

**BIOMARCADORES en Toxicología y Ecotoxicología.**  
Definición de biomarcador. Biomarcadores de efecto, exposición y susceptibilidad.

*Antonio Juan García Fernández. Catedrático de Toxicología.  
Dpto. Ciencias Sociosanitarias. Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Murcia*

A.J. García Fernández e I. Navas

1

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN**

UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

**Importancia del estudio del mecanismo  
de acción**

- 1. Proponer un tratamiento adecuado en casos de intoxicación.**
- 2. Estudiar el desarrollo y uso de un antídoto.**
- 3. Aplicar pruebas diagnósticas.**
- 4. Comprender las alteraciones producidas a nivel bioquímico.**

A.J. García Fernández e I. Navas

2

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

Mecanismos de acción

Inespecíficos      Específicos

**Acción sobre estructura celular**

- Destrucción total de la célula
- Alteración de membrana celular
- Alteración de organelas

**Acción sobre la función celular**

- Modificaciones en permeabilidad
- Modificaciones enzimáticas: inducción, activación, inhibición.
- Modificaciones en reproducción celular: genotoxicidad, mutagénesis, carcinog., teratogénesis

A.J. García Fernández e I. Navas 3

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

• **Efecto Aditivo**



Consecuencia que sigue a la exposición a dos o más agentes físico-químicos que actúan conjuntamente pero no interactúan. El efecto total es la suma de los efectos de la exposición aislada a cada agente.

• **Potenciación**



Un agente a una dosis a la que no produce efecto adverso aumenta el riesgo de otra sustancia o agente

A.J. García Fernández e I. Navas 4

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

- **Sinergismo**  


Interacción farmacológico o toxicológica en la cual el efecto biológico combinado de dos o más sustancias es mayor que el efecto esperado de la suma de toxicidades de cada uno por separado.
- **Antagonismo**  


Efecto combinado de dos o más factores que es menor que el efecto de cada uno de esos factores por separado.

A.J. García Fernández e I. Navas 5

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN. ECOTOXICOLOGÍA**



UNIVERSIDAD DE MURCIA



A.J. García Fernández e I. Navas 6

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN. ECOTOXICOLOGÍA**

UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

- *La base para determinar los efectos de contaminantes en el ecosistema está en el nivel de organismo*
- *En nivel de organismo, las respuestas pueden ser:*
  - *Toxicidad Aguda*  *mortalidad*
  - *Daño acumulativo crónico*  *muerte*
  - *Daños subletales fisiológicos y morfológicos*
  - *Efectos subletales en comportamiento*
  - *Cambios bioquímicos medibles*

A.J. García Fernández e I. Navas

7

**BIOMARCADORES**  
**INTRODUCCIÓN. ECOTOXICOLOGÍA**

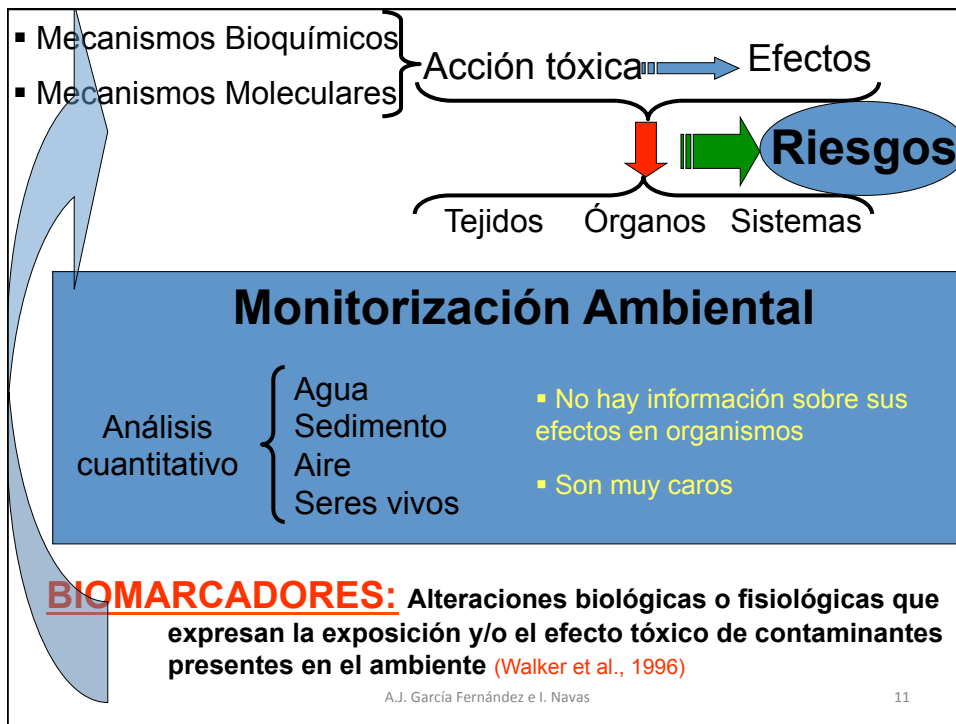
UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

