

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntza Gradua / Grado en Medicina

Utilidad de los VOC en el diagnóstico de la patología tumoral pulmonar y del cáncer colorrectal

Egilea /Autor:

Aritz Fernández de Gobeo Lavín

Zuzendaria / Director:

Ignacio García-Alonso Montoya

Leioa, 17 de abril de 2020

RESUMEN

Objetivos. Mediante la presente revisión, se pretende comprobar la utilidad de los compuestos orgánicos volátiles (VOC) en el diagnóstico y seguimiento del cáncer de pulmón y del cáncer colorrectal. Esto es posible debido a la relación existente entre las alteraciones metabólicas producidas por las células tumorales de dichos tipos de cáncer y los cambios experimentados en las concentraciones de los VOC.

Material y métodos. Se ha realizado una búsqueda bibliográfica, centrada principalmente en la base de datos de PubMed, aplicando criterios de búsqueda como “volatile organic compounds”, “breath”, “lung cancer”, “colorectal cancer”. La búsqueda ha ido encaminada principalmente a investigaciones en humanos, aunque no se han dejado de lado los ensayos en animales e *in vitro*.

Resultados. El análisis de los VOC exhalados en el aliento demuestra su utilidad en el diagnóstico tanto del cáncer de pulmón como del cáncer de colon (en este último, también se pueden estudiar los VOC en orina, sangre y heces; aunque con resultados menos satisfactorios). Los compuestos orgánicos volátiles también han resultado aplicables en el seguimiento postquirúrgico y en el despistaje de estas patologías, así como en el diagnóstico diferencial con patologías de carácter benigno.

Conclusiones. Los resultados prometedores obtenidos hasta la fecha refuerzan la idea de la potencial utilidad de estas técnicas en la práctica clínica habitual, con el objetivo de sustituir técnicas más invasivas y con mayor impacto económico que se están empleando a día de hoy. Sin embargo, futuros estudios deberán determinar con mayor exactitud los VOC más implicados en cada caso.

ABSTRACT

Objectives. This review's purpose is to test the applicability of volatile organic compounds (VOC) in lung cancer and colorectal cancer diagnosis and monitoring. This is possible due to the connection between the metabolic changes induced by the tumorous cells of both types and the differences in VOC concentrations.

Materials and methods. We carried out a bibliographic search mainly focused on PubMed, applying search criteria such as "volatile organic compounds", "breath", "lung cancer", "colorectal cancer". The search has been based mainly on human research, although animal and *in vitro* trials have been also included.

Results. The analysis of VOC in exhaled breath is useful in the diagnosis of both lung and colon cancer (in the latter, VOC can also be studied in urine, blood, and faeces, although with not so satisfactory results). Volatile organic compounds are also implementable in screening programs and post-surgical monitoring of these cancers, as well as in the differential diagnosis with benign pathologies.

Conclusions. The promising results obtained so far promote the use of these techniques in clinical practice, with the aim of replacing more invasive tools with greater economic impact that are used nowadays. However, future studies will have to determine more accurately the VOC most involved in each case.

ÍNDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CONCEPTO DE COMPUESTO ORGÁNICO VOLÁTIL	1
1.2. LOS VOC EN AIRE ESPIRADO: ANTECEDENTES HISTÓRICOS	3
1.3. VOC EN MEDICINA	5
1.3.1. VOC en cáncer de pulmón	6
1.3.2. VOC en cáncer colorrectal	7
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	10
3. MATERIAL Y MÉTODOS	11
3.1. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	11
3.1.1. Aproximación al tema: lecturas de iniciación	11
3.1.2. Inicio del trabajo	11
3.1.3. Actualización de la búsqueda en octubre de 2019	13
3.1.4. Última búsqueda en marzo de 2020	15
3.2. OBTENCIÓN DE LOS ARTÍCULOS UTILIZADOS	15
4. RESULTADOS	16
4.1. CUESTIONES TÉCNICAS	16
4.1.1. Moléculas estudiadas	16
4.1.2. Detectores utilizados	18
4.2. VOC EN DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE PULMÓN	23
4.2.1. Diagnóstico de existencia	24
4.2.2. Capacidad de diagnóstico diferencial	27
4.2.3. Utilidad en el seguimiento tras la cirugía	28
4.2.4. Utilidad en programas de screening	29
4.2.5. Aplicabilidad clínica	30

4.3. VOC EN DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE COLON	34
4.3.1. Diagnóstico de existencia	34
4.3.2. Capacidad de diagnóstico diferencial	36
4.3.3. Utilidad en el seguimiento tras la cirugía	38
4.3.4. Utilidad en programas de screening	39
4.3.5. Aplicabilidad clínica	41
5. DISCUSIÓN	42
6. CONCLUSIONES	44
7. BIBLIOGRAFIA	45
8. ANEXOS	i
8.1. ANEXO I	ii
8.2. ANEXO II	vii

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Resultado de la primera búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.	12
Figura 2 Resultado de la segunda búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.....	12
Figura 3 Resultado de la tercera búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.....	13
Figura 4 Resultado de la búsqueda realizada en octubre de 2019.....	14
Figura 5 Artículos seleccionados de la búsqueda realizada en octubre de 2019.	14
Figura 6 Resultado de la búsqueda realizada en marzo de 2020.....	15

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Moléculas estudiadas, clasificadas según su grupo bioquímico.	17
---	----

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONCEPTO DE COMPUESTO ORGÁNICO VOLÁTIL

La denominación de “Compuestos Orgánicos Volátiles” se acuñó en el ámbito de las ciencias medioambientales para designar unos compuestos químicos orgánicos que se convierten fácilmente en vapor o gas, y cuya presión de vapor, a 20°C, es mayor o igual a 0,01kPas. Dicha alta presión de vaporización se debe a que presentan un punto de ebullición bajo, que oscila entre 50°C y 260°C (1).

Tal y como recoge con gran claridad esta voz en Wikipedia (2) el interés de estos compuestos para las ciencias medioambientales se debe a una serie de propiedades muy características:

- Volatilidad: su facilidad para adquirir la forma gaseosa los hace fácilmente difundibles por la atmósfera (y por ende, inhalables por el ser humano).
- Liposolubilidad: por lo que se acumulan con facilidad en el tejido graso.
- Toxicidad: aunque esta característica no es universal, sí la comparten muchos de estos compuestos.
- Reactividad química: lo que les hace interactuar con otras moléculas de su entorno originando nuevos compuestos.

Por lo general, están formados por oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre y nitrógeno, y dentro del término VOC, se engloban compuestos como los hidrocarburos alifáticos y aromáticos, aldehídos, cetonas, éteres, ácidos y alcoholes (1).

En el ámbito de la medicina suele utilizarse el acrónimo derivado de la terminología inglesa “Volatile Organic Compounds” (VOC), y es el que, en aras de la claridad, utilizaremos a lo largo de este trabajo.

En el ser humano, el aire exhalado está compuesto fundamentalmente por nitrógeno, oxígeno, carbono dióxido, agua y algunos gases inertes. Pero además de estos gases, también encontramos pequeñas cantidades de sustancias volátiles que, o bien estaban en el aire inhalado (VOC exógenos), o bien han sido generadas por el cuerpo (VOC endógenos).

Los VOC exógenos provienen de diversos disolventes y productos derivados del petróleo, y son absorbidos a través de la piel y los pulmones. Su principal interés en medicina es de tipo toxicológico, y por tanto, no se enmarca en el ámbito de este trabajo.

Los VOC endógenos aparecen como consecuencia de ciertas reacciones bioquímicas que acontecen a nivel celular en el organismo (3).

Son muchos los VOC que se pueden encontrar en el aire exhalado, desde hidrocarburos saturados e insaturados, hasta compuestos oxigenados, sulfurados y nitrogenados (3).

Los hidrocarburos saturados (etanos, pentanos y aldehídos) se forman durante la peroxidación de lípidos de los componentes grasos que forman las membranas celulares. Esta peroxidación la producen las especies reactivas de oxígeno (ROS), también denominadas “radicales libres”, que se pueden liberar durante las reacciones bioquímicas basadas en la oxidación de moléculas orgánicas. Por este motivo, se les considera marcadores de estrés oxidativo. Cabe destacar que la oxidación de proteínas y el metabolismo bacteriano colónico también pueden producir hidrocarburos saturados, aunque en cantidades más pequeñas. Son sustancias con baja solubilidad en la sangre, por lo que se excretan en la respiración a los pocos minutos de su formación (3).

Los hidrocarburos insaturados, como por ejemplo el isopreno (formado en la vía mevalónica de la síntesis de colesterol), también forman parte del aire exhalado. Otros compuestos oxigenados, como la acetona, también se encuentran en el aliento. La acetona se produce por la descarboxilación del acetoacetato que se deriva de la lipólisis o la peroxidación de lípidos (3).

Los compuestos que contienen azufre, en cambio, se generan a través del metabolismo incompleto de la metionina en la vía de transaminación. Por otra parte, niveles de concentración elevados de compuestos nitrogenados en el aire exhalado, pueden reflejar insuficiencia hepática o síndrome urémico (3).

Sin embargo, a día de hoy, todavía no se conoce el origen de muchos VOC endógenos, por lo que se debe realizar un trabajo adicional para conocer las rutas

bioquímicas importantes para todos los compuestos volátiles que se pueden detectar (3).

1.2. LOS VOC EN AIRE ESPIRADO: ANTECEDENTES HISTÓRICOS

En 1971, Pauling *et al.* publicaron el primer informe acerca de la identificación de los VOC en el aire exhalado de pacientes sanos, y en él se recogían 250 VOC diferentes (4). Más tarde, otro estudio con 50 individuos sanos, cuyo aliento fue analizado mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), concluyó que el número promedio de VOC por persona era de 204. Existen otros estudios que evidencian cambios en la cantidad de VOC producidos cuando se administra oxigenoterapia a sujetos sanos, diferencias entre fumadores y no fumadores, y diferencias según grupos de edad (3).

En 1985, Gordon *et al.* publicaron un estudio en el que se analizaba la diferencia entre el aire exhalado de 12 pacientes con cáncer de pulmón y 17 pacientes fumadores (5). Se emplearon la broncoscopia o la biopsia pulmonar para el diagnóstico de cáncer pulmonar, y antes de llevar a cabo el tratamiento con quimioterapia y/o radioterapia, se recogió el aire exhalado de los participantes y se analizó mediante la técnica de TD/GC-MS.

Posteriormente, O'Neil *et al.*, mediante técnicas de análisis de espectros de masas identificaron 386 compuestos diferentes, de los cuales 28 eran los que se presentaban con mayor frecuencia en pacientes con cáncer de pulmón (6). De ellos, solo 9 se podían emplear como marcadores ya que el resto eran de origen ambiental. Además, cabe destacar que ninguno de ellos estaba formado por azufre o nitrógeno.

En 1997, M Phillips *et al.* diseñaron un dispositivo para recoger muestras de aire alveolar evitando contaminantes del medio ambiente y del espacio muerto anatómico (7). En 10 litros de aire alveolar obtenidos mediante dicho dispositivo, se identificaron más de 1200 VOC diferentes mediante análisis por desorción térmica y GC-MS.

En el año 1999, este mismo grupo de investigación publicó en *Lancet* un artículo en el que describieron un modelo matemático que presentaba una sensibilidad del 100% y una especificidad del 81% en la discriminación de pacientes con cáncer de pulmón

en estadio I y pacientes sanos (8). Dicho modelo estaba basado en 22 VOC, la mayoría hidrocarburos, y aunque era muy útil en las etapas iniciales del cáncer pulmonar, al aumentar el estadio tumoral, la sensibilidad disminuía al 66,7% y la especificidad al 71,7%.

Más tarde, en 2003, este grupo publicó en *Chest* un estudio en el que participaron 219 personas (87 con cáncer de pulmón primario, 91 con radiografía torácica anormal pero con cáncer pulmonar descartado por broncoscopia y 41 de control, estos último sin EPOC, aunque no se reparó en su hábito tabáquico) (9). Para este estudio elaboraron un modelo que tenía en cuenta 9 alcanos y que detectaba el cáncer de pulmón con una sensibilidad del 89% y una especificidad del 83%. En este modelo, el hábito tabáquico, y el estadio y la histología tumoral no alteraban los resultados. Los alcanos estaban disminuidos en el caso de los pacientes con cáncer de pulmón debido a un aumento de su metabolismo mediado por el citocromo P450.

Poli *et al.*, en 2005, publicaron un estudio con resultados contradictorios a los de Phillips (10). A 36 pacientes con carcinoma pulmonar no microcítico en estadio T1-T2 con indicación quirúrgica se les recogieron muestras del aire exhalado mediante cámaras BioVOC® antes y después de la resección. Se analizaron 13 hidrocarburos, 10 de los cuales aparecían en mayor cantidad en los pacientes con cáncer pulmonar; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas antes y después de la intervención quirúrgica, aunque las concentraciones de isopreno y de decano disminuyeron; lo que intentaron explicar mediante la hipótesis de la producción de VOC por parte de las células tumorales. También estudiaron a 25 pacientes con EPOC leve-moderado en la escala GOLD, y en ese caso eran 9 los VOC que aparecían en concentraciones mayores.

Tanto los estudios de Phillips como los de Poli, debido a que no podían explicar con exactitud el origen de los VOC, fueron muy cuestionados, y fue en 2007, cuando Phillips *et al.*, propusieron un nuevo modelo, basado en 16 VOC nuevos, capaz de predecir el cáncer de pulmón primario con una sensibilidad y una especificidad del 85% y del 80% respectivamente, independientemente del hábito tabáquico y del estadio tumoral (11,12).

