HACIA LOS BIOMARCADORES ELEMENTALES: ANÁLISIS DE VESÍCULAS EXTRACELULARES MEDIANTE ICP-MS

Laura Angulo-García[1], Cristina Fornaguera[2], Ariadna Verdaguer[1]

[1]Departamento de Química Analítica y Aplicada, School of Engineering, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, 08017-Barcelona, Barcelona, España. E-mail: laura.angulo@iqs.url.edu

[2]Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, 08017-Barcelona, Barcelona, España

Abstract

Las vesículas extracelulares (VEs) han emergido como una fuente prometedora de biomarcadores dada su capacidad para reflejar el estado fisiológico de su célula de origen. Mientras que la caracterización de las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que contienen las VEs ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, su contenido elemental permanece todavía inexplorado. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido desarrollar una metodología analítica basada en espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para el estudio de elementos traza en VEs urinarias. Este artículo presenta los fundamentos de esta línea de investigación y revisa los principales retos encontrados en el desarrollo de metodologías aplicadas al análisis elemental de VEs urinarias, incluyendo aspectos relacionados con la preparación de muestra, el control de contaminaciones, las interferencias instrumentales y la falta de estandarización.

1. Introducción

Las vesículas extracelulares (VEs) son nanopartículas liberadas de forma natural por prácticamente todos los tipos celulares del organismo humano y de cualquier tipo de ser vivo [1]. Durante años fueron consideradas meros productos del metabolismo celular, pero actualmente tienen un papel reconocido como mediadoras en la comunicación entre células y tejidos. En este contexto, su capacidad para transportar proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y otros componentes biológicos ha despertado un enorme interés en campos tan diversos como la oncología [2–4], la neurología [5] y las enfermedades cardiovasculares [6] o la medicina personalizada [7].

Tradicionalmente, la investigación en VEs se ha centrado principalmente en el análisis de proteínas, ARN y lípidos. Sin embargo, en los últimos años ha surgido un interés creciente por explorar nuevas dimensiones de información biológica presentes en estas estructuras. Una de ellas es la metalómica, la disciplina dedicada al estudio de los elementos químicos y de su papel en los sistemas vivos. Uno de los campos de estudio en metalómica es el papel de los elementos traza en el cuerpo humano, los cuales desempeñan funciones esenciales en numerosos procesos biológicos. Por ejemplo, elementos como hierro, cobre, zinc, manganeso o magnesio participan en mecanismos de señalización celular, reacciones enzimáticas, la regulación del estrés oxidativo y el mantenimiento de la homeostasis celular [8,9]. Por el contrario, elementos tóxicos como cadmio, mercurio o plomo pueden alterar dichos procesos y contribuir al desarrollo de diferentes patologías [10,11]. Como consecuencia, la determinación de elementos químicos en muestras biológicas constituye actualmente una herramienta de gran interés en investigación biomédica y estudios de exposición.

A pesar de ello, la mayoría de los estudios metalómicos realizados hasta la fecha se han basado en el análisis de fluidos biológicos completos, como sangre u orina [12,13]. Aunque estos enfoques han demostrado una gran utilidad, la composición de dichas matrices puede verse influenciada por múltiples factores externos, incluyendo la alimentación, la exposición ambiental, el estado de hidratación o los ritmos fisiológicos diarios [13–15]. Esta elevada variabilidad puede dificultar la identificación de señales biológicas específicas.

En este contexto, las VEs representan una alternativa prometedora: al derivarse directamente de las células y estar protegidas por una membrana lipídica, ofrecen información biológica potencialmente menos susceptible a interferencias externas. Por ello, el análisis elemental de estas estructuras podría aportar una nueva capa de información complementaria a los estudios ya establecidos. Con el objetivo de avanzar en esta dirección, este estudio se centra en el desarrollo de metodologías analíticas capaces de caracterizar el contenido elemental de las VEs procedentes de matriz urinaria (uVEs) (Fig. 1). En particular, se emplea espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), una de las técnicas más potentes disponibles para la determinación multielemental a nivel de trazas.

