulnerabilidad específica de los programas de desarrollo craneofacial, aun en ausencia de toxicidad aguda generalizada. No obstante, pese a la coherencia interna de estos patrones de respuesta, el panorama general continúa dominado por efectos a nivel subindividual que, aunque confirman el potencial citotóxico y modulador de la señalización celular de imatinib en organismos no diana, resultan insuficientes para establecer con claridad sus consecuencias funcionales bajo exposiciones ambientalmente plausibles. Esta limitación adquiere particular relevancia en el ámbito de la neurotoxicidad en peces y otros vertebrados acuáticos, donde la evidencia experimental sigue siendo escasa y fragmentada, ya que, más allá de la inhibición de la AChE y de algunos biomarcadores de estrés oxidativo o apoptosis cerebral, son prácticamente inexistentes los estudios que evalúen de manera sistemática la conducta, la organización de los circuitos neurales o la plasticidad sináptica. En consecuencia, a la fecha

persiste una necesidad sustancial de avanzar en el desarrollo de estudios diseñados bajo exposiciones ambientalmente plausibles, que integren de manera sistemática evaluaciones multiorgánicas y neurofuncionales y consideren explícitamente mecanismos de señalización mediados por tirosina cinasas, con el objetivo de alcanzar una caracterización más realista y ecológicamente pertinente del riesgo asociado al imatinib en ambientes acuáticos.

Tabla 9. *Efectos ecotoxicológicos del imatinib en organismos acuáticos.*

Especie	Concentración	Tiempo	Resultados	Referencia
Brachionus calyciflorus	0.12 – 1200 µg/L	12 h	Durante la fase de exposición (0.12–1200 µg/L), la tasa de filtración mostró una inhibición progresiva y dependiente de la concentración, disminuyendo desde 1.1×10^{-3} mL/min/rot en el control hasta 8.9×10^{-4} y 6.0×10^{-4} mL/min/rot a 0.12 y 12 µg/L (81% y 55% del control, respectivamente), y alcanzando un valor crítico de 1.3×10^{-4} mL/min/rot a 1200 µg/L (≈12% del control; inhibición del 88%). De forma concordante, la tasa de ingestión siguió el mismo patrón inhibitor, reduciéndose desde 2.0×10^{3} células/min/rot en el control hasta 1.7×10^{3} y 1.1×10^{3} células/min/rot (84.3% y 55.9% del control), y colapsando a 253 células/min/rot a la máxima concentración (≈13% del control; reducción del 87%), lo que evidencia una marcada supresión de la actividad alimentaria. Tras 12 h en medio libre de imatinib, la tasa de filtración solo se recuperó parcialmente hasta 4.5×10^{-4} mL/min/rot (63% del control), manteniéndose una inhibición significativa. De manera similar, la tasa de ingestión aumentó desde valores severamente deprimidos durante la exposición (445 células/min/rot; −61%) hasta 890 células/min/rot en la posexposición, aunque aún ≈35% por debajo del control, indicando una disrupción funcional persistente del aparato filtrador aun en ausencia del tóxico. A nivel neuroquímico, la actividad de AChE presentó una inhibición marcada durante la exposición (−35.8% respecto al control), seguida de una sobreestimulación en la fase de recuperación (+59.7%), lo cual es consistente con un proceso de sobrecompensación enzimática tras la acumulación previa de acetilcolina. En paralelo, la concentración de proteína total aumentó significativamente en todas las fases del ensayo, lo que sugiere una respuesta anabólica inducida por estrés químico, mientras que los niveles de ROS no mostraron variaciones detectables ni durante la exposición ni en la posexposición.	Yan et al., 2017

Danio rerio	0.01 – 100 µg/L	7 meses	La exposición crónica a imatinib indujo una desregulación progresiva y dosis-dependiente del transcriptoma hepático, con un aumento del número de genes diferencialmente expresados de 688 a 1 768 entre 0.01 y 1 µg/L, respectivamente. Esta respuesta fue fuertemente sexo-dependiente, predominando en hembras y mostrando un solapamiento intersexual mínimo (3–11%), lo que indica programas regulatorios divergentes. Funcionalmente, en hembras, esta desregulación se tradujo en la activación coordinada de procesos anabólicos y proliferativos, evidenciada por la sobreexpresión de vías del metabolismo de ácidos nucleicos, de la biogénesis ribosomal, del ensamblaje de complejos ribonucleoproteicos y de la traducción, mientras que en machos estas mismas rutas permanecieron estables o tendieron a la represión, especialmente a la mayor concentración. De manera coherente con este estado proliferativo, la respuesta al daño en el ADN mostró una modulación compatible con estrés genómico crónico de baja intensidad, caracterizada por la inducción de chek1, tp73, tp63, ercc3, msh2, genes de choque térmico y del complejo mcm2–7, sin reflejarse en un incremento sustancial del daño primario en el ADN. Esta reprogramación transcripcional se acompañó de una alteración integrada de la red circadiana, con inducción consistente de per2 y represión de per1a, per1b y de los miembros de cry, sugiriendo un ajuste fino de los ritmos hepáticos asociados al metabolismo y la proliferación.	Novak et al., 2021
Xenopus laevis	20 – 20 000 µg/L	96 h	La exposición continua a imatinib no produjo cambios significativos en la viabilidad embrionaria, manteniéndose las tasas de supervivencia comparables a las del control negativo. De manera concordante, la longitud corporal no mostró evidencias de inhibición del crecimiento, lo que descarta toxicidad aguda generalizada y apunta a la manifestación de efectos subletales de naturaleza teratogénica. En este contexto, el análisis morfológico evidenció un incremento dosis-dependiente de la teratogenicidad, con una LOEC establecida en 20 000 000 ng/L, concentración a la que se observó un patrón malformativo integrado y estadísticamente significativo. Este	Isidori et al., 2016

			patrón estuvo caracterizado principalmente por alteraciones cefálicas (≈14.2% de los embriones viables), asociadas a defectos oculares (≈6.75%) e intestinales (≈6.50%), y acompañadas en menor proporción por edema abdominal (≈1.90%) y flexión axial (≈1.35%), todas claramente diferenciadas del control.	
Elliptio complanata	4 100 µg/L	96h	La exposición a imatinib durante 96 h resultó en una acumulación tisular dosis-dependiente, alcanzando concentraciones cercanas a 300 ng/g de peso húmedo en el nivel de exposición más alto. Esta bioacumulación se asoció con alteraciones funcionales en tejidos clave, en particular en la gónada, donde se observó un incremento significativo del índice gonadosomático (GSI), lo que indica una perturbación en la dinámica de los tejidos reproductores. De forma concomitante, la gónada presentó un aumento sostenido de la LPX, lo que evidencia un estado de estrés oxidativo inducido por el fármaco. En coherencia con este escenario, el daño al ADN, evaluado mediante el ensayo de precipitación alcalina, se incrementó significativamente tanto en la glándula digestiva como en la gónada de los organismos expuestos. Paralelamente, la actividad de la AChE se redujo significativamente, lo que sugiere una interferencia funcional en la transmisión colinérgica y un potencial compromiso de la actividad neural.	Eysseric et al., 2025

2.5. Danio rerio

Danio rerio, comúnmente denominado pez cebra, es un pez teleósteo ciprínido de agua dulce originario del subcontinente asiático que, debido a un conjunto de características morfológicas, fisiológicas y ecológicas bien definidas, se ha consolidado como uno de los organismos modelo de mayor relevancia en la investigación biomédica contemporánea (Ferrandino et al., 2024). Desde el punto de vista taxonómico, la especie se encuentra clasificada dentro de la familia *Danionidae*, en el orden *Cypriniformes*, y presenta una organización corporal típica de peces de nado activo, caracterizada por un cuerpo fusiforme hidrodinámico, que alcanza aproximadamente 5 cm de longitud total, acompañado de aletas bien desarrolladas que favorecen una locomoción eficiente (Mayden et al., 2007; McCluskey et al., 2015; Ferrandino et al., 2024) . A nivel externo, exhibe un patrón cromático altamente distintivo, compuesto por franjas longitudinales azuladas y plateadas dispuestas de manera paralela a lo largo de ambos flancos, rasgo que no solo facilita su identificación, sino que también ha sido ampliamente utilizado en estudios genéticos y de desarrollo (Figura 7). En términos ecológicos y biogeográficos, *Danio rerio* se distribuye de manera natural en la cuenca del río Ganges y en regiones adyacentes al sistema himalayo, abarcando áreas de India, Bangladesh, Nepal, Pakistán y Bután, donde coloniza preferentemente ambientes acuáticos lénticos (Arunachalam et al., 2013; Teame et al., 2019). Estos incluyen arroyos de bajo caudal, canales secundarios y terciarios, humedales y arrozales, caracterizados por aguas someras y fondos predominantemente arenosos o con acumulación de detritos orgánicos. En dichos sistemas, la especie presenta un patrón de uso espacial altamente flexible, de modo que, aunque muestra una tendencia a permanecer próxima al sustrato, principalmente como estrategia para reducir la presión de depredación (Teame et al., 2019), posee la capacidad de explotar de forma eficiente la totalidad de la columna de agua, ocupando indistintamente tanto sectores de aguas abiertas como microhábitats asociados a una vegetación acuática densa (Spence et al., 2006). Esta amplitud en el uso del hábitat refleja una elevada plasticidad ecológica y una notable capacidad adaptativa, rasgos que contribuyen significativamente a su éxito como organismo modelo en estudios experimentales.



Figura 7. *Características morfológicas de Danio rerio (Teleostei: Cyprinidae).* Desde una perspectiva morfológica, *Danio rerio* es un pez teleósteo de pequeño porte, con una longitud corporal comprendida entre 2 y 5 cm, cuyo nombre común deriva del patrón distintivo de franjas longitudinales azuladas que recorren horizontalmente ambos flancos (Ferrandino et al., 2024).

2.5.1. Características biológicas

El posicionamiento de *Danio rerio* como uno de los modelos vertebrados más relevantes en la investigación biomédica contemporánea se fundamenta en un conjunto de atributos genéticos, fisiológicos y experimentales estrechamente interrelacionados, cuyo eje central es su elevado grado de conservación genética con la especie humana. En este contexto, la secuenciación completa de su genoma permitió establecer que aproximadamente el 70 % de los genes humanos presentan homólogos funcionales en el pez cebra y que más del 80 % de los genes implicados en enfermedades humanas están representados en su repertorio génico (Ferrandino et al., 2024; Siddiqui et al., 2025), lo que constituye una base molecular sólida para la extrapolación de hallazgos experimentales. Esta correspondencia genómica se manifiesta a nivel del organismo en la presencia y la funcionalidad de los principales sistemas fisiológicos característicos de los mamíferos, incluidos los sistemas cardiovascular, nervioso e inmunitario (Teame et al., 2019), lo que refuerza directamente la validez biológica del modelo. A esta base se suma una serie de ventajas biológicas que optimizan su aplicabilidad experimental, entre las que destacan su elevada fecundidad, con la producción de cientos de embriones por puesta, su corto ciclo reproductivo y su desarrollo embrionario externo y rápido (Adhish y Manjubala, 2023; Jiang et al., 2025). Asimismo, la transparencia óptica de

embriones y larvas en las primeras etapas del desarrollo permite la observación directa y no invasiva de procesos morfogenéticos, fisiológicos y patológicos in vivo (Teame et al., 2019; Adhish y Manjubala, 2023). En conjunto, estas características configuran un sistema experimental altamente accesible y manipulable, cuya versatilidad se ve potenciada por la disponibilidad de herramientas genéticas de alta precisión, como la edición génica mediante CRISPR/Cas9 y el silenciamiento génico mediante morfolinos, lo que permite evaluar de forma directa y reproducible los efectos de intervenciones dirigidas sobre el genoma a lo largo del desarrollo (Zha et al., 2024).

2.5.2. Relevancia en toxicología ambiental

El pez cebra se ha consolidado como un modelo vertebrado de referencia en toxicología ambiental debido a su capacidad para integrar, de manera multiescalar y mecanísticamente coherente, los efectos de los contaminantes emergentes a lo largo de distintos niveles de organización biológica. En el ámbito reproductivo, por ejemplo, la determinación sexual, regulada por la interacción entre factores genéticos y variables ambientales como la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la exposición a disruptores endócrinos, confiere a esta especie una elevada sensibilidad para detectar alteraciones en la diferenciación gonadal y la calidad gamética, lo que permite la identificación temprana de efectos subletales con potencial impacto poblacional (Silveira et al., 2019; Ma et al., 2022; de Oliveira et al., 2023). De forma complementaria, el rápido desarrollo del sistema nervioso central y la adquisición temprana de funciones motoras y sensoriales facilitan la detección de efectos neurotóxicos subletales, que se manifiestan como cambios conductuales asociados a disrupciones en circuitos neuronales y en sistemas de neurotransmisión clave (Audira et al., 2018; d'Amora y Giordani, 2018). Asimismo, la presencia de órganos bien definidos y funcionalmente comparables a los de otros vertebrados, como branquias, hígado, riñón, intestino, corazón y gónadas, permite la detección integrada de daño tisular mediante la correlación de alteraciones histopatológicas con disfunciones en procesos esenciales de homeostasis y detoxificación (Reddy y Rawat, 2013; Borges et al., 2019). Finalmente, a nivel genómico, la conservación de las principales vías de mantenimiento y reparación del ADN posibilita la evaluación de la genotoxicidad mediante biomarcadores de daño y de respuesta adaptativa al estrés genético (Pei y Strauss, 2013; Canedo y Rocha, 2021), mientras que, de manera complementaria, la hematopoyesis, altamente conservada filogenéticamente, constituye un

sistema sensible para la identificación temprana de efectos hemotóxicos e inmunotóxicos inducidos por contaminantes ambientales (Ellett y Lieschke, 2010; Gore et al., 2018). En conjunto, estas características posicionan al pez cebra como una plataforma experimental integral y altamente resolutiva para la evaluación de efectos subletales y crónicos de contaminantes emergentes, con elevada pertinencia para la ecotoxicología acuática y la evaluación del riesgo ambiental.

3. JUSTIFICACIÓN

La creciente incidencia del cáncer a escala global ha impulsado de manera sostenida un incremento sustancial en la prescripción y el consumo de fármacos antineoplásicos, estableciendo un patrón de uso intensivo y prolongado de estas terapias en la práctica clínica contemporánea (Shang et al., 2023). En este contexto, el cisplatino y el imatinib se han consolidado como dos pilares fundamentales del tratamiento oncológico moderno, hasta el punto de ser reconocidos como fármacos de referencia en numerosos países, debido a su acreditada eficacia frente a un amplio espectro de neoplasias sólidas y hematológicas (Vijayalakshmi et al., 2020; Olsen et al., 2021; Roque-Diaz et al., 2021; Chen et al., 2022; Efraim et al., 2022; Moreira et al., 2022; Zhang et al., 2022a,b; Lv et al., 2023; Linares et al., 2023; Lee et al., 2024). No obstante, la magnitud y persistencia de su uso trascienden el ámbito estrictamente terapéutico y adquieren una dimensión ambiental de creciente relevancia, en la medida en que la evidencia científica disponible indica que su administración continuada conduce inevitablemente a su liberación en los compartimentos ambientales, particularmente en los sistemas acuáticos, donde han sido detectados en concentraciones generalmente bajas, situadas en el rango de ng/L a µg/L (Olalla et al., 2018; Proctor et al., 2019; Cristóvão et al., 2020; Dominguez-García et al., 2022).

Si bien estas concentraciones podrían considerarse, de forma aislada, ecotoxicológicamente poco significativas, dicha interpretación resulta limitada cuando se analizan de manera integrada la elevada bioactividad intrínseca de estos compuestos y su presencia persistente en el medio acuático. Lo anterior se debe principalmente a que la combinación de ambos factores favorece la generación de escenarios de exposición subletal capaces de adquirir una relevancia biológica sustancial, especialmente en organismos acuáticos expuestos de manera continua o durante ventanas críticas de su desarrollo. A modo de ilustración, diversos estudios han demostrado que el imatinib, en concentraciones del orden de µg/L, provoca efectos ecotoxicológicos relevantes, entre los que destacan una citotoxicidad pronunciada y dependiente de la dosis y del tiempo en cultivos de hepatocitos de pez cebra, así como una disminución significativa de la actividad alimentaria en invertebrados planctónicos y la inducción de daño genotóxico en larvas de *Danio rerio* (Novak et al., 2017; Yan et al., 2017; Novak et al., 2021). De manera complementaria y en consonancia con este patrón de toxicidad a bajas concentraciones, se ha descrito que el cisplatino, incluso a niveles tan bajos

como 0.1 µg/L, es capaz de desencadenar estrés oxidativo, alteraciones en la actividad de la AChE, disfunciones en la transmisión neuromuscular y modificaciones conductuales adversas en diversos invertebrados acuáticos (Trombini et al., 2016; Fonseca et al., 2017; Bownik et al., 2020; Ren et al., 2022). Asimismo, cuando se emplean concentraciones más elevadas, habitualmente superiores a las detectadas en efluentes, se han documentado efectos ototóxicos, pérdida de células sensoriales y alteraciones fisiológicas en pez cebra, lo que refuerza la elevada potencia biológica de este compuesto y su capacidad de afectar múltiples niveles de organización biológica (Giari et al., 2012; Hung et al., 2019; Hung et al., 2022; Lee et al., 2022; Li et al., 2024).

Sin embargo, a pesar de la solidez de esta evidencia, persiste una brecha sustancial en la comprensión integrada de los efectos de ambos fármacos bajo escenarios de exposición ambiental realistas. En particular, los estudios que evalúan simultáneamente la inducción de daño multiorgánico, la alteración coordinada de rutas moleculares clave y la manifestación de cambios conductuales funcionales, como los comportamientos análogos a la ansiedad, constituyen indicadores altamente sensibles de disfunción neurobiológica y de impacto ecológico. Esta fragmentación del conocimiento limita la capacidad de realizar evaluaciones de riesgo ambiental robustas y holísticas, y pone de manifiesto la necesidad de enfoques experimentales integradores que conecten los niveles molecular, fisiológico y conductual. En este contexto, el presente estudio se fundamenta en la necesidad de abordar de manera sistemática dicha brecha, mediante la evaluación concomitante del estrés oxidativo agudo, el análisis exhaustivo de la expresión génica diferencial y la caracterización cuantitativa rigurosa de alteraciones conductuales en adultos de *Danio rerio* expuestos a cisplatino e imatinib, con el fin de aportar una visión integrada y ecológicamente relevante de sus efectos potenciales.

4. HIPÓTESIS

La exposición a corto plazo de *Danio rerio* a concentraciones ambientalmente relevantes de cisplatino e imatinib generará un aumento significativo en los biomarcadores de estrés oxidativo, alteraciones en la expresión de genes clave involucrados en la regulación de la apoptosis, la homeostasis energética y el desarrollo neuronal, así como modificaciones conductuales cuantificables compatibles con fenotipos análogos a la ansiedad.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Determinar si concentraciones ambientalmente relevantes de cisplatino e imatinib pueden inducir daño multiorgánico y comportamientos análogos a la ansiedad en *Danio rerio*, mediante un enfoque integral que abarque la determinación del estrés oxidativo agudo, el análisis de la expresión génica, y la caracterización cuantitativa de alteraciones conductuales.

5.2. Objetivos específicos:

1) Caracterizar de manera cuantitativa las alteraciones conductuales inducidas por la exposición aguda a cisplatino e imatinib en *Danio rerio*, mediante la aplicación del ensayo de NovelTank y el análisis automatizado del comportamiento utilizando el software EthoVision XT, con el objetivo de identificar fenotipos conductuales compatibles con estados análogos a la ansiedad.