Ese mismo año, Buszewski *et al.*, y, en 2009, Horváth *et al.*, estudiaron en profundidad los VOC y su uso como biomarcadores para cáncer de pulmón (13,14). Por un lado, concluyeron que la mayoría de los VOC, o bien se formaban por vías metabólicas muy diversas, o bien su mecanismo de formación no estaba claro, por lo que podían actuar como variables de confusión. Por otro lado, aclararon que los modelos de análisis empleados hasta la fecha eran independientes de factores como el hábito tabáquico y el estadio tumoral, por lo que podían ser útiles para el diagnóstico precoz.

En una revisión sistemática llevada a cabo por Kant *et al.*, en 2012, se observa que en los estudios iniciales, los VOC analizados eran, en su mayoría, hidrocarburos, y posteriormente, se estudiaban compuestos oxigenados (15). Precisamente, la selección de VOC diferentes, junto con la ausencia de un muestreo estandarizado y el empleo de modelos matemáticos diferentes, son el motivo de la heterogeneidad de los resultados de los estudios que se hicieron hasta la fecha.

Entre los estudios incluidos en la revisión sistemática, cabe destacar (15):

- Ligor H *et al.* describieron la utilidad de 1-propanol, 2-butanona, 3-butyn-2-ol, benzaldehído, 2-metil-pentano, 3-metil-pentano, n-pentano y n-hexano en el diagnóstico de cáncer de pulmón (16).
- Song G *et al.* afirmaron que 1-butanol y 3-hidroxi-2-butanona se encontraban elevados en pacientes con carcinoma pulmonar no microcítico, por lo que podrían ser empleados en su diagnóstico (17).
- Poli *et al.* y Fuch *et al.* observaron que los aldehídos hexanal, heptanal, octanal y nonanal se encontraban en cantidades significativamente superiores en los pacientes con cáncer pulmonar (18,19).

1.3. VOC EN MEDICINA

Son varias las patologías que pueden producir un aumento en los niveles de VOC exhalados. Entre ellas, cabe destacar las desencadenadas por el hábito tabáquico, como son el cáncer de pulmón, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y las enfermedades cardiovasculares. El humo del tabaco da lugar a gran cantidad de radicales libres y especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, lo que origina un

incremento en el grado de estrés oxidativo. Dicho estrés presenta consecuencias fatales para las células, entre las cuales cabe destacar la peroxidación lipídica, las alteraciones conformacionales en el ADN, la alteración de proteínas esenciales, la elevación del Ca^{2+} intracelular, e incluso la apoptosis o necrosis celular (20).

De todas ellas, la peroxidación lipídica es la que juega un papel más importante en el aumento de la producción de VOC endógenos. Se trata principalmente de alcanos, alquenos, aldehídos y ácidos carboxílicos producidos mediante una serie de reacciones de oxidación catalizadas por sistemas enzimáticos relacionados con el citocromo P450, y que pueden ser expulsados al exterior por vía aérea (20).

Es por ello que la presencia de concentraciones elevadas de estos VOC en el aire exhalado es sugestiva de un aumento del estrés oxidativo, principalmente, a nivel del aparato respiratorio. De hecho, en un estudio llevado a cabo por Jareño-Esteban *et al.*, en el que se analizó la presencia de VOC en el aire exhalado de 89 voluntarios sanos de los cuales 30 eran fumadores, 24 exfumadores y 35 no fumadores, se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de nonanal entre los tres grupos. El nonanal es independiente de edad, género y cantidad de tabaco consumido, pero está relacionado con consumir o haber consumido tabaco. Sin embargo, no se objetivó correlación cuantitativa entre tabaco consumido y nonanal exhalado (20).

1.3.1. VOC en cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón es una patología de muy alta prevalencia en la sociedad occidental y de una muy elevada mortalidad, principalmente por su tardío diagnóstico.

Debido a que el pulmón tiene una gran reserva funcional, las lesiones ocupantes de espacio tardan mucho en manifestarse, salvo que dañen alguna estructura vascular. Por este motivo, el diagnóstico precoz que tan buenos resultados ha obtenido en el cáncer de mama, de colon y de próstata, es muy infrecuente en el pulmón (21).

Los ensayos realizados utilizando la tomografía axial computarizada de baja dosis (TCBD, o LDCT de sus siglas en inglés) como método de screening en pacientes de

alto riesgo han logrado reducir en un 20% la mortalidad asociada al cáncer de pulmón. Sin embargo, su excesivo coste económico, unido a un innegable número excesivo de falsos positivos han impedido que su uso se generalice (21).

En este contexto, la búsqueda de biomarcadores que permitan un screening temprano eficaz cobraron más importancia todavía. Y así, en 2012 Ehmann *et al.* publicaron un artículo acerca de cuatro perros entrenados para detectar el cáncer de pulmón. Se trataba de un ensayo clínico prospectivo a doble ciego en el que los perros demostraron un olfato con una sensibilidad del 71% y una especificidad de un 93% en 125 muestras de aire exhalado (22).

La dificultad de estandarizar el entrenamiento de los perros ha llevado a intentar desarrollar aparatos que imiten (y si es posible mejoren) su capacidad de discriminar la presencia de sustancias en el aire espirado por los pacientes (23).

1.3.2. VOC en cáncer colorrectal

Existen varios estudios que demuestran que los pacientes con cáncer colorrectal (CCR) presentan unos cambios metabólicos que pueden ser detectados mediante la detección de VOC, a través de diferentes técnicas, en muestras de orina, heces, sangre y aliento. El diagnóstico del cáncer mediante el análisis estos compuestos presenta una sensibilidad que varía entre un 30 y un 94%, y una especificidad entre el 60 y el 94%. Este amplio rango demuestra la falta de un procedimiento de análisis estandarizado (24).

1.3.2.1. VOC en orina

Debido a la alta concentración de metabolitos volátiles que se pueden encontrar en la orina, Silva *et al.* realizaron un estudio en el que incluyeron 14 pacientes afectados de leucemia, 12 que padecían cáncer colorrectal y 7 que tenían un linfoma, y los compararon con 21 pacientes sanos (25). En dicho estudio, se encontraron 15 VOC en orina, entre los que se encontraban el heptanal y el hexanal, entre otros, cuyas diferencias en las concentraciones eran estadísticamente significativas a la hora de discernir entre pacientes sanos, y pacientes afectos de cáncer de colon-recto. Éste fue uno de los primeros estudios realizados para conocer la aplicación de los VOC en el diagnóstico del CCR, y en él concluyeron que los compuestos urinarios con mayor

utilidad en el diagnóstico del cáncer colorrectal eran el 1,4,5-trimetil-naftaleno, la 2,7-dimetil-quinolina y el 2-metil-3-fenil-2-propenal.

Posteriormente, investigadores del Hospital Universitario de Coventry y Warwickshire, consideraron que la recogida de orina para el screening del CCR podría tener una mejor aceptación social que la recogida de heces, por lo que realizaron dos estudios (26,27). En el primero, con una muestra de 83 pacientes con cáncer y 50 pacientes control, concluyeron que la medición de VOC en orina tenía un 88% de sensibilidad, y una especificidad del 60%. En el segundo, cogieron a 39 pacientes con CCR, a 35 con síndrome de colon irritable y a 18 controles. En este caso, el análisis de su orina demostró una sensibilidad del 78% y una especificidad del 79% en la detección del CCR en comparación con los otros dos grupos.

1.3.2.2. VOC en heces

En cuanto a la detección de VOC en la heces, de Meji *et al.* realizaron un estudio compuesto por tres grupos, uno formado por 40 pacientes con cáncer colorrectal, otro formado por 60 pacientes con adenomas clónicos avanzados y otro formado por 57 controles sanos (28). En este caso, los compuestos orgánicos volátiles fueron detectados mediante Cyranose[®] 320, una e-nose que demostró una sensibilidad del 85% y una especificidad del 87% en la detección del CCR, y una sensibilidad y una especificidad del 6% y del 86% en el diagnóstico de adenomas.

1.3.2.3. VOC en sangre

Wang *et al.*, siguiendo la hipótesis de que los VOC son liberados, en un primer momento, al torrente sanguíneo y que posteriormente penetran en los alveolos para ser, finalmente, exhalados, llevaron a cabo un estudio con muestras sanguíneas de 16 pacientes con cáncer colorrectal (8 de colon y 8 de recto) y 20 controles sanos (29). En este estudio encontraron que el fenil metilcarbamato, el etilhexanol y la 6-t-butil-2,2,9,9-tetrametil-3,5-decadien-7-ina estaban significativamente disminuidas en pacientes afectos de CCR respecto a los pacientes sanos, y el 1,1,4,4-tetrametil-2,5-dimetilen-ciclohexano significativamente más alto.

1.3.2.4. VOC en aliento

Peng *et al.* realizaron un estudio, en 2010, en el que incluyeron a 26 pacientes con CCR, 30 pacientes con cáncer de pulmón, 22 pacientes con cáncer de mama, 18 pacientes con cáncer de próstata y 22 controles sanos (30). En esta ocasión, se analizaron las muestras de sus alientos utilizando una matriz de 14 nanosensores hecha a medida, basada en nanopartículas de oro (GNP, gold nanoparticles) funcionalizadas orgánicamente, y un análisis mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas. Con el conjunto de GNP se obtuvo una alta capacidad para identificar pacientes con CCR a partir de controles sanos, mientras que usando los seis VOC identificados por GC-MS en pacientes con CCR, la sensibilidad se redujo a aproximadamente el 30%.

En 2013, Altomare *et al.* analizaron las muestras de aliento de 37 pacientes con cáncer colorrectal y 41 controles sanos con GC-MS, identificándose así un conjunto de 15 VOC con una sensibilidad del 86%, una especificidad del 83% y una precisión del 85% en la discriminación entre los dos grupos (31).

Wang *et al.*, en 2014, publicaron otro estudio sobre la respiración, analizando 20 pacientes con CCR y 20 controles sanos, utilizando GC-MS (32). Este grupo de investigación observó la presencia de 9 VOC en concentraciones significativamente más altas en el aliento exhalado por pacientes que presentaban CCR y un VOC significativamente más bajo en comparación con los controles.

Más tarde, en 2015, Amal *et al.* realizaron un estudio en el que se analizó el aliento de 65 pacientes con CCR, 22 pacientes con adenomas y 122 controles sanos (33). El análisis se llevó a cabo mediante e-nose y GC-MS. Con la e-nose se consiguió una discriminación entre los pacientes afectados de cáncer y los controles con una sensibilidad del 85% y una especificidad del 94%; una discriminación entre pacientes con CCR y adenomas con una sensibilidad del 94% y una especificidad del 88%; y una discriminación entre pacientes con adenomas y pacientes control con una sensibilidad y una especificidad del 94%. Con ello se concluyó que la e-nose era de gran utilidad en la discriminación de pacientes con cáncer y los pacientes con adenomas, los pacientes con adenomas y los controles, y los controles y los pacientes con adenomas avanzados y no avanzados.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Las modificaciones metabólicas existentes en las células tumorales dan lugar a la producción de compuestos orgánicos volátiles peculiares que, de detectarse en el aliento o en secreciones corporales, podrían resultar útiles en el diagnóstico.

Además, la constatación de la desaparición de esos VOC de un organismo podría utilizarse como criterio de curación y herramienta de seguimiento para la detección precoz de recidivas.

El objetivo de este trabajo ha sido, mediante el análisis de las publicaciones existentes sobre los VOC en el diagnóstico de cáncer de pulmón y de colon, sistematizar el estado actual de la cuestión. Específicamente:

- Utilidad de los VOC en el diagnóstico de existencia y diferencial del cáncer de pulmón y el cáncer colorrectal.
- Utilidad de los VOC en el seguimiento de pacientes tratados por las referidas patologías.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En este epígrafe del trabajo se describirá el método que hemos seguido para realizar la selección de trabajos revisados, tanto en cuanto se refiere a los criterios de búsqueda como a los objetivos de cada una de ellas. También describiremos las fuentes utilizadas para obtener los textos utilizados en nuestro trabajo.

3.1. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

3.1.1. Aproximación al tema: lecturas de iniciación

Al aceptar el tema propuesto por mi Director, mis conocimientos sobre el tema eran nulos. Con el fin de seleccionar algunos artículos que me permitieran adquirir algún conocimiento sobre este tema, el 20 de junio de 2018 hicimos una búsqueda en PubMed seleccionando los siguientes términos:

- *Exhaled breath [and] Lung cancer*

Dado que la respuesta obtenida consistió en 214 artículos optamos por restringir a más recientes, obteniendo:

- *fecha de publicación > 2014: 115 artículos*
- *fecha de publicación > 2016: 69 artículos*

Para intentar acotar más, sobre esta última búsqueda añadimos el término *Volatile Compounds*, pero lo dejó en sólo dos artículos.

Por último, hicimos una búsqueda combinando con “and”

- *Volatile organic compounds [and] Breath [and] Lung cancer [and] Date of publication > 2016*

El resultado fueron 39 artículos (ver Anexo I). La lectura de estos artículos ocupó los meses de julio a diciembre de 2018. Y el objetivo fue familiarizarse con el tema y las diferentes líneas de trabajo,

3.1.2. Inicio del trabajo

El 7 de diciembre de 2018, ya con un conocimiento suficiente sobre el tema, realizamos una nueva búsqueda. La primera aproximación se hizo combinando con “and” los términos:

- *Volatile organic compounds [and] Exhaled breath*

El resultado fueron 616 artículos (Figura 1).

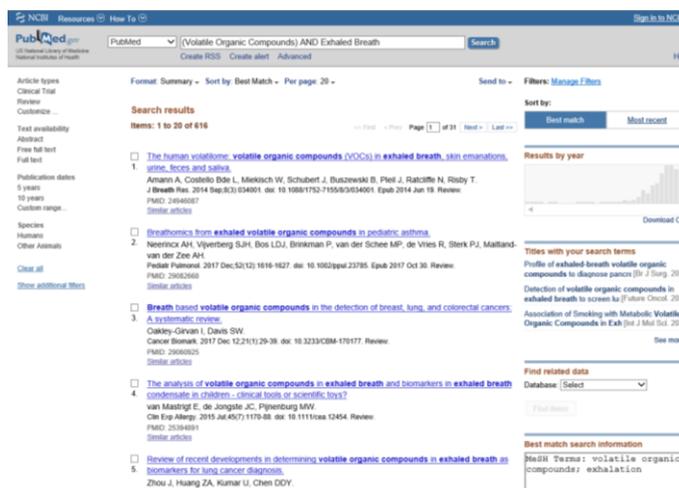


Figura 1 Resultado de la primera búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.