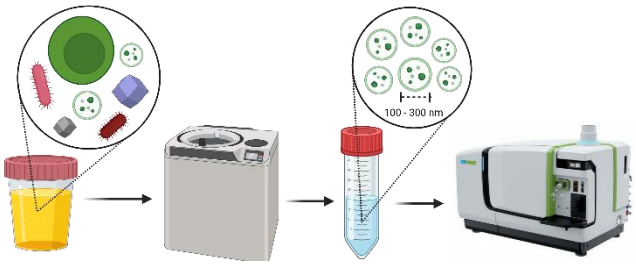


Fig. 1. Flujo de trabajo desarrollado en este estudio.

2. Retos analíticos asociados al estudio elemental de las vesículas extracelulares urinarias

Las uVEs constituyen una matriz especialmente atractiva para la búsqueda de biomarcadores, pero su estudio desde una perspectiva metalómica plantea desafíos analíticos (Fig. 2) que pueden impedir obtener datos fiables y reproducibles. En primer lugar, las VEs son estructuras de tamaño nanométrico [1] y están presentes en cantidades relativamente reducidas en los fluidos biológicos en comparación con otras posibles especies objeto de estudio. Como consecuencia, muchos de los elementos de interés se encuentran a concentraciones extremadamente bajas, lo que exige el empleo de técnicas instrumentales de elevada sensibilidad.

Por otra parte, la propia matriz urinaria supone una fuente potencial de interferencias. Aunque las uVEs son aisladas previamente al análisis mediante centrifugación de alta velocidad según un protocolo previamente publicado [16], su obtención parte de una muestra biológica compleja que contiene sales, metabolitos y otros compuestos capaces de afectar a las etapas posteriores de preparación de muestra y determinación instrumental [17]. Este aspecto resulta muy relevante en espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), dado que esta técnica es particularmente sensible a matrices con elevado contenido salino. Durante el desarrollo metodológico fue necesario optimizar distintas etapas de preparación de muestra para alcanzar compromisos adecuados entre limpieza de la matriz y recuperación de VEs; entre los principales desafíos se encontró la eliminación de la mayor cantidad posible de orina residual tras el proceso de aislamiento sin comprometer la recuperación de las vesículas, así como la optimización de las etapas de digestión ácida y posterior dilución de las muestras. En este último caso, fue necesario encontrar un equilibrio entre reducir suficientemente la concentración de ácido nítrico para garantizar la correcta introducción de la muestra en el ICP-MS y evitar una dilución excesiva que pudiera dificultar la detección de elementos presentes a niveles muy bajos. A estas dificultades se suman las interferencias espectrales, características en ICP-MS. Determinados elementos presentan señales que pueden verse afectadas por especies poliatómicas generadas tanto en el plasma como a partir de componentes presentes en la propia matriz biológica [18]. Particularmente, en muestras de origen urinario, la elevada presencia de carbono, sodio o calcio favorece la formación de especies interferentes capaces de solaparse con las señales de determinados elementos traza, dificultando su correcta cuantificación [18]. Por ello, la correcta optimización de las condiciones instrumentales y de los modos de análisis constituye un aspecto clave para garantizar la fiabilidad de las medidas.

Por otra parte, el análisis elemental a concentraciones de trazas obligó a prestar especial atención a las posibles contaminaciones ambientales durante la preparación de la muestra, ya que se comprobó que pequeñas contribuciones procedentes de reactivos, material de laboratorio o del propio entorno pueden afectar significativamente a las medidas. Elementos ubicuos como el aluminio, el hierro o el zinc pueden proceder de recipientes, puntas de pipeta, reactivos o incluso del ambiente del laboratorio [19,20]. Por este motivo, el control de blancos y la aplicación de protocolos específicos de limpieza resultaron aspectos fundamentales dentro del proceso analítico.

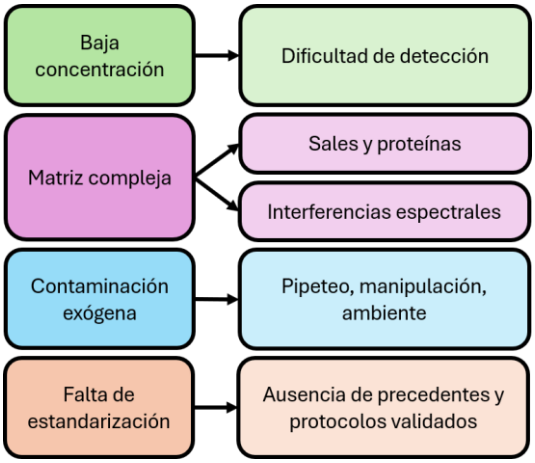


Fig. 2. Principales retos analíticos asociados al estudio de elementos a niveles de traza en vesículas extracelulares urinarias mediante ICP-MS.