2) Analizar el impacto de la exposición aguda a concentraciones ambientalmente relevantes de cisplatino e imatinib sobre el equilibrio redox en *Danio rerio*, mediante la cuantificación integrada de biomarcadores de estrés oxidativo, incluyendo la actividad de SOD y CAT, así como los niveles de LPX, hidroperóxidos (HPC), proteínas carboniladas (PCC) y proteínas totales (PT), determinados en intestino, branquias, hígado y cerebro, con el fin de identificar alteraciones tempranas asociadas al daño celular inducido por estos fármacos.

3) Determinar el efecto de la exposición a cisplatino e imatinib sobre la expresión de genes asociados con la muerte celular programada, la homeostasis energética, la señalización del calcio, el estrés del retículo endoplásmico (RE), los mecanismos de citoprotección, la degeneración axonal y el desarrollo neuronal en *Danio rerio*, mediante la cuantificación por RT-PCR de mapk8, bax, p53, casp3, prkaa2, ddit3, stim1a, nrf1, nrf2, bcl2, sarm1, manf,

otpa y myf6, con el propósito de dilucidar los mecanismos moleculares subyacentes al daño multiorgánico y neurotóxico inducido por estos fármacos.

4) Evaluar la actividad de la AChE en el tejido cerebral de *Danio rerio* expuesto a cisplatino e imatinib, mediante el método colorimétrico de Ellman, con el fin de determinar posibles alteraciones en la neurotransmisión colinérgica y su contribución a los cambios conductuales y moleculares observados.

5) Integrar los hallazgos bioquímicos, moleculares y conductuales obtenidos para construir un modelo explicativo del daño multiorgánico inducido por cisplatino e imatinib en *Danio rerio*, que permita comprender los mecanismos de toxicidad subletal de estos fármacos como contaminantes emergentes y aportar evidencia relevante para la evaluación de su riesgo ambiental.

6. MÉTODO

6.1. Reactivos

El cisplatino (CAS 15663–27-1) y el mesilato de imatinib (CAS 220127–57–1) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Para asegurar una solubilidad adecuada, el cisplatino se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) al 0,01 %, concentración previamente establecida como segura y no tóxica en estudios toxicológicos (Hoyberghs et al., 2021). Los demás reactivos utilizados, igualmente provenientes de Sigma-Aldrich, presentaban la máxima pureza disponible, y todas las soluciones se prepararon empleando agua destilada bajo condiciones controladas.

6.2. Acondicionamiento de los peces

Los peces cebra adultos (*Danio rerio*), cepa AB, se mantuvieron en acuarios de 100 L a una densidad controlada de un individuo por litro, bajo sistemas de filtración mecánica continua. La calidad fisicoquímica del agua se monitoreó diariamente, manteniéndose la temperatura en 27 ± 1 °C, el pH entre 6.8 y 7.5, el oxígeno disuelto por encima de 6.0 mg/L y las concentraciones de amoníaco y nitrito por debajo de 0.02 mg/L. Con el fin de reproducir condiciones ambientales estandarizadas, se estableció un fotoperiodo de 14 h de luz y 10 h de oscuridad. Asimismo, se realizó una renovación parcial del agua (≈50%) cada tres días para preservar la estabilidad del sistema y minimizar el estrés fisiológico. Los organismos fueron alimentados tres veces al día con escamas de espirulina (Ocean Nutrition, EE. UU.), en raciones controladas que aseguraron la saciedad sin comprometer la calidad del agua.

6.3. Protocolo de exposición

Un total de 210 peces adultos de *Danio rerio* (5 – 6 meses de edad), con una longitud media de 3.9 ± 0.1 cm y un peso corporal de 519 ± 18 mg, se asignaron aleatoriamente a siete grupos experimentales, cada uno integrado por 30 individuos mantenidos en 40 L de agua declorada. Un grupo se asignó como control, mientras que los seis restantes se expusieron a concentraciones crecientes de cisplatino (2, 5 y 10 µg/L) o de imatinib (0,1, 1 y 10 µg/L). Las concentraciones de exposición se seleccionaron para evaluar efectos subletales de carácter mecanístico, abarcando el límite superior de los valores reportados en efluentes hospitalarios (Santana-Viera et al., 2020) y en PTAR (Proctor et al., 2019), y superándolo

intencionalmente en los tratamientos de mayor concentración, sin pretender representar niveles característicos de aguas superficiales. Las exposiciones se realizaron durante 96 h, manteniéndose condiciones ambientales constantes equivalentes a las de aclimatación, con una temperatura de 27 ± 1 °C, un fotoperiodo de 14 h de luz y 10 h de oscuridad, y una renovación diaria del agua para asegurar su calidad fisicoquímica y limitar la acumulación de desechos metabólicos.

6.4. Pruebas conductuales (NovelTank Test)

Al finalizar cada periodo de exposición, se seleccionaron aleatoriamente 15 individuos por tanque, correspondientes a cada ensayo independiente, los cuales se analizaron por separado. Previo a la evaluación conductual, los organismos se transfirieron cuidadosamente a agua limpia y declorada en un tanque independiente dentro de la sala de pruebas, donde permanecieron en aclimatación durante una hora bajo condiciones controladas de iluminación y temperatura. Este periodo permitió reducir el estrés asociado a la manipulación y favorecer la eliminación de residuos de los compuestos, evitando la contaminación del sistema de evaluación. Posteriormente, cada pez se trasladó individualmente mediante redes de malla blanda a un tanque rectangular nuevo (15 L; 21.2 × 21.2 × 25.2 cm) con agua fresca y declorada, libre de fármacos y mantenida bajo los mismos parámetros fisicoquímicos que los tanques de acondicionamiento. Cada individuo fue observado y videograbado durante seis minutos. Las pruebas se realizaron entre las 8:00 y las 11:00 h para minimizar la variabilidad circadiana y se distribuyeron a lo largo de varios días con el fin de evitar efectos de lote. Las grabaciones se obtuvieron mediante un sistema multicámara sincronizado y se analizaron utilizando el software EthoVision XT (Noldus Information Technology), lo que permitió una cuantificación automatizada y precisa de los parámetros conductuales (distancia total recorrida, tiempo de permanencia en las zonas inferior y superior del tanque, latencia hasta la primera entrada a la zona superior, frecuencia de transiciones a estados de alta movilidad, tiempo total en movimiento y tiempo total de inmovilidad).

6.5. Eutanasia y disección de los peces

Una vez concluidas las evaluaciones conductuales, todos los peces cebra de cada tanque de exposición en cada ensayo independiente, incluidos los individuos sometidos a la prueba

NovelTank y aquellos no evaluados conductualmente, fueron sacrificados mediante choque hipotérmico por inmersión en agua a 2 – 4 °C, en estricto cumplimiento de las Directrices de la AVMA para la Eutanasia de Animales (Edición 2020) (Underwood y Anthony, 2020). El cese del movimiento opercular y la ausencia de respuesta a estímulos externos se emplearon como criterios para confirmar la muerte de los organismos. Inmediatamente después, el cerebro, el hígado, las branquias y el intestino se disecaron y se transfirieron a tubos Eppendorf de 1.5 mL que contenían solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4) o RNALater® (QIAGEN), según el análisis posterior previsto. Para asegurar la coherencia del diseño experimental, los órganos procedentes de individuos de un mismo tanque se agruparon sistemáticamente, de modo que cada tanque constituyera una unidad analítica independiente. Dado que se emplearon tres tanques por tratamiento en los ensayos independientes, se obtuvieron tres réplicas biológicas por tratamiento y por órgano. En las determinaciones de estrés oxidativo y de la actividad de la AChE, cada muestra agrupada consistió en diez órganos completos, cinco provenientes de peces evaluados conductualmente y cinco de peces no evaluados, homogeneizados como una sola muestra. De manera equivalente, para los análisis de expresión génica, se agruparon diez órganos completos por tanque y se conservaron en RNALater® para estabilizar el ARN. Este enfoque garantizó que cada réplica reflejara fielmente al tanque como unidad experimental, manteniendo una contribución equilibrada de los individuos y asegurando la consistencia de los análisis conductuales, bioquímicos y moleculares.

6.6. Evaluación de los biomarcadores redox

Los biomarcadores redox se determinaron a partir de homogeneizados tisulares obtenidos mediante un homogeneizador de rotor-estator. El homogeneizado se fraccionó inmediatamente en dos alícuotas para permitir la evaluación integrada del daño oxidativo y de la respuesta antioxidante enzimática. La primera fracción (300 µL) se mezcló con un volumen equivalente de ácido tricloroacético (TCA) al 20 % (p/v) para la precipitación proteica, seguida de centrifugación a 11 495 rpm durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante obtenido se empleó para determinar el contenido PCC, la LPX y la concentración de HPC, utilizados como indicadores del daño oxidativo. La segunda fracción (700 µL) se centrifugó a 12 500 rpm durante 15 min a 4 °C, y el sobrenadante clarificado se destinó a la medición

de la actividad de enzimas antioxidantes clave, incluyendo la SOD y la CAT. Para ambas fracciones, el contenido proteico total (PT) se cuantificó mediante el método de Bradford, y los niveles de los biomarcadores se normalizaron en función de dicha concentración. En la Tabla 10 se presentan las descripciones completas de todos los protocolos analíticos empleados.

Tabla 10. *Condiciones experimentales y parámetros espectrofotométricos para la determinación de los biomarcadores de estrés oxidativo.*

Biomarcador	Condiciones	Absorbancia	Referencia
PT	La cuantificación de PT se realizó a partir de una alícuota de 25 µL de muestra, a la cual se añadieron 75 µL de agua ultrapura y 2.5 mL del reactivo de Bradford, preparado con 0.05 g de azul de Coomassie, 25 mL de etanol al 96 % y 50 mL de ácido fosfórico, aforado a un volumen final de 500 mL con agua ultrapura. La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reaccionar durante 5 min para favorecer el desarrollo del complejo cromóforo.	595 nm	Bradford, 1976
CAT	La actividad de CAT se determinó utilizando 20 µL de muestra, que se incubaron en presencia de 1 mL de tampón de aislamiento compuesto por 0.3 M de sacarosa, 1 mM de EDTA, 5 mM de HEPES y 5 mM de KH_2PO_4. La reacción se inició mediante la adición de 0.2 mL de peróxido de hidrógeno a una concentración final de 20 mM, registrándose inmediatamente la variación de absorbancia asociada a la degradación del sustrato.	240 nm (0s y 60s)	Radi et al., 1991
SOD	La determinación de la actividad de la SOD se llevó a cabo empleando 40 µL de muestra, a los que se añadieron 260 µL de tampón carbonato compuesto por 50 mM de carbonato de sodio y 0.1 mM de EDTA, ajustado a pH 10.2. La reacción se inició con la adición de 200 µL de adrenalina a 30 mM y se monitorizó la autooxidación del sustrato bajo las condiciones experimentales establecidas.	480 nm (30s y 5 min)	Misra y Fridovich, 1972

HPC	La concentración de HPC se evaluó a partir de 100 µL de muestra, que se incubaron con 900 µL de una mezcla reactiva que contenía 0.25 mM de $FeSO_4$, 25 mM de H_2SO_4, 0.1 mM de naranja de xilenol y 4 mM de BHT disuelto en metanol al 90 %. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 60 min para permitir el desarrollo completo del complejo coloreado.	560 nm	Jiang et al., 1992
LPX	La LPX se determinó utilizando 100 µL de muestra, ajustados a un volumen final de 1 mL con tampón Tris-HCl (pH 7.4), seguido de una incubación a 37 °C durante 30 min. Posteriormente, se añadieron 2 mL del reactivo TBA-TCA, compuesto por 0.37% de ácido tiobarbitúrico en 15 % de ácido tricloroacético. La mezcla se calentó a ebullición durante 5 min, se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min para obtener el sobrenadante.	535 nm	Buege y Aust, 1978
PCC	La cuantificación de PCC se realizó a partir de 100 µL de muestra, los cuales se derivatizaron mediante la adición de 150 µL de DNPH a 10 mM, disuelto en HCl 2 M, seguida de una incubación en oscuridad a temperatura ambiente durante 1 h. Las proteínas se precipitaron mediante la adición de 500 µL de TCA al 20 % y se mantuvieron a 4 °C durante 15 min, seguidas de centrifugación a 16 000 rpm durante 5 min. El pellet obtenido se lavó tres veces con una solución etanol:acetato (1:1) y, finalmente, se solubilizó en 1.5 mL de guanidina 6 M (pH 2.3), incubándose durante 30 min a 37 °C.	366 nm	Levine et al., 1994

6.7. Determinación de la actividad de la AChE

La actividad de la AChE se determinó mediante el método colorimétrico descrito por Ellman et al. (1961). Las muestras tisulares se homogeneizaron en tampón fosfato frío (0.1 M, pH 8.0) suplementado con un inhibidor de proteasas y, posteriormente, se centrifugaron a 10 000 × g durante 15 min a 4 °C empleando un rotor de ángulo fijo. El sobrenadante obtenido (400 µL) se combinó con 2,6 mL de tampón fosfato (0.1 M, pH 8.0), al que se añadió 0,1 mL de ácido 5,5′-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB, 0.1 M) como reactivo cromogénico. La

reacción enzimática se inició mediante la adición de 100 µL de yoduro de acetiltiocolina, alcanzándose una concentración final de sustrato de 1 mM. La formación de tiocolina se monitorizó espectrofotométricamente a 412 nm durante 5 min, registrándose la absorbancia cada 1 min.

6.8. Cuantificación de la expresión de ARNm

El ARN total se extrajo de muestras tisulares utilizando el kit RNeasy® Mini (QIAGEN), según las especificaciones del fabricante. La pureza y calidad del ARN se evaluaron mediante la relación de absorbancia a 260/280 nm y se corroboraron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %. La síntesis de ADN complementario (ADNc) se realizó a partir de 1 µg de ARN total empleando el kit QuantiTect® Reverse Transcription (QIAGEN), mediante un protocolo que incluyó una incubación a 42 °C durante 15 s seguida de una etapa de inactivación a 95 °C durante 3 min. Los genes específicos analizados se detallan en la Tabla 11. La cuantificación de la expresión génica se realizó mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) con un sistema Rotor-Gene Q (QIAGEN). Cada reacción se preparó en un volumen final de 50 µL, compuesto por 25 µL de QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix 2×, 1.0 µL de cada cebador, 4,0 µL de ADNc y 19 µL de agua libre de ARNasa. El programa de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 10 min, seguida de 35 ciclos de 15 s a 94 °C para la desnaturalización, 30 s para la hibridación de cebadores y 30 s de extensión a 72 °C. Los niveles de expresión se normalizaron utilizando β-actina como gen de referencia.

Tabla 11. *Números de acceso y secuencias de cebadores empleados en el análisis de la expresión génica.*

Genes	ID de acceso	Secuencia (5′ → 3′)
β-actina	NM_131031	F: ACCACGGCCGAAAGAGAAAT R: ATGTCCACGTCGCACTTCAT
bax	AF231015.1	F: GGCTATTTCAACCAGGGTTCC R: TGCGAATCACCAATGCTGT
bcl2	NM_001030253.2	F: AGATGGCGTCCCAGGTAGAT R: AGAGTCTCTCTGCTGACCGT
casp3	NM_131877	F: GATGAACGGAGACTGTGTGG R: CTGAAGGCATGGGATTGAGG
p53	NM_001271820.1	F: ATCCGGGCAATCCGAAAGTC R: CACCTGGGGGCTGAATACTTA

nrf1	NM_001328540.1	F: CAGTGACAGTAGCCCAGGTG R: CTGACGCTTGTGTGGTTTGG
nrf2	NM_182889.1	F: ACCGGGAGATTTCAGCTCAG R: CCGAAGGATCCGTCTTCGGTT
prkaa1	NM_001110286.1	F: TGTGAGGACGCAGCAAAAGG R: GAGGTAAGAGAAGAGGCCAG
prkaa2	XM_695739.8	F: GGAGCCAGAGCAAACCCTAC R: TACGGGTTCACCACTTTCCA
mapk8	NM_131721.2	F: TGCTTTTTCGGGATCTGTAAGC R: AGCGGAATTAAGCTGGGATGT
ddit3	NM_001082825.1	F: GACACGTAGAGAAGGGGACG R: CTCTCGGTGGGAGACATTCAC
stim1	XM_42739941	F: CTCTTAACCATGCCCCTGCT R: TGGTGGCTTTAGTTTGGCACT
sarm1	NM_001130596.1	F: TCAGTTACCGACGCACTACG R: GCTCTCTGGACGCTTGTGAT
otpa	NM_001128703.1	F: TCGGTGAGTTATCAACGCCA R: TAATGCCTCCCTGTGACCCA
manf	NM_001076629.1	F: GGGGCTTGCATTGTGTTGTC R: CCCATAACGTCAGGAGGCAT
myf6	NM_001003982.1	F: CAGGACCTCTTGCATTCGCT R: TCCAACACGGCTCCTTCTCT

6.9. Análisis estadístico

En todos los análisis, el tanque de exposición se consideró como la unidad experimental independiente; en consecuencia, cada tratamiento estuvo representado por tres réplicas biológicas, correspondientes a tres tanques de exposición independientes. Antes de aplicar pruebas inferenciales, los datos se evaluaron para verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianzas. La homocedasticidad se comprobó mediante la prueba de Bartlett, que no evidenció diferencias significativas entre las varianzas de los grupos ($p > 0,05$), mientras que la normalidad de las distribuciones se confirmó mediante la prueba de Shapiro–Wilk, sin detectarse desviaciones significativas ($p > 0,05$). El cumplimiento de estos supuestos permitió utilizar procedimientos estadísticos paramétricos. Las comparaciones entre los grupos de tratamiento se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, utilizando el software SigmaPlot, versión 12.3. El umbral de significancia estadística se estableció en $\alpha = 0,05$ y, cuando correspondió, las diferencias específicas entre grupos se identificaron mediante la prueba post hoc de diferencia honestamente significativa de Tukey, considerándose significativas aquellas con valores de $p < 0,05$.