Realizamos una nueva búsqueda combinado los siguientes términos:

- *Volatile organic compounds [and] Exhaled breath[and] Diagnosis [and] Cancer [and] Date of publication > 2015*

El número de artículos seleccionado por el motor de búsqueda siguió siendo demasiado elevado: 320 (Figura 2).

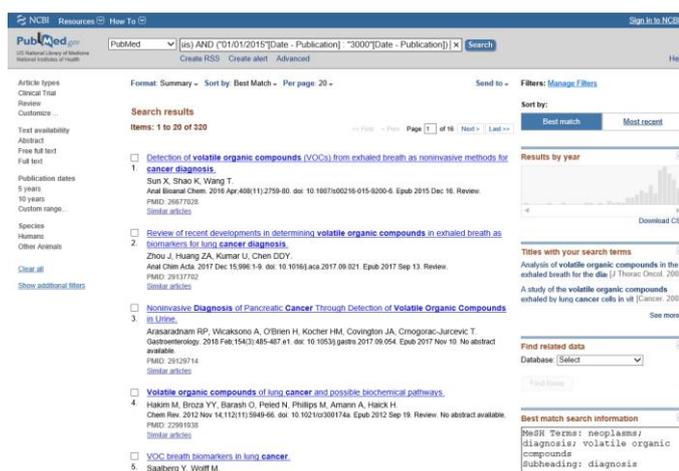


Figura 2 Resultado de la segunda búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.

Para refinar aún más la búsqueda añadimos otro criterio de selección sobre la búsqueda anterior: “*review*”. El resultado fueron los 64 artículos que se recogen en el Anexo II (Figura 3).

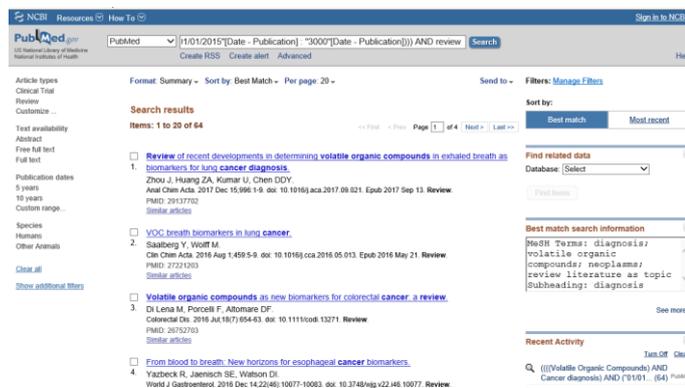


Figura 3 Resultado de la tercera búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018.

Junto con mi Director procedí a revisar esta lista de 64 artículos retirando aquellos que no trataban de cáncer de colon o de pulmón, con lo que se redujo a los 41 artículos con los que iniciamos la puesta al día que constituye la Introducción de este trabajo de revisión.

3.1.3. Actualización de la búsqueda en octubre de 2019

En octubre de 2019 iniciamos el análisis del estado actual del uso de VOC como herramienta diagnóstica en el cáncer de pulmón y de colon. Para ello realizamos una nueva búsqueda en PubMed. En primer lugar se combinaron los siguientes términos:

- *Volatile organic compounds [and] Lung cancer [and] Date of publication > 2015*

El número de artículos seleccionado por el motor de búsqueda fue de 125 (Figura 4).

Manualmente eliminamos aquellos que no se ceñían a aspectos de uso de VOC como herramienta diagnóstica, quedándonos con los 30 más recientes (aunque hubo que descartar uno debido a que el título no reflejaba bien el contenido, por lo que se quedó definitivamente en 29 artículos).

((volatile organic compounds) AND lung cancer) AND ("2015"[Date - Crea - Pub... Página 1 de 3

PubMed ((volatile organic compounds) AND lung cancer

Format: Summary Sort by: Most Recent Per page: 20

Search results

Items: 1 to 20 of 125 Selected: 29

[Severe Pulmonary Disease Associated with Electronic-Cigarette-Product Use - Interim Guidance.](#)

1. Schier JG, Meiman JG, Layden J, Mikosz CA, VanFrank B, King BA, Salvatore PP, Weissman DN, Thomas J, Melstrom PC, Baldwin GT, Parker EM, Courtney-Long EA, Krishnasamy VP, Pickens CM, Evans ME, Tsay SV, Powell KM, Kiernan EA, Marynak KL, Adjemian J, Holton K, Armour BS, England LJ, Briss PA, Houry D, Hacker KA, Reagan-Steiner S, Zaki S, Meaney-DeIman D; CDC 2019 Lung Injury Response Group. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019 Sep 13;68(36):787-790. doi: 10.15585/mmwr.mm6836e2. Erratum in: *MMWR*

Figura 4 Resultado de la búsqueda realizada en octubre de 2019.

En segundo lugar realizamos una búsqueda equivalente para el cáncer de colon, combinando los siguientes términos:

- *Volatile organic compounds [and] Colorectal cancer [and] Date of publication > 2015*

El número de artículos seleccionado por el motor de búsqueda fue de 34. Tras eliminar manualmente los que no se ajustaban a nuestro ámbito de interés quedaron 28 artículos, con los que se ha realizado el trabajo (Figura 5).

En aquellos casos en que un artículo referenciado nos ha parecido especialmente relevante lo hemos obtenido para su lectura y posterior inclusión en nuestra bibliografía.

((colorectal cancer) AND Volatile Organic compounds) AND ("2015"[Date - PubM... Página 1 de 3

PubMed ((colorectal cancer) AND Volatile Organic comp

Format: Summary Sort by: Most Recent Per page: 20

Search results

Items: 1 to 20 of 34 Selected: 28

[Volatile Organic Compounds as Biomarkers of Gastrointestinal Diseases and Nutritional Status.](#)

1. Rondanelli M, Perdoni F, Infantino V, Faliva MA, Peroni G, Iannello G, Nichetti M, Alalwan TA, Perna S, Cocuzza C. *J Anal Methods Chem.* 2019 Sep 10;2019:7247802. doi: 10.1155/2019/7247802. eCollection 2019. Review. PMID: 31583160 [Free PMC Article](#)

[Feasibility of perioperative volatile organic compound breath testing for prediction of paralytic ileus following laparoscopic colorectal resection.](#)

2. Francis NK, Curtis NJ, Salib E, de Lacy Costello B, Lemm NM, Gould O, Crilly L, Allison J, Ratcliffe N. *Colorectal Dis.* 2019 Jul 25. doi: 10.1111/codi.14788. [Epub ahead of print](#)

Figura 5 Artículos seleccionados de la búsqueda realizada en octubre de 2019.

3.1.4. Última búsqueda en marzo de 2020

Con el fin de ver si durante los meses de confección del trabajo se habían realizado nuevas publicaciones que influyeran en nuestra puesta al día, el 7 de marzo reutilizamos los mismos criterios de búsqueda de la anterior, pero restringiendo a publicados en los últimos diez meses. Obtuvimos diez nuevos artículos que hemos incorporado al trabajo y que -fundamentalmente- han aportado orientación en los apartados de aplicabilidad clínica (Figura 6).

Figura 6 Resultado de la búsqueda realizada en marzo de 2020.

3.2. OBTENCIÓN DE LOS ARTÍCULOS UTILIZADOS

Todos los artículos seleccionados para el trabajo han sido descargados en su versión completa utilizando diversas fuentes.

En algunos casos se trata de artículos publicados “Open Access”.

Del resto, la mayoría se descargaron directamente de la revista, merced a la autorización UPV/EHU.

En los pocos casos en los que no estaban disponibles para nuestra Universidad, los obtuvo el Director a través de *Research Gate*.

4. RESULTADOS

Para mayor claridad, vamos a distinguir tres apartados en la exposición de nuestra puesta al día sobre el uso de VOC como elementos diagnósticos en cáncer de pulmón y de colon.

En primer lugar vamos a describir lo que podríamos considerar como cuestiones técnicas. Es decir, qué VOC concretos se han estudiado y qué equipamiento se ha utilizado para cuantificarlos en las muestras obtenidas de pacientes.

El segundo apartado recoge el estado actual del uso de VOC en el diagnóstico del cáncer de pulmón y el tercero -con un esquema idéntico- lo que hace referencia al cáncer de colon.

4.1. CUESTIONES TÉCNICAS

En este primer apartado nos ocupamos de exponer las diferentes moléculas estudiadas, incluyendo algunas tablas que ayuden a obtener una visión de conjunto dentro del abigarrado campo de los compuestos químicos. Además explicamos las características de los diferentes equipos de medición utilizados para explorar la posible utilidad diagnóstica de estos compuestos. Se trata de equipos de laboratorio, complejos y voluminosos, difícilmente trasladables a la clínica, pero que han permitido los primeros estudios en muestras humanas; sin ellos, ni nos plantearíamos la posibilidad de utilizar el análisis de VOC en la clínica.

4.1.1. Moléculas estudiadas

Hasta la fecha, no se ha podido encontrar ningún compuesto que esté presente exclusivamente en el aliento de pacientes con cáncer. Lo que la evidencia acumulada sugiere es que es posible definir una combinación de VOC que permita el diagnóstico de cáncer, en lugar de un VOC único (34).

De hecho, Rudnicka *et al.* fueron de los primeros en plantear su investigación con este enfoque. Recogieron un enorme elenco de VOC y comprobaron que era posible encontrar patrones diferentes entre los sanos y los pacientes con cáncer (35). Sin

embargo, el número de VOC utilizados fue tan alto que no resultaba práctico para la clínica.

Mediante análisis estadísticos complejos pudieron seleccionar un conjunto mucho más reducido de VOC que diferenciaba entre los voluntarios sanos y los pacientes con cáncer de pulmón. El modelo propuesto mostró una especificidad del 91,23% y una sensibilidad del 80%. Es decir, muy pocos falsos positivos, aunque una quinta parte de los pacientes con cáncer escaparon al diagnóstico (36).

Tabla 1. Moléculas estudiadas, clasificadas según su grupo bioquímico.

Grupo	VOC
Derivados de benceno	Benceno, etilbenceno, estireno, 1,2,4-trimetilbenceno, propilbenceno, benzaldehído, tolueno, 1,3-dimetilbenceno
Alcoholes	Propanol, 1-butanol, etanol, metanol, fenol, metilfenol, etilfenol
Alcanos	Etano, propano, isobutano, pentano, 2-metilpentano, 3-metilpentano, hexano, heptano, octano, decano, undecano, dodecano, ciclohexano, metilciclopentano, 2,4-dimetilheptano, 4-metiloctano, metilciclohexano
Aldehídos	Acetaldehído, propanal, butanal, pentanal, hexanal, octanal, heptanal, nonanal, decanal, 2-hidroxiacetaldehído, 4-hidroxihexanal
Cetonas	Acetona, 2-butanona, 3-hidroxi-2-butanona, 2-pentanona, hexanona
Alquenos	Isopreno, 1-hexeno, 1-octeno, 1,2-pentadieno
Nitrilos	Acetonitrilo
Ácidos carboxílicos	Ácido 3-metilbutanoico, ácido hexanoico
Ésteres	Etil-3-metilbutanoato, etil-acetato
Otros	Dimetilsulfuro, aminoácidos, ácidos grasos de cadena corta, ácidos biliares, polioles,

Siguiendo la línea de Rudnicka *et al.* han proliferado estudios buscando diferentes combinaciones de VOC que mejoren la sensibilidad. En la revisión que hemos realizado se cita una gran variedad de VOC (Tabla 1): alcanos, aldehídos, cetonas, alcoholes, alquenos y derivados de benceno, entre otros. De todos ellos, se pueden señalar como los que más se repiten el benceno, el propanol, el estireno y el pentano. En general, los diferentes trabajos refieren para sus métodos de detección una sensibilidad que oscila entre 60,6-100%, y una especificidad entre 41-100% (37).

Los diferentes VOC presentan diferentes cualidades diagnósticas

Gran sensibilidad y menor especificidad

Gran especificidad y menor sensibilidad

4.1.2. Detectores utilizados

Aunque la existencia de compuestos orgánicos volátiles en el organismo se conoce desde hace tiempo, la dificultad de su detección y cuantificación ha hecho que no se contemplara su uso clínico. Esta dificultad deriva de sus bajas concentraciones, la complejidad tecnológica de diseñar detectores para ellos, así como su tendencia a quedarse depositadas en las paredes de estos detectores.

Sin embargo, gracias al interés despertado por los VOC tanto a nivel industrial como en el ámbito de la construcción por su influencia en la salud humana, los sensores han ido ganando en sensibilidad y especificidad.

Así, a día de hoy, es posible detectar en tiempo real una gran diversidad de moléculas pequeñas y en concentraciones minúsculas. Esto ha sido gracias, principalmente, a diversas técnicas de ionización que hacen más fáciles de detectar las moléculas objeto de estudio (38).

Como estos equipos se diseñaron para detectar VOC en el ambiente, enseguida se planteó utilizarlos para detectar VOC en el aire espirado por los pacientes (aliento). Los primeros estudios relacionados con el análisis del aire exhalado se centraron en

descubrir los compuestos químicos específicos contenidos en el aliento, confiando en poder asociar alguno de ellos con alguna patología concreta. Para ello recurrieron a los instrumentos de cromatografía de gases, sobre los que se disponía de una gran experiencia; si bien su tamaño no era muy apropiado para el uso en un entorno clínico.