A estos retos técnicos se añade la ausencia de metodologías estandarizadas para estudios metalómicos en vesículas extracelulares. Aunque guías como MISEV2023 [1] establecen recomendaciones para su aislamiento y caracterización, todavía no existen criterios ampliamente aceptados para su análisis elemental. Esta situación refuerza la necesidad de desarrollar y validar nuevas metodologías analíticas.

3. Desarrollo de una nueva metodología para el estudio de uVEs

Este trabajo se ha centrado en el desarrollo y validación de una metodología basada en ICP-MS para la caracterización elemental de vesículas extracelulares urinarias (uVEs). El objetivo principal fue establecer un procedimiento analítico que permitiera estudiar simultáneamente diferentes elementos químicos presentes en estas estructuras, incorporando controles de calidad y criterios de validación adecuados para este tipo de matriz biológica. La elección de la orina como fluido de estudio responde a varias ventajas prácticas y biomédicas: se trata de una muestra de obtención sencilla, no invasiva y disponible en grandes volúmenes, lo que facilita su utilización en estudios poblacionales. Además, las VEs presentes en la orina contienen información procedente tanto del tracto urinario como de otros tejidos del organismo [17,21], lo que las convierte en una fuente particularmente interesante para la búsqueda de biomarcadores.

Como punto de partida, fue necesario establecer un procedimiento reproducible para el aislamiento de las uVEs. Para ello se empleó una estrategia de centrifugación diferencial previamente descrita por nuestro grupo de investigación [16], adaptada a los requerimientos específicos del análisis elemental. Una vez aisladas las vesículas, se diseñó un protocolo de preparación de muestra orientado a minimizar contaminaciones externas y reducir la influencia de la matriz biológica, dos aspectos que resultaron ser los principales obstáculos al trabajar con uVEs.

A fin de seleccionar las condiciones más adecuadas para la determinación simultánea de los múltiples elementos estudiados, se llevó a cabo un proceso de optimización instrumental en ICP-MS para estudiar individualmente el comportamiento de cada analito y las posibles interferencias espectrales asociadas. Para aquellos elementos susceptibles de sufrir interferencias espectrales, se exploraron diferentes estrategias basadas en el empleo de gases de colisión y reacción. Una vez seleccionado el gas óptimo para realizar el análisis de cada elemento, se optimizó el caudal del flujo de cada gas. Dado que el objetivo era el análisis simultáneo de todos los analitos estudiados usando el mismo método, pero las condiciones óptimas para un determinado elemento no siempre coincidían con las más adecuadas para otros analitos, el desarrollo metodológico requirió establecer compromisos en aspectos como la selección de gases, los caudales de trabajo y los modos de adquisición empleados. Este enfoque estuvo condicionado, además, por el reducido volumen de muestra disponible en cada análisis. La utilización de condiciones instrumentales específicas para cada analito habría supuesto un aumento significativo del tiempo de análisis y del consumo de muestra, ya que cada modificación de los parámetros instrumentales requiere un periodo de estabilización antes de poder realizar nuevas determinaciones. Por ello, fue necesario definir unas condiciones de trabajo comunes que permitieran mantener un equilibrio adecuado entre rendimiento analítico, tiempo de análisis y disponibilidad de muestra.

4. Validación de la metodología desarrollada

La metodología desarrollada se validó siguiendo criterios habitualmente empleados en el ámbito bioanalítico [22–24]. Para ello se evaluaron parámetros relacionados con la linealidad, los límites de detección y cuantificación, la exactitud y la precisión de las determinaciones, considerando no únicamente la medida instrumental por ICP-MS, sino el procedimiento analítico completo, desde el aislamiento de las uVEs hasta la obtención del resultado final. Los criterios de aceptación establecidos para cada uno de ellos se resumen en la Tabla 1. Como resultado de este proceso, la metodología demostró ser adecuada para la determinación simultánea de múltiples elementos en uVEs, cumpliendo los criterios de aceptación establecidos para un total de 17 elementos comúnmente estudiados en paneles de biopsias líquidas para las patologías más investigadas [25–29].