7. RESULTADOS

7.1. Patrones de comportamiento observados en el NovelTank Test.

7.1.1. Cisplatino

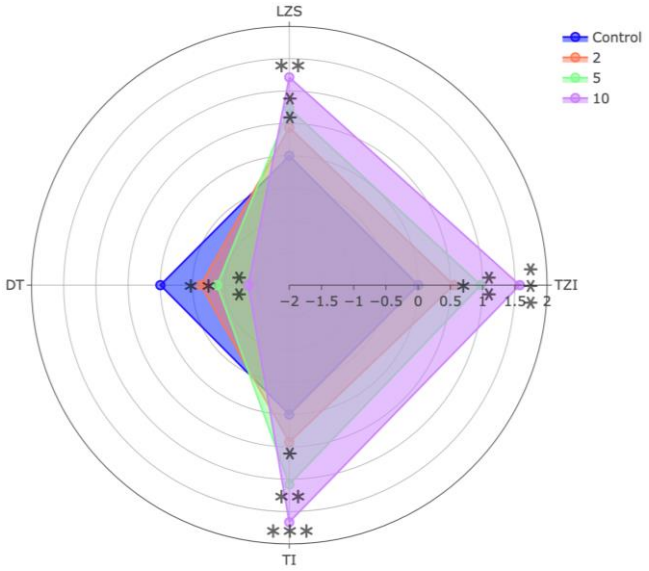
Los gráficos de estrellas evidenciaron un patrón consistente de alteraciones conductuales en *Danio rerio* tras 96 horas de exposición a cisplatino, mostrando una clara dependencia de la concentración y diferencias estadísticamente significativas en todos los parámetros evaluados respecto al grupo control (Figura 8A). En cuanto a la actividad locomotora, la distancia total recorrida (DT) presentó una disminución progresiva, reflejada en valores negativos del índice de desviación, que se intensificaron con la concentración, pasando de A = −0.63 a 2 µg/L a A = −0.88 a 5 µg/L y alcanzando A = −1.36 a 10 µg/L. Este patrón indica un deterioro gradual del desempeño motor, compatible con una restricción progresiva de la capacidad de desplazamiento. De manera concordante, el tiempo de inmovilización (TI) aumentó de forma sostenida a medida que se incrementó la concentración de cisplatino, con valores de A de 0.43, 1.08 y 1.66 a 2, 5 y 10 µg/L, respectivamente, lo que refuerza la evidencia de una supresión general de la actividad locomotora. Respecto a la exploración vertical, el tiempo de permanencia en la zona inferior del tanque (TZI) presentó un incremento progresivo en función de la concentración, evidenciado por valores de desviación que aumentaron de A = 0.55 a 2 µg/L a A = 0.97 a 5 µg/L y A = 1.58 a 10 µg/L, indicando una preferencia creciente por las regiones inferiores del tanque. De forma coherente, la latencia para acceder a la zona superior (LZS) exhibió un patrón similar, con valores de A de 0.44, 0.73 y 1.21 a 2, 5 y 10 µg/L, respectivamente, lo que refleja un retraso progresivo en la exploración de dicha zona. En conjunto, el perfil integrado derivado de los gráficos de estrellas indica que la exposición a cisplatino induce alteraciones conductuales robustas y multidimensionales en *Danio rerio*, caracterizadas por una marcada reducción de la actividad locomotora, un aumento del TI y una preferencia por la zona inferior del tanque acompañada de un retraso en la exploración vertical.

7.1.2. Imatinib

De manera análoga a lo observado con cisplatino, la evaluación mediante gráficos de estrellas evidenció un patrón consistente de alteraciones conductuales en *Danio rerio* tras 96 horas de exposición a imatinib, con efectos claramente dependientes de la concentración. En particular, se registraron modificaciones estadísticamente significativas a 1 y 10 µg/L,

mientras que a la concentración más baja evaluada (0.1 µg/L) no se observaron diferencias respecto del grupo control (Figura 8B). El análisis de la exploración vertical evidenció un incremento progresivo del TZI, desde A = 0.25 a 0.1 µg/L hasta A = 1.86 a 10 µg/L, lo que indica una evitación creciente de la zona superior del tanque. De manera consistente, la LZS mostró un patrón análogo, con valores de A = 0.12, 0.88 y 1.66 a 0.1, 1 y 10 µg/L, respectivamente, lo que, en conjunto con el incremento observado en el TZI, evidencia que la exposición a imatinib promueve comportamientos ansiógenos de manera dependiente de la dosis. Contrariamente a los efectos observados con cisplatino, la actividad locomotora se incrementó significativamente, evidenciada por la DT, que varió de A = 0.18 a 0.1 µg/L hasta alcanzar A = 1.91 a 10 µg/L, lo que sugiere un fenómeno de hiperactividad locomotora exacerbada a concentraciones medias y altas. Este patrón se confirmó mediante la frecuencia de entradas a estados de alta movilidad, con valores de A = 0.22, 1.08 y 2.01 a 0.1, 1 y 10 µg/L, respectivamente, lo que indica una activación motora particularmente marcada a la concentración más elevada. En síntesis, la exposición a 1 y 10 µg/L de imatinib induce modificaciones conductuales significativas en *Danio rerio*, caracterizadas por una hiperactividad locomotora concomitante con una marcada preferencia por las zonas inferiores del tanque.

A



B

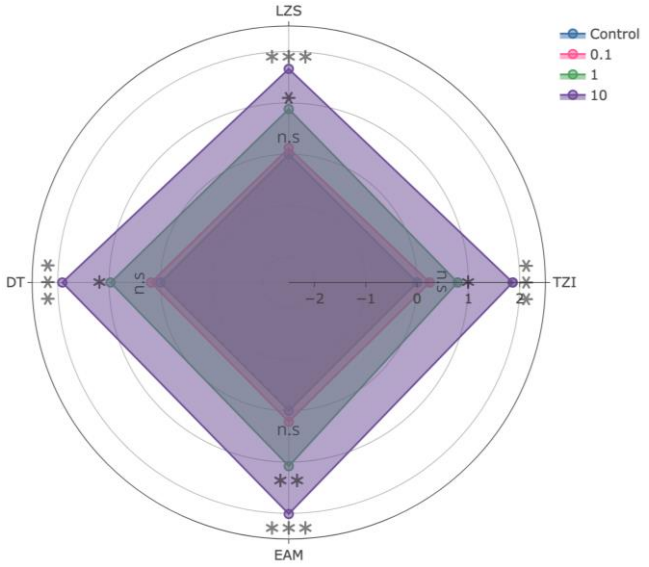


Figura 8. *Integración de biomarcadores conductuales mediante gráficos de estrellas (IBR) en peces cebra expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B).* LZS: latencia en la zona superior; TZI: tiempo en la zona inferior; TI: tiempo inmovilizado; DT: distancia total recorrida; EAM: estado de alta movilidad. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$), mientras que "n.s." indica ausencia de diferencias significativas.

7.2. Respuestas de los biomarcadores redox

7.2.1. Cisplatino

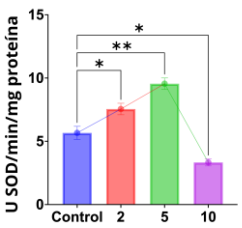
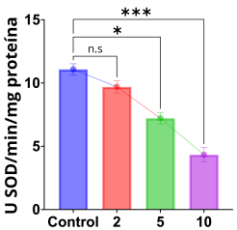
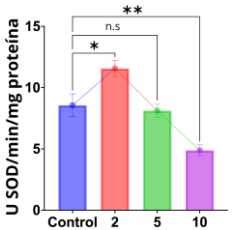
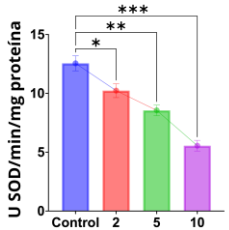
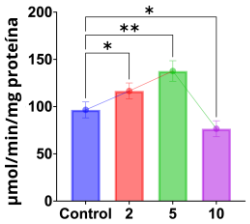
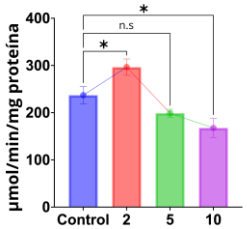
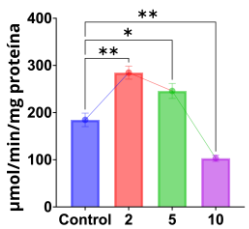
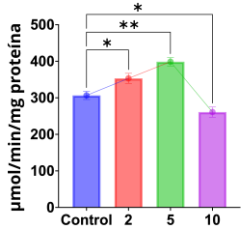
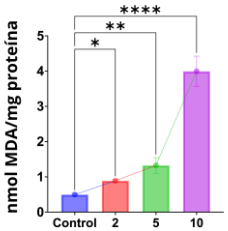
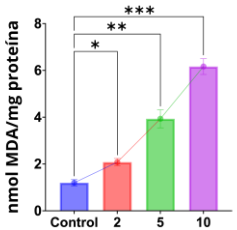
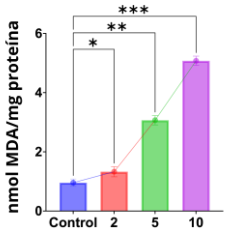
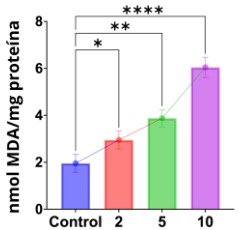
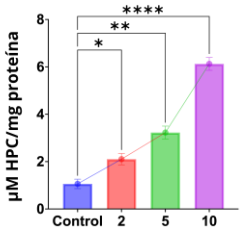
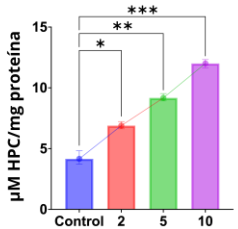
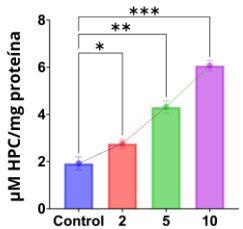
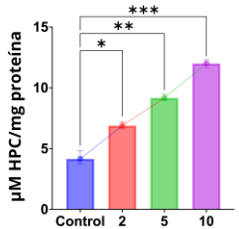
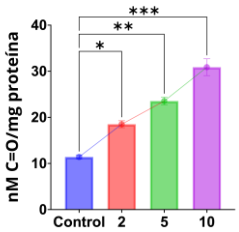
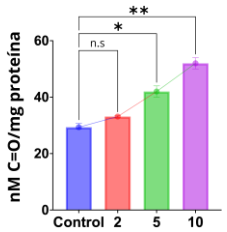
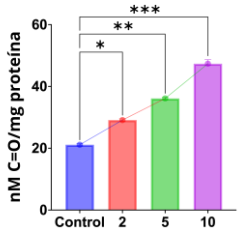
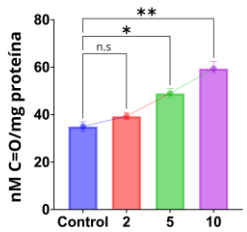
Las enzimas antioxidantes mostraron una respuesta bifásica claramente dependiente del tejido, en la que una activación compensatoria inicial del sistema antioxidante dio paso a una inhibición funcional de las defensas redox (Figura 9A). En el hígado y el cerebro, la actividad de SOD y CAT aumentó de manera significativa a 2 µg/L y se intensificó a 5 µg/L, reflejando una respuesta adaptativa temprana frente al incremento de las ROS. Sin embargo, a 10 µg/L, ambas enzimas disminuyeron significativamente, lo que evidencia el colapso de la capacidad antioxidante en condiciones de estrés oxidativo exacerbado. En las branquias, la respuesta fue más limitada y tempranamente comprometida, con una disminución significativa de la actividad de SOD desde 5 µg/L y una inhibición marcada a 10 µg/L, mientras que la CAT solo presentó un aumento transitorio a 2 µg/L antes de reducirse significativamente a la concentración más alta. El intestino exhibió un patrón distintivo, caracterizado por una inhibición significativa de la SOD desde la concentración más baja evaluada, junto con un aumento compensatorio de la CAT a 2 y 5 µg/L, que resultó insuficiente, ya que esta enzima también disminuyó de forma pronunciada a 10 µg/L, lo que indica una pérdida progresiva de la homeostasis redox. De manera concordante con esta dinámica enzimática, los biomarcadores de daño oxidativo aumentaron de forma progresiva y de manera dependiente de la concentración en todos los tejidos analizados. Tanto la LPX como los HPC se incrementaron significativamente a partir de 2 µg/L y alcanzaron valores máximos y altamente significativos a 10 µg/L en todos los órganos, lo que evidencia la instauración de una LPX generalizada incluso a concentraciones relativamente bajas. Asimismo, el contenido de PCC mostró incrementos dependientes de la dosis, con aumentos significativos desde las concentraciones más bajas en hígado y cerebro, y a partir de 5 µg/L en branquias e intestino, lo que indica una acumulación progresiva de daño oxidativo proteico. En conjunto, estos resultados demuestran que la exposición aguda de *Danio rerio* al cisplatino durante 96 horas desencadena un estrés oxidativo profundo, órgano-específico y estrictamente dependiente de la concentración, en el que la activación antioxidante inicial resulta transitoria e insuficiente, evolucionando hacia una inhibición funcional de las defensas redox.

7.2.2. Imatinib

La exposición a imatinib indujo una alteración progresiva y dependiente de la concentración del sistema antioxidante, con respuestas claramente diferenciadas entre los tejidos (Figura 9B). En hígado, branquias y cerebro, la actividad de la SOD disminuyó de manera gradual a medida que aumentó la concentración del fármaco, lo que evidencia un deterioro sostenido de la primera línea de defensa antioxidante ante el incremento del estrés oxidativo. Este efecto fue temprano y más pronunciado en hígado y branquias, donde se registraron reducciones significativas a partir de 0.1 µg/L, mientras que en el cerebro las alteraciones se manifestaron recién a partir de 1 µg/L, lo que sugiere una mayor capacidad inicial de amortiguación. En contraste, el intestino mostró un patrón opuesto, con un aumento progresivo de la actividad de SOD a concentraciones intermedias y altas, lo que es consistente con una activación compensatoria sostenida de las defensas antioxidantes. En coherencia con este comportamiento, la CAT exhibió un perfil bifásico en hígado, branquias y cerebro, caracterizado por un aumento significativo de la actividad a bajas concentraciones de imatinib, en particular a 0.1 µg/L, seguido de una disminución marcada a concentraciones elevadas, especialmente a 10 µg/L. Este patrón indica que, si bien los mecanismos de detoxificación del peróxido de hidrógeno se activan tempranamente, resultan insuficientes ante una carga oxidante creciente. En el intestino, por el contrario, la actividad de CAT aumentó de forma sostenida con la concentración, reproduciendo el patrón observado para la SOD y reforzando la idea de una respuesta adaptativa prolongada en este tejido. De manera concordante con la alteración de las defensas antioxidantes, los biomarcadores de daño oxidativo mostraron incrementos consistentes y dependientes de la concentración en todos los órganos analizados, lo que confirma la instauración de un estado de estrés oxidativo sistémico. En hígado y branquias, la LPX, los HPC y las PCC aumentaron significativamente desde 0.1 µg/L, con incrementos progresivos y altamente significativos a 1 y 10 µg/L, lo que refleja una intensa oxidación de lípidos y proteínas. En el cerebro y el intestino, estos biomarcadores no mostraron cambios detectables a la concentración más baja, pero se incrementaron significativamente a partir de 1 µg/L y se intensificaron a 10 µg/L, lo que indica que la capacidad de amortiguación inicial de estos tejidos se supera al alcanzarse concentraciones más elevadas. En conjunto, los resultados demuestran que la exposición de *Danio rerio* a imatinib durante 96 horas induce un estrés oxidativo claramente dependiente

de la concentración y del tejido, caracterizado por la inhibición progresiva de las defensas antioxidantes en hígado, branquias y cerebro, y por una respuesta compensatoria intestinal que, aunque sostenida, resulta insuficiente para prevenir el daño oxidativo a altas concentraciones del fármaco.

A

	HÍGADO	BRANQUIAS	CEREBRO	INTESTINO
SOD				
CAT				
LPX				
HPC				
PCC				

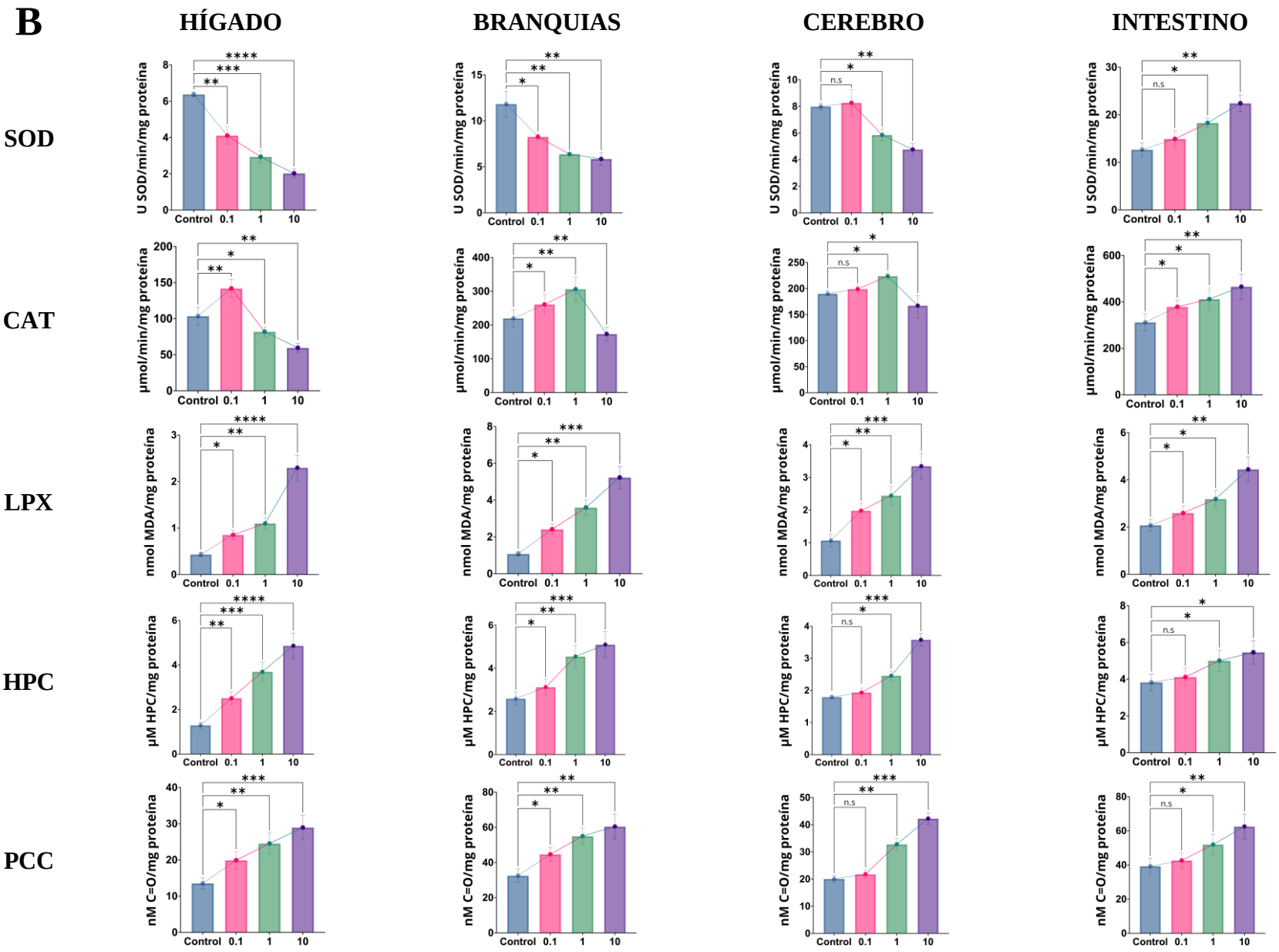


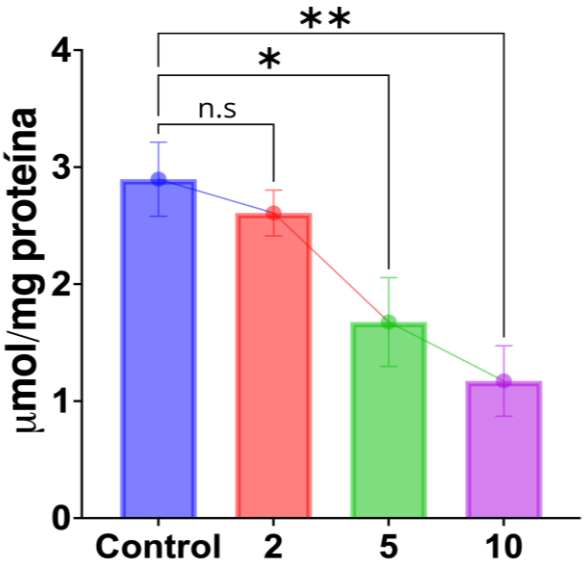
Figura 9. *Actividad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, así como niveles de los biomarcadores de daño oxidativo LPX, HPC y PCC, en hígado, branquias, cerebro e intestino de Danio rerio expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B) durante 96 h.* Los datos se expresan como media ± desviación

estándar. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$), mientras que “n.s.” indica ausencia de diferencias significativas.