A medida que han progresado los trabajos de investigación clínica, en los últimos años, los investigadores se han ido desplazando hacia dispositivos más portátiles y rentables para el análisis de la respiración exhalada (34). Los principios físico-químicos en que se basan estos nuevos equipos son bastante diferentes unos de otros. Vamos a ir comentando con un cierto detalle cada uno de ellos.

Sistemas de detección de VOC aplicables a estudios clínicos

Cromatografía de gases (GC)

Espectrometría de masas (MS)

Espectrometría de movilidad iónica (IMS)

E-nose (nariz electrónica)

Olfato canino

4.1.2.1. Cromatografía de gases (GC)

Esta técnica es una de las más empleadas para el estudio de muestras de aliento. Consiste en separar primero las mezclas de compuestos gaseosos en sus diferentes componentes y posteriormente analizarlos. A veces se pretratan las muestras para aumentar la sensibilidad de la técnica, como por ejemplo la microextracción en fase sólida (MEFS). Otra variante de la técnica es asociarla con la espectrometría de masas, obteniendo así información más precisa (34).

La cromatografía de gases permite saber con exactitud cuáles son las sustancias que componen la muestra, así como la concentración de las mismas. Sin embargo, presenta ciertos problemas que dificultan su aplicación en la clínica: es una técnica

con un alto coste económico, solo puede ser realizada por personal experimentado y requiere de mucho tiempo para obtener los resultados (34).

4.1.2.2. Espectrometría de masas (MS)

Habitualmente se emplea, como ya se ha mencionado, en combinación con la cromatografía de gases (34).

Es una técnica en la que se emplea un dispositivo, denominado espectrómetro de masas, que separa y clasifica los elementos químicos presentes en una muestra según la relación existente entre su masa y su carga (39).

La ionización puede mejorarse mediante algunas técnicas, que aumentan de esta forma la sensibilidad de la espectrometría de masas. Y así se habla de:

- Reacción de transferencia de protones (PTR-MS): los compuestos reaccionan con iones H_3O^+ , que realizan una transferencia de protones no disociativa. El principal inconveniente de este método es que no puede diferenciar con certeza compuestos químicamente similares. El H_3O^+ le transfiere un ion al VOC, y éste, una vez ionizado, es más fácilmente detectado por un espectrómetro de masas.
- Iones seleccionados en tubo de flujo (SIFT-MS): es otra técnica basada en MS que se puede utilizar para el análisis del aire exhalado, utilizando también la ionización de los compuestos de la muestra. Para llevar a cabo dicha ionización, los compuestos volátiles se introducen en un tubo por el que discurre un flujo de ciertos iones a una velocidad controlada. De esta manera los VOC reaccionan con los iones, dando lugar a unas formas ionizadas capaces de ser detectadas por un espectrómetro de masas.
- Ionización por electropray secundario (SESI-MS): en este caso, el aliento exhalado se mezcla con un aerosol (suspensión de pequeñas partículas en el aire), causando así una ionización de los compuestos a analizar. Los VOC se disuelven en un solvente con una volatilidad mayor y se hacen pasar a través de un capilar cargado eléctricamente. Al salir del tubo, la disolución se dispersa en gotas cargadas que se evaporan, dejando libres las moléculas ionizadas, que son las que va a detectar el espectrómetro de masas.

4.1.2.3. Espectrometría de movilidad iónica (IMS)

Esta técnica se fundamenta en registrar la facilidad de movimiento de los iones sometidos a un campo eléctrico, o lo que es lo mismo, la relación existente entre la velocidad del ion y la fuerza del campo eléctrico. A partir de este dato, puede deducirse de qué partícula se trata, así como el número de ellas presentes en la muestra. De nuevo la partícula a analizar requiere ser ionizada previamente (34).

4.1.2.4. Narices electrónicas (e-nose)

En los últimos años, los avances tecnológicos han permitido construir lo que, hace algunas décadas, se consideraba algo futurista: narices electrónicas. Estos dispositivos pueden analizar, en tiempo real, el contenido de un fluido gaseoso. Integran detectores de gas y componentes electrónicos en un único dispositivo pequeño y portátil. Ésta es, por tanto, su principal ventaja frente al resto de los detectores, ya que no solo detectan los compuestos presentes en una muestra, sino que gracias a la electrónica, son capaces de poner de manifiesto diversos patrones de VOC, aumentando así su efectividad. En vez de imprimir un informe con una relación exhaustiva de compuestos detectados y sus concentraciones, analiza la relación entre ellos e informa si se detecta algún patrón asociado a una determinada patología.

Entre su amplia gama de posibles aplicaciones, se encuentra el análisis del aliento. Son diferentes a los analizadores de cromatografía de gases ya que no pueden cuantificar el contenido absoluto de un VOC en una mezcla, sino que proporcionan una indicación de la combinación de VOC en la mezcla considerada.

Se pueden usar varios tipos de detectores para construir narices electrónicas, desde sensores químicos y físicos, hasta soluciones más complejas basadas en microbalanzas de cuarzo o sensores de nanopartículas de oro. En principio, cada uno de estos detectores se puede adaptar a compuestos particulares, de modo que se pueda alcanzar la detección de VOC específicos de la enfermedad. En la literatura, la respuesta de las narices electrónicas cuando se exponen al aire exhalado se conoce típicamente como la huella de la respiración (34).

La principal particularidad que caracteriza a dichos sensores es su capacidad para reaccionar ante diferentes sustancias y, posteriormente, volver a su estado original para poder identificar más compuestos. Esto no solo permite detectar los VOC presentes en una muestra con una gran sensibilidad y especificidad, sino que además, da la posibilidad de utilizar los sensores numerosas veces, requisito indispensable para su aplicación en la clínica.

Sensores utilizados en las e-nose

Sensores colorimétricos

Sensores de gases poliméricos

Sensores de microbalanza de cuarzo (QMB)

Sensores de óxidos metálicos (MOS)

Sensores de nanopartículas de oro (GNP)

- Conjunto de sensores colorimétricos: están constituidos por compuestos químicamente sensibles que, cuando interactúan con algunos productos químicos, cambian de color.
- Sensores de gases poliméricos conductores: su principio de funcionamiento es un cambio en la resistencia de los sensores basado en la absorción de los gases en su superficie. El sensor más común es la Cyranose[®] 320.
- Conjunto de sensores de microbalanza de cuarzo (QMB): estos sensores están constituidos por cristales de cuarzo cubiertos por metaloporfirinas específicas. Los VOC son adsorbidos por las metaloporfirinas, lo que cambia la masa del cristal de cuarzo y su frecuencia de oscilación, cambio que se traduce en la presencia de unos VOC concretos.
- Sensores de óxido de metal (MOS): sensores compuestos por un tubo de soporte cerámico recubierto con SnO₂. La interacción entre las moléculas de gas y la superficie provoca un cambio en la conductividad del sensor. Estos sensores se caracterizan por una alta sensibilidad y tiempos de recuperación

rápidos, pero tienen la principal desventaja de que trabajan a temperaturas muy altas, de 200°C a 450°C aproximadamente. Es por esto, que conllevan un gran consumo energético, lo que limita su utilización como sensores portátiles.

- Conjunto de sensores de nanopartículas de oro: se trata de un conjunto de sensores constituido por nanopartículas de oro recubiertas con diferentes compuestos. Estos sensores, cuando se exponen al aire, cambian sus propiedades eléctricas de acuerdo con los VOC presentes en el aliento.

4.1.2.5. Olfato canino

Los perros tienen un sistema olfatorio muy desarrollado, capaz de oler diversos compuestos y de diferenciarlos entre sí. Son varios los ejemplos en los que perros han sido capaces de detectar ciertos tipos de cáncer en personas, por lo que con un entrenamiento adecuado, podrían ser útiles para la detección de cáncer en el aliento, la orina, o la piel de los pacientes (34).

El sistema diagnóstico ideal

Usa técnicas de análisis muy sensibles

Combina VOC de diferentes sensibilidades y especificidades

Incorpora un sistema de análisis inteligente

Lo ideal sería crear un sistema capaz de retroalimentarse, de forma que cuantas más muestras analizara, mejor afinara el diagnóstico

4.2. VOC EN DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE PULMÓN

En este segundo gran apartado de nuestro trabajo recopilamos los resultados publicados en los últimos años. Nos ha parecido oportuno organizarlo en cinco subapartados.

En primer lugar se analiza la sensibilidad y especificidad de los diferentes VOC utilizados para el diagnóstico de existencia de las neoplasias malignas de pulmón.

A continuación presentamos los datos obtenidos sobre la aplicación del análisis de VOC espirados en el ámbito del diagnóstico diferencial de patología pulmonar, así como en el seguimiento de pacientes intervenidos por cáncer de pulmón y en los programas de “screening” de esta patología.

En el último subapartado comentamos los pasos que se están dando ahora mismo para convertir el análisis de VOC en una herramienta clínica de uso general.

4.2.1. Diagnóstico de existencia

El aire espirado contiene más de 3500 sustancias diferentes, de las cuales, la mayoría son VOC en concentraciones mínimas. Muchos de estos VOC se originan de diferentes estímulos fisiopatológicos, cambios genéticos y factores medioambientales; sin embargo, cambios importantes en la concentración de los mismos, puede ser indicio de patología pulmonar (40).

En vista de la amplia variedad de detectores disponibles así como de VOC identificables, son muchos los estudios que se han propuesto comprobar qué compuestos sufren cambios en su concentración, dependiendo de la existencia de patología pulmonar benigna o maligna, con el objetivo de emplear el análisis del aliento como método diagnóstico eficaz (41).

En 2013, se publicó que diversos VOC, detectados mediante técnicas de espectrometría de masas con electrospray, aumentaban significativamente su concentración en el aire exhalado de pacientes con cáncer de pulmón. En concreto, Xiao-An Fu *et al.* vieron que tanto la 2-butanona, como la 3-hidroxi-2-butanona, el 2-hidroxiacetaldehído y el 4-hidroxihexanal aumentaban su concentración en pacientes con neoplasia pulmonar maligna. Llegaron a precisar más, asegurando que la 2-butanona aparecía en cantidades mucho mayores en los pacientes en estadio II que en los de estadio I. Incluso propusieron que el 4-hidroxihexanal tenía utilidad a la hora de distinguir el carcinoma escamoso del adenocarcinoma y de otros carcinomas no microcíticos, y que el 4-hidroxinonenal y el $C_5H_{10}O$ ayudaban a

identificar pacientes con cáncer microcítico, diferenciándolo así del cáncer de células no pequeñas (41).

Machado *et al.* consiguieron detectar tumores pulmonares malignos en 14 pacientes empleando la nariz electrónica Cyranose® 320, con una sensibilidad del 71,4% y una especificidad del 91,9% (42).

Otras narices electrónicas empleadas en el análisis de muestras de aliento han sido las basadas en sensores colorimétricos. Mazzone *et al.*, utilizando este tipo de equipo, han referido sensibilidades y especificidades del 73,3% y del 72,4% en el diagnóstico del cáncer pulmonar (43). Por otro lado, Huo *et al.* encontraron que seis VOC (decano, undecano, hexanal, heptanal, benceno y 1,2,4-trimetilbenceno) demostraron tener utilidad en el screening de neoplasias pulmonares malignas (44).

Por último, utilizando narices electrónicas basadas en sensores de microbalanza de cuarzo, Di Natale *et al.* obtuvieron una sensibilidad del 100% y una especificidad del 94% en la detección del cáncer pulmonar (45).

Gracias a la gran cantidad de estudios que se ha ido realizando al respecto, se han podido identificar los VOC con mayor relevancia clínica en cuanto al diagnóstico del cáncer de pulmón, así como el método de análisis con mayor éxito para cada caso. Tanto es así que con algunos de los compuestos, detectados de manera individual, se ha llegado a obtener unas cifras elevadas, tanto de sensibilidad como de especificidad en el diagnóstico de la patología pulmonar maligna. Así lo refieren David D.Y. Chen *et al.*, en una revisión en la que tuvieron en cuenta los VOC analizados desde 1999 hasta 2017 (40).

Existen diversos compuestos que presentan una alta sensibilidad en el diagnóstico de neoplasias malignas de pulmón, llegando en algunos casos a una sensibilidad del 100%. Entre ellos podemos señalar el 1,2,4-trimetilbenceno, el 2,4-dimetilheptano, el benceno, el decano, el heptanal, el hexanal, el propilbenceno, el estireno, el undecano y el ciclohexano. Sin embargo, la mayoría de ellos, al presentar una sensibilidad tan alta, disponen de una especificidad algo menor. Es precisamente por ello, que su uso podría estar más dirigido a técnicas de screening (40).

En cambio, existen otros VOC que sí presentan especificidades altas, como el octano, el pentano, el estireno y el tolueno. En este sentido, un estudio realizado a 72

pacientes (44 con cáncer de células no pequeñas y cinco con cáncer microcítico) concluyó que el 1-octeno es de gran utilidad para diferenciar los nódulos pulmonares malignos de los benignos (40).

Es destacable también el caso del estireno, pues dependiendo de las técnicas que se empleen para su detección, se puede utilizar bien como método de cribado o bien para confirmar malignidad. En concreto, mediante el empleo de GC-MS, se obtiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 81,3%, mientras que si se utilizan técnicas de microextracción en fase sólida, se aumenta la especificidad a expensas de disminuir la sensibilidad obteniendo unos valores de 100% y 70%, respectivamente (40).

Ya se ve que confiar en un único VOC o en un único punto de corte tiene importantes limitaciones. Quizás la combinación de varios VOC con diferentes “ventanas” podría aportar una herramienta diagnóstica más precisa.

