

Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana

Biomarkers for the evaluation of human health risks

Sandra S. Arango V.¹

¹ Magíster en biotecnología, bióloga, docente Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia. Correo electrónico: sandraarango@itm.edu.co

Recibido: 12 de Julio de 2011. Aprobado: 29 de enero de 2012.

Arango SS. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 2011; 30(1): 75-82

Resumen

En el campo de la salud humana, el desarrollo, validación y uso de biomarcadores como herramientas de información para la evaluación de factores de riesgos asociados a la exposición a agentes ambientales, se incrementa cada día por la necesidad de conocer acerca de los efectos adversos generados por los diferentes entornos laborales y estilos de vida. Un *biomarcador* es un evento que se produce en un sistema biológico y se interpreta como indicador del estado de salud, de la esperanza de vida o del riesgo de enfermedad. Suelen clasificarse en biomarcadores de: exposición, efecto y

de susceptibilidad. En esta revisión se plantea su importancia en la comprensión de diferentes aspectos de las enfermedades como: diagnóstico, tratamiento, prevención, progresión de la enfermedad, respuestas a la terapia, así como su aplicación en la evaluación experimental toxicológica para el desarrollo de medicamentos o pesticidas. Además de su contribución en el desarrollo de diferentes campos de estudio como: la toxicología, salud ocupacional y la carcinogénesis.

-----*Palabras clave:* biomarcadores, toxicología, salud ocupacional, carcinogénesis.

Abstract

In the field of human health, the development, validation, and use of biomarkers as information tools to assess risk factors associated with exposure to environmental agents increases daily. This is a result of the need to understand the adverse effects of the various work environments and lifestyles. A *biomarker* is an event that takes place in a biological system and is understood as an indicator of health status, life expectancy, or disease risk. Biomarkers usually fall within the following categories: exposure, effect, and susceptibility biomarkers. This

review will discuss their importance in understanding different aspects of diseases such as diagnosis, treatment, prevention, disease progression, response to therapy, and their application in toxicological experimental evaluation for the development of drugs or pesticides. Furthermore, their contribution to the development of different fields of study such as toxicology, occupational health, and carcinogenesis shall also be discussed.

-----*Keywords:* Biomarkers, occupational health, toxicology, carcinogenesis

Introducción

Diferentes tipos de enfermedades humanas se relacionan directamente con los estilos de vida, los cuales determinan la exposición a diversos agentes ambientales y constituyen un elemento determinante en la aparición y desarrollo de alteraciones en la salud como: carcinogénesis, teratogénesis, genotoxicidad, nefrotoxicidad, neurotoxicidad o inmunotoxicidad, entre otros. El riesgo de sufrir deterioro de la salud puede ser evaluado a través del uso de biomarcadores y se expresa como la probabilidad de que un efecto no deseado ocurra como resultado de una exposición [1]. Los biomarcadores son parámetros biológicos que proveen información sobre el estado normal o patológico de un individuo o una población, y son utilizados para la comprensión de diferentes enfermedades en variados aspectos como: el tratamiento, prevención, diagnóstico y progresión de la enfermedad, respuestas a la terapia, evaluación experimental toxicológica de medicamentos o pesticidas, medición de riesgo ambiental y epidemiológico, además de evaluación de la intervención terapéutica, entre otros [2]. El rápido crecimiento de la tecnología, validación y elucidación de procesos y procedimientos en biología molecular, química analítica, y bioinformática han aumentado la aplicación de biomarcadores moleculares en las investigaciones clínicas, toxicológicas y epidemiológicas, al ofrecer una poderosa y dinámica herramienta para la evaluación de riesgos en salud individual, pública y de los ambientes laborales [3-6].

Biomarcadores: definición, utilidad y clasificación

El término “biomarcador” se utiliza para medir una interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico, la cual es evaluada como una respuesta funcional o fisiológica, que ocurre a nivel celular o molecular y además está asociada con la probabilidad del desarrollo de una enfermedad. La interacción depende de las características heredadas y adquiridas del individuo (o del sistema biológico), y de las circunstancias de la exposición, y como resultado es posible no encontrar efecto o tener algún efecto adverso. Las consideraciones que deben tenerse en cuenta para la evaluación son: la dosis, la vía de contacto, la duración y frecuencia de exposición con el agente. La evaluación de una muestra biológica usando biomarcadores y su implicación en la aparición y desarrollo de una enfermedad es compleja; sin embargo, es de gran importancia establecer la relación entre la exposición y la enfermedad, para minimizar efectos adversos, ya que esta información permite establecer: un diagnóstico adecuado, una intervención preventiva efectiva, desarrollo y evaluación de tratamientos e identificación de indivi-

duos sensibles [7-10]. La selección de los biomarcadores a utilizar dependerá del conocimiento científico y la influencia de factores sociales, éticos y económicos [2, 11-13].