7.3. Modulación de la actividad de la AChE

En ambos tratamientos, si bien se observó una tendencia decreciente de la actividad enzimática desde las concentraciones más bajas evaluadas (Figura 10A–B), la exposición a 2 µg/L de cisplatino y a 0.1 µg/L de imatinib no produjo cambios estadísticamente significativos, lo que indica la ausencia de un efecto detectable en dichos niveles. En contraste, a 5 µg/L de cisplatino y 1 µg/L de imatinib se observó una inhibición significativa de la actividad de la AChE ($p < 0.05$), lo que señala el inicio de alteraciones funcionales en el sistema colinérgico cerebral. Este efecto inhibitorio se intensificó a 10 µg/L en ambos fármacos, concentración en la que la reducción de la actividad enzimática fue más pronunciada y altamente significativa ($p < 0.01$ para cisplatino y $p < 0.001$ para imatinib), lo que consolidó una relación dosis–respuesta consistente. En conjunto, estos resultados demuestran que la exposición durante 96 horas a cisplatino e imatinib induce una inhibición significativa de la AChE cerebral a concentraciones intermedias y elevadas, mientras que las concentraciones bajas no generan alteraciones estadísticamente significativas, lo que respalda el carácter dosis-dependiente del efecto neurotóxico observado.

A



B

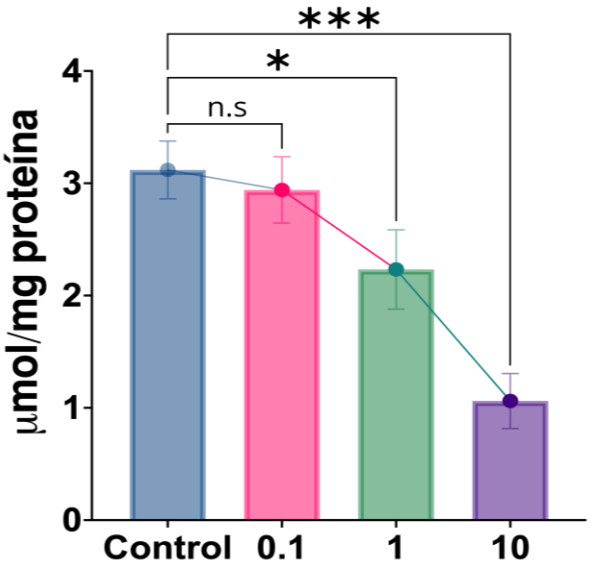


Figura 10. *Actividad de la AChE en el cerebro de pez cebra (Danio rerio) tras 96 horas de exposición a cisplatino (A) e imatinib (B).* Los datos se expresan como media ± desviación estándar. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$), mientras que "n.s." indica ausencia de diferencias significativas.

7.4. Perfiles de expresión de ARNm

7.4.1. Cisplatino

A bajas concentraciones de cisplatino (2 μg/L) se observó una inducción positiva estadísticamente significativa de la mayoría de los genes en todos los tejidos, lo que evidencia una activación temprana de las respuestas celulares al estrés, aunque con perfiles marcadamente tisulares (Figura 11A). En el hígado predominó una respuesta adaptativa orientada al mantenimiento de la homeostasis, sustentada en la inducción de genes citoprotectores (nrf1, nrf2), reguladores del metabolismo energético (prkaa2) y de la homeostasis del calcio (ddit3), junto con una activación limitada de genes proapoptóticos, sin cambios significativos en bax. En contraste, el cerebro mostró un patrón transcripcional más complejo y vulnerable, caracterizado por la activación simultánea de mecanismos antioxidantes y de estrés del RE, pero acompañada de una inducción temprana y significativa de genes proapoptóticos (mapk8, bax, p53 y casp3), de mayor magnitud que la observada para bcl2, así como por la disminución significativa de genes asociados al desarrollo y mantenimiento neuronal (manf, otpa y myf6), lo que sugiere un compromiso precoz de la homeostasis neuronal. Por su parte, el intestino y las branquias presentaron un perfil diferencial dominado por la represión significativa de genes citoprotectores con elevada expresión basal (bcl2, nrf1 y nrf2), junto con la inducción del resto de los genes analizados, indicando un deterioro temprano de la capacidad antioxidante, particularmente acentuado en las branquias. Al incrementarse la concentración a 5 μg/L, la magnitud de la regulación génica aumentó de forma generalizada, consolidando un desplazamiento funcional en el equilibrio entre las señales de supervivencia y de muerte celular. En el hígado y el cerebro, nrf1 y nrf2 alcanzaron sus máximos niveles de expresión, lo que refleja un esfuerzo antioxidante robusto que, sin embargo, fue superado por una inducción más pronunciada de genes proapoptóticos, lo que indica el inicio del predominio de las vías apoptóticas. En el cerebro, esta transición se acompañó de la persistente supresión de genes implicados en el desarrollo neuronal, reforzando la noción de una vulnerabilidad funcional progresiva. En paralelo, el intestino y las branquias mostraron una acentuación de la regulación negativa de bcl2, nrf1 y nrf2, junto con una marcada inducción de mapk8 y otros marcadores proapoptóticos, lo que configura un perfil claramente orientado al estrés y la apoptosis, con una capacidad adaptativa sensiblemente menor que la de los tejidos centrales. Finalmente, en

la concentración más alta (10 μg/L), la respuesta transcripcional alcanzó su máxima intensidad y se volvió homogénea entre los distintos tejidos. En todos los órganos analizados, los genes proapoptóticos (bax, p53 y casp3) registraron los niveles más elevados del experimento, evidenciando un estado de daño celular severo, mientras que los genes citoprotectores (nrf1, nrf2 y bcl2) disminuyeron de manera marcada respecto a las concentraciones intermedias, especialmente en el intestino y las branquias, lo que indica el colapso de los mecanismos antioxidantes y antiapoptóticos. Aunque el hígado y el cerebro conservaron una respuesta antioxidante relativamente mayor, esta resultó claramente insuficiente para contrarrestar la activación generalizada de las vías apoptóticas. En conjunto, estos resultados demuestran que el cisplatino induce una respuesta molecular progresiva y dependiente de la dosis, caracterizada por una fase inicial de adaptación celular que evoluciona hacia un perfil proapoptótico dominante, con una susceptibilidad particularmente marcada en los tejidos periféricos.

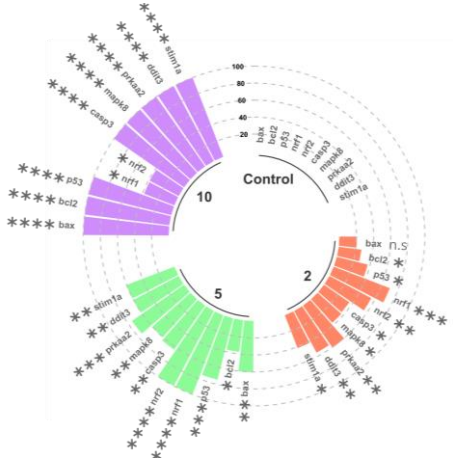
7.4.2. Imatinib

A bajas concentraciones de imatinib (0.1 μg/L) se evidenció una activación transcripcional temprana, con perfiles claramente dependientes del tejido, lo que refleja estrategias adaptativas diferenciadas (Figura 11B). En el hígado y las branquias, la mayoría de los genes analizados mostró una regulación positiva estadísticamente significativa; sin embargo, esta activación global se acompañó de una disminución significativa de los genes citoprotectores y reguladores del metabolismo energético (nrf1, nrf2 y prkaa1), lo que indica un desplazamiento inicial del equilibrio celular hacia la activación de vías proapoptóticas, especialmente en estos tejidos periféricos. En contraste, el cerebro y el intestino presentaron una respuesta más conservadora, caracterizada por la inducción significativa de nrf1 y nrf2, la regulación negativa de prkaa1 y cambios no significativos en el resto de los genes, lo que sugiere una respuesta predominantemente adaptativa orientada al refuerzo de los mecanismos antioxidantes y al mantenimiento de la homeostasis celular. Al incrementarse la concentración a 1 μg/L, estas diferencias tisulares se acentuaron y dieron lugar a perfiles funcionales claramente divergentes. En el hígado y las branquias, la inducción génica fue altamente significativa y generalizada, mientras que nrf1, nrf2 y prkaa1 profundizaron su regulación negativa. De manera concomitante, los genes proapoptóticos bax, p53 y casp3 se incrementaron de forma marcada, superando consistentemente la expresión de bcl2; en

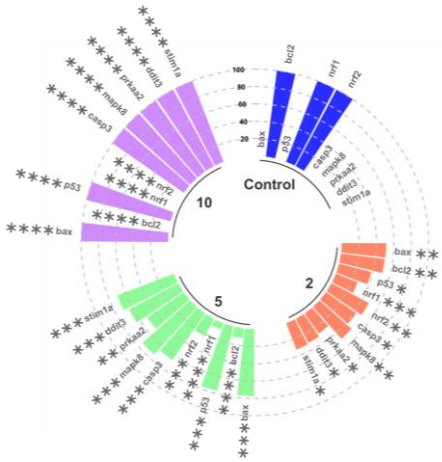
particular, la elevada expresión de casp3 en el hígado evidenció la activación robusta de la fase ejecutora de la apoptosis y el claro predominio de las vías de muerte celular. Por el contrario, en el cerebro y el intestino se observó un fortalecimiento relativo de los mecanismos citoprotectores, con nrf1 alcanzando su máxima expresión y niveles elevados de bcl2, lo que indica una respuesta orientada a preservar la viabilidad celular y a contener, al menos parcialmente, la activación apoptótica. Finalmente, en la concentración más alta de imatinib (10 μg/L), la respuesta transcripcional alcanzó su máxima intensidad y se volvió más homogénea entre los tejidos. En todos los órganos analizados se registraron los niveles más bajos de expresión de nrf1, nrf2 y prkaa1, junto con los incrementos máximos de bax, p53 y casp3, lo que evidencia un colapso generalizado de los mecanismos citoprotectores y metabólicos ante un daño celular severo. No obstante, persistieron diferencias tisulares en la expresión de bcl2, que se mantuvo relativamente más elevada en el cerebro y el intestino que en el hígado y las branquias, sugiriendo una capacidad antiapoptótica residual mayor en los tejidos centrales. En conjunto, estos resultados demuestran que el imatinib, al igual que el cisplatino, induce una respuesta molecular progresiva y estrictamente dependiente de la dosis, caracterizada por una fase inicial adaptativa seguida de una transición hacia un perfil proapoptótico dominante, con una susceptibilidad particularmente marcada en los tejidos periféricos.

A

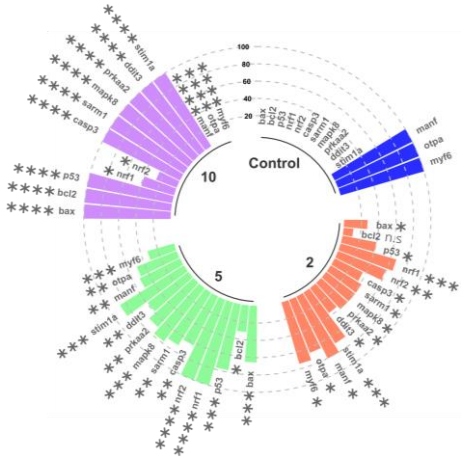
HÍGADO



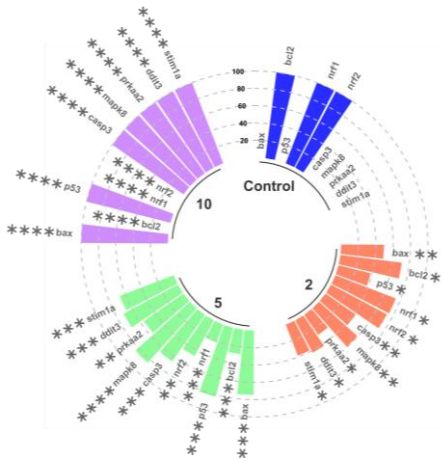
BRANQUIAS



CEREBRO



INTESTINO



B

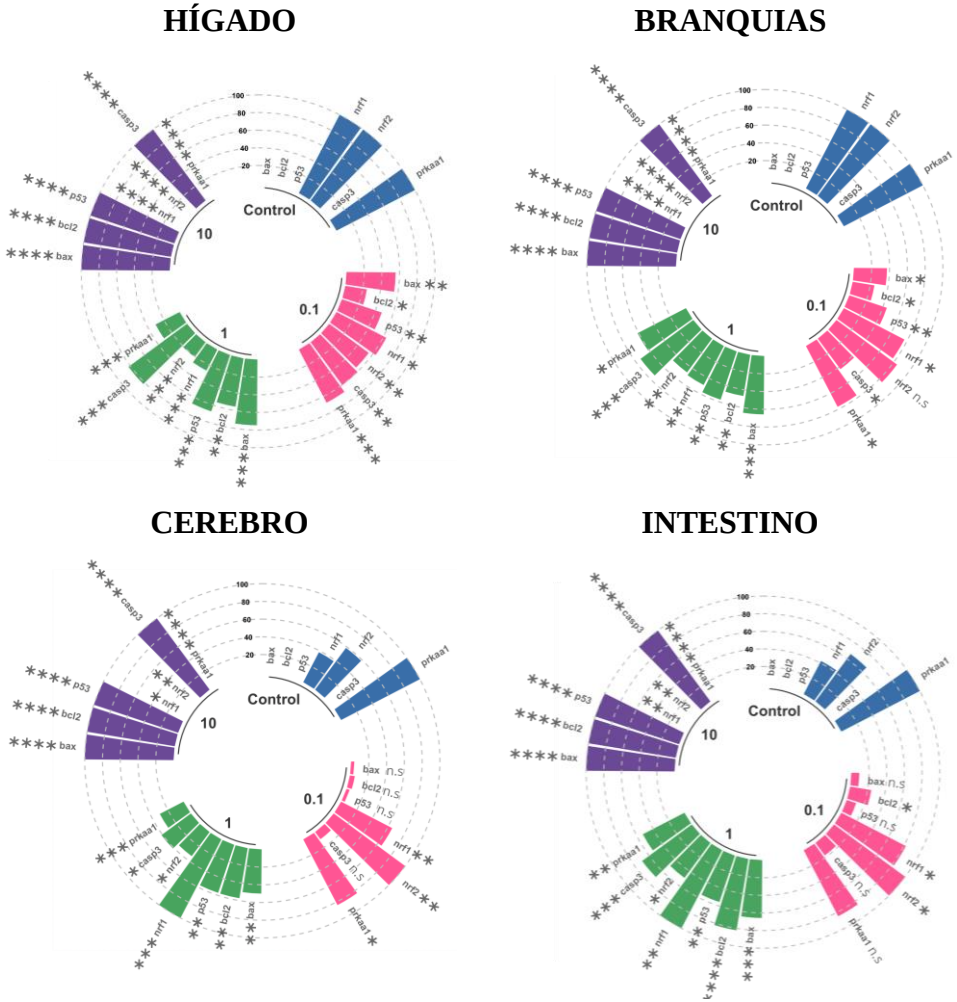


Figura 11. *Gráfico de barras circular que muestra la expresión de genes normalizada en hígado, branquias, cerebro e intestino de Danio rerio expuestos a cisplatino (A) e imatinib (B) durante 96 h.* Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001; **** p<0.0001), mientras que "n.s." indica ausencia de diferencias significativas.

8. DISCUSIÓN

El creciente uso clínico de agentes antineoplásicos ha incrementado inevitablemente su liberación al medio ambiente, lo que ha intensificado la preocupación por sus posibles consecuencias ecológicas. A pesar de este problema emergente, los efectos biológicos de estos fármacos en organismos acuáticos no objetivo han recibido poca atención científica, lo que deja importantes lagunas en el conocimiento sobre sus impactos funcionales y los mecanismos subyacentes de toxicidad. Entre estos compuestos, el cisplatino, un agente quimioterapéutico ampliamente prescrito para el tratamiento de tumores sólidos (Romani, 2022), y el imatinib, una terapia fundamental en el manejo de la leucemia, ejemplifican este problema, ya que sus efectos neuroconductuales en peces y los mecanismos subyacentes a su toxicidad multiorgánica permanecen en gran parte inexplorados. En este contexto, el presente estudio se diseñó para abordar estas lagunas mediante la evaluación sistemática de los efectos toxicológicos y moleculares del cisplatino y el imatinib en el pez cebra, un modelo representativo de vertebrados acuáticos. Específicamente, el estudio tuvo como objetivo determinar si la exposición a concentraciones ambientalmente relevantes, correspondientes al límite inferior del rango reportado en efluentes de aguas residuales, es suficiente para inducir neurotoxicidad detectable, a la vez que se dilucidan los mecanismos biológicos que impulsan los efectos multiorgánicos asociados al cisplatino y al imatinib. Para lograr estos objetivos, la investigación se centró en el hígado, el cerebro, el intestino y las branquias, órganos fundamentales para la biotransformación de xenobióticos, el equilibrio osmorregulador y la coordinación de las respuestas fisiológicas sistémicas, lo que proporciona información crucial sobre las vías toxicológicas directas e indirectas. Aunque el corazón y el riñón también son órganos clave en las evaluaciones toxicológicas, se excluyeron intencionalmente del presente análisis debido a que su vulnerabilidad a las lesiones inducidas por cisplatino e imatinib ya está bien establecida (Savi et al., 2018; Emadi et al., 2019; Kim et al., 2020; Morales Fénero et al., 2021; Nunes et al., 2023; Padovani et al., 2024). De hecho, el cisplatino y el imatinib se utilizan con frecuencia para inducir lesión renal agud en el pez cebra debido a su acumulación en los tejidos renales. En consecuencia, al priorizar tejidos menos explorados, pero funcionalmente críticos, este estudio busca proporcionar una comprensión más completa y ecológicamente relevante de los riesgos

neurotóxicos y multiorgánicos que plantean los agentes antineoplásicos en ambientes acuáticos.

Los resultados de la prueba de tanque novedoso demuestran que tanto el cisplatino como el imatinib provocan alteraciones neuroconductuales pronunciadas en el pez cebra, pero con perfiles conductuales e implicaciones mecanicistas distintas. La exposición al cisplatino en concentraciones de 2, 5 y 10 μg/L provocó un deterioro pronunciado de la actividad locomotora, que se manifestó principalmente en periodos prolongados de inmovilidad y la aparición concomitante de comportamientos similares a la ansiedad. Estos hallazgos coinciden con los de Fonseca et al. (2017), quienes observaron que los poliquetos expuestos a 0.1 μg/L de cisplatino presentaron tasas de excavación más bajas que los gusanos marinos no tratados. Por lo tanto, la inmovilidad o la disminución de la actividad parecen ser respuestas críticas y constantes en diversas especies acuáticas expuestas al cisplatino. Sin embargo, es fundamental destacar que, si bien la naturaleza de las alteraciones conductuales parece conservarse en organismos taxonómicamente diversos, los umbrales de concentración necesarios para desencadenar dichas respuestas pueden diferir sustancialmente. Estas variaciones probablemente se deban a rasgos fisiológicos, capacidades metabólicas y vías de exposición específicos de cada especie. Por ejemplo, los poliquetos presentan alteraciones del comportamiento a concentraciones notablemente más bajas (0.1 μg/L), lo que sugiere una mayor sensibilidad, posiblemente relacionada con diferencias en la absorción del fármaco o en el procesamiento metabólico, en comparación con el pez cebra, que responde a concentraciones más altas (2 - 10 μg/L). En concordancia con lo anterior, los resultados de otro estudio demostraron una reducción, dependiente de la concentración, en varios parámetros de movimiento, como la distancia de nado, la velocidad, la frecuencia de salto y la eficiencia de propulsión, en dáfnidos expuestos a concentraciones de cisplatino de entre 125 y 1000 μg/L (Bownik et al., 2020). Estos hallazgos sugieren que, si bien el cisplatino induce disfunción motora, también desencadena reacciones de estrés en el organismo.