Se debe establecer un punto de corte para cada VOC:

Un punto de corte alto implica una gran especificidad, pero una menor sensibilidad

Un punto de corte bajo conlleva una alta sensibilidad a expensas de una baja especificidad

Otro enfoque para mejorar la seguridad diagnóstica del análisis de VOC es combinarlo con otra u otras pruebas diagnósticas. Así, en un estudio realizado por Erik Thunnissen *et al.*, señalan que el análisis del aliento mediante narices electrónicas, diferencia los pacientes que presentan cáncer pulmonar de los pacientes sanos, con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 48%. Sin embargo, cuando estas herramientas se combinan, por ejemplo, con la hipermetilación de RASSF1A, la sensibilidad alcanza el 100%, viéndose ligeramente disminuida la especificidad (46).

4.2.2. Capacidad de diagnóstico diferencial

La detección de varios compuestos volátiles mediante e-nose ha resultado ser capaz, no solo de diagnosticar con gran certeza la presencia de un cáncer de pulmón, sino también de descartar de manera fiable la existencia de cualquier variante de neoplasia pulmonar. En concreto, el análisis del aliento mediante Aeonose™ (que contiene tres sensores de óxido de metal producidos en serie) ha podido desestimar el diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas con una sensibilidad del 94,4%, una especificidad del 32,9%, un valor predictivo positivo del 58,1%, un valor predictivo negativo (VPN) del 85,7% y un área bajo la curva (AUC) de 0.76. En el mismo estudio, realizado con 308 pacientes (223 sospechosos de cáncer de pulmón, y 85 voluntarios sanos), en el caso del adenocarcinoma, la sensibilidad, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo y el AUC fueron 81,5%, 56,4%, 79,5% y 0,74, respectivamente, mientras que, para el carcinoma escamoso, estos números fueron 80,8%, 45,7%, 93,0% y 0,77, respectivamente. El carcinoma microcítico podría descartarse con una sensibilidad del 88,9% y un valor predictivo negativo del 96,8% con un AUC de 0,86 (47).

Sin embargo, la detección de los compuestos orgánicos volátiles no tiene como única aplicación la detección del cáncer, sino que también se puede emplear para realizar diagnóstico diferencial entre tumores y otras patologías pulmonares no neoplásicas. Tras analizar el aliento de 230 personas (174 con patología pulmonar intersticial, 23 con EPOC y 33 pacientes sanos), se estableció un algoritmo que demostró ser capaz de diferenciar entre pacientes controles y pacientes afectados por patología intersticial. Sin embargo, la Aeonose™ no obtuvo resultados favorables a la hora de diferenciar entre las diferentes patologías intersticiales, entre las que se incluyeron la neumonía citogenética, la fibrosis pulmonar idiopática y la patología intersticial asociada al tejido conectivo (48).

Así, Dragonieri *et al.* utilizaron la Cyranose® 320 para distinguir pacientes con cáncer y con EPOC. Por su parte, McWilliams *et al.* hicieron un trabajo similar para diferenciar a los pacientes con cáncer de los fumadores de alto riesgo (49).

4.2.3. Utilidad en el seguimiento tras la cirugía

Aparte de su uso en el diagnóstico del cáncer pulmonar, el análisis de los VOC también ha demostrado utilidad en el seguimiento de pacientes quirúrgicos, ayudando a detectar recidivas tumorales (50). Tanto es así que Broza *et al.*, en 2013, recogieron 51 muestras de aliento de pacientes antes y después de la resección pulmonar (51). El análisis GC-MS mostró que cinco VOC se redujeron significativamente después de la intervención quirúrgica. Los VOC analizados se atribuyeron al estrés oxidativo (tres VOC) y a carcinógenos exógenos (dos VOC). El estudio incluyó solo un pequeño número de pacientes y fue más bien un estudio de prueba de concepto, sin embargo, los resultados indican que los cambios en el patrón de respiración se pueden detectar no solo cuando hay cáncer, sino también después de su resección.

Actualmente, la monitorización de la respuesta al tratamiento se basa en tomografías computarizadas consecutivas. Sin embargo, los intervalos de tiempo entre las pruebas pueden ser demasiado largos para permitir la identificación temprana del fracaso del tratamiento. Nardi-Agmon *et al.*, en 2016, evaluaron el uso del análisis del aire exhalado por GC-MS y nanosensores para monitorizar la respuesta al tratamiento en 39 pacientes con cáncer de pulmón avanzado (52). Cuando se usó un análisis de sensor, hubo un 85% de éxito en el control de la enfermedad. Este estudio sugiere que las e-nose también tienen el potencial de ser un método rápido y simple para identificar la falta de respuesta a un tratamiento contra el cáncer y para impulsar la reevaluación del tratamiento.

Ese mismo año, van Berkel *et al.*, demostraron una reducción estadísticamente significativa en cuatro VOC diferentes en pacientes con cáncer pulmonar sometido a tratamiento quirúrgico (53). En concreto, apreciaron que las concentraciones de 2-butanona, 3-hidroxi-2-butanona, 2-hidroxiacetaldehído y 4-hidroxihexanal se redujeron en los pacientes cuyos tumores fueron resecados quirúrgicamente. Para ello, se recogieron muestras del aliento de 222 pacientes, entre los cuales 31 resultaron tener cáncer de pulmón confirmado histológicamente, cuatro enfermedad pulmonar benigna, y el resto, 187, eran participantes sanos que se consideraron como controles. Tras analizar las muestras de aire exhalado de todos ellos, se observó que

las concentraciones de los cuatro VOC mencionados eran claramente superiores en los pacientes con cáncer antes de la intervención, en comparación con los pacientes sanos. Asimismo, también se vio que dichas concentraciones disminuían significativamente tras pasar por quirófano. Sin embargo, los niveles de 3-hidroxi-2-butanona seguían siendo superiores con respecto a los hallados en los controles.

4.2.4. Utilidad en programas de screening

El cribado del cáncer de pulmón mediante radiografía de tórax y citología de esputo se ha probado en numerosos estudios en las últimas décadas, pero no resultó ser una herramienta de cribado eficaz, ya que no redujo la mortalidad específica por cáncer de pulmón. El interés en el cribado del cáncer de pulmón revivió después del sorprendente beneficio en la mortalidad demostrado por la tomografía computarizada de baja dosis (LDCT). Tal es así que hoy en día, en Estados Unidos, se recomienda el screening mediante LDCT en personas que tienen entre 55 y 80 años de edad, con antecedentes tabáquicos de 30 paquetes-año que todavía fuman o han dejado de fumar en los últimos 15 años (54).

Sin embargo, LDCT no está exenta de limitaciones, ya que conlleva la exposición de los pacientes a radiaciones ionizantes. Es por ello, que esta prueba de imagen no se recomienda como screening en pacientes que presenten bajo riesgo de padecer cáncer pulmonar (54).

En un estudio realizado con 167 personas (55), se recogió el aliento espirado durante 5 minutos y se trasladó para su evaluación mediante e-nose (Aeonose™). A partir de los resultados obtenidos del grupo de personas sanas (107) y las diagnosticadas de cáncer de pulmón (60), se elaboró un modelo de red neuronal artificial para distinguir las muestras de pacientes sanos de las de enfermos con cáncer pulmonar.

Al aplicar este modelo en un nuevo estudio con 93 personas sanas y 52 diagnosticadas de cáncer de pulmón se encontró que la Aeonose™ identificó las muestras procedentes de enfermos de cáncer con una sensibilidad del 83% y una especificidad del 84%.

Siguiendo esta misma idea, Schumer *et al.* observaron que, tras analizar las muestras de aliento de 415 participantes (149 tenían cáncer de pulmón y 47 tenían patología

pulmonar benigna), ciertos VOC (2-butanona, 3-hidroxi-2-butanona, 2-hidroxiacetaldehído y 4-hidroxihexanal) aparecían en concentraciones mayores en aquellos con patología maligna (56). De hecho, el grupo de cáncer de pulmón se dividió en enfermedad temprana (estadios 0, I y II) y avanzada (estadios III y IV), y las concentraciones medias de cada compuesto para cada grupo mostraron un aumento progresivo y estadísticamente significativo, empezando por el grupo control, y pasando por el grupo de pacientes con enfermedad benigna hasta llegar a aquellos que presentaban cáncer.

Un problema importante es definir qué elevación de un VOC es indicativa de patología. Ya que si consideramos elevaciones muy pequeñas la prueba será muy sensible pero poco específica, y si elevamos el dintel, ganaremos especificidad pero perderemos sensibilidad. Es decir, si el corte diagnóstico lo situamos para un compuesto orgánico volátil en una elevación sobre la media de la población igual a la desviación estándar la sensibilidad del diagnóstico alcanza el 95,5%. Sin embargo, si el corte lo situamos en una elevación igual a vez y media la desviación estándar, la sensibilidad desciende al 93,6%. Y si lo situamos en una elevación igual a dos veces la desviación estándar, entonces baja al 88,5% (56).

Asimismo, se ha visto que la sensibilidad está inversamente relacionada con el número de marcadores elevados de cáncer utilizados para definir un resultado positivo de cáncer (56).

Cuando se usan tres VOC, la sensibilidad disminuye, pero la especificidad aumenta al 100%. Por lo tanto, la especificidad está altamente y positivamente correlacionada con el número de marcadores de cáncer elevados, mientras que la sensibilidad es más alta en el punto de corte más bajo, con un marcador de cáncer elevado. Es por ello, que se baraja la posibilidad de emplear el análisis del aliento como primer método de screening, y en el caso de detectarse un VOC elevado hasta niveles sospechosos de malignidad, entonces realizar una tomografía computarizada (56).

4.2.5. Aplicabilidad clínica

A día de hoy, a pesar de la gran variedad de técnicas existentes para la detección de los VOC, ninguna de ellas se acepta como herramienta aplicable en la práctica

clínica para el diagnóstico de cáncer de pulmón. Son equipos y procesos demasiado aparatosos y complejos.

Los estudios clínicos publicados en los últimos dos o tres años contemplan, principalmente, dos métodos diagnósticos posibles: por un lado, las e-nose, y por el otro, el olfato canino.

Como ya se ha comentado, la ventaja de las narices electrónicas radica en que combinan en un equipo uno o varios detectores y componentes electrónicos que, gracias a diversos algoritmos, son capaces de interpretar los resultados obtenidos por los detectores. Con los perros ocurre algo similar que con las e-nose: gracias a su desarrollado olfato son capaces de diferenciar una gran variedad de sustancias diferentes, y con un correcto entrenamiento, pueden interpretar los compuestos olidos.

Tal y como se muestra en un estudio en el que participaron pacientes con cáncer de pulmón, pacientes con patología pulmonar benigna y sujetos sanos, el olfato canino y las narices electrónicas obtienen resultados no comparables en lo que al diagnóstico de patología maligna respecta (57). El olfato canino se plantea como una verdadera posibilidad en el diagnóstico de patología pulmonar maligna.

En dicho estudio se realizó un extenso trabajo metodológico en el que se tuvieron en cuenta la metodología de la toma de muestras y los materiales empleados para la misma, el entrenamiento de los perros y la posibilidad de encontrar factores de confusión. Los perros que participaron en el estudio fueron específicamente seleccionados y entrenados, y fueron capaces de diferenciar las muestras de aliento no cancerosas de las cancerosas (57).

Sin embargo, los resultados no fueron del todo satisfactorios, seguramente debido a la condición y la competencia individual de los perros y sus variaciones a lo largo del tiempo, a las influencias de los entrenadores en su trabajo, o a los materiales de transporte empleados. También descubrieron que el uso de materiales portadores de aliento que proporcionan una unión reversible de VOC, como máscaras de velcro y tubos llenos de vellón, y el manejo cuidadoso de las muestras contribuyeron a lograr una alta tasa de aciertos por parte de los perros, independientemente de posibles factores de confusión (57).

En el caso de las narices electrónicas, han demostrado, en diversas ocasiones, que son una herramienta con un alto potencial diagnóstico en el cáncer de pulmón. En el estudio anterior (57), los resultados obtenidos con la e-nose mostraron una clara diferenciación entre las muestras de aire exhalado de pacientes con patología maligna de las de aquellos que eran sanos o padecían EPOC. En este caso, con las muestras almacenadas durante un tiempo limitado en ciertos materiales portadores, en concreto el vellón, se obtuvieron unos resultados comparables a los obtenidos con las muestras de aliento que fueron directamente recolectadas.

Además, en el uso como método de screening, en comparación con el olfato canino, las narices electrónicas proporcionaron las ventajas de tiempos de calibración más cortos, mayor precisión diagnóstica, mayor reproducibilidad y mejor estandarización (57).

De hecho, en las últimas investigaciones, su sensibilidad y su especificidad en el diagnóstico rondan el 83% y el 84% respectivamente, tal y como demuestra un estudio en el que participaron 52 pacientes con cáncer pulmonar y 93 pacientes sanos (55). Además se plantea su uso junto con el LDCT, con el objetivo de reducir los falsos positivos, reduciendo así el sobrediagnóstico y el sobretratamiento.

En vista de la complejidad que supone en algunos casos la interpretación de los resultados obtenidos por los diferentes detectores, otras ramas científicas, diferentes a la medicina, se han interesado en el tema, con el fin de crear una red neuronal basada en inteligencia artificial para interpretar dichos resultados. Igualmente, se plantea la posibilidad de, al igual que ocurre con el olfato canino, conseguir que las narices electrónicas tengan un sistema de retroalimentación gracias al cual, a base de analizar muestras de aliento, la red neuronal vaya aprendiendo y vaya afinando el diagnóstico.

Al hilo de lo anterior, Sharina Kort *et al.* describen que el análisis de datos en las e-nose (en este caso en la Aeonose™) se basa principalmente en la generación de modelos de predicción que deben validarse interna y externamente antes de su uso en la práctica clínica (58). Este artículo describe el análisis de grandes datos, capturados por la nariz electrónica en cáncer de pulmón. Esto se realiza mediante la generación

de modelos de predicción con Aethena, un programa de análisis de datos desarrollado específicamente para analizar datos de VOC.