- *En el nivel de población, las respuestas pueden ser:*
  - *Tamaño y dinámica poblacional (tasa de nacimiento, tasa de mortalidad, patrones migratorios, etc)*
  - *Reducciones o incrementos en los flujos naturales de biomasa, ratio de sexos, etc.*
- *En el nivel de comunidad, las respuestas pueden ser:*
  - *Diversidad de especies*
  - *Relaciones predador-presa, etc*

A.J. García Fernández e I. Navas

8





**BIOMARCADORES**  
DEFINICIONES

UNIVERSIDAD DE MURCIA

La presencia de un xenobiótico en un fluido biológico y/o las alteraciones inducidas por el mismo sobre los componentes celulares o bioquímicos o sobre procesos, estructuras o funciones en un organismo vivo, que son cuantificables en un sistema biológico o muestra (ENTOX/TIWET, 1996)

Señales fisiológicas inducidas por un xenobiótico que reflejan una exposición, una respuesta celular precoz, o una susceptibilidad inherente o adquirida, proporcionando una estrategia para la resolución de estos problemas (Silbergeld y Davis, 1994)

Alteraciones biológicas o fisiológicas que expresan la exposición y/o el efecto tóxico de contaminantes presentes en el ambiente (Walker et al., 1996)

A.J. García Fernández e I. Navas 12

**BIOMARCADORES**  
**REQUISITOS**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

a) La recolección de la muestra y su análisis debe ser fácil;  
b) Debe ser específico para un tipo particular de exposición;  
c) Debe reflejar únicamente un cambio subclínico y reversible;  
d) Debe permitir adoptar medidas preventivas;  
e) Debe ser éticamente aceptable.

Alta especificidad		Baja especificidad
Inhibición AChE (OPs y carbamatos) Inhibición d-ALAD (Pb)	Inducción de MTs (Cd, Zn, As, etc)	Aductos de ADN Marcadores de respuesta inmune

COMPLEMENTARIEDAD

↓

↑ ESPECIFICIDAD

Gil y Pla (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas 13

**BIOMARCADORES**  
**ESPECIFICIDAD**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

**Biomarcadores en orden decreciente de especificidad a xenobióticos**

BIOMARCADOR	XENOBIÓTICO
Inhibición de ALAD	Plomo
Inhibición de AChE	Organofosforados y carbamatos
Inducción de MTs	Metales (cadmio, mercurio, arsénico, ...)
Índice de cáscara	DDT, DDE
Porfirina	Organoclorados
Respuesta inmune	Metales, Ocs y PAHs
Aductos de DNA y hemoglobina	PAHs, nitrosaminas, aminas aromáticas quimioterápicos

A.J. García Fernández e I. Navas Gil y Pla (2001) 14

**BIOMARCADORES**  
**TIPOS**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

**BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN**

Permite medir la dosis interna mediante análisis químico de la sustancia tóxica o su/s metabolito/s en fluidos corporales o excretas, tales como la sangre, la orina o el aire exhalado. En los últimos años han tomado relevancia otras muestras de obtención no cruenta como las plumas, pelos, etc.