A diferencia de los efectos locomotores predominantemente supresores observados tras la exposición al cisplatino, el imatinib provocó un perfil conductual en el pez cebra que indicaba más bien una alteración del estado afectivo que un deterioro motor generalizado. Los peces expuestos a imatinib mostraron una mayor frecuencia de estados de alta movilidad, permanencia prolongada en el fondo del tanque y entrada tardía a las regiones superiores,

una serie de respuestas que, en el marco de la NovelTank Test, se interpreta ampliamente como un reflejo de niveles elevados de ansiedad (Fontana et al., 2022). Por lo tanto, el patrón conductual observado en los peces expuestos a imatinib es consistente con la manifestación de un estado similar a la ansiedad. En cuanto a la actividad locomotora, es fundamental reconocer que su relación con la ansiedad en el pez cebra es compleja. Si bien los individuos ansiosos pueden presentar inhibición conductual caracterizada por inmovilidad o limitación del movimiento, también pueden mostrar una mayor excitación, que se manifiesta como natación intensa y errática, especialmente en el fondo del tanque. Este último patrón, a menudo descrito como locomoción frenética o en zigzag, se considera una respuesta de miedo estereotipada ante estímulos nuevos o amenazantes, como la presencia repentina de depredadores o de entornos desconocidos (Speedie y Gerlai, 2008). De hecho, estudios previos han observado que el aumento de la velocidad de natación o la distancia recorrida puede acompañar a estados similares a la ansiedad (Johnson et al., 2023), lo que refleja intentos de escapar o evitar amenazas percibidas. Hasta donde se sabe, este es el primer estudio que evalúa los posibles riesgos neuroconductuales que plantea el imatinib en peces, lo que impide comparaciones directas con datos ictiológicos previos. No obstante, la evidencia de estudios en humanos sugiere una relación entre la exposición a imatinib y alteraciones del comportamiento, en particular, síntomas de ansiedad. Por ejemplo, encuestas cualitativas realizadas entre pacientes holandeses con tumores del estroma gastrointestinal revelaron que algunos individuos asociaron la aparición de ansiedad o inestabilidad emocional con la terapia con imatinib (van de Wal et al., 2024). De manera similar, investigaciones realizadas en pacientes con leucemia mieloide crónica tratados con inhibidores de la tirosina cinasa, como imatinib, nilotinib y dasatinib, informaron una mayor incidencia de depresión y ansiedad, con tamaños de efecto que van de moderados a graves (Phillips et al., 2013). Además, hallazgos complementarios de estudios en animales han demostrado que la administración de imatinib (80 mg/kg) en ratones induce pérdida de peso, toxicidad hepática, reducción del comportamiento exploratorio y otras manifestaciones consistentes con estados similares a la ansiedad y la depresión (Tian et al., 2023). En conjunto, estos hallazgos sugieren que, si bien tanto el cisplatino como el imatinib alteran el comportamiento del pez cebra, el cisplatino induce predominantemente supresión locomotora acompañada de respuestas fisiológicas relacionadas con el estrés, mientras que

el imatinib parece modular principalmente el estado afectivo, manifestándose como alteraciones asociadas a la ansiedad en la exploración vertical y los patrones de actividad.

La aparición de comportamientos similares a la ansiedad tras la exposición a ambos fármacos subraya la importancia de dilucidar los mecanismos neurobiológicos subyacentes a dicha respuesta. En este contexto, las alteraciones conductuales inducidas por cisplatino e imatinib parecen converger mecánicamente en la alteración del sistema colinérgico, en particular a través de la modulación de la actividad de la AChE, aunque la naturaleza, la plausibilidad y el respaldo probatorio de los mecanismos subyacentes difieren sustancialmente entre ambos compuestos. En el caso del cisplatino, por ejemplo, Trombini et al. (2016) plantearon la hipótesis de que el estrés oxidativo provoca daño en la membrana celular, lo que promueve la liberación de AChE al entorno extracelular. Por el contrario, Fonseca et al. (2017) informaron de una inhibición significativa de la AChE en gusanos marinos, atribuyendo este efecto a las interacciones nucleofílicas entre el cisplatino y los sustratos de la enzima. Estos resultados aparentemente divergentes subrayan la complejidad de las interacciones cisplatino-AChE y sugieren que las diferencias interespecíficas en la fisiología o en la variabilidad estructural entre las isoformas de AChE pueden modular críticamente la susceptibilidad a la modificación oxidativa o a la interferencia química. En este contexto, los hallazgos actuales de inhibición de AChE en el pez cebra están más estrechamente alineados con las observaciones en gusanos marinos, lo que apoya la hipótesis de que la exposición al cisplatino puede comprometer la función enzimática en lugar de simplemente alterar la localización de la enzima. Una explicación plausible para esta inhibición es que las ROS generadas durante el estrés oxidativo inducido por cisplatino pueden oxidar directamente residuos de aminoácidos específicos en el sitio activo de AChE, comprometiendo finalmente su función enzimática. Sin embargo, es esencial enfatizar que esta explicación mecanicista sigue siendo hipotética, ya que la presente investigación no incorporó estrategias experimentales directas para confirmar las modificaciones mediadas por ROS en el sitio activo de la enzima. Lo anterior representa una limitación significativa, ya que mecanismos alternativos, como la modulación epigenética, las vías de inhibición indirecta o las modificaciones postraduccionales no oxidativas, también podrían contribuir a la inhibición enzimática observada. No obstante, a pesar de estas limitaciones, el mecanismo propuesto se sustenta con cautela, en la evidencia correlativa del presente estudio y en informes previos

que vinculan el estrés oxidativo con la disfunción de la AChE (Schallreuter y Elwary, 2007; Garcimartín et al., 2017). Por consiguiente, se justifican futuras investigaciones que empleen estrategias molecularmente dirigidas para esclarecer en qué medida las alteraciones mediadas por ROS contribuyen a la inhibición de la AChE inducida por cisplatino in vivo.

Tras la exposición a imatinib, surge un patrón comparable, aunque mecanísticamente distinto, en el que las conductas ansiosas también se asocian con una reducción de la actividad de la AChE. Sin embargo, a diferencia del cisplatino, la evidencia disponible indica que este efecto se media predominantemente por mecanismos indirectos. Por ejemplo, Giacomini et al. (2020) informaron que la inhibición de la AChE por donepezilo en peces cebra adultos aumentó los niveles de cortisol en todo el cuerpo, a la vez que indujo conductas ansiosas, lo que establece una relación mecanística directa entre la inhibición enzimática y la activación del eje hipotálamo-hipofisario-interrenal. En consonancia con estos hallazgos, el presente estudio reveló que imatinib indujo una reducción de la actividad cerebral de la AChE dependiente de la concentración, concomitante con el desarrollo de conductas ansiosas, lo que respalda la existencia de una relación funcional entre la inhibición enzimática y la alteración del estado afectivo. Sin embargo, a pesar de esta clara relación funcional, actualmente no existe evidencia de una interacción directa entre imatinib y la garganta catalítica de la AChE, ni de que imatinib actúe como un inhibidor clásico del sitio activo. Esto se debe principalmente a que, desde una perspectiva estructural, el voluminoso andamiaje de imatinib carece de los grupos de cabeza cuaternarios/catiónicos y de los grupos de interacción catión-π característicos de los potentes ligandos de AChE del sitio activo (Colletier et al., 2006). Estas consideraciones estructurales, junto con la ausencia de datos de unión directa, sugieren que es improbable que la inhibición enzimática observada se deba a un bloqueo canónico del sitio activo, apuntando en cambio a mecanismos indirectos. Una alternativa plausible implica modificaciones postraduccionales oxidativas u otras no canónicas. En este contexto, se sabe que las ROS y RONS oxidan los tioles de cisteína proteica a derivados de ácido sulfénico (–SOH), sulfínico ($–SO_2H$) o sulfónico ($–SO_3H$), así como los residuos de metionina a sulfóxido o sulfona de metionina (Averill-Bates, 2024; Rouyère et al., 2022). Dichas modificaciones oxidativas, potencialmente derivadas del estrés celular inducido por imatinib, podrían comprometer la integridad estructural o la eficiencia catalítica de la AChE, contribuyendo así a la reducción observada en la actividad enzimática.

Sin embargo, esta hipótesis no se evaluó directamente en el presente estudio. Por lo tanto, para diferenciar entre los modos directos e indirectos de inhibición de la AChE, los estudios futuros deberían emplear una estrategia experimental integral que incluya ensayos de actividad de la AChE in vitro o ex vivo, experimentos de reversibilidad y reactivación, y enfoques químico-proteómicos. En conjunto, estos hallazgos indican que el cisplatino y el imatinib, a pesar de sus distintas estructuras químicas y dianas farmacológicas, convergen funcionalmente en la inhibición de la AChE y la desregulación colinérgica, manifestándose finalmente como alteraciones del comportamiento relacionadas con la ansiedad. Sin embargo, parece más probable que el cisplatino ejerza sus efectos mediante interferencia oxidativa o química directa con la función enzimática, mientras que el imatinib induce predominantemente modificaciones secundarias mediadas por el estrés que comprometen indirectamente la señalización colinérgica.

Las alteraciones neuroconductuales y la toxicidad multiorgánica provocadas por la exposición al cisplatino y al imatinib en organismos acuáticos no pueden atribuirse a la inhibición aislada de la actividad de la AChE, sino a una red compleja e interconectada de procesos bioquímicos y bioenergéticos. En el caso del cisplatino, la evidencia acumulada indica que el deterioro conductual y la toxicidad sistémica están estrechamente relacionados con alteraciones del metabolismo energético celular y de la homeostasis iónica, que, a su vez, amplifican el estrés oxidativo. Por ejemplo, Bownik et al. (2020) sugirieron que el deterioro conductual en los dáfnidos podría deberse a la inhibición de la bomba de Na+/K+. Esta bomba es una proteína esencial de membrana que mantiene los gradientes iónicos mediante el transporte de tres iones Na+ fuera de la célula y dos iones K+ hacia ella, utilizando ATP (Pirahanchi et al., 2023). Por lo tanto, la inhibición de esta bomba, posiblemente causada por una disminución en la producción de ATP debido a la disfunción mitocondrial, puede conducir a la acumulación intracelular de Na+ y al agotamiento de K+, lo que, a su vez, altera el potencial de membrana en reposo y conduce al estrés oxidativo (Lv et al., 2022; Zhang et al., 2022a,b; Kathiresan et al., 2025). En este contexto, los hallazgos del presente estudio son particularmente notables, ya que la exposición al cisplatino indujo estrés oxidativo en todos los órganos examinados, siendo el hígado el que presentó el daño más pronunciado, seguido del cerebro, el intestino y las branquias. En consonancia con estos hallazgos, Fonseca et al. (2017) informaron que incluso bajas concentraciones de cisplatino (0,1 μg/L) inhibieron las

actividades de SOD, CAT y GST en *Nereis diversicolor*. De manera similar, Trombini et al. (2016) observaron que la misma concentración redujo significativamente la actividad de SOD en las branquias de *Mytilus galloprovincialis*, con niveles de actividad 4.9 veces inferiores a los del control. No obstante, Trombini et al. (2016) también sugirieron que la exposición prolongada al cisplatino podría provocar una reactivación compensatoria de las defensas antioxidantes en respuesta al estrés oxidativo sostenido. Por lo tanto, se justifican estudios adicionales para explorar los efectos a largo plazo de la exposición crónica al cisplatino en especies acuáticas, en particular, su impacto en la persistencia y la regulación de los mecanismos antioxidantes.

De manera similar, aunque el imatinib se desarrolló como un inhibidor altamente selectivo de la tirosina cinasa BCR-ABL, la evidencia acumulada indica que ejerce efectos no deseados sustanciales sobre la función mitocondrial y la homeostasis redox, lo que probablemente sustenta su perfil toxicológico en organismos acuáticos no objetivo. Por ejemplo, Gajski et al. (2019) demostraron que el tratamiento con imatinib en células sanguíneas humanas circulantes redujo los niveles de glutatión, acompañado de concentraciones elevadas de malondialdehído y PCC, biomarcadores clave del estrés oxidativo. De igual manera, Bouitbir et al. (2020) informaron que la exposición a imatinib en miotubos C2C12 y células RD humanas aumentó la acumulación de superóxido mitocondrial y aumentó la regulación positiva de la sod2 y la caspasa-3 escindida, lo que sugiere que el imatinib provoca disfunción mitocondrial, que, a su vez, conduce al estrés oxidativo y la muerte celular. Estudios en animales corroboran aún más estos hallazgos. En ratas, la administración de imatinib se asoció con niveles elevados de ROS en el tejido renal, disminución de la actividad de la deshidrogenasa mitocondrial, aumento de la permeabilización de la membrana mitocondrial y despolarización de mitocondrias renales aisladas (Emadi et al., 2019). En consonancia con estos hallazgos mecanísticos, el presente estudio reveló una clara inducción de estrés oxidativo, dependiente de la concentración, en todos los órganos del pez cebra examinados tras la exposición a imatinib, siendo el hígado y las branquias los tejidos más vulnerables, seguidos del cerebro y del intestino. En conjunto, estos resultados demuestran que el cisplatino y el imatinib, a pesar de sus distintas dianas farmacológicas y propiedades químicas, convergen en el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial como factores clave del deterioro neuroconductual y de la toxicidad multiorgánica. Sin embargo, la toxicidad del

cisplatino parece estar más estrechamente relacionada con la insuficiencia bioenergética y la alteración secundaria de los sistemas de regulación iónica, mientras que el imatinib induce predominantemente un desequilibrio redox a través de efectos mitocondriales no diana.

Más allá de su capacidad compartida para alterar la homeostasis redox, tanto el cisplatino como el imatinib pueden inducir una profunda reprogramación transcripcional en organismos no diana, afectando a genes que regulan la integridad del ADN, la función mitocondrial, el metabolismo energético y otras vías de respuesta al estrés que, en última instancia, determinan el destino celular. El cisplatino, en particular, reconocido por su alta reactividad con las nucleobases y su capacidad para formar enlaces cruzados intra e intercatenarios del ADN, puede inducir un arresto transcripcional y, por lo tanto, desregular significativamente múltiples genes relacionados con el estrés y la apoptosis (Jung y Lippard, 2006; Roy y Schärer, 2016; Rycenga y Long, 2018). En este estudio, por ejemplo, la exposición al cisplatino provocó una desregulación sustancial de múltiples genes, como mapk8, prkaa2, ddit3 y stim1a, todos ellos implicados en la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo y las vías de apoptosis celular. El gen mapk8, o cinasa N-terminal 1 de c-Jun, es un elemento esencial de la vía de señalización de cinasa MAP, que se activa ante diversos factores de estrés, como el daño al ADN (Xu et al., 2018; Zhou et al., 2023). Tras su activación, mapk8 modula las vías de señalización posteriores que regulan procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la muerte celular programada. Sin embargo, la expresión aberrante de este gen, como se observó en este estudio, puede comprometer la estabilidad celular y promover la apoptosis. En consonancia con estos hallazgos, estudios recientes han indicado que la desregulación de mapk8 puede amplificar las vías de señalización apoptótica al influir en la actividad de p53, lo que conlleva un aumento de la expresión de bax (Lu et al., 2017; Miao et al., 2022). Tras esta sobreexpresión, la proteína bax migra a la mitocondria, donde inicia la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, lo que resulta en la liberación de citocromo C. Esta liberación facilita la formación de un complejo con apaf-1 y procaspasa-9, que posteriormente desencadena la activación de la cascada de caspasas, un proceso crítico en la ejecución de la apoptosis (Elena-Real et al., 2018; Queirós et al., 2023). No obstante, cabe destacar que la sobreexpresión del gen bax debido al daño del ADN inducido por cisplatino extiende su función más allá del inicio de la apoptosis. Este proceso también está intrínsecamente vinculado a la disfunción mitocondrial, crucial para mantener

la homeostasis energética celular (Kalpage et al., 2020). Estudios recientes, por ejemplo, han demostrado que concentraciones de cisplatino de entre 15.05 y 301.1 μg/L provocan disfunción mitocondrial, afectando notablemente el metabolismo energético (Shahab et al., 2021; Hung et al., 2022). En consonancia con estos hallazgos, el presente estudio observó que el gen prkaa2 se alteró en el cerebro, las branquias, el intestino y el hígado del pez cebra tras 96 h de exposición al cisplatino. El gen prkaa2 codifica la subunidad alfa catalítica de la AMPK, una enzima responsable de la fosforilación de diversas dianas para restablecer el equilibrio energético celular mediante la inhibición de los procesos que consumen energía y la activación de las vías generadoras de energía (Behera y Bhutia, 2023; Sharma et al., 2023). La disfunción de prkaa2 puede afectar la capacidad de la célula para gestionar el estrés energético, aumentando la probabilidad de apoptosis, especialmente en tejidos con alta demanda energética, como el cerebro (Li et al., 2020). Esta disfunción puede explicar la sobreexpresión de prkaa2 observada en el cerebro de peces expuestos a cisplatino. La AMPK, a través de prkaa2, también facilita la expresión de enzimas antioxidantes esenciales, como la SOD y la CAT, al activar la vía de señalización de nrf2 (Xue et al., 2021). Por lo tanto, la sobreexpresión de prkaa2 observada en este estudio puede inducir la activación mediada por nrf2, aumentando así los niveles de enzimas antioxidantes. Sin embargo, es fundamental destacar que una mayor expresión de prkaa2 y nrf2 no implica necesariamente que los mecanismos de protección sean totalmente eficaces para neutralizar las ROS. Los hallazgos de este estudio, por ejemplo, revelaron que, a pesar de la regulación positiva de estos genes, las respuestas protectoras resultaron inadecuadas para mitigar por completo el estrés oxidativo desencadenado por el cisplatino, como se evidenció en todos los órganos de los peces. Simultáneamente con la alteración mitocondrial, el cisplatino también puede alterar la función del RE (Gentilin et al., 2019), lo que se traduce en la sobreexpresión de ddit3, también conocida como CHOP (proteína homóloga de C/EBP). CHOP es un factor de transcripción crucial que regula el estrés celular, en particular en respuesta al estrés del RE (Kim et al., 2017). Sin embargo, si el estrés no se resuelve, CHOP puede cambiar la respuesta de supervivencia a apoptosis al afectar la expresión de genes que regulan las vías de muerte celular y supervivencia (Yang et al., 2021; Li et al., 2015; Lee et al., 2017). Este mecanismo está respaldado por hallazgos recientes que muestran que la sobreexpresión de CHOP induce la detención del ciclo celular o la apoptosis mediante la regulación de varios genes

proapoptóticos, incluidos DR5 (receptor de muerte 5), TRB3 (homólogo 3 de Tribbles) y CAVI (anhidrasa carbónica VI) (Hu et al., 2019). Además, otros estudios también han demostrado que la expresión elevada de CHOP reduce la viabilidad celular y aumenta la apoptosis en células de cáncer de pulmón tratadas con cisplatino (Wang et al., 2021). Un factor clave del estrés del RE es la alteración de la homeostasis del calcio (Rodríguez et al., 2020; Groenendyk et al., 2021). La desregulación persistente del calcio puede establecer un ciclo de retroalimentación perjudicial, saturando el RE y las mitocondrias y exacerbando el estrés oxidativo, la apoptosis celular y el deterioro funcional (Zhang et al., 2024). Sin embargo, el desequilibrio del calcio no se limita al estrés del RE; también puede dañar otros componentes celulares. Por ejemplo, el desequilibrio de calcio puede activar las calpaínas, lo que provoca la degradación de diversos componentes celulares, como las proteínas del citoesqueleto, las moléculas de adhesión y las proteínas de señalización (Yoder et al., 2023). Esta degradación compromete la integridad del citoesqueleto, perjudica el transporte axonal y puede provocar hinchazón o fragmentación de la axonema. En este estudio, la expresión de sarm1, un gen característico de la degeneración axonal, se incrementó considerablemente en el cerebro, lo que respalda la posibilidad de que el cisplatino también induzca efectos neurotóxicos en peces.