Dentro del ámbito médico, actualmente, se distinguen tres líneas de investigación:

- Diferenciación de subtipos tumorales (47): como ya se ha descrito en el apartado “4.2.2. Capacidad de diagnóstico diferencial”, la nariz electrónica Aeonose™ presenta un valor predictivo negativo muy alto para algunos subtipos de cáncer de pulmón, aunque no para todos. Sin embargo, los pacientes que han dado positivo para patología pulmonar, deberían someterse a más pruebas complementarias.
- Predicción de respuesta al tratamiento (59): ya se ha hablado, en el apartado “4.2.3. Utilidad en el seguimiento tras la cirugía”, sobre la disminución en las concentraciones de ciertos VOC en pacientes con neoplasias pulmonares malignas que se han sometido a tratamiento quirúrgico.

Un estudio más reciente, publicado en septiembre de 2019, profundiza sobre la predicción de la respuesta a tratamiento inmunoterápico con anti-PD-1 en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico. Demuestra que mediante una nariz electrónica compuesta por sensores de óxidos de metal (MOS), se puede predecir si el subtipo histológico que presenta el paciente, va a responder al tratamiento con anti-PD-1, clasificando dicha respuesta en tres grados diferentes.

- Aplicación a otras patologías: cuando se empezó a investigar acerca de la utilidad de los VOC en el cáncer de pulmón, rápidamente se vio que factores como el tabaquismo influían en los niveles de VOC que exhalaban los pacientes. Además, también se observó que los niveles de VOC eran diferentes en pacientes con cáncer de pulmón, en pacientes con EPOC y en sujetos sanos.

Siguiendo esta misma línea, recientemente se han publicado trabajos de investigación sobre la asociación de la tuberculosis con los niveles de concentración de compuestos orgánicos volátiles en el aliento de los pacientes. En su estudio, Tjip S. van der Werf *et al.* concluyeron que mediante el empleo de narices electrónicas, se puede llegar al diagnóstico de TBC pulmonar con una sensibilidad próxima al 80%, y una especificidad

cercana al 50% (60). Estas cifras son algo modestas, por lo que recalcan la necesidad de realizar una mejor calibración, para obtener una precisión mayor.

VOC en cáncer de pulmón a día de hoy:

Potencial implementación en la práctica clínica habitual de las e-nose y el olfato canino

Resaltar la importancia del manejo de las muestras

Creación de redes neuronales por parte de especialidades ajenas a la medicina

Investigaciones en curso: diferenciación de subtipos tumorales, predicción de respuesta al tratamiento y aplicación en otras patologías

4.3. VOC EN DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE COLON

Este tercer apartado de nuestros resultados sigue exactamente la misma estructura utilizada previamente para exponer el estado actual del uso de VOC en el diagnóstico del cáncer de pulmón: sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de existencia, utilidad en el diagnóstico diferencial, control de evolución, y screening, cerrando con las orientaciones más recientes en el intento de convertirlo en una realidad de uso clínico.

4.3.1. Diagnóstico de existencia

Son bien conocidas las alteraciones inducidas por las células cancerosas en las diferentes rutas metabólicas del organismo, tema abordado con mayor profundidad en el apartado “1.3. VOC en medicina”.

Dichas modificaciones, al igual que en el caso del cáncer pulmonar, producen la liberación de diferentes VOC, que detectados por las herramientas adecuadas e

interpretados mediante los algoritmos oportunos, podrían emplearse para el diagnóstico de cáncer de colon.

Una de las formas en las que se propone detectar la presencia de estos VOC es el análisis de muestras de aire espirado. La mayoría de los estudios publicados han analizado estas muestras con técnicas de GC-MS. Uno de los primeros grupos de trabajo centrados en el diagnóstico del cáncer de colon a través del aliento encontró que la acetona, el etil-acetato, el etanol y el 4-metiloctano se encontraban en concentraciones anormales en pacientes con esta neoplasia (61). Centrándose en ellos, llegaron a un diagnóstico de existencia con una sensibilidad del 85%, una especificidad del 94% y una precisión del 91%. En concreto, tras estudiar 418 muestras de 65 pacientes con cáncer de colon, 22 pacientes con adenomas y 122 controles, comprobaron que la acetona y el etil-acetato estaban presentes en concentraciones significativamente elevadas en pacientes con cáncer, mientras que el etanol y el 4-metiloctano veían disminuidos sus niveles en estos mismos pacientes.

Otra forma de detectar los VOC en un paciente con neoplasia maligna de colon es el análisis de las heces. Esta técnica tiene unos resultados muy prometedores, tal y como aseguran Chris Probert *et al.* (62). Este grupo analizó la presencia de VOC en las heces de 137 personas mediante GC-MS (60 sanos, 56 pacientes con pólipos adenomatosos y 21 pacientes con adenocarcinoma de colon). Concluyeron que el propan-2-ol estaba más presente en los casos de adenocarcinoma, de manera estadísticamente significativa. Además, cuando la presencia de este VOC se asociaba con la presencia de ácido 3-metilbutanoico la sensibilidad y la especificidad para el diagnóstico de malignidad se elevaban hasta el 87,9% y el 84,6% respectivamente. También comprobaron que en los pacientes que presentaban tres VOC elevados (en concreto el propan-2-ol, el hexan-2-ona y el etil-3-metilbutanoato) la probabilidad de presentar cáncer era seis veces superior.

Para finalizar, el estudio de VOC en la orina también ha demostrado resultados satisfactorios en la detección del cáncer de colon. Se ha observado que los pacientes con dicha patología presentan, al igual que en el caso del aliento o de las heces, un perfil urinario de VOC diferente al de los pacientes sanos (61). Sin embargo, la “huella urinaria” no es tan precisa como la fecal o la del aliento. A pesar de ello, no

se ha descartado la utilidad de la orina en el diagnóstico de neoplasias malignas de colon.

M. McFarlane *et al.* aseguran que existe evidencia suficiente para poder afirmar que los VOC urinarios tienen un potencial razonable de cara a, en un futuro próximo, distinguir los pacientes con cáncer de colon de personas sanas o con otras patologías (61). Además, la mala aceptación de las pruebas de heces hace que las pruebas diagnósticas basadas en la orina adquieran una posición ventajosa. Por otra parte, la tecnología actual está mejorando y en el futuro debería ser posible detectar señales específicas de cáncer en la orina con mayor sensibilidad y especificidad.

4.3.2. Capacidad de diagnóstico diferencial

Al igual que el cáncer de colon, otras patologías gastrointestinales, también requieren técnicas invasivas para su diagnóstico. Es por ello que algunas revisiones, como la realizada por George B. Hanna *et al.*, iban enfocadas no solo a analizar la utilidad de los VOC como herramienta de diagnóstico del cáncer de colon, sino que también se centraban en valorar su capacidad de diferenciar la patología maligna de otras afecciones gastroenterocolónicas (63).

Esa revisión recoge y analiza los datos de 11 artículos, que en conjunto suponen 934 pacientes con diferentes patologías digestivas: enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celíaca, cáncer gastroesofágico y colorrectal, etc (63).

Apoyándose en el análisis de estos trabajos concluyen que en el aliento de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal existe una elevación estadísticamente significativa de los niveles de alcanos, con respecto a los casos controles. Además, dicho incremento está relacionado con el grado de actividad inflamatoria; es decir, cuanto más activa está la enfermedad, mayores son las concentraciones del compuesto en el aire exhalado. De entre los alcanos estudiados, los que han resultado más relacionados con la enfermedad inflamatoria intestinal han sido el etano y el pentano; el primero se correlaciona con el nivel de sintomatología, y el segundo resulta más significativo para el diagnóstico de existencia (63).

En lo que al cáncer de colon respecta, se comprobó que en el aire exhalado de estos pacientes existían VOC claramente diferentes a los presentes en el aliento de

personas sanas. De hecho, en algunos estudios se han obtenido sensibilidades y especificidades bastante elevadas, de hasta el 91% y el 99%. Los VOC más representativos son el decanal, el 1,2-pentadieno, el ciclohexano, el metilciclohexano y el 1,3-dimetilbenceno. Sin embargo, debido a que en los diversos estudios publicados se han analizado VOC diferentes, no es posible establecer una combinación de compuestos que permita un diagnóstico de certeza (63).

En cuanto a la enfermedad celíaca, inicialmente se obtuvieron unos resultados muy prometedores, ya que se observó una disminución en la concentración de metanol en estos pacientes, comparado con personas sanas. Sin embargo, cuando se procedió a analizar los niveles de este alcohol en el ambiente, se vio que este compuesto también estaba menos presente en el ambiente de los sujetos con celiaquía. Es decir, no se consiguió correlacionar la disminución de los niveles de metanol con la enfermedad celíaca (63).

Poniendo el foco en el tramo superior del aparato digestivo, se ha descrito la aplicabilidad del análisis de VOC en diversas patologías. De hecho, la medición de VOC en el aliento de pacientes se ha propuesto como alternativa a la biopsia gástrica y a la prueba del aliento establecidas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, ya que se ha visto que la presencia de esta bacteria aumenta los niveles de isobutano, de etil-acetato y de 2-butanona, tal y como demostraron Ulanowska *et al.* en su estudio (64).

Considerando que la infección por *H. Pylori* es un factor de riesgo para el cáncer gástrico, también se ha investigado acerca de la posibilidad de diagnosticar neoplasias malignas digestivas altas mediante la medición de compuestos orgánicos volátiles en el aire exhalado. Los resultados obtenidos por Xu *et al.* avalan la idea de que los VOC espirados son diferentes en los pacientes con cáncer de estómago respecto a los pacientes sanos (65). Sin embargo, esto no es todo, ya que estudios más amplios, como el llevado a cabo por Kumar *et al.*, especifican que cuatro VOC en concreto (ácido hexanoico, fenol, metilfenol y etilfenol) tienen la capacidad de diferenciar, con gran exactitud, entre los pacientes con cáncer gastroesofágico y gastrointestinal, y los controles (66).

Profundizando más en el cáncer de colon, el análisis de los VOC también permite diferenciarlo de los adenomas de colon. Los adenomas son una patología muy frecuente en nuestro medio que puede cursar con prueba de sangre oculta en heces positiva, lo que conlleva la realización de pruebas invasivas como la colonoscopia. Debido a esto, la posibilidad de diferenciar los adenomas de la patología maligna podría suponer un menor uso de estas pruebas invasivas, con la consiguiente disminución de la morbilidad iatrogénica (67).

Así lo confirman E. Mozdiak *et al.*, quienes llevaron a cabo un estudio con 163 pacientes divididos en tres grupos: un grupo de pacientes con cáncer de colon, otro grupo de pacientes con adenomas, y otro grupo de controles sanos (67). En este caso, tomaron muestras de orina y analizaron la presencia de VOC mediante GC-IMS. Mediante esta técnica consiguieron diferenciar a los pacientes con cáncer de los sanos con una AUC de 0,82, y a los pacientes con patología maligna de los pacientes con adenomas con una AUC entre 0,83 y 0,92. Sin embargo, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con adenomas y los controles.

VOC no solo en cáncer colorrectal:

Enfermedad inflamatoria intestinal

Enfermedad celíaca

Infección por H. pylori

Adenomas de colon

4.3.3. Utilidad en el seguimiento tras la cirugía

Al igual que sucede con el cáncer de pulmón, los VOC no solo sirven para el diagnóstico de cáncer de colon, sino que también han demostrado utilidad en la valoración de la respuesta al tratamiento quirúrgico. Dichos VOC, en pacientes con cáncer, están presentes en niveles elevados con respecto a la normalidad, y tras la

cirugía, disminuyen sus concentraciones. Es por ello que la medida de estos compuestos a lo largo del tiempo es un buen indicador de respuesta al tratamiento, resultando de gran utilidad para identificar recidivas.

En la revisión que hemos llevado a cabo, tan solo hemos encontrado un artículo que se ocupe de la utilidad del análisis de VOC en el seguimiento de pacientes intervenidos por cáncer de colon. En dicho estudio, llevado a cabo por Donato F. Altomare *et al.*, incluyeron a 103 pacientes (48 con cáncer de colon y 55 controles sanos) a los que les recogieron muestras de aliento (68). Dichas muestras se analizaron mediante técnicas de GC-MS y de los diferentes compuestos detectados, se seleccionaron 11, con los cuales se elaboró una red neuronal para interpretar los resultados.

Esos 11 VOC demostraron un excelente desempeño a la hora de discriminar pacientes libres de enfermedad en el seguimiento postquirúrgico, con una sensibilidad del 100%, una especificidad del 97,92%, una precisión del 98,75%, y una AUC de 1. Ese mismo conjunto de compuestos demostró ser capaz de diferenciar a los pacientes en seguimiento, de los controles sanos, con una sensibilidad, una especificidad, una precisión y una AUC del 100%, 90,91%, 94,25% y 0,959 respectivamente (68).

Es decir, Donato F. Altomare *et al.* demostraron que el patrón de VOC exhalados de pacientes afectos de cáncer de colon se modifica tras la cirugía (68). Este hecho confirma, por un lado, la utilidad del análisis de los compuestos orgánicos volátiles en el seguimiento de los pacientes, y por otro lado, la estrecha relación entre el metabolismo tumoral y los VOC presentes en el aliento. Es por ello que el análisis mediante esta red neuronal proporciona una herramienta altamente discriminadora para identificar a los pacientes libres de enfermedad después del tratamiento quirúrgico, lo que sugiere implicaciones en la prevención secundaria.

4.3.4. Utilidad en programas de screening

El cáncer de colon, a nivel mundial, es el tercero en incidencia en ambos sexos, superado únicamente por el cáncer de pulmón y el cáncer de mama. En España, en cambio, es la neoplasia maligna más frecuente, tanto en hombres como en mujeres,

seguido por el cáncer de próstata en hombres y el de mama en mujeres. Estas prevalencias e incidencias tan elevadas indican, claramente, la necesidad de técnicas de screening apropiadas para conseguir un diagnóstico precoz, con el fin de obtener un pronóstico mejor gracias a tratamientos más precoces.