**BIOMARCADORES DE EFECTO (RESPUESTA)**

Es indicativo de cambios bioquímicos en un organismo como resultado de la exposición a xenobióticos.

**BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD**

Indicadores de sensibilidad de los individuos al efecto de un xenobiótico o grupo de compuestos tóxicos. Suelen resultar en cambios bioquímicos que se relacionan directamente con el grado de exposición a un xenobiótico.

A.J. García Fernández e I. Navas 15

**BIOMARCADORES**  
**DE EXPOSICIÓN**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

**BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN**

**SELECTIVOS:** Medida directa del tóxico/metabolitos en fluidos (Ej. Plomo en sangre)

**NO SELECTIVOS:** Indicadores inespecíficos (Ej. tioéteres en orina indican exposición a sustancias electrófilas)

**ASPECTOS RELEVANTES A CONSIDERAR:**

- EL ANÁLISIS DEL TÓXICO Y SUS METABOLITOS
- LA TOXICOCINÉTICA DEL COMPUESTO Y SUS METABOLITOS

Gil y Plá (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas 16



## BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN

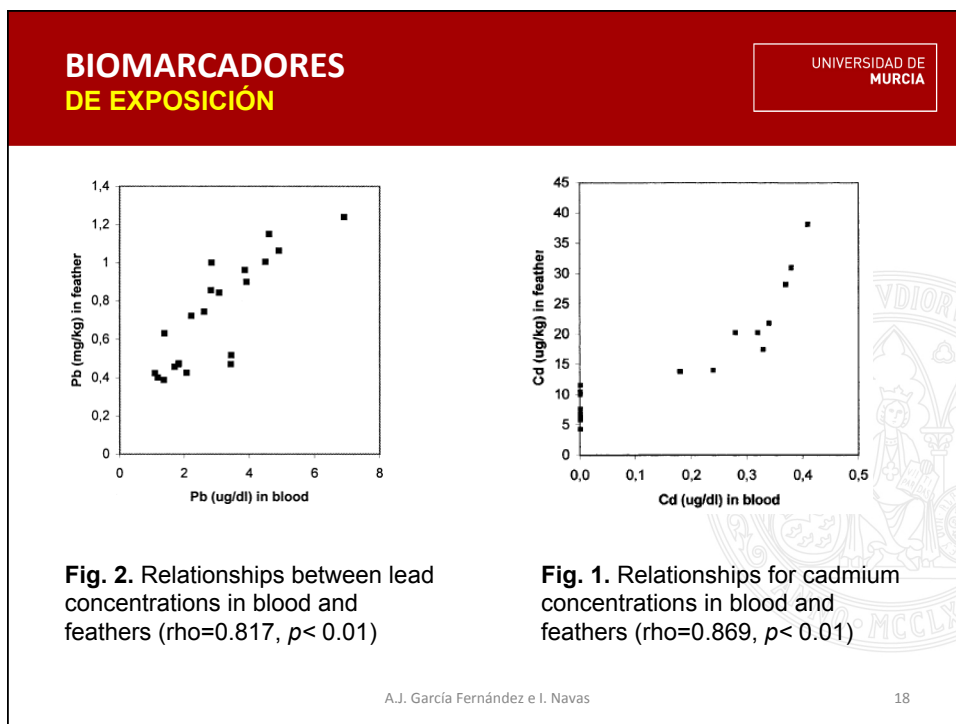
UNIVERSIDAD DE MURCIA

Table 2—Examples of selective exposure biomarkers

I. Inorganic compounds			
Cadmium	Cd	Urine	-2 µg g <sup>-1</sup> creatinine
	Cd	Blood	-0.5 µg 100 ml <sup>-1</sup>
Mercury	Hg	Urine	-5 µg g <sup>-1</sup> creatinine
	Hg	Blood	-1 µg 100 ml <sup>-1</sup>
Lead	Pb	Blood	-30 µg 100 ml <sup>-1</sup>
	Pb	Urine	-50 µg g <sup>-1</sup> creatinine
	Pb (after 1 g EDTA)	Urine	-600 µg 24 h <sup>-1</sup>
Zinc	Zn	Urine	-0.7 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	Zn	Serum	-15 µg l <sup>-1</sup>
II. Organic compounds			
<i>n</i> -Hexane	2-Hexanol	Urine	0.2 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	2,5-Hexanodione	Urine	2 mg g <sup>-1</sup> creatinine
Benzene	Phenol	Urine	-20 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	Benzene	Blood	-5 µg 100 ml <sup>-1</sup>
	Benzene	Exhaled air	-0.022 ppm
Styrene	Mandelic acid	Urine	1 g g <sup>-1</sup> creatinine
	Phenylglyoxilic acid	Urine	350 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	Styrene	Blood	0.055 mg 100 ml <sup>-1</sup>
	Styrene	Exhaled air	18 ppm
Aniline	Aniline	Urine	0.75 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	<i>p</i> -Aminophenol	Urine	10 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	Methaemoglobin	Blood	-2%
Ethylene glycol	Oxalic acid	Urine	-50 mg g <sup>-1</sup> creatinine
M- <i>n</i> -butylacetone	2,5-Hexanodione	Urine	4 mg g <sup>-1</sup> creatinine
Acetone	Acetone	Urine	-2 mg g <sup>-1</sup> creatinine
	Acetone	Blood	-0.2 mg 100 ml <sup>-1</sup>

Gil y Plá (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas 17



**BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

## BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD

DE POLIMORFISMOS DE SISTEMAS ACTIVADORES

Medida de actividad de los enzimas del citocromo P-450

DE POLIMORFISMOS DE SISTEMAS DETOXIFICADORES

Medida de actividad de enzimas

- Glutación-S-transferasa
- Acetiltransferasa
- Sulfotransferasa
- Glucuroniltransferasa
- Paraoxonasa

Gil y Plá (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas 19

**BIOMARCADORES DE EFECTO O DE RESPUESTA**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

## BIOMARCADORES DE EFECTO (RESPUESTA)

- Modificaciones en la composición celular sanguínea
- Alteraciones en actividades enzimáticas
- Aparición de aductos del ADN
- Incrementos localizados de ARN-m
- Aumento de determinadas proteínas
- Aparición de anticuerpos específicos (autoanticuerpos) contra un xenobiótico o frente a fracciones celulares (núcleo, membranas, etc.)

**EL BIOMARCADOR DE EFECTO IDEAL:**

- Fácil de detectar
- Capaz de mostrar efectos adversos antes de que sean irreversibles.

Gil y Plá (2001) 20

A.J. García Fernández e I. Navas

**BIOMARCADORES DE EFECTO O DE RESPUESTA**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

- **Sistema respiratorio**
- **Sistema sanguíneo** ( $\delta$ -ALAD  $\rightarrow$  Pb)
- **Sistema nervioso** (AChE  $\rightarrow$  OPs y carbamatos)
- **Biomarcadores urinarios:**
  - HMWP\*-albúmina y LMWP\*-retinol unida  $\rightarrow$  daño renal
  - NAG (N-acetil-D-glucosminidasa) (enz. lisosómica  $\rightarrow$  nefrotoxicidad)
- **Sistema inmune** (dioxinas, PCBs, inmunoterápicos, ....)
- **Biomarcadores del daño al DNA** (mutagénesis, formación de aductos, rotura del DNA, aumento de la tasa de reparación del DNA, aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, etc).
- **CONTINUARÁ.....**

\*High/Low molecular weight microtubule-associated proteins

Gil y Pla (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas

21

**BIOMARCADORES DE EFECTO O DE RESPUESTA**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

- **Biomarcadores de expresión génica**
  - Sobreexpresión de proteínas (DIF. CUANTITATIVA)
  - Expresión de una forma mutante de la proteína (DIF. CUALITATIVA)
- **Biomarcadores de daño oxidativo:** Generación de radicales libres
  - PAHs, pesticidas OCs, metales pesados (Cd, Pb, Hg), oligoelementos (Se), solventes industriales, etc.
  - Respuestas adaptativas o mecanismos compensadores del sistema antioxidante celular, modificación de macromoléculas y daño tisular.
  - Glutación oxidado/reducido, enzimas del ciclo del GSH, SOD, catalasa, ascorbato y alfa-tocoferol.
- **CONTINUA .....**