Tabla 1. Fórmulas de cálculo y criterios de aceptación para cada parámetro analítico evaluado.

Parámetro	Cálculo	Aceptación
Linealidad	Ajuste a curva de calibración	$r \geq 0{,}999$
Límite de detección	6 réplicas del blanco, 3.3·SD	No aplicable
Límite de cuantificación	6 réplicas del blanco, 10·SD	No aplicable
Exactitud	Recuperación en muestra adicionada a tres niveles	70-130 %
Precisión	Repetibilidad y precisión intermedia	RSD ≤ 20%

5. Conclusiones

La aplicación de aproximaciones metalómicas al estudio de vesículas extracelulares constituye un campo emergente con gran potencial analítico y biomédico. Sin embargo, la obtención de información elemental fiable requiere superar numerosos desafíos relacionados con la preparación de muestra, el control de contaminaciones y la optimización instrumental.

En este contexto, el presente trabajo permitió desarrollar y validar una metodología ICP-MS para la determinación simultánea de 17 elementos en vesículas extracelulares urinarias. Esta herramienta proporciona una base sólida para futuros estudios centrados en la caracterización elemental de VEs y en la exploración de nuevos biomarcadores basados en información metalómica.

Agradecimientos

Las autoras agradecen la financiación recibida de AGAUR-Generalitat de Catalunya a través de los proyectos 2021 SGR 00537 y 2021 SGR 00528, concedidos a CF y AV, respectivamente. Asimismo, CF agradece el apoyo del *Departament de Recerca i Universitats* de la *Generalitat de Catalunya* en el marco del programa ICREA Acadèmia 2024, así como la financiación de los proyectos PID2024-159704OB-I00, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033, FEDER «Una manera de hacer Europa» y el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), y PCI2025-163237, financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y cofinanciado por la Unión Europea. AV agradece el apoyo del proyecto 2024-URL-Proj-032, financiado por la Universitat Ramon Llull. LAG agradece la ayuda predoctoral FPU24/02291, concedida por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Referencias

[1] J.A. Welsh, D.C.I. Goberdhan, L. O'Driscoll, E.I. Buzas, C. Blenkiron, B. Bussolati, H. Cai, D. Di Vizio, T.A.P. Driedonks, U. Erdbrügger, J.M. Falcon-Perez, Q. Fu, A.F. Hill, M. Lenassi, S.K. Lim, M.G. Mahoney, S. Mohanty, A. Möller, R. Nieuwland, T. Ochiya, S. Sahoo, A.C. Torrecilhas, L. Zheng, A. Zijlstra, S. Abuelreich, R. Bagabas, P. Bergese, E.M. Bridges, M. Brucale, D. Burger, R.P. Carney, E. Cocucci, R. Crescitelli, E. Hanser, A.L. Harris, N.J. Haughey, A. Hendrix, A.R. Ivanov, T. Jovanovic-Talisman, N.A. Kruh-Garcia, V. Ku'ulei-Lyn Faustino, D. Kyburz, C. Lässer, K.M. Lennon, J. Lötvall, A.L. Maddox, E.S. Martens-Uzunova, R.R. Mizenko, L.A. Newman, A. Ridolfi, E. Rohde, T. Rojalin, A. Rowland, A. Saftics, U.S. Sandau, J.A. Saugstad, F. Shekari, S. Swift, D. Ter-Ovanesyan, J.P. Tosar, Z. Useckaite, F. Valle, Z. Varga, E. van der Pol, M.J.C. van Herwijnen, M.H.M. Wauben, A.M. Wehman, S. Williams, A. Zendrini, A.J. Zimmerman, C. Théry, K.W. Witwer, Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches, J. Extracell. Vesicles 13 (2024). https://doi.org/10.1002/jev2.12404.

[2] M.A. Kumar, S.K. Baba, H.Q. Sadida, S.Al. Marzooqi, J. Jerobin, F.H. Altemani, N. Algehainy, M.A. Alanazi, A.-B. Abou-Samra, R. Kumar, A.S. Al-Shabeeb Akil, M.A. Macha, R. Mir, A.A. Bhat, Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases, Signal Transduct. Target. Ther. 9 (2024) 27. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01735-1.