Hoy en día, la colonoscopia con toma de biopsias es la herramienta de elección para su diagnóstico, pero debido a que se trata de una prueba invasiva, no es apta como método de despistaje. Es por ello que, se emplea la detección de sangre oculta en heces, como método de screening en mayores de 50 años. Sin embargo, esta técnica presenta un gran inconveniente, ya que su especificidad es bastante baja, especialmente en el caso de los pólipos (69).

Por todo esto, se ha puesto el ojo en métodos que presenten una sensibilidad muy elevada, tanto como la sangre oculta en heces, pero que a su vez tengan una alta especificidad. Con este enfoque, diversos estudios han propuesto la utilización de técnicas de GC-MS para analizar muestras de aire exhalado de los pacientes (69).

Siguiendo esta idea, en 2016, Donato F. Altomare *et al.* llevaron a cabo un estudio con 45 pacientes divididos en tres grupos de 15 personas (69). Un grupo estaba compuesto por pacientes con adenocarcinoma colorrectal, otro por pacientes con pólipos adenomatosos benignos mayores a 1cm de diámetro, y otro por sujetos sanos con colonoscopia negativa. Sus muestras de aliento se analizaron con la nariz electrónica PEN3, una e-nose compacta y muy portable con sensores de óxidos de metal.

Crearon un algoritmo que detectaba con una sensibilidad del 93,33% los pacientes afectados con cáncer. Sin embargo, su especificidad era de apenas el 10%. En cuanto a los controles sanos, la sensibilidad resultó ser del 0%, y la especificidad del 100%, mientras que en los pacientes con pólipos de carácter benigno, la sensibilidad y la especificidad fueron del 20% y del 96,67% respectivamente (69).

En este estudio, por tanto, no se pudo discriminar con exactitud entre los tres grupos de participantes. Sin embargo, concluyen asegurando que la creación de una nariz electrónica compuesta por sensores específicos para identificar los VOC involucrados en el metabolismo del cáncer de colon, tiene un futuro muy prometedor como método de screening fiable y no invasivo (69).

4.3.5. Aplicabilidad clínica

Para que las técnicas de las que hemos venido hablando puedan tener una aplicabilidad clínica amplia, resulta imprescindible que la recogida de muestras sea sencilla y sin requerir complejos aparatajes. Si no, su uso seguirá restringido a pequeños grupos pioneros.

Los estudios más recientes señalan que mientras los tiempos de espera entre la recolección y el análisis de las muestras de aliento sean reducidos, las técnicas de MS resultan idóneas para el diagnóstico del cáncer de colon a gran escala, ya que mantienen una alta sensibilidad (70). De hecho, recalcan que las muestras de aliento podrían recogerse en múltiples centros sanitarios, tal y como se procede con las analíticas sanguíneas. Asimismo, se recomienda analizar dichas muestras con técnicas de MS combinadas con PTR o SIFT.

Además del análisis del aire exhalado, estudios realizados durante el último año se han centrado en el análisis de los compuestos orgánicos volátiles presentes en las heces. Una revisión realizada en diciembre de 2018 encontró grandes dificultades para comparar los resultados entre los diferentes estudios debido a que las técnicas utilizadas para el análisis de las heces eran muy dispares. No obstante, sí que observaron que se repetía bastante el hallazgo de niveles aumentados de aminoácidos y ácidos grasos de cadena corta, así como niveles disminuidos de ácidos biliares y polioles en la fase gaseosa de las heces (71). Además de estos VOC, también cabe destacar los ya mencionados en el apartado “4.3.1. Diagnóstico de existencia”: propan-2-ol, ácido 3-metilbutanoico, hexan-2-ona y etil-3-metilbutanoato.

En estos momentos los estudios más recientes están orientados a perfilar el medio óptimo de recogida y transporte de muestras, junto a definir perfiles exactos de varios VOC que ofrezcan alta sensibilidad y especificidad al combinarlos. Además, como se señalaba en el apartado de cáncer de pulmón, se apuesta mucho por sistemas electrónicos de análisis dotados de IA que permiten ir afinando el análisis mediante el autoaprendizaje.

5. DISCUSIÓN

La gran cantidad de publicaciones encontradas acerca del análisis de los VOC como método diagnóstico del cáncer de pulmón y del cáncer de colon, deja clara la actualidad del tema de este TFG. Debido a la investigación que se está llevando a cabo hoy día al respecto, cada vez está más clara su potencial utilización en la práctica clínica. Es, precisamente, este interés clínico el que ha motivado la realización de esta revisión bibliográfica.

La búsqueda la hemos realizado bajo una visión holística del tema, seleccionando los artículos que mejor engloban la aplicabilidad de la detección de los VOC en el medio sanitario, aunque incluyendo también algunas prácticas en animales e investigaciones *in vitro*. Nos hemos centrado en el ámbito oncológico principalmente, en el cáncer de pulmón y en el cáncer de colon particularmente, dejando a un lado otras neoplasias de carácter maligno, y haciendo una breve mención de patologías benignas del aparato respiratorio y del tracto digestivo.

A día de hoy, existe evidencia científica que respalda las técnicas diagnósticas más empleadas en las neoplasias de pulmón y de colon. En el caso del pulmón, el diagnóstico de sospecha se suele realizar mediante la visualización de imágenes sospechosas en pruebas de imagen como la radiografía de tórax o la tomografía axial computarizada torácica, y para el diagnóstico definitivo se suele requerir una muestra histológica obtenida por biopsia bronquial o transbronquial (54). Para el cáncer de colon, está establecido el screening con el test de sangre oculta en heces, que en caso de ser positivo, es indicación de la realización de colonoscopia con toma de biopsias para el diagnóstico definitivo (67,69). Pero, gracias a las investigaciones realizadas en el campo de los VOC, cada vez se ve más probable la inclusión de los mismos en los algoritmos diagnósticos de estas patologías (36,57).

Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de investigaciones realizadas, la mayoría de los autores señalan que, uno de los principales impedimentos para su inmediata instauración en el ámbito médico es la dificultad de definir un conjunto concreto de compuestos con una sensibilidad y una especificidad lo suficientemente elevadas

como para llegar a un diagnóstico de certeza, con unas tasas de falsos negativos y de falsos positivos mínimas (34,49,54,67,71).

Importancia de los VOC actualmente:

Gran variedad de investigaciones en el ámbito médico

Tanto *in vivo* como *in vitro*

Posibilidad de sustituir técnicas con respaldo científico como la colonoscopia, la tomografía computarizada o el análisis histológico

Falta de acuerdo entre investigaciones para seleccionar unos VOC en concreto

En relación con esto último, uno de los obstáculos contra el que hemos topado a la hora de realizar esta revisión ha sido la disparidad de resultados y conclusiones existente entre los diferentes estudios. Aunque la gran mayoría de ellos se centren en los mismos VOC, los analicen empleando las mismas técnicas, y obtengan unos resultados comparables, hemos encontrado muchos artículos que estudian compuestos orgánicos volátiles totalmente diferentes, con resultados tanto semejantes como distintos a los de los demás estudios.

Es por ello que, aunque los primeros trabajos con evidencia científica en relación con este tema se daten en la segunda mitad del siglo 20, con los trabajos de Pauling *et al.* como principales representantes, aún hoy se sigue recomendado la realización de más investigaciones para poder elaborar un algoritmo diagnóstico lo suficientemente preciso (4,48,49,54).

6. CONCLUSIONES

Los resultados expuestos en la presente revisión nos permiten concluir que:

- El análisis de los VOC exhalados ha demostrado ser una herramienta con potencial diagnóstico en el cáncer de pulmón, así como tener la capacidad de diferenciar los subtipos tumorales y de descartar patologías de carácter benigno como patologías pulmonares intersticiales, la EPOC y la tuberculosis.
- Otras de las aplicaciones en el ámbito de la oncología del aparato respiratorio son el control y la predicción de respuesta al tratamiento quirúrgico, y el empleo en programas de screening, como paso previo a la tomografía computarizada de baja dosis.
- Para el cáncer de colon, la detección de los VOC en las diferentes muestras biológicas permite un diagnóstico de certeza, siendo el estudio del aliento el que mejor perfil ha demostrado, pero con el análisis de la orina y de las heces con resultados prometedores.
- Diversas patologías digestivas benignas y malignas también pueden ser diagnosticadas mediante el análisis de los VOC presentes en el aliento, destacando entre las enfermedades estudiadas: la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad celíaca, la infección por *H. pylori*, los adenomas colónicos y el cáncer gastroesofágico.
- Asimismo, se han podido detectar los cambios cuantitativos y cualitativos que experimentan los VOC presentes en el aliento de los pacientes con neoplasias colónicas sometidos a cirugía. Sin embargo, aunque se prevé de utilidad, la detección de los VOC no ha podido desbancar al test de detección de sangre oculta en heces en los programas de cribado.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Sánchez Montero JM, Alcántara León AR. Compuestos orgánicos volátiles en el medio ambiente. Monografía de la Real Academia Nacional de Farmacia [Internet]. 2007;XXII:375-401. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/605/622>
2. Compuestos orgánicos volátiles - Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. [citado 7 de diciembre de 2018]. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Compuestos_organicos_volatiles
3. Mazzone PJ. Analysis of volatile organic compounds in the exhaled breath for the diagnosis of lung cancer. *J Thorac Oncol* [Internet]. 2008;3(7):774-80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1097/JTO.0b013e31817c7439>
4. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. octubre de 1971;68(10):2374-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5289873>
5. Gordon SM, Szidon JP, Krotoszynski BK, Gibbons RD, O'Neill HJ. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin Chem*. agosto de 1985;31(8):1278-82.
6. O'Neill HJ, Gordon SM, O'Neill MH, Gibbons RD, Szidon JP. A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer. *Clin Chem*. agosto de 1988;34(8):1613-8.
7. Phillips M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Anal Biochem*. mayo de 1997;247(2):272-8.
8. Phillips M, Gleeson K, Hughes JM, Greenberg J, Cataneo RN, Baker L, et al. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *Lancet (London, England)*. junio de 1999;353(9168):1930-3.
9. Phillips M, Cataneo RN, Cummin ARC, Gagliardi AJ, Gleeson K, Greenberg J, et al. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath. *Chest*. junio de 2003;123(6):2115-23.
10. Poli D, Carbognani P, Corradi M, Goldoni M, Acampa O, Balbi B, et al. Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study. *Respir Res* [Internet]. 14 de julio de 2005;6(1):71. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16018807>
11. Phillips M, Altorki N, Austin JHM, Cameron RB, Cataneo RN, Greenberg J, et al. Prediction of lung cancer using volatile biomarkers in breath. *Cancer Biomark*. 2007;3(2):95-109.
12. Krilaviciute A, Heiss JA, Leja M, Kupcinskas J, Haick H, Brenner H. Detection of cancer through exhaled breath: a systematic review. *Oncotarget* [Internet]. 17 de noviembre de 2015;6(36):38643-57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26440312>
13. Buszewski B, Keszy M, Ligor T, Amann A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed Chromatogr*. junio de 2007;21(6):553-66.

14. Horváth I, Lázár Z, Gyulai N, Kollai M, Losonczy G. Exhaled biomarkers in lung cancer. *Eur Respir J* [Internet]. 1 de julio de 2009;34(1):261 LP - 275. Disponible en: <http://erj.ersjournals.com/content/34/1/261.abstract>
15. van de Kant KDG, van der Sande LJTM, Jobsis Q, van Schayck OCP, Dompeling E. Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: a systematic review. *Respir Res*. diciembre de 2012;13:117.
16. Ligor M, Ligor T, Bajtarevic A, Ager C, Pienz M, Klieber M, et al. Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(5):550-60.
17. Song G, Qin T, Liu H, Xu G-B, Pan Y-Y, Xiong F-X, et al. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients. *Lung Cancer*. febrero de 2010;67(2):227-31.
18. Poli D, Goldoni M, Corradi M, Acampa O, Carbognani P, Internullo E, et al. Determination of aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer by means of on-fiber-derivatisation SPME-GC/MS. *J Chromatogr B, Anal Technol Biomed life Sci*. octubre de 2010;878(27):2643-51.
19. Fuchs P, Loeseken C, Schubert JK, Miekisch W. Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer. *Int J cancer*. junio de 2010;126(11):2663-70.
20. Jareño-Esteban JJ, Muñoz-Lucas MÁ, Carrillo-Aranda B, Maldonado-Sanz JÁ, de Granda-Orive I, Aguilar-Ros A, et al. Estudio de compuestos orgánicos volátiles en aire exhalado en una población clínicamente sana: efecto del tabaquismo. *Arch Bronconeumol*. 2013;49(11):457-61.
21. Haick H, Broza YY, Mochalski P, Ruzsanyi V, Amann A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev* [Internet]. 2013/12/04. 7 de marzo de 2014;43(5):1423-49. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24305596>
22. Ehmann R, Boedeker E, Friedrich U, Sagert J, Dippon J, Friedel G, et al. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *Eur Respir J*. marzo de 2012;39(3):669-76.
23. Rocco G, Pennazza G, Santonico M, Longo F, Rocco R, Crucitti P, et al. Breathprinting and Early Diagnosis of Lung Cancer [Internet]. Vol. 13, *Journal of Thoracic Oncology*. International Association for the Study of Lung Cancer; 2018. 883-894 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.02.026>
24. Di Lena M, Porcelli F, Altomare DF. Volatile organic compounds as new biomarkers for colorectal cancer: a review. *Colorectal Dis*. julio de 2016;18(7):654-63.
25. Silva CL, Passos M, Camara JS. Investigation of urinary volatile organic metabolites as potential cancer biomarkers by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry. *Br J Cancer*. diciembre de 2011;105(12):1894-904.