Antes de ser utilizado un marcador biológico en estudios de salud humana es fundamental su validación, por tanto, el proceso de selección y aprobación requiere una cuidadosa consideración de la especificidad, fiabilidad y sensibilidad de este como medida de riesgo, estableciéndose la exactitud, precisión, además de la garantía de la calidad del procedimiento analítico y la interpretación de datos de la medición, los cuales deben ser comparados con otras variables [7, 14-17]. Para su validación como biomarcador este debe cumplir con los siguientes componentes:

Identificación del riesgo: confirmar que el agente es capaz de causar un efecto adverso en el organismo, identificando claramente la condición clínica a evaluar. *Evaluación de dosis-respuesta:* establecer la relación cuantitativa entre la dosis y el efecto, estableciendo que este constituye un paso relacionado con la patofisiología de la enfermedad. *Evaluación de la exposición:* identificar y definir el tipo de exposición que se produce, o se prevé que se produce. El uso de biomarcadores debe estar enmarcado en una guía de principios que facilite su empleo en: la valoración clínica de rutina, la regulación, la adecuada evaluación, la cuantificación y la validación, teniendo en cuenta las consideraciones éticas necesarias [12, 16, 18, 19].

Los factores que requieren ser considerados en el proceso de selección y validación del biomarcador de acuerdo con los direccionamientos de WHO-ICPS, 1993 [17] son:

- 1) Identificación y definición del proceso biológico de interés;
- 2) estudios previos de la relación entre el agente de exposición, el biomarcador y el efecto a evaluar (estudios *in vitro*, en humanos y otros organismos);
- 3) identificación de la variable a cuantificar, para evaluar la sensibilidad y especificidad del marcador en relación con la exposición;
- 4) selección de exámenes disponibles para el análisis, confiabilidad de la integridad de la muestra entre la recolección y el análisis;
- 5) revisión de los procedimientos analíticos disponibles para la cuantificación del marcador y sus limitaciones con respecto a la detección, sensibilidad, precisión y exactitud;
- 6) estandarización de un protocolo que garantice un adecuado nivel de calidad y control;
- 7) evaluación de la variación intra e interindividual de una población no expuesta;

- 8) análisis de datos para establecer la relación dosis-efecto y dosis-respuesta y su variación teniendo en cuenta la susceptibilidad individual;
- 9) predicción del riesgo para la salud humana de la población en general o del subgrupo;
- 10) revisión de consideraciones éticas y sociales.

La caracterización del riesgo a través del uso de biomarcadores es la síntesis de la información cualitativa y cuantitativa que describe la estimación del efecto para la salud antes de la exposición, con la identificación de los daños y la evaluación de dosis-respuesta, teniendo en cuenta la información de los datos anteriores disponibles en: humanos, diferentes especies y en sistemas *in vitro*, cuando esto sea necesario [7, 12, 20].

Los biomarcadores se encuentran diferenciados en tres tipos: *Biomarcador de exposición*, el cual evalúa en un organismo la presencia de una sustancia exógena, un metabolito o el producto de la interacción entre el agente xenobiótico (compuestos naturales o sintéticos del ambiente que el organismo metaboliza y acumula) y una molécula o célula diana. *Biomarcador de Efecto*, que evalúa la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad. *Biomarcadores de Susceptibilidad*, es un indicador de la capacidad heredada o adquirida de un organismo para responder a la exposición a una sustancia xenobiótica. Las categorías pueden traslaparse en algunas ocasiones [11, 21]. En la Tabla 1 se presenta una lista de ejemplos de biomarcadores utilizados en la actualidad.