Gil y Pla (2001)


A.J. García Fernández e I. Navas

22

UNIVERSIDAD DE MURCIA

## BIOMARCADORES DE EFECTO O DE RESPUESTA

- **Metalotioneínas:** inducidas por Cd, Cu, Hg, Zn, Co, Bi, Ni y Ag.  
**Desventaja:** inducida también por tóxicos no metálicos (glucocorticoides) y situaciones fisiológicas (cambios nutricionales y gestación)
- **Adelgazamiento del grosor de la cáscara del huevo**
- **Biomarcadores de rodenticidas anticoagulantes (Vitamina K)**



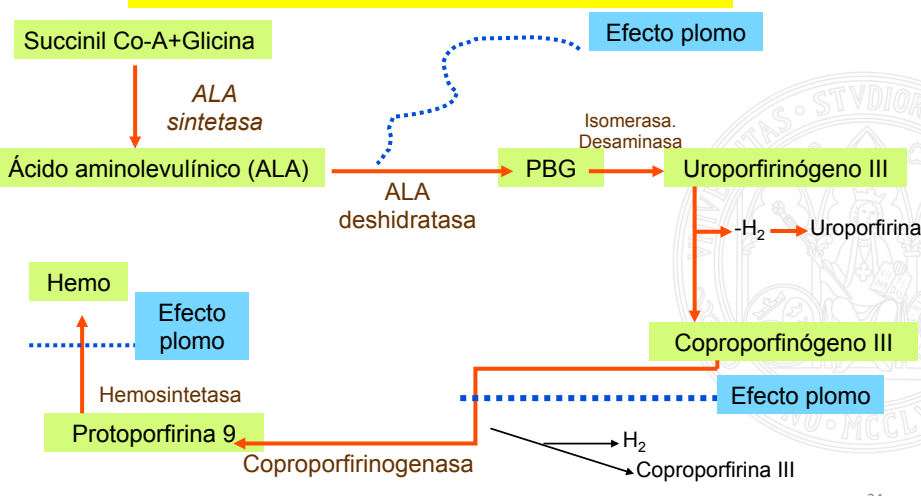
Gil y Pla (2001)