La exposición a imatinib también produjo una firma transcripcional parcialmente superpuesta, aunque mecanísticamente distinta, en comparación con la del cisplatino. En este sentido, al igual que el cisplatino, el imatinib aumentó significativamente la expresión de bax, bcl2, p53 y casp3, lo que indica la participación de la señalización apoptótica intrínseca. Sin embargo, a diferencia de las respuestas relacionadas con AMPK observadas tras la exposición al cisplatino, el imatinib disminuyó notablemente la expresión de prkaa1. Esta disminución de la expresión de prkaa1, que codifica la subunidad catalítica α1 de la proteína AMPK, es particularmente notable dado el papel crucial de AMPK en la regulación del metabolismo energético, la autofagia y el crecimiento celular en condiciones de estrés metabólico (Krishan et al., 2014). En células cancerosas, por ejemplo, la supresión de la señalización oncogénica suele inducir estrés metabólico que activa la AMPK, promoviendo así la supervivencia celular mediante autofagia (Hirao et al., 2018). No obstante, los efectos no deseados de los TKI en tejidos normales también pueden afectar a la AMPK, aunque a menudo de forma opuesta. Por ejemplo, en células cardíacas, se ha demostrado que los TKI

dirigidos al VEGF, como el sunitinib, inhiben la AMPK, lo que perjudica la adaptación metabólica y provoca cardiotoxicidad tanto en corazones de ratón como en cardiomiocitos cultivados (Shyam Sunder et al., 2023). Asimismo, se ha descrito que el inhibidor de ALK/MET, crizotinib, suprime la fosforilación de AMPKα en Ser-485/491, lo que inhibe la autofagia (Xu et al., 2024). En conjunto, estos hallazgos sugieren que los inhibidores de la tirosina cinasa que inducen daño mitocondrial también podrían inhibir simultáneamente la respuesta protectora de la AMPK. Por lo tanto, aunque se justifica una mayor investigación, la evidencia disponible respalda la plausibilidad de que la disfunción mitocondrial inducida por imatinib esté estrechamente relacionada con la modulación, y probablemente la supresión, de las vías de señalización de la AMPK. En este contexto, la regulación negativa de prkaa1 parece representar un evento molecular crítico, que contribuye, en primer lugar, a la inhibición de los procesos catabólicos y al aumento de las vías anabólicas, lo que conduce a la alteración de la homeostasis energética, una disminución de la relación ATP/(ADP+AMP) y una consiguiente pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Carvalho et al., 2025); y, en segundo lugar, a la regulación negativa de los genes antioxidantes regulados por nrf1 y nrf2, acompañada de una disminución de los niveles de SOD y CAT mitocondriales (Strohm et al., 2025). Estas alteraciones promueven el estrés oxidativo y desencadenan cascadas de señalización proapoptótica, incluida la liberación de citocromo c y la activación de caspasas, lo que, en última instancia, conduce a un aumento de la apoptosis, una menor viabilidad celular y respuestas celulares deterioradas (Khan et al., 2022). En resumen, estos resultados demuestran que tanto el cisplatino como el imatinib reprograman profundamente la expresión génica en el pez cebra, convergiendo en la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo y la apoptosis, a la vez que difieren en su arquitectura reguladora ascendente. La toxicidad inducida por cisplatino, por ejemplo, parece iniciarse principalmente por daño directo al ADN, lo que activa cascadas de señalización sensibles al estrés, promueve una comunicación cruzada desadaptativa entre el RE y las mitocondrias y provoca una regulación positiva compensatoria, aunque finalmente insuficiente, de las vías relacionadas con la energía y los antioxidantes. Por el contrario, el imatinib ejerce sus efectos tóxicos predominantemente a través de la inhibición inespecífica de la señalización dependiente de AMPK y nrf, lo que compromete la flexibilidad metabólica celular y la capacidad de amortiguación redox. Esta convergencia mecanicista, junto con

distintos puntos de entrada transcripcional, subraya cómo antineoplásicos química y farmacológicamente dispares pueden provocar efectos neurotóxicos y sistémicos comparables en organismos acuáticos al alterar la integridad del genoma, la homeostasis energética y las redes de respuesta al estrés.

9. CONCLUSIONES

Los resultados integrados de este estudio demuestran que el cisplatino y el imatinib, dos agentes antineoplásicos con estructuras químicas, dianas farmacológicas y aplicaciones clínicas marcadamente distintas, ejercen efectos neurotóxicos y multiorgánicos significativos en el pez cebra cuando están presentes a concentraciones ambientalmente relevantes. Esta evidencia pone de manifiesto que la especificidad terapéutica de estos fármacos no se traduce en selectividad ecológica y que, una vez liberados al ambiente acuático, ambos compuestos son capaces de interferir con procesos biológicos fundamentales en organismos no objetivo, incluso en escenarios de exposición de baja intensidad. Desde una perspectiva conductual, el cisplatino y el imatinib indujeron alteraciones claras y reproducibles en el comportamiento exploratorio, aunque con perfiles fenotípicos diferenciados que reflejan mecanismos fisiopatológicos subyacentes distintos. La exposición al cisplatino se asoció principalmente con una supresión marcada de la actividad locomotora, caracterizada por periodos prolongados de inmovilidad y una reducción global del desplazamiento, lo que sugiere un deterioro funcional vinculado a limitaciones bioenergéticas y neuromusculares. En contraste, el imatinib provocó un patrón conductual dominado por hiperactividad contextual, exploración vertical alterada y una permanencia prolongada en el fondo del tanque, respuestas ampliamente interpretadas como indicadores de un estado afectivo ansioso más que de una incapacidad motora per se. No obstante, a pesar de estas diferencias fenotípicas, ambos perfiles conductuales convergen funcionalmente en la expresión de estados similares a la ansiedad, lo que apunta a una alteración compartida de los circuitos neurobiológicos que regulan la respuesta al estrés. Esta convergencia conductual se correlaciona con una disrupción del sistema colinérgico, evidenciada por la inhibición de la actividad de la AChE en el cerebro tras la exposición a ambos antineoplásicos. Sin embargo, el análisis comparativo de los mecanismos subyacentes sugiere vías de inhibición claramente diferenciadas. En el caso del cisplatino, la evidencia apunta a una interferencia más directa con la función enzimática, probablemente mediada por estrés oxidativo y/o por interacciones químicas con residuos catalíticos críticos, lo que comprometería de manera inmediata la hidrólisis de la acetilcolina. Por el contrario, en el caso del imatinib, la inhibición de la AChE parece obedecer a mecanismos indirectos, derivados del estrés celular y de modificaciones postraduccionales no canónicas inducidas por un entorno redox alterado. Por lo tanto, aunque

ambos fármacos convergen en una desregulación colinérgica funcional, difieren sustancialmente en sus puntos de intervención molecular, lo que refuerza la idea de que efectos neurotóxicos similares pueden emerger de arquitecturas mecanísticas distintas.

Además de la señalización colinérgica, el estrés oxidativo emergió como un eje central y compartido de la toxicidad inducida por cisplatino e imatinib, aunque con patrones tisulares y determinantes bioquímicos específicos para cada compuesto. El cisplatino indujo un daño oxidativo generalizado en todos los órganos analizados, con una afectación particularmente pronunciada en el hígado, seguida del cerebro, el intestino y las branquias. Este patrón sugiere que la toxicidad del cisplatino está estrechamente vinculada a la disrupción del metabolismo energético y a la alteración secundaria de la homeostasis iónica, procesos que potencian la formación de ROS y comprometen la viabilidad celular. En contraste, aunque el imatinib también indujo estrés oxidativo sistémico, los órganos más vulnerables fueron el hígado y las branquias, lo cual es consistente con una toxicidad mediada principalmente por disfunción mitocondrial no diana y desequilibrios redox derivados de la inhibición inespecífica de rutas de señalización críticas para la adaptación metabólica. Estas diferencias y convergencias a nivel bioquímico se reflejan con claridad en las firmas transcripcionales inducidas por ambos fármacos. El cisplatino provocó una reprogramación génica dominada por la activación de vías sensibles al daño directo del ADN, al estrés del RE y a la disfunción mitocondrial, evidenciada por la desregulación de genes como mapk8, prkaa2, ddit3, stim1a y sarm1. Esta respuesta sugiere una secuencia patogénica en la que el daño genómico inicial desencadena una comunicación cruzada desadaptativa entre el núcleo, el RE y las mitocondrias, que culmina en apoptosis, degeneración axonal y colapso de la homeostasis energética. En contraste, el imatinib indujo una activación clara de la vía apoptótica intrínseca, acompañada de una regulación negativa de prkaa1, lo que indica la supresión de las respuestas adaptativas dependientes de AMPK. En conjunto, estos hallazgos permiten proponer un modelo integrador en el que el cisplatino y el imatinib convergen en resultados tóxicos finales similares, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, apoptosis y alteraciones neuroconductuales, pero a través de trayectorias mecanísticas diferenciadas. Mientras que la toxicidad del cisplatino parece iniciarse predominantemente por daño directo al ADN y una activación compensatoria, aunque finalmente insuficiente, de las vías energéticas y antioxidantes, el imatinib ejerce su efecto tóxico principalmente mediante la inhibición de

rutas adaptativas clave, en particular aquellas reguladas por AMPK y nrf, lo que limita la capacidad celular para responder eficazmente al estrés metabólico y redox.

REFERENCIAS

Adhish, M., & Manjubala, I. (2023). Effectiveness of zebrafish models in understanding human diseases—A review of models. *Heliyon*, *9*(3).

Al-Hadiya, B. M., Bakheit, A. H., & Abd-Elgalil, A. A. (2014). Imatinib mesylate. *Profiles of drug substances, excipients and related methodology*, *39*, 265-297.

American Cancer Society. (2024). *Global Cancer Facts & Figures (5th ed.)*. https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/global-cancer-facts-and-figures/global-cancer-facts-and-figures-2024.pdf

Arunachalam, M., Raja, M., Vijayakumar, C., Malaiammal, P., & Mayden, R. L. (2013). Natural history of zebrafish (Danio rerio) in India. *Zebrafish*, *10*(1), 1-14.

Audira, G., Sampurna, B. P., Juniardi, S., Liang, S. T., Lai, Y. H., & Hsiao, C. D. (2018). A versatile setup for measuring multiple behavior endpoints in zebrafish. *Inventions*, *3*(4), 75.

Averill-Bates, D. (2024). Reactive oxygen species and cell signaling. Review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *1871*(2), 119573.

Barbosa, L. V., de Souza Castro, M. S., Ciuffi, K. J., Nassar, E. J., Marcal, L., Pereira, L. R., ... & de Faria, E. H. (2023). Kaolinite-titanium nanocomposite applied to the photodegradation of the genotoxic compound cisplatin and the terephthalic acid hydroxylation reaction. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *676*, 132144.

Basu, A. K. (2018). DNA damage, mutagenesis and cancer. *International journal of molecular sciences*, *19*(4), 970.

Behera, B. P., & Bhutia, S. K. (2023). AMPK signaling in autophagy induction. Autophagy Processes and Mechanisms, 21.

Besse, J. P., Latour, J. F., & Garric, J. (2012). Anticancer drugs in surface waters: what can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs?. *Environment international*, *39*(1), 73-86.

Booker, V., Halsall, C., Llewellyn, N., Johnson, A., & Williams, R. (2014). Prioritising anticancer drugs for environmental monitoring and risk assessment purposes. *Science of the Total Environment*, *473*, 159-170.

Borges, R. S., Pereira, A. C. M., de Souza, G. C., & Carvalho, J. C. T. (2019). Histopathology of zebrafish (Danio rerio) in nonclinical toxicological studies of new drugs. In *Zebrafish in biomedical research*. IntechOpen.

Bouitbir, J., Panajatovic, M. V., Frechard, T., Roos, N. J., & Krähenbühl, S. (2020). Imatinib and dasatinib provoke mitochondrial dysfunction leading to oxidative stress in C2C12 myotubes and human RD cells. *Frontiers in pharmacology*, *11*, 1106.

Bownik, A., Ślaska, B., & Dudka, J. (2020). Cisplatin affects locomotor activity and physiological endpoints of Daphnia magna. *Journal of hazardous materials*, *384*, 121259.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, *72*(1-2), 248-254.

Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, *74*(3), 229-263.

Buege, John A., and Steven D. Aust. "[30] Microsomal lipid peroxidation." *Methods in enzymology*. Vol. 52. Academic press, 1978. 302-310.

Canedo, A., & Rocha, T. L. (2021). Zebrafish (Danio rerio) using as model for genotoxicity and DNA repair assessments: Historical review, current status and trends. *Science of the Total Environment*, *762*, 144084.

Carvalho, G., Nguyen, T. V., Repolês, B., Forslund, J. M., Wijethunga, W. R. R., Ranjbarian, F., ... & Wanrooij, P. H. (2025). Activating AMPK improves pathological phenotypes due to mtDNA depletion. *The FEBS Journal*, *292*(9), 2359-2380.

Castellano-Hinojosa, A., Gallardo-Altamirano, M. J., González-Martínez, A., & González-López, J. (2024). Anticancer drugs impact the performance and prokaryotic microbiome of an aerobic granular sludge system operated in a sequential batch reactor. *Journal of Hazardous Materials*, *467*, 133674.

Chen, F., Yao, W., Wu, F., Xie, R., Wang, J., & Shi, Z. (2022). The status of TKI/acid-suppressant concomitant use in 44 hospitals in China: A cross-sectional descriptive study. *Medicine*, *101*(46), e31770.

Chen, S., Cao, Z., Prettner, K., Kuhn, M., Yang, J., Jiao, L., ... & Wang, C. (2023). Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050. *JAMA oncology*, *9*(4), 465-472.

Colletier, J. P., Fournier, D., Greenblatt, H. M., Stojan, J., Sussman, J. L., Zaccai, G., ... & Weik, M. (2006). Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase. *The EMBO journal*, *25*(12), 2746-2756.

Counago-Fernandez, M., Otero, P., Samartín-Ucha, M., Paradela-Carreiro, A., Muniategui-Lorenzo, S., & de Castro, N. M. L. (2024). Predicted concentrations of antineoplastic drugs in the aquatic environment: The case of Ría de Vigo (NW, Spain). *Marine Pollution Bulletin*, *203*, 116399.

Cristóvão, M. B., Janssens, R., Yadav, A., Pandey, S., Luis, P., Van der Bruggen, B., ... & Pereira, V. J. (2020). Predicted concentrations of anticancer drugs in the aquatic environment: what should we monitor and where should we treat?. *Journal of Hazardous Materials*, *392*, 122330.

Crom, W. R. (1994). Pharmacokinetics in the child. *Environmental Health Perspectives*, *102*(Suppl 11), 111.

d'Amora, M., & Giordani, S. (2018). The utility of zebrafish as a model for screening developmental neurotoxicity. *Frontiers in neuroscience*, *12*, 976.

Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, *740*, 364-378.

de Oliveira, V. S., Marins, K., Mendes, A. K. B., Zamoner, A., Leite, G. A. A., & Silva, F. R. M. B. (2023). In vivo exposure to pyriproxyfen causes ovarian oxidative stress and inhibits follicle maturation in zebrafish. *Journal of Applied Toxicology*, *43*(6), 799-807.

Definitive Healthcare. (2025). *Top medications prescribed by oncologists*. Definitive Healthcare. https://www.definitivehc.com/resources/healthcare-insights/top-prescriptions-by-oncologists

DeVita Jr, V. T., & Chu, E. (2008). A history of cancer chemotherapy. *Cancer research*, *68*(21), 8643-8653.

Dobrzyńska, J., Dąbrowska, M., Olchowski, R., Zięba, E., & Dobrowolski, R. (2021). Development of a method for removal of platinum from hospital wastewater by novel ion-

imprinted mesoporous organosilica. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(4), 105302.

Dominguez-García, P., Gibert, M., Lacorte, S., & Gómez-Canela, C. (2022). Long-term calculation of predicted environmental concentrations to assess the risk of anticancer drugs in environmental waters. *Molecules*, *27*(10), 3203.

Eadie, L. N., Hughes, T. P., & White, D. L. (2014). Interaction of the efflux transporters ABCB1 and ABCG2 with imatinib, nilotinib, and dasatinib. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *95*(3), 294-306.

Efraim, J., Munisi, C., Magige, A., Msuya, K., Marealle, A. I., Kilonzi, M., ... & Mutagonda, R. F. (2022). Drug utilization pattern and adverse drug reactions of chemotherapy in pediatric patients at Muhimbili National Hospital, Tanzania. *F1000Research*, *11*, 396.

Elena-Real, C. A., Díaz-Quintana, A., González-Arzola, K., Velázquez-Campoy, A., Orzáez, M., López-Rivas, A., ... & Díaz-Moreno, I. (2018). Cytochrome c speeds up caspase cascade activation by blocking 14-3-3ε-dependent Apaf-1 inhibition. *Cell death & disease*, *9*(3), 365.

Ellett, F., & Lieschke, G. J. (2010). Zebrafish as a model for vertebrate hematopoiesis. *Current opinion in pharmacology*, *10*(5), 563-570.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, *7*(2), 88-95.

Emadi, E., Abdoli, N., Ghanbarinejad, V., Mohammadi, H. R., Mobarakeh, K. M., Azarpira, N., ... & Heidari, R. (2019). The potential role of mitochondrial impairment in the pathogenesis of imatinib-induced renal injury. *Heliyon*, *5*(6).

Emadi, E., Abdoli, N., Ghanbarinejad, V., Mohammadi, H. R., Mobarakeh, K. M., Azarpira, N., ... & Heidari, R. (2019). The potential role of mitochondrial impairment in the pathogenesis of imatinib-induced renal injury. *Heliyon*, *5*(6).

Eysseric, E., Vlassopoulos, L., André, C., Gagné, F., & Gagnon, C. (2025). Bioaccumulation and toxicity of imatinib, cyclophosphamide and its transformation product carboxyphosphamide in the freshwater mussel Elliptio complanata. *Ecotoxicology*, *34*(10), 2112-2121.

Falzone, L., Salomone, S., & Libra, M. (2018). Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. *Frontiers in pharmacology*, *9*, 1300.

Farías, T., Hajizadeh, S., & Ye, L. (2020). Cryogels with high cisplatin adsorption capacity: Towards removal of cytotoxic drugs from wastewater. *Separation and Purification Technology*, *235*, 116203.

Ferrandino, I. (2024). Zebrafish Models in Toxicology and Disease Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(16), 8608.

Filppula, A. M., Laitila, J., Neuvonen, P. J., & Backman, J. T. (2012). Potent mechanism-based inhibition of CYP3A4 by imatinib explains its liability to interact with CYP3A4 substrates. *British journal of pharmacology*, *165*(8), 2787-2798.