Tabla 1. Tipos de biomarcadores

Tipo	Biomarcador	Referencia
Exposición	Excreción de metabolitos en orina	Rodríguez E, García D, Carabias R. 2010 [22]
	Aductos de ADN	Shuker D. 2002 [23]
	Aductos de albúmina	Funk W, He L, Iavarone A, Williams E, Riby J, Rappaport S 2010 [24]
	Aductos de hemoglobina	Richter E, Branner B. 2002 [25]
Efecto	Recuento de eritrocitos, leucocitos y trombocitos	Shankar, A., Mitchell, P., Rochtchina, E., Wang, J.J., 2007 [26]
	Inhibición de enzimas del grupo HEMO	Maiese K, Chong Z, Hou J, an Shang Y 2010 [27]
	Niveles de proteínas en orina	Tambor V, Fuciková A, Lenco J, Kacerovský M, Reháček V, Stulík J, Pudil R 2010 [13]
	Marcadores de citotoxicidad	Lieggi N, A. Edvardsson A, O'Brien J. 2010 [28]
	Niveles de células necróticas	Greystokea A, Hughesa A, b, Ransona M, Divea C, Cummingsa J, Warda T. 2007 [29]
	Niveles de anticuerpos	Whiteaker J, Zhao L, Zhang H, Feng L, Piening L, Anderson L, et al. 2007 [30]
Susceptibilidad	Polimorfismo de enzimas	Anderson J, Hansen L, Moorenb F, Post M, Hugc H, Zuse A, Los M. 2006 [31]
	Polimorfismo de la glutation-transferasa	Norppa H. 2004 [32]
	Polimorfismo genético	Knudsen L, Loft S, Autrup H. 2001 [33]

Biomarcadores en toxicología humana

El uso de biomarcadores en la toxicología humana y ambiental tiene como principales objetivos medir la exposición a los agentes xenobióticos que producen enfermedades y predecir la respuesta tóxica que podría ocurrir, esto ha permitido el aumento de la exigencia de: requerimientos en la regulación para el desarrollo de medicamentos, pesticidas y otros compuestos que pueden producir efectos adversos en la salud humana, ade-

más de mayores acciones en salud ocupacional. Estudios de toxicidad a corto y largo plazo se realizan en sistemas *in vitro* y animales de experimentación para demostrar la asociación de diferentes sustancias con la aparición y desarrollo de procesos de mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis, con el fin de promover acciones para la protección de la salud humana.

La base para medir el riesgo es igual al daño potencial por la exposición y depende de la cuantificación del

efecto toxicológico y de la expresión de la toxicidad formulada en términos de: LD_{50} , LC_{50} (dosis o concentración letal para el 50% de los individuos), EC_{50} , ED_{50} (dosis o concentración de efecto sobre el 50% de los individuos), MATC (máximo aceptable de concentración del tóxico), LOEL (nivel más bajo de efecto observable), LOEC (nivel más bajo de concentración de efecto observable), NOEL, NOEC (nivel y concentración de efecto no observable). Entre los biomarcadores más usados para medir toxicidad y contaminantes encontramos: expresión y actividad de la enzima glutatión-S-transferasa, actividad de la enzima acetilcolinesterasa, cuantificación de proteínas de estrés, síntesis de metalotioneínas, daño en ADN, aductos de ADN, peroxidación lipídica, expresión y actividad del citocromo P450, entre otros. Por ejemplo, el incremento en la actividad de las enzimas fosfatasa-alcalina y alanina-aminotransferasa en humanos está asociada directamente con daño en el hígado [34-40].

En la toxicología humana los biomarcadores proveen herramientas adicionales para el manejo clínico de los pacientes y evitar el daño causado por los tratamientos, ya que se han identificado serios problemas inducidos por el uso de los medicamentos (ADES). La administración de drogas y alimentos en Estados Unidos realizó un estudio en el periodo comprendido desde 1998 a 2005 y reportó un aumento anual en ADES y muertes a causa de las prescripciones médicas [41]. Algunos marcadores biológicos pueden identificar daños incipientes por toxicidad a nivel preclínico y clínico, además de permitir establecer la variación en los procesos de toxicidad y enfermedad que ocurre entre los diferentes individuos, lo cual facilita la elección del tratamiento, y cuando existe la identificación de una predisposición genética del individuo es posible controlar la exposición y controlar la aparición de efectos secundarios [35, 42]. La rasburicase es una sustancia química utilizada en el tratamiento de individuos con neoplasia hematológica, los pacientes que presentan deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa, pueden desarrollar hemólisis severa, esta insuficiencia es común en personas con herencia mediterránea o africana, por lo cual la evaluación de la enzima es altamente recomendable en esta población antes del aplicar el tratamiento [43].

Para el desarrollo de medicamentos se han identificado y validado diferentes biomarcadores como herramienta para su clasificación, detección de sensibilidad, determinación de mecanismos de sensibilidad, construcción de la relación dosis-respuesta, formulación del plan de intervención y el establecimiento del nivel en el cual no se encuentran efectos adversos (NOAEL). Esto permite estratificar las pacientes de acuerdo con la aparición de efectos secundarios relacionados con la terapia química,

esta caracterización es fundamental para el desarrollo, comercialización y uso de un medicamento [19, 39].