A.J. García Fernández e I. Navas
23

UNIVERSIDAD DE MURCIA

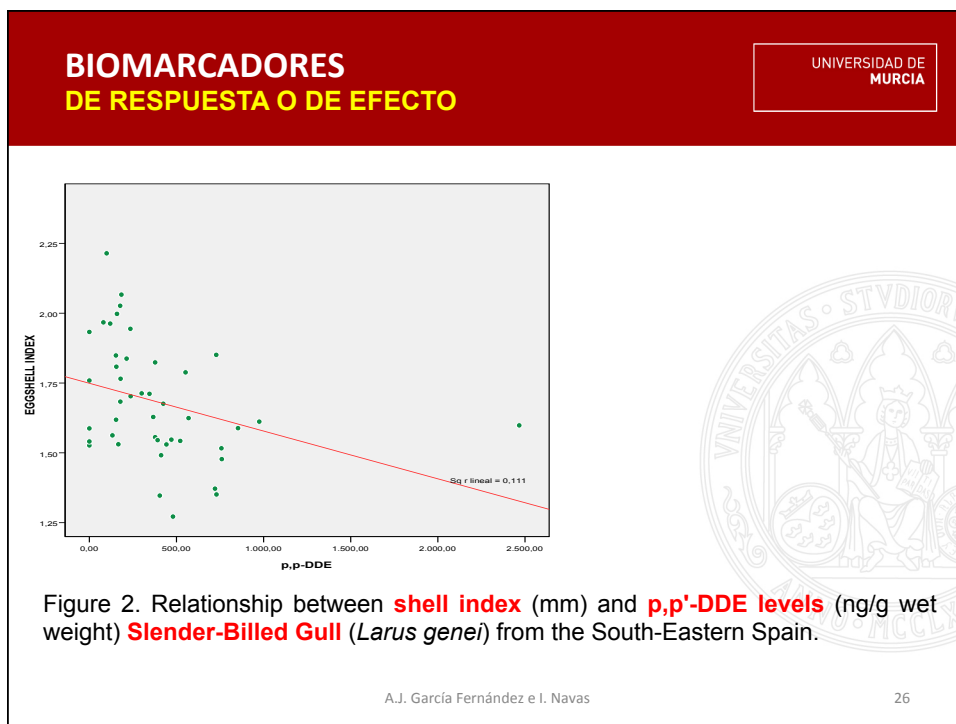
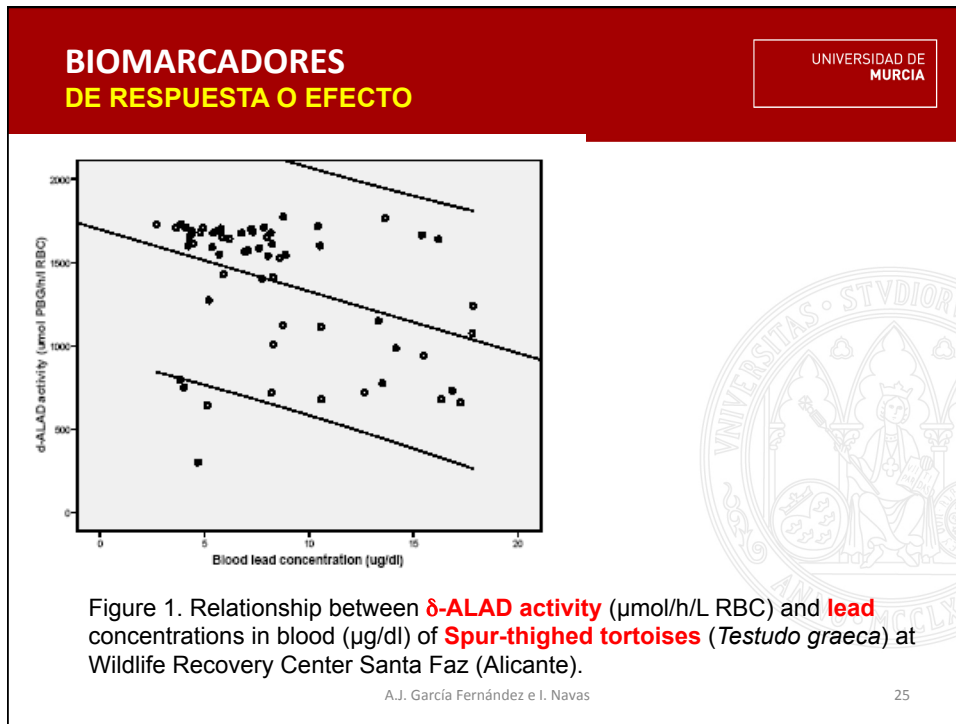
## BIOMARCADORES DE RESPUESTA O EFECTO