Flynn, J. P., & Gerriets, V. (2023). Imatinib. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. National Center for Biotechnology Information Bookshelf. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551676/

Fonseca, T. G., Morais, M. B., Rocha, T., Abessa, D. M. S., Aureliano, M., & Bebianno, M. J. (2017). Ecotoxicological assessment of the anticancer drug cisplatin in the polychaete Nereis diversicolor. *Science of the Total Environment*, *575*, 162-172.

Fontana, B. D., Alnassar, N., & Parker, M. O. (2022). The zebrafish (Danio rerio) anxiety test battery: comparison of behavioral responses in the novel tank diving and light–dark tasks following exposure to anxiogenic and anxiolytic compounds. *Psychopharmacology*, *239*(1), 287-296

Frick, C., Rumgay, H., Vignat, J., Ginsburg, O., Nolte, E., Bray, F., & Soerjomataram, I. (2023). Quantitative estimates of preventable and treatable deaths from 36 cancers worldwide: a population-based study. *The Lancet global health*, *11*(11), e1700-e1712.

Gajski, G., Gerić, M., Domijan, A. M., Golubović, I., & Garaj-Vrhovac, V. (2019). Evaluation of oxidative stress responses in human circulating blood cells after imatinib mesylate treatment–Implications to its mechanism of action. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *27*(8), 1216-1221.

Garcimartín, A., López-Oliva, M. E., González, M. P., Sánchez-Muniz, F. J., & Benedí, J. (2017). Hydrogen peroxide modifies both activity and isoforms of acetylcholinesterase in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Redox Biology*, *12*, 719-726.

Gentilin, E., Simoni, E., Candito, M., Cazzador, D., & Astolfi, L. (2019). Cisplatin-induced ototoxicity: updates on molecular targets. *Trends in molecular medicine*, *25*(12), 1123-1132.

Ghafuri, Y., Yunesian, M., Nabizadeh, R., Mesdaghinia, A., Dehghani, M. H., & Alimohammadi, M. (2018). Platinum cytotoxic drugs in the municipal wastewater and drinking water, a validation method and health risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, *24*(3), 784-796.

Ghrib, F., Saied, T., & Bellakhal, N. (2019). Experimental design methodology applied to the degradation of a cytostatic agent the imatinib mesylate using fenton process. *Chemistry Africa*, *2*(1), 103-111.

Giacomini, A. C., Bueno, B. W., Marcon, L., Scolari, N., Genario, R., Demin, K. A., ... & de Abreu, M. S. (2020). An acetylcholinesterase inhibitor, donepezil, increases anxiety and cortisol levels in adult zebrafish. *Journal of Psychopharmacology*, *34*(12), 1449-1456.

Giari, L., Dezfuli, B. S., Astolfi, L., & Martini, A. (2012). Ultrastructural effects of cisplatin on the inner ear and lateral line system of zebrafish (Danio rerio) larvae. *Journal of Applied Toxicology*, *32*(4), 293-299.

Gore, A. V., Pillay, L. M., Venero Galanternik, M., & Weinstein, B. M. (2018). The zebrafish: A fintastic model for hematopoietic development and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, *7*(3), e312.

Groenendyk, J., Agellon, L. B., & Michalak, M. (2021). Calcium signaling and endoplasmic reticulum stress. *International review of cell and molecular biology*, *363*, 1-20.

Güray, T., Alper, Ş., & Uysal, U. D. (2025). A new chemometrically optimised HPLC method for the simultaneous determination of imatinib mesylate and capecitabine, the active medicinal components. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, *105*(16), 4766-4783.

Gvozdeva, Y., Georgieva, P., & Katsarov, P. (2025). Imatinib in Targeted Therapy: Advances in Biomedical Applications and Drug Delivery Systems. *Hemato*, *6*(4), 40.

Haguet, H., Douxfils, J., Chatelain, C., Graux, C., Mullier, F., & Dogné, J. M. (2018). BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: which mechanism (s) may explain the risk of thrombosis?. *TH Open*, *2*(01), e68-e88.

Han, D., López-Mesas, M., Boada, R., Farías, T., Fraga, A. R. L., & Valiente, M. (2023a). Trace cisplatin and carboplatin removal by 3-mercaptopropionic acid and L-cysteine functionalized sponges: Adsorption behaviour and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, *472*, 144894.

Han, D., López-Mesas, M., Luaces, M., Enamorado, Y., Sanadar, M., Melchior, A., & Valiente, M. (2023b). Comparative study on removal of platinum cytostatic drugs at trace level by cysteine, diethylenetriamino functionalized Si-gels and polyethyleneimine functionalized sponge: Adsorption performance and mechanisms. *Science of the total environment*, *891*, 164385.

Harrach, S., Schmidt-Lauber, C., Pap, T., Pavenstädt, H., Schlatter, E., Schmidt, E., ... & Bertrand, J. (2016). MATE1 regulates cellular uptake and sensitivity to imatinib in CML patients. *Blood cancer journal*, *6*(9), e470-e470.

Hirao, T., Yamaguchi, M., Kikuya, M., Chibana, H., Ito, K., & Aoki, S. (2018). Altered intracellular signaling by imatinib increases the anti-cancer effects of tyrosine kinase inhibitors in chronic myelogenous leukemia cells. *Cancer science*, *109*(1), 121-131.

Huang, J., Chan, S. C., Ngai, C. H., Lok, V., Zhang, L., Lucero-Prisno III, D. E., ... & NCD Global Health Research Group, Association of Pacific Rim Universities (APRU). (2023). Global incidence, mortality and temporal trends of cancer in children: A joinpoint regression analysis. *Cancer Medicine*, *12*(2), 1903-1911.

Hung, G. Y., Wu, C. L., Chou, Y. L., Chien, C. T., Horng, J. L., & Lin, L. Y. (2019). Cisplatin exposure impairs ionocytes and hair cells in the skin of zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, *209*, 168-177.

Hung, G. Y., Wu, C. L., Motoyama, C., Horng, J. L., & Lin, L. Y. (2022). Zebrafish embryos as an in vivo model to investigate cisplatin-induced oxidative stress and apoptosis in mitochondrion-rich ionocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *259*, 109395.

Hung, G. Y., Wu, C. L., Motoyama, C., Horng, J. L., & Lin, L. Y. (2022). Zebrafish embryos as an in vivo model to investigate cisplatin-induced oxidative stress and apoptosis in mitochondrion-rich ionocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *259*, 109395.

Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Imatinib: a breakthrough of targeted therapy in cancer. *Chemotherapy research and practice*, *2014*(1), 357027.

Isidori, M., Lavorgna, M., Russo, C., Kundi, M., Žegura, B., Novak, M., ... & Heath, E. (2016). Chemical and toxicological characterisation of anticancer drugs in hospital and municipal wastewaters from Slovenia and Spain. *Environmental Pollution*, *219*, 275-287.

Isidori, M., Lavorgna, M., Russo, C., Kundi, M., Žegura, B., Novak, M., ... & Heath, E. (2016). Chemical and toxicological characterisation of anticancer drugs in hospital and municipal wastewaters from Slovenia and Spain. *Environmental Pollution*, *219*, 275-287.

Isidori, M., Piscitelli, C., Russo, C., Smutná, M., & Bláha, L. (2016). Teratogenic effects of five anticancer drugs on Xenopus laevis embryos. *Ecotoxicology and environmental safety*, *133*, 90-96.

Jiang, Y., Su, Z., Zheng, J., Hsu, C. H., & Chen, Y. (2025). Small fish making a big difference: beloved star of environmental toxicology research in the current era. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, *26*(7), 613-632.

Jiang, Z. Y., Hunt, J. V., & Wolff, S. P. (1992). Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Analytical biochemistry*, *202*(2), 384-389.

Johnson, A., Loh, E., Verbitsky, R., Slessor, J., Franczak, B. C., Schalomon, M., & Hamilton, T. J. (2023). Examining behavioural test sensitivity and locomotor proxies of anxiety-like behaviour in zebrafish. *Scientific Reports*, *13*(1), 3768.

Jung, Y., & Lippard, S. J. (2006). RNA polymerase II blockage by cisplatin-damaged DNA: Stability and polyubiquitylation of stalled polymerase. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(3), 1361-1370.

Kalpage, H. A., Wan, J., Morse, P. T., Zurek, M. P., Turner, A. A., Khobeir, A., ... & Hüttemann, M. (2020). Cytochrome c phosphorylation: Control of mitochondrial electron transport chain flux and apoptosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *121*, 105704.

Kandati, K., Reddy, A. S., Nannepaga, J. S., & Viswanath, B. (2023). The influence of probiotics in reducing cisplatin-induced toxicity in zebrafish (Danio rerio). Current Microbiology, 80(4), 109.

Kathiresan, D. S., Balasubramani, R., Marudhachalam, K., Jaiswal, P., Ramesh, N., Sureshbabu, S. G., ... & Vijayan, M. (2025). Role of mitochondrial dysfunctions in neurodegenerative disorders: advances in mitochondrial biology. *Molecular Neurobiology*, *62*(6), 6827-6855.

Kehm, R. D., Yang, W., Tehranifar, P., & Terry, M. B. (2019). 40 years of change in age-and stage-specific cancer incidence rates in US women and men. *JNCI cancer spectrum*, *3*(3), pkz038.

Khajapeer, K. V., & Baskaran, R. (2015). Hsp90 inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia research and treatment*, *2015*(1), 757694.

Khan, T., Waseem, R., Zehra, Z., Aiman, A., Bhardwaj, P., Ansari, J., ... & Islam, A. (2022). Mitochondrial dysfunction: pathophysiology and mitochondria-targeted drug delivery approaches. *Pharmaceutics*, *14*(12), 2657.

Kim, J., Song, H., Heo, H. R., Kim, J. W., Kim, H. R., Hong, Y., ... & Hong, S. H. (2017). Cadmium-induced ER stress and inflammation are mediated through C/EBP–DDIT3 signaling in human bronchial epithelial cells. *Experimental & Molecular Medicine*, *49*(9), e372-e372.

Kim, M. J., Moon, D., Jung, S., Lee, J., & Kim, J. (2020). Cisplatin nephrotoxicity is induced via poly (ADP-ribose) polymerase activation in adult zebrafish and mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*.

Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., ... & Fasoulakis, Z. (2020). Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review. *Anticancer research*, *40*(11), 6009-6015.

Kovács, R., Bakos, K., Urbányi, B., Kövesi, J., Gazsi, G., Csepeli, A., ... & Horváth, Á. (2016). Acute and sub-chronic toxicity of four cytostatic drugs in zebrafish. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(15), 14718-14729.

Krishan, S., Richardson, D. R., & Sahni, S. (2014). Amp kinase (prkaa1). *Journal of clinical pathology*, *67*(9), 758-763.

Lee, D. S., Schrader, A., Bell, E., Warchol, M. E., & Sheets, L. (2022). Evaluation of cisplatin-induced pathology in the larval zebrafish lateral line. *International journal of molecular sciences*, *23*(22), 14302.

Lee, J., Panagiotelis, A., Cairns, R., & Wheate, N. J. (2024). An analysis of the trends in the usage of Pharmaceutical Benefits Scheme-subsidised cancer drugs in Australia from 2012 to 2022. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, *150*(8), 375.

Lee, S., Kim, S., Hwang, S., Cherrington, N. J., & Ryu, D. Y. (2017). Dysregulated expression of proteins associated with ER stress, autophagy and apoptosis in tissues from nonalcoholic fatty liver disease. *Oncotarget*, *8*(38), 63370.

Lenz, K., Hann, S., Koellensperger, G., Stefanka, Z., Stingeder, G., Weissenbacher, N., ... & Fuerhacker, M. (2005). Presence of cancerostatic platinum compounds in hospital wastewater and possible elimination by adsorption to activated sludge. *Science of the Total Environment*, *345*(1-3), 141-152.

Lenz, K., Mahnik, S. N., Weissenbacher, N., Mader, R. M., Krenn, P., Hann, S. T. E. P. H. A. N., ... & Fuerhacker, M. (2007). Monitoring, removal and risk assessment of cytostatic drugs in hospital wastewater. *Water Science and Technology*, *56*(12), 141-149.

Levine, Rodney L., et al. "[37] Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins." *Methods in enzymology*. Vol. 233. Academic press, 1994. 346-357.

Li, T., Su, L., Lei, Y., Liu, X., Zhang, Y., & Liu, X. (2015). DDIT3 and KAT2A proteins regulate TNFRSF10A and TNFRSF10B expression in endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in human lung cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, *290*(17), 11108-11118.

Li, W., Liang, H., Wang, W., Liu, J., Liu, X., Lao, S., ... & He, J. (2024). Global cancer statistics for adolescents and young adults: population based study. *Journal of Hematology & Oncology*, *17*(1), 99.

Li, Y. Q., Koritzinsky, M., & Wong, C. S. (2020). Metabolic regulation of hippocampal neuroprogenitor apoptosis after irradiation. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *79*(3), 325-335.

Linares, J., Sallent-Aragay, A., Badia-Ramentol, J., Recort-Bascuas, A., Méndez, A., Manero-Rupérez, N., ... & Calon, A. (2023). Long-term platinum-based drug accumulation in cancer-associated fibroblasts promotes colorectal cancer progression and resistance to therapy. Nature Communications, 14(1), 746.

Loer, H. L. H., Kovar, C., Rüdesheim, S., Marok, F. Z., Fuhr, L. M., Selzer, D., ... & Lehr, T. (2024). Physiologically based pharmacokinetic modeling of imatinib and N-desmethyl imatinib for drug–drug interaction predictions. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, *13*(6), 926-940.

Lozano, E., Herraez, E., Briz, O., Robledo, V. S., Hernandez-Iglesias, J., Gonzalez-Hernandez, A., & Marin, J. J. (2013). Role of the plasma membrane transporter of organic cations OCT1 and its genetic variants in modern liver pharmacology. *BioMed research international*, *2013*(1), 692071.

Lu, Z., Miao, Y., Muhammad, I., Tian, E., Hu, W., Wang, J., ... & Li, J. (2017). Colistin-induced autophagy and apoptosis involves the JNK-Bcl2-Bax signaling pathway and JNK-p53-ROS positive feedback loop in PC-12 cells. *Chemico-biological interactions*, *277*, 62-73.

Lumbaque, E. C., Dallegrave, A., Baldassari, L. L., Lüdtke, D. S., Bussamara, R., Sirtori, C., & Yuan, Q. (2021). Degradation of imatinib mesylate by manganese peroxidase (MnP): Optimization, identification of transformation products, pathway proposal and in silico predictions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 106246.

Lv, J., Xiao, X., Bi, M., Tang, T., Kong, D., Diao, M., ... & Jiang, H. (2022). ATP-sensitive potassium channels: A double-edged sword in neurodegenerative diseases. *Ageing Research Reviews*, *80*, 101676.

Lv, X., Ren, W., Ran, S., Zhao, Y., Zhang, J., Chen, J., & Zhang, N. (2023). Trends and prescribing patterns of oral anti-neoplastic drugs: a retrospective longitudinal study. *Frontiers in public health*, *11*, 1294126.

Ma, X., Xiong, J., Li, H., Brooks, B. W., & You, J. (2022). Long-term exposure to neonicotinoid insecticide acetamiprid at environmentally relevant concentrations impairs endocrine functions in zebrafish: bioaccumulation, feminization, and transgenerational effects. *Environmental science & technology*, *56*(17), 12494-12505.

Mayden, R. L., Tang, K. L., Conway, K. W., Freyhof, J., Chamberlain, S., Haskins, M., ... & He, S. (2007). Phylogenetic relationships of Danio within the order Cypriniformes: a framework for comparative and evolutionary studies of a model species. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, *308*(5), 642-654.

McCluskey, B. M., & Postlethwait, J. H. (2015). Phylogeny of zebrafish, a "model species," within Danio, a "model genus". *Molecular biology and evolution*, *32*(3), 635-652.

Miao, Z., Miao, Z., Wang, S., Wu, H., & Xu, S. (2022). Exposure to imidacloprid induce oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, apoptosis and mitophagy via NF-

kappaB/JNK pathway in grass carp hepatocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, *120*, 674-685.

Mišík, M., Filipic, M., Nersesyan, A., Kundi, M., Isidori, M., & Knasmueller, S. (2019). Environmental risk assessment of widely used anticancer drugs (5-fluorouracil, cisplatin, etoposide, imatinib mesylate). *Water Research*, *164*, 114953.

Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological chemistry*, *247*(10), 3170-3175.

Mohajeri, E., Kalantari-Khandani, B., Pardakhty, A., Safavi, M., & Ansari, M. (2015). Comparative pharmacokinetic evaluation and bioequivalence study of three different formulations of Imatinib Mesylate in CML patients. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*, *9*(4), 165.

Morales Fénero, C., Padovani, B. N., Do Amaral, M. A., de Barros, G. J. B., de Oliveira, I. K. X., Hiyane, M. I., & Camâra, N. O. S. (2021). Acute kidney injury model induced by cisplatin in adult zebrafish. *JoVE*, *171*(10.3791), 61575.

Moreira, A., Bernardo, C., Ramos, C., Aguiar, P., & Alves da Costa, F. (2022). National trends in the use of oral chemotherapy over 13 years. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 909948.

Muller, B. A. (2009). Imatinib and its successors-how modern chemistry has changed drug development. *Current pharmaceutical design*, *15*(2), 120-133.

National Cancer Institute. (2021, October 11). *What is cancer?* https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer

National Cancer Institute. (2025). *History of the Developmental Therapeutics Program (DTP)*. Division of Cancer Treatment and Diagnosis, U.S. National Cancer Institute. https://dctd.cancer.gov/programs/dtp/history

National Institutes of Health. (2024). Antineoplastic agents. In *LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury*. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548022/

Nebot, N., Crettol, S., d'Esposito, F., Tattam, B., Hibbs, D. E., & Murray, M. (2010). Participation of CYP2C8 and CYP3A4 in the N-demethylation of imatinib in human hepatic microsomes. *British journal of pharmacology*, *161*(5), 1059-1069.

Negreira, N., de Alda, M. L., & Barceló, D. (2013). On-line solid phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of 17 cytostatics and metabolites in waste, surface and ground water samples. *Journal of Chromatography A*, *1280*, 64-74.

Nies, A. T., Schaeffeler, E., Van Der Kuip, H., Cascorbi, I., Bruhn, O., Kneba, M., ... & Schwab, M. (2014). Cellular uptake of imatinib into leukemic cells is independent of human organic cation transporter 1 (OCT1). *Clinical Cancer Research*, *20*(4), 985-994.

Nourbakhsh, K., & Yadav, S. (2021). Kinase signaling in dendritic development and disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *15*, 624648.

Novak, M., Baebler, Š., Žegura, B., Rotter, A., Gajski, G., Gerić, M., ... & Filipič, M. (2021). Deregulation of whole-transcriptome gene expression in zebrafish (Danio rerio) after chronic exposure to low doses of imatinib mesylate in a complete life cycle study. *Chemosphere*, *263*, 128097.

Novak, M., Žegura, B., Nunić, J., Gajski, G., Gerić, M., Garaj-Vrhovac, V., & Filipič, M. (2017). Assessment of the genotoxicity of the tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate in cultured fish and human cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *814*, 14-21.

Nunes, R. A. B., Neves, P. D. M. D. M., da Costa, L. M. A., Bachour, P., Cantarelli, M. J. D. C., Oliveira, G. B. D. F., & Avezum Jr, Á. (2023). Five-year cardiovascular outcomes in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib, dasatinib, or nilotinib: A cohort study using data from a large multinational collaborative network. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *10*, 888366.

Olalla, A., Negreira, N., De Alda, M. L., Barceló, D., & Valcárcel, Y. (2018). A case study to identify priority cytostatic contaminants in hospital effluents. *Chemosphere*, *190*, 417-430.