En relación con los tóxicos en el ambiente (como pesticidas y efluentes de la industria, entre otros), la evaluación del riesgo se basa en la comparación de los datos de toxicidad obtenidos en laboratorio con la exposición esperada en campo, por lo cual medir el efecto que el químico produce es complejo. Los biomarcadores en ecotoxicología son medidos en especies centinelas (aves, peces, invertebrados, en general en diferentes grupos de organismos) y es necesario realizarlo siguiendo todos los protocolos éticos de investigación. Para elucidar la acción de un tóxico ambiental es necesario el desarrollo de investigaciones multidisciplinarias para lograr el monitoreo y evaluación del riesgo generado por un contaminante, además debe estudiarse diferentes tipos de biomarcadores tendientes a evaluar el efecto temprano, la exposición y susceptibilidad [34, 36].

Existe una gran cantidad de técnicas químicas y biológicas que permiten medir la exposición de los individuos a sustancias que producen daño a nivel genético (genotóxicos). En diferentes tipos de muestras (sangre, heces, orina u otros tipos de tejidos) es posible evaluar la presencia del tóxico específico o de un metabolito para establecer la exposición crónica o aguda. La medición directa se realiza a través de la determinación de aductos de proteínas y aductos de ADN (complejos de químicos carcinógenos unidos a proteínas o DNA), la forma indirecta de valuar el efecto genotóxico se realiza a través del estudio de mutaciones, cambios cromosomales, integridad genética, aparición de proteínas anormales, inhibición enzimática, etc. [13, 34, 40, 44].

Biomarcadores en salud ocupacional

El objetivo de los estudios epidemiológicos es identificar y evaluar los factores de riesgo asociados a las enfermedades, ellos son la base para adquisición de nuevo conocimiento respecto a: la elucidación de los mecanismos patológicos, clasificación etiológica de los ambientes y en el reconocimiento temprano de efectos adversos generados por las condiciones de los ambientes, por consiguiente pueden ser utilizados para evidenciar exposición laboral e impacto ambiental en comunidades al clasificar y cuantificar la exposición relacionada con los ambientes de trabajo. Para lograr una evaluación confiable a partir de estos estudios es indispensable conocer: 1) La fuente de exposición y la absorción, distribución, metabolización y excreción del químico en los individuos; 2) el tiempo de exposición y la relación con la concentración interna; 3) el estilo de vida y la susceptibilidad de los individuos; 4) los tipos de sustancias presentes en el ambiente que puedan producir efectos

similares a la estudiada. A partir de la información obtenida es posible: identificar nuevos riesgos y grupos de trabajadores con posibilidad de padecer enfermedades ocupacionales, establecer políticas y programas prevención de control [45].

Los biomarcadores han contribuido de forma significativa al desarrollo de políticas en salud ocupacional, ya que son una herramienta complementaria en los estudios de epidemiología ambiental a partir de los cuales se desarrollan los programas de vigilancia. Los principales aportes de estos incluyen: 1) la utilización de monitoreo biológico como herramienta válida en la práctica de evaluación de seguridad y salud ocupacional (OSH) [46]; 2) identificación de los cambios biológicos producidos por la exposición a bajas concentraciones de diferentes materiales [47]; 3) comprensión de los mecanismos de acción de diferentes sustancias químicas que ofrecen riesgo ocupacional [48]; 4) diferenciación entre la exposición ocupacional y no ocupacional; 5) estimación de anteriores exposiciones; 6) evaluación de la eficiencia del equipo y medidas de protección, entre otros. Toda esta información adquirida es de gran importancia para el desarrollo de políticas institucionales y sectoriales, que permiten la creación de guías y definición de estándares para el monitoreo y valoración de niveles seguros de exposición para la salud de los trabajadores [46].

Los biomarcadores de exposición son la base para la elaboración de las guías de biomonitorización, con el uso de ellos es posible la determinación de: índices de exposición biológica (BEIS®) y los valores biológicos de tolerancia (BAT) estipulados en estándares de diferentes organizaciones internacionales y gobiernos [49, 50]. ACGIH (Defining the Science of Occupational and Environmental Health) ha establecido BEIS para 100 químicos incluyendo pesticidas e hidrocarburos poliaromáticos (PAHS), a modo de ejemplo se recomienda un valor límite de concentración en el aire de 0,5 mg/m³ de material particulado inhalable (como fracción soluble en benceno). Este dato corresponde al valor umbral límite (TLV), que es la concentración a la que los trabajadores pueden estar expuestos sin presentar efectos adversos a la salud durante su vida laboral (8 horas diarias, cuarenta horas semanales, durante 40 años), en Alemania se han establecido los BATS por DFG (German Research Foundation), un ejemplo lo representa los valores de plomo en muestras de sangre, para lo cual se recomendó como límite 30µg/100ml para mujeres y 70µg/100ml para hombres. El monitoreo biológico es un medida efectiva en los programas de salud ocupacional utilizada en compañías en las cuales los trabajadores se encuentran expuestos a factores que son potencialmente perjudiciales a la salud y, por tanto, este control se les exige en sus

programas de prevención y manejo en salud ocupacional [45, 51, 52].