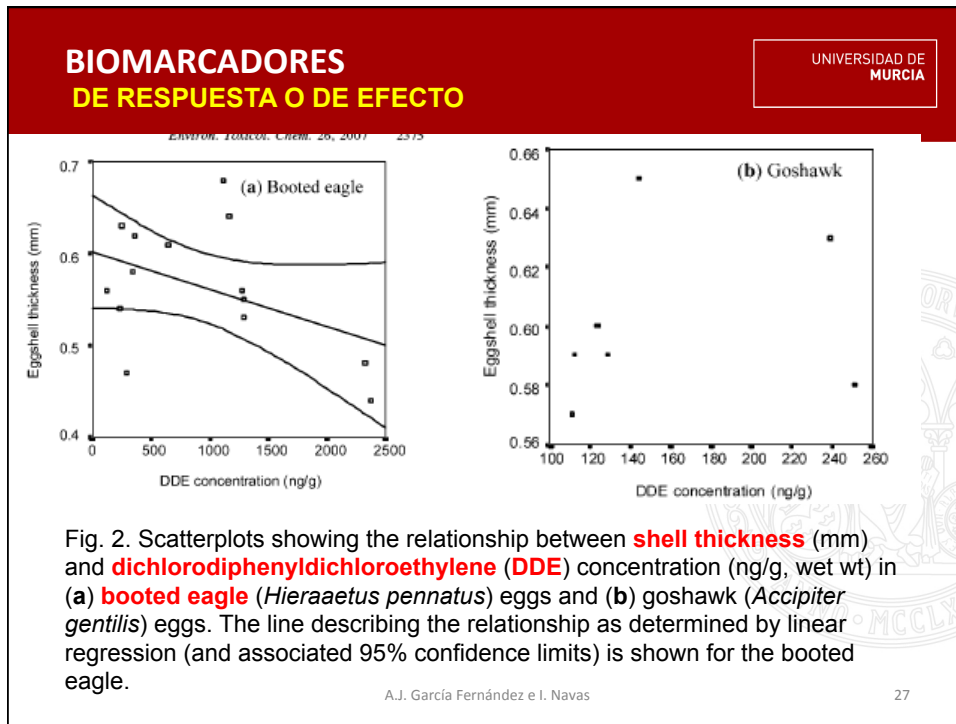
**INHIBICIÓN DE LA  $\delta$ -ALAD**



A.J. García Fernández e I. Navas

24





**BIOMARCADORES DE RESPUESTA O DE EFECTO**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

Table 1  
Examples of toxicity tests used for human health and environmental risk assessments

(1) Human health	(2) Environmental risk
(i) Genotoxicity (Ames test etc.)	<i>Terrestrial toxicology</i>
(ii) Acute toxicity	(i) Invertebrates
–oral, dermal, inhalation	–earthworm mortality, growth, fecundity
–eye irritation	–collembola acute and chronic toxicity
–skin irritation	(ii) Beneficial insects
–dermal sensitization	–honey bee contact test
(iii) Metabolism and toxicokinetics	(iii) Birds
(iv) Subchronic and chronic multidose studies	–acute toxicity
(v) Reproductive and developmental studies	–multidose toxicity
(vi) Carcinogenicity—lifetime studies	(iv) Plants
(vii) Mechanistic studies and comparative toxicokinetics (area under the curve versus mg/kg) and metabolism to improve predictability	–seedling emergence and growth tests
	<i>Aquatic toxicology</i>
	(v) Invertebrate acute and chronic tests
	(vi) Algae acute toxicity
	(vii) Fish—static, pulse, flow through tests

Eason y O'Halloran (2002)

A.J. García Fernández e I. Navas 28

**BIOMARCADORES DE RESPUESTA O DE EFECTO**

UNIVERSIDAD DE MURCIA

Table 3  
Biomarkers of environmental impacts

Contaminant type	Mechanism of toxicity	Examples of adverse ecological consequences	Biomarkers
Organochlorine pesticide DDT	Ca <sup>++</sup> transport interference	Eggshell thinning and breaking decline in raptor populations	Eggshell thickness <sup>a</sup>
Organotin compounds TBT	Endocrine disruption in female gastropods 'imposex'	Sterility and reproductive failure decline in gastropod populations	Incidence of imposex in gastropods <sup>b</sup>
Persistent organic pollutants e.g. PCB	Suppression of immune system	Increased morbidity and mortality in seals due to viral infections	Functional immune assays <sup>c</sup>
Organophosphate pesticides, e.g. monocrotophos	Inhibition of cholinesterase leads to a disruption of nervous system function	Asphyxiation and death in non-target avian populations	Cholinesterase enzyme activity <sup>d</sup>
Anticoagulant rodenticide	Inhibition of vitamin K epoxide reductase	Haemorrhage and death of protected indigenous non-target species	Increased clotting time and haemorrhage <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Peakall (1993).  
<sup>b</sup> Gibbs and Bryan (1986).  
<sup>c</sup> de Swart et al. (1994).  
<sup>d</sup> Scollon et al. (2000).  
<sup>e</sup> Eason and Murphy (2001).

Eason y O'Halloran (2002)