[3] B. Wu, X. Yang, Y. Cai, S. Wan, J. Liu, J. Xing, X. Chen, J. Zhang, Y. Jin, A. Yu, L. Yang, Proteomic profiling of single extracellular vesicles as a promising new approach for the diagnosis and treatment modality of advanced ovarian cancer, NPJ Precis. Oncol. 10 (2026) 65. https://doi.org/10.1038/s41698-026-01271-x.

[4] X. Wang, L. Zhang, L. Cheng, Y. Wang, M. Li, J. Yu, Z. Ma, P.C.-L. Ho, G. Sethi, X. Chen, L. Wang, B.-C. Goh, Extracellular vesicle-derived biomarkers in prostate cancer care: Opportunities and challenges, Cancer Lett. 601 (2024) 217184. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.217184.

[5] A.F. Hill, Extracellular Vesicles and Neurodegenerative Diseases, The Journal of Neuroscience 39 (2019) 9269–9273. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0147-18.2019.

[6] W. Chen, X. Zhu, S. Yu, H. Ma, Extracellular Vesicles in Cardiovascular Diseases: Signaling, Biomarker, and Therapy, J. Cardiovasc. Transl. Res. 18 (2025) 1614–1631. https://doi.org/10.1007/s12265-025-10706-y.

[7] D.J. Beetler, D.N. Di Florio, K.A. Bruno, T. Ikezu, K.L. March, L.T. Cooper, J. Wolfram, D. Fairweather, Extracellular vesicles as personalized medicine, Mol. Aspects Med. 91 (2023) 101155. https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101155.

[8] C. Andreini, I. Bertini, G. Cavallaro, G.L. Holliday, J.M. Thornton, Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles, JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry 13 (2008) 1205–1218. https://doi.org/10.1007/s00775-008-0404-5.

[9] X. Wang, P. An, Z. Gu, Y. Luo, J. Luo, Mitochondrial Metal Ion Transport in Cell Metabolism and Disease, Int. J. Mol. Sci. 22 (2021) 7525. https://doi.org/10.3390/ijms22147525.

[10] K. Jomova, S.Y. Alomar, E. Nepovimova, K. Kuca, M. Valko, Heavy metals: toxicity and human health effects, Arch. Toxicol. 99 (2025) 153–209. https://doi.org/10.1007/s00204-024-03903-2.

[11] M. Balali-Mood, K. Naseri, Z. Tahergorabi, M.R. Khazdair, M. Sadeghi, Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic, Front. Pharmacol. 12 (2021). https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972.

[12] R. Alturkmani, D. Gonzalez, W. Katrangi, B-171 Evaluation of an ICP-MS Method for Simultaneous Quantification of Essential Trace Elements and Toxic Heavy Metals in Whole Blood, Plasma, and Packed Red Blood Cells, Clin. Chem. 71 (2025). https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf086.564.

[13] L. Barregard, D.G. Ellingsen, B. Berlinger, S. Weinbruch, F. Harari, G. Sallsten, Normal variability of 22 elements in 24-hour urine samples – Results from a biobank from healthy non-smoking adults, Int. J. Hyg. Environ. Health 233 (2021) 113693. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113693.

[14] R. E. T. Moore, M. Rehkämper, K. Kreissig, S. Strekopytov, F. Larner, Determination of major and trace element variability in healthy human urine by ICP-QMS and specific gravity normalisation, RSC Adv. 8 (2018) 38022–38035. https://doi.org/10.1039/C8RA06794E.

[15] B. Aslan, A. Carobene, N. Jonker, K. Galior, B. Boned, F. Marqués-García, C. Ricós, W. Bartlett, A. Coskun, J. Diaz-Garzon, P. Fernández-Calle, E. Gonzalez-Lao, M. Simon, S. Sandberg, A.K. Aarsand, Systematic review and meta-analysis of biological variation data of urine albumin, albumin to creatinine ratio and other markers in urine, Clinica Chimica Acta 566 (2025) 120032. https://doi.org/10.1016/j.cca.2024.120032.

[16] M. Guarro, F. Suñer, M. Lecina, S. Borrós, C. Fornaguera, Efficient extracellular vesicles freeze-dry method for direct formulations preparation and use, Colloids Surf. B Biointerfaces 218 (2022) 112745. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112745.