Biomarcadores en carcinogénesis

La carcinogénesis humana es una enfermedad compleja en la cual ocurre: expresión alterada de genes, crecimiento celular anormal, desbalance entre la división y la muerte celular, produce invasión tumoral y metástasis a otros tejidos con disrupción del funcionamiento normal de los órganos afectados. El cáncer es el resultado de un proceso multifactorial de agentes exógenos (ambiente) y endógenos (características génicas y celulares del individuo), en el cual los factores ambientales determinan más del 50% del riesgo de padecerlo, y su desarrollo puede ocurrir por diversos mecanismos. La identificación de la relación de factores ambientales y genéticos cancerígenos puede ser determinada a través del estudio de biomarcadores. Los químicos cancerígenos pueden dividirse en dos grupos, los que se denominan cancerígenos genotóxicos cuando su mecanismo de acción daña directamente al ADN y los epigenéticos o no genotóxicos cuando no existe una interacción directa con el material génico [53, 55].

Las sustancias cancerígenas se pueden definir como químicos o sus metabolitos que causan daños irreversibles en los procesos fisiológicos de una célula normal, su acción pueden ser directa o requerir la activación por medio de transformación metabólica, el equilibrio entre los procesos de activación y de desintoxicación por medio de sistemas enzimáticos regula la tasa de formación de complejos de metabolitos carcinógenos unidos con macromoléculas celulares (aductos de proteínas y aductos de DNA). Las concentraciones de carcinógenos o sus metabolitos capaces de interactuar con macromoléculas celulares y pueden ser evaluados en tejidos o fluidos biológicos y representan el riesgo potencial del desarrollo de la enfermedad, razón por la cual son considerados biomarcadores cancerígenos, así como también los procesos biológicos como: metabolismo de xenobióticos, reparación del ADN, proliferación celular, apoptosis o respuesta inmune [55, 57].

Técnicas físico-químicas o inmunoquímicas de alta sensibilidad han sido desarrolladas para la detección de concentraciones de carcinógenos en sangre u orina tales como: arsénico, cadmio, cromo, níquel, benceno, moca, bifenilos policlorados, estireno, tetracloroetileno se relacionan con cáncer y se utilizan como marcadores biológicos de exposición [58]. Como ejemplo, se ha observado una relación positiva entre la excreción acumulada de arsénico en orina y el riesgo de cáncer de pulmón [59, 60, 61]. Otro ejemplo de biomarcadores de

susceptibilidad es la presencia en muestras biológicas de nitritos, nitratos y agentes nitrosantes, que pueden ser sintetizados de forma endógena en los individuos por reacciones realizadas por bacterias en diferentes sitios del cuerpo, las cuales están asociadas con el aumento del riesgo de padecer cáncer de estómago, esófago y vejiga en humanos [62].

Es fundamental la selección de marcadores apropiados, la validación de un solo biomarcador para ser utilizado en la predicción de esta enfermedad requiere un largo periodo de estudio, que debe involucrar el aporte de diferentes laboratorios y debe cumplir con tres pasos: a) Desarrollo y estandarización de protocolos que tengan en cuenta la adquisición, almacenamiento y tiempo de manejo de la muestra. b) Determinación de la metodología teniendo en cuenta la demografía, estilo de vida, y variables genéticas que influyen las medidas. c) Evaluación de casos control y estudios prospectivos de sensibilidad y especificidad del biomarcador para predecir el riesgo general y particular de padecer cáncer [57].