Olsen, K., Dansie, L. S., Litleskare, I., & Blix, H. S. (2021). Consumption of oral anticancer drugs in Norway compared by different units of measurements–introduction of new DDDs. *Norsk Epidemiologi*, *29*(1-2).

Ostios-Garcia, L., Perez, D. M., Castelo, B., Herradon, N. H., Zamora, P., Feliu, J., & Espinosa, E. (2024). Classification of anticancer drugs: an update with FDA-and EMA-approved drugs. *Cancer and Metastasis Reviews*, *43*(4), 1561-1571.

Otmani, K., & Lewalle, P. (2021). Tumor suppressor miRNA in cancer cells and the tumor microenvironment: mechanism of deregulation and clinical implications. *Frontiers in oncology*, *11*, 708765.

Padovani, B. N., Morales Fénero, C., Paredes, L. C., Amaral, M. A. D., Domínguez-Amorocho, O., Cipelli, M., ... & Câmara, N. O. S. (2024). Cisplatin toxicity causes neutrophil-mediated inflammation in zebrafish larvae. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(4), 2363.

Park, J. W., Chung, H., Kim, K. A., Kim, J. M., Park, I. H., Lee, S., & Park, J. Y. (2021). ABCG2 single nucleotide polymorphism affects imatinib pharmacokinetics in lower alpha-1-acid glycoprotein levels in humans. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 658039.

Parrella, A., Lavorgna, M., Criscuolo, E., Russo, C., & Isidori, M. (2014). Estrogenic activity and cytotoxicity of six anticancer drugs detected in water systems. *Science of the total environment*, *485*, 216-222.

Pei, D. S., & Strauss, P. R. (2013). Zebrafish as a model system to study DNA damage and repair. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *743*, 151-159.

Peng, B., Lloyd, P., & Schran, H. (2005). Clinical pharmacokinetics of imatinib. *Clinical pharmacokinetics*, *44*(9), 879-894.

Peng, B., Lloyd, P., & Schran, H. (2005). Clinical pharmacokinetics of imatinib. *Clinical pharmacokinetics*, *44*(9), 879-894.

Phillips, K. M., Pinilla-Ibarz, J., Sotomayor, E., Lee, M. R., Jim, H. S., Small, B. J., ... & Jacobsen, P. B. (2013). Quality of life outcomes in patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors: a controlled comparison. *Supportive Care in Cancer*, *21*(4), 1097-1103.

Pirahanchi, Y., Jessu, R., & Aeddula, N. R. (2023). Physiology, sodium potassium pump. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Prasad, D. K. V., & Sitara, R. (2026). Role of oncogenes, proto-oncogenes, and tumor suppressor genes in cancer progression. In *Frontiers of Cancer Biology* (pp. 21-26). Academic Press.

Proctor, K., Petrie, B., Barden, R., Arnot, T., & Kasprzyk-Hordern, B. (2019). Multi-residue ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method

for comprehensive multi-class anthropogenic compounds of emerging concern analysis in a catchment-based exposure-driven study. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *411*(27), 7061-7086.

Putri, A., Rinaldi, I., Louisa, M., & Koesnoe, S. (2019). The role of STAT5 in tyrosine kinase inhibitor (IMATINIB) resistance in CML Patients. *Acta Medica Indonesiana*, *51*(4), 348-348.

Queirós, V., Leite, C., Azeiteiro, U. M., Casado, M., Soares, A. M., Santos, J. L., ... & Barata, C. Effects of Water Temperature Increase on Transcriptomic, Biochemical, and Histopathological Responses of the Bivalve Species Mytilus Galloprovincialis to the Antineoplastic Drug 5-Fluorouracil. *Biochemical, and Histopathological Responses of the Bivalve Species Mytilus Galloprovincialis to the Antineoplastic Drug*.

Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D., & Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, *266*(32), 22028-22034.

Rashid, A. (2025). Top 50 best-selling drugs to watch in 2025: Insights from 2024 sales data. Xtalks. https://xtalks.com/top-50-best-selling-drugs-to-watch-in-2025-insights-from-2024-sales-data-4343/

Redaelli, S., Perini, P., Ceccon, M., Piazza, R., Rigolio, R., Mauri, M., ... & Gambacorti-Passerini, C. (2015). In vitro and in vivo identification of ABCB1 as an efflux transporter of bosutinib. *Journal of hematology & oncology*, *8*(1), 81.

Reddy, P. B., & Rawat, S. S. (2013). Assessment of aquatic pollution using histopathology in fish as a protocol. *International Research Journal of Environment Sciences*, *2*(8), 79-82.

Ren, J., Yang, F., Ding, N., Mo, J., & Guo, J. (2022). Transcriptomic responses to cytotoxic drug cisplatin in water flea Daphnia magna. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *95*, 103964.

Repsold, L., Pool, R., Karodia, M., Tintinger, G., & Joubert, A. M. (2017). An overview of the role of platelets in angiogenesis, apoptosis and autophagy in chronic myeloid leukaemia. *Cancer Cell International*, *17*(1), 89.

Rodríguez, L. R., Calap-Quintana, P., Lapena-Luzón, T., Pallardó, F. V., Schneuwly, S., Navarro, J. A., & Gonzalez-Cabo, P. (2020). Oxidative stress modulates rearrangement of

endoplasmic reticulum-mitochondria contacts and calcium dysregulation in a Friedreich's ataxia model. *Redox biology*, *37*, 101762.

Romani, A. M. (2022). Cisplatin in cancer treatment. *Biochemical pharmacology*, *206*, 115323.

Roque-Diaz, Y., Sanadar, M., Han, D., Lopez-Mesas, M., Valiente, M., Tolazzi, M., ... & Veclani, D. (2021). The dark side of platinum based cytostatic drugs: from detection to removal. *Processes*, *9*(11), 1873.

Rouyère, C., Serrano, T., Frémont, S., & Echard, A. (2022). Oxidation and reduction of actin: Origin, impact in vitro and functional consequences in vivo. *European journal of cell biology*, *101*(3), 151249.

Roy, U., & Schärer, O. D. (2016). Involvement of translesion synthesis DNA polymerases in DNA interstrand crosslink repair. *DNA repair*, *44*, 33-41.

Rumgay, H., Cabasag, C. J., Offman, J., de Camargo Cancela, M., Barchuk, A., Mathur, P., ... & Soerjomataram, I. (2023). International burden of cancer deaths and years of life lost from cancer attributable to four major risk factors: a population-based study in Brazil, Russia, India, China, South Africa, the United Kingdom, and United States. *EClinicalMedicine*, *66*.

Rycenga, H. B., & Long, D. T. (2018). The evolving role of DNA inter-strand crosslinks in chemotherapy. *Current opinion in pharmacology*, *41*, 20-26.

Samzadeh, A., Dehghani, M., Baghapour, M. A., Azhdarpoor, A., Derakhshan, Z., Cvetnić, M., ... & Cao, Y. (2022). Comparative photo-oxidative degradation of etodolac, febuxostat and imatinib mesylate by UV-C/H2O2 and UV-C/S2O82− processes: Modeling, treatment optimization and biodegradability enhancement. *Environmental research*, *212*, 113385.

Santana-Viera, S., Padrón, M. E. T., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodríguez, J. J. (2020). Quantification of cytostatic platinum compounds in wastewater by inductively coupled plasma mass spectrometry after ion exchange extraction. *Microchemical Journal*, *157*, 104862.

Sauvageau, J. F., Milaniak, N., Samard, L., & Fortin, M. A. (2023). Transformation by plasma technology of cisplatin found in hospital's wastewaters into platinum-containing nanoparticles. *Chemical Engineering Journal Advances*, *13*, 100435.

Savi, M., Frati, C., Cavalli, S., Graiani, G., Galati, S., Buschini, A., ... & Urbanek, K. (2018). Imatinib mesylate-induced cardiomyopathy involves resident cardiac progenitors. *Pharmacological Research*, *127*, 15-25.

Schallreuter, K. U., & Elwary, S. (2007). Hydrogen peroxide regulates the cholinergic signal in a concentration dependent manner. *Life sciences*, *80*(24-25), 2221-2226.

Secrétan, P. H., Karoui, M., Yayé, H. S., Levi, Y., Tortolano, L., Solgadi, A., ... & Do, B. (2019). Imatinib: Major photocatalytic degradation pathways in aqueous media and the relative toxicity of its transformation products. *Science of the Total Environment*, *655*, 547-556.

Shahab, M., Rosati, R., Meyer, D. N., Shields, J. N., Crofts, E., Baker, T. R., & Jamesdaniel, S. (2021). Cisplatin-induced hair cell loss in zebrafish neuromasts is accompanied by protein nitration and Lmo4 degradation. *Toxicology and applied pharmacology*, *410*, 115342.

Shang, J., Zhou, L., Huang, L., Yang, F., Liu, Y., Zhang, C., ... & Feng, Y. (2023). Trends in antineoplastic drug use, cost and prescribing patterns among patients with lung cancer in nine major cities of China, 2016–2020: a retrospective observational study based on inpatient and outpatient hospital data. BMJ open, 13(3), e069645.

Sharma, A., Anand, S. K., Singh, N., Dwivedi, U. N., & Kakkar, P. (2023). AMP-activated protein kinase: An energy sensor and survival mechanism in the reinstatement of metabolic homeostasis. *Experimental cell research*, *428*(1), 113614.

Shibuya, K., Mathers, C. D., Boschi-Pinto, C., Lopez, A. D., & Murray, C. J. (2002). Global and regional estimates of cancer mortality and incidence by site: II. Results for the global burden of disease 2000. *BMC cancer*, *2*(1), 37.

Shu, L., Du, C., & Zuo, Y. (2023). Abnormal phosphorylation of protein tyrosine in neurodegenerative diseases. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *82*(10), 826-835.

Shyam Sunder, S., Sharma, U. C., & Pokharel, S. (2023). Adverse effects of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy: pathophysiology, mechanisms and clinical management. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *8*(1), 262.

Siddiqui, S., Siddiqui, H., Riguene, E., & Nomikos, M. (2025). Zebrafish: A versatile and powerful model for biomedical research. *BioEssays*, *47*(12), e70080.

Silveira, C. R., Varela Junior, A. S., Corcini, C. D., Soares, S. L., Anciuti, A. N., Kütter, M. T., & Martínez, P. E. (2019). Effects of Bisphenol A on redox balance in red blood and sperm cells and spermatic quality in zebrafish Danio rerio. *Ecotoxicology*, *28*(8), 913-922.

Spagnolo, F., Brugiapaglia, S., Perin, M., Intonti, S., & Curcio, C. (2025). Anti-Cancer Drugs: Trends and Insights from PubMed Records. *Pharmaceutics*, *17*(5), 610.

Speedie, N., & Gerlai, R. (2008). Alarm substance induced behavioral responses in zebrafish (Danio rerio). *Behavioural brain research*, *188*(1), 168-177.

Spence, R., Fatema, M. K., Reichard, M., Huq, K. A., Wahab, M. A., Ahmed, Z. F., & Smith, C. (2006). The distribution and habitat preferences of the zebrafish in Bangladesh. *Journal of fish biology*, *69*(5), 1435-1448.

Steed, J. (2012). *Cisplatin*. Chemistry World. Royal Society of Chemistry. https://www.chemistryworld.com/podcasts/cisplatin/3005739.article

Strohm, L., Mihalikova, D., Czarnowski, A., Schwaibold, Z., Daiber, A., & Stamm, P. (2025). Sex-Specific Antioxidant and Anti-Inflammatory Protective Effects of AMPK in Cardiovascular Diseases. *Antioxidants*, *14*(5), 615.

Teame, T., Zhang, Z., Ran, C., Zhang, H., Yang, Y., Ding, Q., ... & Zhou, Z. (2019). The use of zebrafish (Danio rerio) as biomedical models. *Animal Frontiers*, *9*(3), 68-77.

Thompson, L. E., & Joy, M. S. (2024). Understanding cisplatin pharmacokinetics and toxicodynamics to predict and prevent kidney injury. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *391*(3), 399-414.

Tian, X., Wang, C., Yu, B., Fan, Y., Zhang, L., & Zhang, X. (2023). 9.4 T static magnetic field ameliorates imatinib mesylate-induced toxicity and depression in mice. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, *50*(2), 314-327.

Tkalec, Ž., Negreira, N., de Alda, M. L., Barceló, D., & Kosjek, T. (2021). A novel workflow utilizing open-source software tools in the environmental fate studies: the example of imatinib biotransformation. *Science of the Total Environment*, *797*, 149063.

Tolić Čop, K., Mutavdžić Pavlović, D., & Gazivoda Kraljević, T. (2022). Photocatalytic activity of TiO2 for the degradation of anticancer drugs. *Nanomaterials*, *12*(19), 3532.

Toński, M., Dołżonek, J., Stepnowski, P., & Białk-Bielińska, A. (2021). Hydrolytic stability of anticancer drugs and one metabolite in the aquatic environment. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(41), 57939-57951.

Trombini, C., da Fonseca, T. G., Morais, M., Rocha, T. L., Blasco, J., & Bebianno, M. J. (2016). Toxic effects of cisplatin cytostatic drug in mussel Mytilus galloprovincialis. *Marine Environmental Research*, *119*, 12-21

Truccolo, G. (2024). *The 2023 top-selling drugs*. Cambridge Crystallographic Data Centre. https://www.ccdc.cam.ac.uk/discover/blog/the-2023-top-selling-drugs

Turkay, O., Barışçı, S., Ulusoy, E., Şeker, M. G., & Dimoglo, A. (2018). Anodic oxidation of anti-cancer drug Imatinib on different electrodes: kinetics, transformation by-products and toxicity assessment. *Electrochimica Acta*, *263*, 400-408.

van de Wal, D., den Hollander, D., Desar, I. M., Gelderblom, H., Oosten, A. W., Reyners, A. K., ... & van der Graaf, W. T. (2024). Fear, anxiety and depression in gastrointestinal stromal tumor (GIST) patients in the Netherlands: data from a cross-sectional multicenter study. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, *24*(1), 100434.

Vidmar, J., Martinčič, A., Milačič, R., & Ščančar, J. (2015). Speciation of cisplatin in environmental water samples by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, *138*, 1-7.

Vijayalakshmi, D., Bendi, S. R., Usharani, M., & Latha, K. S. (2020). Assessment of drug utilization pattern in patients undergoing chemotherapy for various types of metastatic cancers in a tertiary care government hospital. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, *9*(9), 1331-1337.

Vologzhanina, A. V., Ushakov, I. E., & Korlyukov, A. A. (2020). Intermolecular interactions in crystal structures of imatinib-containing compounds. *International journal of molecular sciences*, *21*(23), 8970.

von Mehren, M., & Widmer, N. (2011). Correlations between imatinib pharmacokinetics, pharmacodynamics, adherence, and clinical response in advanced metastatic gastrointestinal stromal tumor (GIST): an emerging role for drug blood level testing?. *Cancer treatment reviews*, *37*(4), 291-299.

Vyas, N., Turner, A., & Sewell, G. (2014). Platinum-based anticancer drugs in waste waters of a major UK hospital and predicted concentrations in recipient surface waters. *Science of the total Environment*, *493*, 324-329.
Vyas, N., Turner, A., & Sewell, G. (2014). Platinum-based anticancer drugs in waste waters of a major UK hospital and predicted concentrations in recipient surface waters. *Science of the total Environment*, *493*, 324-329.
Wang, L. L., Hu, R. C., Dai, A. G., Tan, S. X., Xu, M., Kong, C. C., ... & Fu, D. Y. (2021). CHOP overexpression sensitizes human non-small cell lung cancer cells to cisplatin treatment by Bcl-2/JNK pathway. *American Journal of Translational Research*, *13*(6), 6279.

Wang, P., Huang, S., Shi, X., Xu, H., Wang, R., Peng, J., ... & Tang, X. (2024). Global, regional, and national burdens of cancer in children aged zero to nine years from 1990 to 2019. *Journal of Global Health*, *14*, 04104.

World Health Organization. (2025, February 3). Cancer. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer

Xu, P., Zhang, G., Hou, S., & Sha, L. G. (2018). MAPK8 mediates resistance to temozolomide and apoptosis of glioblastoma cells through MAPK signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *106*, 1419-1427.

Xu, Z., Pan, Z., Jin, Y., Gao, Z., Jiang, F., Fu, H., ... & Luo, P. (2024). Inhibition of PRKAA/AMPK (Ser485/491) phosphorylation by crizotinib induces cardiotoxicity via perturbing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, *20*(2), 416-436.

Xue, H., Cao, H., Xing, C., Feng, J., Zhang, L., Zhang, C., ... & Yang, F. (2021). Selenium triggers Nrf2-AMPK crosstalk to alleviate cadmium-induced autophagy in rabbit cerebrum. *Toxicology*, *459*, 152855.

Yan, Z., Yan, K., He, X., Liu, Y., Zhang, J., Torres, O. L., ... & Chen, J. (2017). The impact assessment of anticancer drug imatinib on the feeding behavior of rotifers with an integrated perspective: exposure, post-exposure and re-exposure. *Chemosphere*, *185*, 423-430.

Yang, C., Xu, X., Dong, X., Yang, B., Dong, W., Luo, Y., ... & Wang, J. (2021). DDIT3/CHOP promotes autophagy in chondrocytes via SIRT1-AKT pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *1868*(9), 119074.

Yang, J., Luo, G., Xiang, Q., Li, S., & Feng, Y. (2025). Global burden of cancer in adolescents and young adults aged 10–24 years: a trend analysis. *Frontiers in Oncology*, *15*, 1663523.

Yang, W., Oturan, N., Raffy, S., Zhou, M., & Oturan, M. A. (2020). Electrocatalytic generation of homogeneous and heterogeneous hydroxyl radicals for cold mineralization of anti-cancer drug Imatinib. *Chemical Engineering Journal*, *383*, 123155.

Yang, W., Zhou, M., Oturan, N., Li, Y., & Oturan, M. A. (2019). Electrocatalytic destruction of pharmaceutical imatinib by electro-Fenton process with graphene-based cathode. *Electrochimica Acta*, *305*, 285-294.

Yoder, M. W., Wright, N. T., & Borzok, M. A. (2023). Calpain Regulation and Dysregulation—Its Effects on the Intercalated Disk. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(14), 11726.

Zha, W., Hu, W., Ge, C., Chen, J., & Cao, Z. (2024). Zebrafish as a model system for studying reproductive diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *12*, 1481634.

Zhang, C., Xu, C., Gao, X., & Yao, Q. (2022b). Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, *12*(5), 2115.

Zhang, H., Feng, Y., Si, Y., Lu, C., Wang, J., Wang, S., ... & Li, X. (2024). Shank3 ameliorates neuronal injury after cerebral ischemia/reperfusion via inhibiting oxidative stress and inflammation. *Redox Biology*, *69*, 102983.

Zhang, X., Lee, W., & Bian, J. S. (2022a). Recent advances in the study of Na+/K+-ATPase in neurodegenerative diseases. *Cells*, *11*(24), 4075.

Zhang, Y. J., Lu, C. R., Cao, Y., Luo, Y., Bao, R. F., Yan, S., ... & Duan, L. N. (2012). Imatinib induces H2AX phosphorylation and apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells in vitro via caspase-3/Mst1 pathway. *Acta Pharmacologica Sinica*, *33*(4), 551-557.

Zhou, X., Yi, W., Zhi, Y., Yu, J., Lu, D., Luo, Z., ... & Xu, D. (2023). Stress-activated protein kinase JNK modulates depression-like behaviors in mice. *Molecular Neurobiology*, *60*(5), 2367-2378.