[17] U. Erdbrügger, C.J. Blijdorp, I. V. Bijnsdorp, F.E. Borràs, D. Burger, B. Bussolati, J.B. Byrd, A. Clayton, J.W. Dear, J.M. Falcón-Pérez, C. Grange, A.F. Hill, H. Holthöfer, E.J. Hoorn, G. Jenster, C.R. Jimenez, K. Junker, J. Klein, M.A. Knepper, E.H. Koritzinsky, J.M. Luther, M. Lenassi, J. Leivo, I. Mertens, L. Musante, E. Oeyen, M. Puhka, M.E. van Royen, C. Sánchez, C. Soekmadji, V. Thongboonkerd, V. van Steijn, G. Verhaegh, J.P. Webber, K. Witwer, P.S.T. Yuen, L. Zheng, A. Llorente, E.S. Martens-Uzunova, Urinary extracellular vesicles: A position paper by the Urine Task Force of the International Society for Extracellular Vesicles, J. Extracell. Vesicles 10 (2021). https://doi.org/10.1002/jev2.12093.

[18] Robert. Thomas, Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners, 2nd ed., CRC Press, 2008.

[19] J.K. Friel, C. Mercer, W.L. Andrews, B.R. Simmons, S.E. Jackson, Laboratory gloves as a source of trace element contamination, Biol. Trace Elem. Res. 54 (1996) 135–142. https://doi.org/10.1007/BF02786260.

[20] P. Atkins, L. Ernyei, V. Sivakumar, R. Obenauf, A Common Sense Laboratory Guide to Reducing Errors and Contamination in ICP and ICP-MS Analysis, Spectroscopy Supplements (2010). https://www.spectroscopyonline.com/view/common-sense-laboratory-guide-reducing-errors-and-contamination-icp-and-icp-ms-analysis (accessed September 2, 2026).

[21] G. Cricrì, L. Bellucci, G. Montini, F. Collino, Urinary Extracellular Vesicles: Uncovering the Basis of the Pathological Processes in Kidney-Related Diseases, Int. J. Mol. Sci. 22 (2021) 6507. https://doi.org/10.3390/ijms22126507.

[22] European Medicines Agency (EMA), ICH Q2(R2): Validation of Analytical Procedures, in: J. Ermer, P. Nethercote (Eds.), Method Validation in Pharmaceutical Analysis, Wiley, 2025: pp. 351–372. https://doi.org/10.1002/9783527831708.ch13.

[23] F. Vazvaei-Smith, E. Wickremsinhe, E. Woolf, C. Yu, ICH M10 Bioanalytical Method Validation Guideline-1 year Later, AAPS J. 26 (2024) 103. https://doi.org/10.1208/s12248-024-00974-y.

[24] Consolidated text: Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 of 22 March 2021 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC (Text with EEA relevance), Official Journal of the European Union L (2026) 84–109. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/808/oj (accessed September 2, 2026).

[25] G. Zhang, F. Zhang, W. Liu, C. Liu, J. You, M. Tian, T. Cao, J. Jiang, Z. Yang, H. Wu, W. Wu, A simple, rapid method for simultaneous determination of multiple elements in serum by using an ICP-MS equipped with collision cell, BMC Chem. 17 (2023) 34. https://doi.org/10.1186/s13065-023-00946-x.

[26] N. Laur, R. Kinscherf, K. Pomytkin, L. Kaiser, O. Knes, H.-P. Deigner, ICP-MS trace element analysis in serum and whole blood, PLoS One 15 (2020) e0233357. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233357.

[27] H. Rafieemehr, A. Farmany, S. Ghorbani, M. Jafari, M.M. Behzad, Serum Trace Element Levels in Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: a Before-After Analysis, Biol. Trace Elem. Res. 202 (2024) 4367–4374. https://doi.org/10.1007/s12011-023-04025-z.

[28] H. Rafieemehr, N. Kamyari, M. Maleki Behzad, Concentration of serum trace elements in leukemia and lymphoma: A case-control study, Heliyon 10 (2024) e33620. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33620.

[29] N. Cabré, F. Luciano-Mateo, M. Arenas, M. Nadal, G. Baiges-Gaya, A. Hernández-Aguilera, I. Fort-Gallifa, E. Rodríguez, F. Riu, J. Camps, J. Joven, J.L. Domingo, Trace element concentrations in breast cancer patients, The Breast 42 (2018) 142–149. https://doi.org/10.1016/j.breast.2018.09.005.

Los autores conservan los derechos de autor de este trabajo. Este artículo se publica en acceso abierto bajo la licencia