Tainsky presenta una revisión sobre diferentes indicadores biológicos y bioquímicos que pueden ser usados para evaluar la presencia de cáncer, y la progresión y monitoreo de los tratamientos, estos marcadores pueden ser detectables en sangre y en diferentes tipos de fluidos y tejidos del cuerpo [63]. Los analitos estudiados como biomarcadores de cáncer se encuentran agrupados en tres grandes áreas generales: ácidos nucleídos, proteínas y metabolitos. Para el estudio de la expresión de genes se utilizan técnicas como “Microarrays”, RTP-PCR, análisis de “Northern blot”, secuenciación de ADN, identificación de metilaciones en el ADN. La identificación de proteínas asociadas a los procesos cancerígenos se realiza a través de inmunoensayos, electroforesis de dos dimensiones, espectrofotometría de masas, identificación de modificaciones pos traduccionales de histonas y estudios con anticuerpos. En el caso de los metabolitos, que son moléculas pequeñas producidas en los procesos metabólicos normales y anormales de la célula, se utilizan diferentes técnicas para la separación de estas moléculas, entre las cuales encontramos: cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta definición, electroforesis capilar, espectroscopia de masas y espectroscopia de resonancia magnética nuclear. El desarrollo de la tecnología a nivel de proteómica, genómica y metabólica ha permitido una mayor detección de biomarcadores para estados tempranos de cáncer, y en pacientes asintomáticos, lo cual facilita ofrecer al paciente mejores condiciones de calidad de vida y reduce en muchos casos los índices de morbilidad y mortalidad por esta enfermedad [64, 65].

Conclusiones

La utilidad del uso de biomarcadores como elementos de evaluación de riesgos de afectación de la salud, cada día toma mayor importancia ya que permiten adquisición de mucha información acerca de diferentes tipos de enfermedades, identificación de factores de riesgo para la salud de los individuos y las poblaciones, selección medicamentos, evaluación de la progresión de las enfermedades y su tratamiento, el desarrollo de políticas en salud ocupacional y ambiental, entre otros. El desarrollo tecnológico posibilita que los biomarcadores implementados sean cada vez más específicos y son fundamentales en el desarrollo de las diferentes disciplinas biomédicas, que permiten la elaboración de las estrategias y políticas para mejorar las condiciones de vida de los pacientes y de las personas en general, al generar información que permite realizar correctivos para disminuir la mortalidad y morbilidad de los individuos.

Agradecimientos

El autor agradece al Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM- Institución Universitaria adscrita a la Alcaldía de Medellín), por su importante apoyo para el desarrollo del proyecto.

Referencias

- 1 Ilizaliturri C, González D, Pelallo N, Domínguez G, Mejía J, Torres A, *et al.* Revisión de las metodologías sobre evaluación de riesgos en salud para el estudio de comunidades vulnerables en América Latina. *Interciencia*. 2009; 34(10): 710-717.
- 2 Lock EA, Bonventre JV. Biomarkers in translation; past, present and future. *Toxicology* 2008; 245(3): 163-166.
- 3 Llynin A, Belkowski S, Plata C. Biomarkers discovery and validation: technologies and integrative approaches. *TRENDS in Biotechnology*. 2004; 8(4): 411-416
- 4 Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *The journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2004; 2(1): 182-188
- 5 Schulte PA. The contributions of genetic and genomic to occupational safety and health. *Occup. Environ. Med.* 2007; 64(1): 717-718.
- 6 Poste G. Bring on the biomarkers. *Nature*. 2011; 469(1): 156-157
- 7 Albertini RJ. Biomarker responses in human populations: towards a worldwide map. *Mutat. Res.* 1999; 428(1-2): 217-226.
- 8 Vainio H. Review: Use of biomarkers in risk assessment. *Int J Hyg Environ Health*. 2001; 204(2-3): 91-102.
- 9 Van den Brand P, Voorrips L, Hertz I, Shuker D, Boeing H, Speijers G, *et al.* The contribution of epidemiology. *Food Chem. Toxicol.* 2002; 40(1): 387-424.
- 10 Schulte PA, Hauser JE. The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. *Toxicology Letters*. 2011 Mar.

- 11 Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, *et al.* Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Therap.* 2000; 69(1): 89-95.
- 12 Owen R, Depledge M, Hagger J, Jones M, Galloway T. Biomarkers and environmental risk assessment: guiding principles from the human health field. *Marine Pollution Bulletin.* 2008; 56(1): 613-619.
- 13 Tambor V, Fucíková A, Lenco J, Kacerovský M, Reháček V, Stulík J, *et al.* Application of proteomics in biomarker discovery: a primer for the clinician. *Physiol Res.* 2010; 59(4): 471-497.
- 14 Department of Health and Human Services, U.S. Food and Drug Administration. The Critical Path Initiative: Transforming the Way FDA-Regulated Products are Developed, Evaluated, Manufactured, and Used 2009. Washington DC: FDA; 2009.
- 15 Goodsaid FM, Frueh FW. Questions and answers about the pilot process for biomarkers qualification at the FDA. *Drug Discovery Today: Technologies.* 2007; 4(1): 9-11.
- 16 Bonassi S, Au WW. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutation Research.* 2002; 511(1): 73-86.
- 17 World Health Organization. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles Environmental health criteria; N° 1551 CPS 1993 [internet]. Geneva: WHO/PCS; 1993 [acceso 15 de junio de 2010]. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm>
- 18 Lee JW, Devanarayan V, Barrett YC, Weiner R, Allinson J, Fountain S, *et al.* Fit-for-purpose method development and validation for successful biomarker measurement. *Pharm. Res.* 2006; 23(2): 312-328.
- 19 Goodsaid FM, Frueh FW, Mattes W. "Strategic paths for biomarker qualification". *Toxicology.* 2008; 245(3): 219-223.
- 20 Schulte P. Opportunities for the development and use of biomarkers. *Toxicol Lett.* 1995; 77(1-3): 25-29.
- 21 Knudsen LE, Hansen AM. Biomarkers of intermediate endpoints in environmental and occupational health. *Int J Hyg Environ Health.* 2007; 210(3-4): 461-470.
- 22 Rodríguez E, García D, Carabias R. Development and validation of a method for the detection and confirmation of biomarkers of exposure in human urine by means of restricted access material-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 2010; 1217(1): 40-48.
- 23 Shuker D. The enemy at the gates? DNA adducts as biomarkers of exposure to exogenous and endogenous genotoxic agents. *Toxicology Letters.* 2002; 134: 51-56.
- 24 Funk WE, He L, Iavarone AT, Williams ER, Riby J, Rappaport SM. Biochemistry Enrichment of cysteinyl adducts of human serum albumin. *Analytical Biochemistry.* 2010; 400(1): 61-68.
- 25 Richter E, Branner B. Biomonitoring of exposure to aromatic amines: haemoglobin adducts in humans. *Journal of Chromatography B.* 2002; 778(1-2): 49-62.
- 26 Shankar A, Mitchell P, Rochtchina E, Wang J. The association between circulating white blood cell count, triglyceride level and cardiovascular and all cause mortality: population-based cohort study. *Atherosclerosis.* 2007; 192(1): 177-183.
- 27 Maiese K, Chong Z, Hou J, Shang Y. Oxidative stress: Biomarkers and novel therapeutic pathways. *Experimental Gerontology.* 2010; 45(3): 217-234.
- 28 Lieggi NT, Edvardsson A, O'Brien PJ. Translation of novel anti-cancer cytotoxicity biomarkers detected with high content analysis from an in vitro predictive model to an in vivo cell model. *Veterinary Science Toxicology in Vitro.* 2010; 24(8): 2063-2071.
- 29 Greystokea A, Hughesa A, Ransona M, Divea C, Cummingsa J, Warda T. Serum biomarkers of apoptosis. *European Journal of Cancer Supplements.* 2007; 5(5): 115-127.
- 30 Whiteaker JR, Zhao L, Zhang HY, Feng L, Piening BD, Anderson L, *et al.* Antibody-based enrichment of peptides on magnetic beads for mass-spectrometry-based quantification of serum biomarkers. *AnalyticalBiochemistry.* 2007; 362(1): 44-54.
- 31 Anderson JE, Hansen LL, Mooren FC, Post M, Hug H, Zuse A, Los M. Methods and biomarkers for the diagnosis and prognosis of cancer and other diseases: Towards personalized medicine. *Drug Resistance.* 2006; 9(4-5): 198-210.
- 32 Norppa H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicology Letters.* 2004; 149(1-3): 309-334.
- 33 Knudsen LE, Loft SH, Autrup H. Risk assessment: the importance of genetic polymorphisms in man. *Mutation Research.* 2001; 482(1-2): 83-88.
- 34 Timbrell JA. Biomarker in toxicology. *Toxicology.* 1998; 129(1-7): 1-12.
- 35 Gil F. El papel de los biomarcadores en Toxicología humana. *Revista de Toxicología.* 2000; 17(1): 19-26.
- 36 Eason C, O'Halloran K. Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. *Toxicology.* 2002; 181-182: 517-521.
- 37 Vasseur P, Cossu C. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environ. Int.* 2003; 28(8): 711-717.
- 38 Grandjen S, Bonassi S. Linking toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies-special issue overview. *Mutat. Res.* 2005; 592(1): 3-5.
- 39 Bakhtiar R. Biomarkers in drug discovery and development. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.* 2008; (57)2: 85-91.
- 40 Swenberg JA, Fryar E, Jeong Y, Boysen G, Starr T, Walker VE, Albertini RJ. Biomarkers in Toxicology and Risk Assessment: Informing Critical Dose-Response Relationships. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21(1): 253-265.
- 41 Moore TJ, Cohen MR, Furger CD. Serious adverse drug events reported to the Food and Drug Administration, 1998-2005. *Arch. Intern. Med.* 2007; 167(16): 1752-1759.
- 42 Mendrick DL. Genomic and genetic biomarkers of toxicity. *Toxicology.* 2008; 245(3): 175-181.
- 43 Beals JK. "FDA Releases List of Genomic Biomarkers Predictive of Drug Interactions" [internet]. New York: Medscape Medical News; 2008. [acceso 12 de Julio de 2010]. Disponible en: <http://www.medscape.com/viewarticle/578464>.
- 44 Mateuca R, Lombaert N, Aka P, Decordier I, Kirsch M. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie.* 2006; 88(1): 1515-1531.
- 45 Smolders R, Bartonova A, Boogaard PJ, Dusinska M, Koppen G, Merlo F, *et al.* The use of biomarkers for risk assessment: reporting from the INTARESE/ENVIRISK Workshop in Prague. *International journal of hygiene and environmental health.* 2010; 213(5): 395-400.
- 46 Manno M, Viau C, Cocker J, Colosio C, Lowrye L, Muttif A, Nordberg M, Wanh S. Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). *Toxicol Lett.* 2010; 192: 3-16.
- 47 Shvedova A, Kisin ER, Mercer R, Murray AR, Johnson VJ, Potapovich A, *et al.* Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol.* 2005; 289(5): L698-708.

- 48 Schulte P, Howard J. Genetic Susceptibility and the Setting of Occupational Health Standards. *Annu. Rev. Public Health.* 2011; 32(1): 149-159.
- 49 American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Annual Reports of the Committee on TLVs and BEIS for the year 2009. Cincinnati: ACGIH; 2010.
- 50 German Research Foundation. List of MAK and BAT Values: Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace. California: DFG; 2009.
- 51 Occupational Safety and Health Administration. Blood Lead Laboratories Program Descriptions and Background. Salt Lake Technical Center (SLCT). U.S Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. Washington D.C: OSHA; 2005.
- 52 National Institute for Occupational Safety and Health preventing occupational. NIOSH List of Antineoplastic and Other Hazardous Drugs in Healthcare settings 2010. Cincinnati: NIOSH; 2010.
- 53 Plant N. Can systems toxicology identify common biomarker of non-genotoxic carcinogenesis? *Toxicology.* 2008; 254(3): 164-169.
- 54 Vineis P. Use of biomarkers in epidemiology: the example of metabolic susceptibility to cancer. *Toxicol Lett.* 1995; 77(1-3): 163-168.
- 55 Kyrtopoulos SA. Biomarkers in environmental carcinogenesis research: Striving for a new momentum. *Toxicology Lett.* 2006; 162(1): 3-15.
- 56 Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, *et al.* IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res.* 2000; 463(1): 111-172.
- 57 Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology.* 2002; 181-182: 411-416.
- 58 Hick AS, Paczkowski M, Gadano AB, Carballo MA. Biomarcadores de Genotoxicidad en Individuos Expuestos al Arsénico. *Lat. Am. J. Pharm.* 2007; 26(5): 691-699.
- 59 Jimeno A, Hidalgo M. Molecular biomarkers: their increasing role in the diagnosis, characterization, and therapy guidance in pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5(4): 787-796.
- 60 Hsueh YM, Cheng GS, Wu M, Yu HS, Kuo TL, Chen CJ. Multiple risk factors associated with arsenic-induced skin cancer: effects of chronic liver disease and malnutritional status. *Br J Cancer.* 1995; 71(1): 109-114.
- 61 Dopp E, Hartmann L, Florea A, Recklinghausen V, Pieper R, Shokouhi B, *et al.* Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004; 201(2): 156-165.
- 62 Trossero C, Caffarena G, Hure E, Rizzotto M. Detección de Mutagenicidad en Compuestos N-Nitrosocon el Test de Ames *Acta Farm. Bonaerense.* 2006; 25(1): 139-144.
- 63 Tainsky MA. Genomic and proteomic biomarkers for cancer: a multitude of opportunities. *Biochim Biophys Acta* 2009 (2):176-193.
- 64 Kuramitsu Y, Nakamura K. Proteomic analysis of cancer tissues: shedding light on carcinogenesis and possible biomarkers. *Proteomics* 2006; 6:5650-5661.
- 65 Narayan A, Mathur R, Farooque A, Verma A, Dwarakanath B.S. Cancer biomarkers - current perspectives. *The Indian journal of medical research* 2010; 132: 129-149.