26. Arasaradnam RP, McFarlane MJ, Ryan-Fisher C, Westenbrink E, Hodges P, Thomas MG, et al. Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis. *PLoS One*. 2014;9(9):e108750.
27. Westenbrink E, Arasaradnam RP, O'Connell N, Bailey C, Nwokolo C, Bardhan KD, et al. Development and application of a new electronic nose instrument for the detection of colorectal cancer. *Biosens Bioelectron*. mayo de 2015;67:733-8.
28. de Meij TG, Larbi I Ben, van der Schee MP, Lentferink YE, Paff T, Terhaar Sive Droste JS, et al. Electronic nose can discriminate colorectal carcinoma and advanced adenomas by fecal volatile biomarker analysis: proof of principle study. *Int J cancer*. marzo de 2014;134(5):1132-8.
29. Wang C, Li P, Lian A, Sun B, Wang X, Guo L, et al. Blood volatile compounds as biomarkers for colorectal cancer. *Cancer Biol Ther [Internet]*. 2013/11/01. febrero de 2014;15(2):200-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24100612>
30. Peng G, Hakim M, Broza YY, Billan S, Abdah-Bortnyak R, Kuten A, et al. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *Br J Cancer*. agosto de 2010;103(4):542-51.
31. Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, Trizio L, Travaglio E, Tutino M, et al. Exhaled volatile organic compounds identify patients with colorectal cancer. *Br J Surg*. enero de 2013;100(1):144-50.
32. Wang C, Ke C, Wang X, Chi C, Guo L, Luo S, et al. Noninvasive detection of colorectal cancer by analysis of exhaled breath. *Anal Bioanal Chem*. julio de 2014;406(19):4757-63.
33. Amal H, Leja M, Funka K, Lasina I, Skapars R, Sivins A, et al. Breath testing as potential colorectal cancer screening tool. *Int J cancer*. enero de 2016;138(1):229-36.
34. Marzorati D, Mainardi L, Sedda G, Gasparri R, Spaggiari L, Cerveri P. A review of exhaled breath: a key role in lung cancer diagnosis. *J Breath Res*. abril de 2019;13(3):34001.
35. Rudnicka J, Kowalkowski T, Ligor T, Buszewski B. Determination of volatile organic compounds as biomarkers of lung cancer by SPME-GC-TOF/MS and chemometrics. *J Chromatogr B, Anal Technol Biomed life Sci*. noviembre de 2011;879(30):3360-6.
36. Rudnicka J, Kowalkowski T, Buszewski B. Searching for selected VOCs in human breath samples as potential markers of lung cancer. *Lung Cancer*. septiembre de 2019;135:123-9.
37. Hua Q, Zhu Y, Liu H. Detection of volatile organic compounds in exhaled breath to screen lung cancer: a systematic review. *Future Oncol*. julio de 2018;14(16):1647-62.
38. Secondary electrospray ionization - Wikipedia [Internet]. [citado 19 de octubre de 2019]. Disponible en: https://en.wikipedia.org/wiki/Secondary_electrospray_ionization
39. Mass spectrometry - Wikipedia [Internet]. [citado 19 de octubre de 2019]. Disponible en: https://en.wikipedia.org/wiki/Mass_spectrometry
40. Zhou J, Huang Z-A, Kumar U, Chen DDY. Review of recent developments in determining volatile

- organic compounds in exhaled breath as biomarkers for lung cancer diagnosis. *Anal Chim Acta*. diciembre de 2017;996:1-9.
41. Fu X-A, Li M, Knipp RJ, Nantz MH, Bousamra M. Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath. *Cancer Med*. febrero de 2014;3(1):174-81.
 42. Machado RF, Laskowski D, Deffenderfer O, Burch T, Zheng S, Mazzone PJ, et al. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *Am J Respir Crit Care Med*. junio de 2005;171(11):1286-91.
 43. Mazzone PJ, Hammel J, Dweik R, Na J, Czich C, Laskowski D, et al. Diagnosis of lung cancer by the analysis of exhaled breath with a colorimetric sensor array. *Thorax*. julio de 2007;62(7):565-8.
 44. Huo D, Xu Y, Hou C, Fa H. A novel optical chemical sensor based AuNR-MTPP and dyes for lung cancer biomarkers in exhaled breath identification. *Sensors Actuators B Chem*. 1 de agosto de 2014;199:446-56.
 45. Di Natale C, Macagnano A, Martinelli E, Paolesse R, D'Arcangelo G, Roscioni C, et al. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosens Bioelectron*. septiembre de 2003;18(10):1209-18.
 46. Hubers AJ, Brinkman P, Boksem RJ, Rhodius RJ, Witte BI, Zwinderman AH, et al. Combined sputum hypermethylation and eNose analysis for lung cancer diagnosis. *J Clin Pathol*. agosto de 2014;67(8):707-11.
 47. Kort S, Tiggeloven MM, Brusse-Keizer M, Gerritsen JW, Schouwink JH, Citgez E, et al. Multi-centre prospective study on diagnosing subtypes of lung cancer by exhaled-breath analysis. *Lung Cancer*. noviembre de 2018;125:223-9.
 48. Krauss E, Haberer J, Maurer O, Barreto G, Drakopanagiotakis F, Degen M, et al. Exploring the Ability of Electronic Nose Technology to Recognize Interstitial Lung Diseases (ILD) by Non-Invasive Breath Screening of Exhaled Volatile Compounds (VOC): A Pilot Study from the European IPF Registry (eurIPFreg) and Biobank. *J Clin Med*. octubre de 2019;8(10).
 49. Behera B, Joshi R, Anil Vishnu GK, Bhalerao S, Pandya HJ. Electronic nose: a non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients. *J Breath Res*. marzo de 2019;13(2):024001.
 50. Nardi-Agmon I, Peled N. Exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer: recent developments and future prospects. *Lung Cancer Targets Ther*. 2017;8:31-8.
 51. Broza YY, Kremer R, Tisch U, Gevorkyan A, Shiban A, Best LA, et al. A nanomaterial-based breath test for short-term follow-up after lung tumor resection. *Nanomedicine*. enero de 2013;9(1):15-21.
 52. Nardi-Agmon I, Abud-Hawa M, Liran O, Gai-Mor N, Ilouze M, Onn A, et al. Exhaled Breath Analysis for Monitoring Response to Treatment in Advanced Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. junio de 2016;11(6):827-37.

53. Schumer EM, Black MC, Bousamra M 2nd, Trivedi JR, Li M, Fu X-A, et al. Normalization of Exhaled Carbonyl Compounds After Lung Cancer Resection. *Ann Thorac Surg.* octubre de 2016;102(4):1095-100.
54. Antoniou SX, Gaude E, Ruparel M, van der Schee MP, Janes SM, Rintoul RC. The potential of breath analysis to improve outcome for patients with lung cancer. *J Breath Res.* abril de 2019;13(3):034002.
55. van de Goor R, van Hooren M, Dingemans A-M, Kremer B, Kross K. Training and Validating a Portable Electronic Nose for Lung Cancer Screening. *J Thorac Oncol.* mayo de 2018;13(5):676-81.
56. Schumer EM, Trivedi JR, van Berkel V, Black MC, Li M, Fu X-A, et al. High sensitivity for lung cancer detection using analysis of exhaled carbonyl compounds. *J Thorac Cardiovasc Surg.* diciembre de 2015;150(6):1514-7.
57. Biehl W, Hattesoehl A, Jorres RA, Duell T, Althohn U, Koczulla AR, et al. VOC pattern recognition of lung cancer: a comparative evaluation of different dog- and eNose-based strategies using different sampling materials. *Acta Oncol.* septiembre de 2019;58(9):1216-24.
58. Kort S, Brusse-Keizer M, Gerritsen J-W, van der Palen J. Data analysis of electronic nose technology in lung cancer: generating prediction models by means of Aethena. *J Breath Res.* junio de 2017;11(2):26006.
59. De Vries R, Muller M, Van Der Noort V, Theelen WSME, Schouten RD, Hummelink K, et al. Prediction of response to anti-PD-1 therapy in patients with non-small-cell lung cancer by electronic nose analysis of exhaled breath. *Ann Oncol [Internet].* 2019;30(10):1660-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdz279>
60. Saktiawati AMI, Stienstra Y, Subronto YW, Rintiswati N, Sumardi, Gerritsen J-W, et al. Sensitivity and specificity of an electronic nose in diagnosing pulmonary tuberculosis among patients with suspected tuberculosis. *PLoS One.* 2019;14(6):e0217963.
61. McFarlane M, Millard A, Hall H, Savage R, Constantinidou C, Arasaradnam R, et al. Urinary volatile organic compounds and faecal microbiome profiles in colorectal cancer. *Color Dis.* 2019;21(11):1259-69.
62. Bond A, Greenwood R, Lewis S, Corfe B, Sarkar S, O'Toole P, et al. Volatile organic compounds emitted from faeces as a biomarker for colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(8):1005-12.
63. Markar SR, Wiggins T, Kumar S, Hanna GB. Exhaled breath analysis for the diagnosis and assessment of endoluminal gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol.* enero de 2015;49(1):1-8.
64. Ulanowska A, Kowalkowski T, Hrynkiewicz K, Jackowski M, Buszewski B. Determination of volatile organic compounds in human breath for *Helicobacter pylori* detection by SPME-GC/MS. *Biomed Chromatogr.* marzo de 2011;25(3):391-7.
65. Xu Z, Broza YY, Ionsecu R, Tisch U, Ding L, Liu H, et al. A nanomaterial-based breath test for

- distinguishing gastric cancer from benign gastric conditions. *Br J Cancer*. marzo de 2013;108(4):941-50.
66. Kumar S, Huang J, Abbassi-Ghadi N, Spanel P, Smith D, Hanna GB. Selected ion flow tube mass spectrometry analysis of exhaled breath for volatile organic compound profiling of esophago-gastric cancer. *Anal Chem*. junio de 2013;85(12):6121-8.
67. Mozdiak E, Wicaksono AN, Covington JA, Arasaradnam RP. Colorectal cancer and adenoma screening using urinary volatile organic compound (VOC) detection: early results from a single-centre bowel screening population (UK BCSP). *Tech Coloproctol* [Internet]. 2019;23(4):343-51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10151-019-01963-6>
68. Altomare DF, Di Lena M, Porcelli F, Travaglio E, Longobardi F, Tutino M, et al. Effects of curative colorectal cancer surgery on exhaled volatile organic compounds and potential implications in clinical follow-up. *Ann Surg*. 2015;262(5):862-7.
69. Altomare DF, Porcelli F, Picciariello A, Pinto M, Di Lena M, Caputi Iambrenghi O, et al. The use of the PEN3 e-nose in the screening of colorectal cancer and polyps. *Tech Coloproctol*. 2016;20(6):405-9.
70. Romano A, Doran S, Belluomo I, Hanna GB. High-Throughput Breath Volatile Organic Compound Analysis Using Thermal Desorption Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal Chem*. 2018;90(17):10204-10.
71. Bosch S, Berkhout DJ, Ben Larbi I, de Meij TG, de Boer NK. Fecal volatile organic compounds for early detection of colorectal cancer: where are we now? *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2019;145(1):223-34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00432-018-2821-3>

8. ANEXOS

8.1. ANEXO I

Búsqueda realizada el 20 de junio de 2018 combinando los términos: *Volatile organic compounds [and] Breath [and] Lung cancer [and] Date of publication > 2016:*

1. Behera B, Joshi R, G K AV, Bhalerao S, Pandya HJ. Electronic-nose: A non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients. *J Breath Res.* 2019 Jan 8. doi: 10.1088/1752-7163/aafc77. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30620934.
2. Finamore P, Scarlata S, Incalzi RA. Breath analysis in respiratory diseases: state-of-the-art and future perspectives. *Expert Rev Mol Diagn.* 2019 Jan;19(1):47-61. doi: 10.1080/14737159.2019.1559052. Epub 2018 Dec 21. PubMed PMID: 30575423.
3. Kort S, Tiggeloven MM, Brusse-Keizer M, Gerritsen JW, Schouwink JH, Citgez E, de Jongh FHC, Samii S, van der Maten J, van den Bogart M, van der Palen J. Multi-centre prospective study on diagnosing subtypes of lung cancer by exhaled-breath analysis. *Lung Cancer.* 2018 Nov;125:223-229. doi: 10.1016/j.lungcan.2018.09.022. Epub 2018 Sep 29. PubMed PMID: 30429025.
4. Wang M, Sheng J, Wu Q, Zou Y, Hu Y, Ying K, Wan H, Wang P. Confounding effect of benign pulmonary diseases in selecting volatile organic compounds as markers of lung cancer. *J Breath Res.* 2018 Sep 14;12(4):046013. doi: 10.1088/1752-7163/aad9cc. PubMed PMID: 30102249.
5. van der Schee M, Pinheiro H, Gaude E. Breath biopsy for early detection and precision medicine in cancer. *Ecancermedicalscience.* 2018 Jul 19;12:ed84. doi: 10.3332/ecancer.2018.ed84. eCollection 2018. PubMed PMID: 30093919; PubMed Central PMCID: PMC6070367.
6. Jia Z, Zhang H, Ong CN, Patra A, Lu Y, Lim CT, Venkatesan T. Detection of Lung Cancer: Concomitant Volatile Organic Compounds and Metabolomic Profiling of Six Cancer Cell Lines of Different Histological Origins. *ACS Omega.* 2018 May 31;3(5):5131-5140. doi: 10.1021/acsomega.7b02035. Epub 2018 May 10. PubMed PMID: 30023907; PubMed Central PMCID: PMC6044508.
7. Hua Q, Zhu Y, Liu H. Detection of volatile organic compounds in exhaled breath to screen lung cancer: a systematic review. *Future Oncol.* 2018 Jul;14(16):1647-1662. doi: 10.2217/fon-2017-0676. Epub 2018 Jun 25. PubMed PMID: 29939068.
8. Yu LQ, Wang LY, Su FH, Hao PY, Wang H, Lv YK. A gate-opening controlled metal-organic framework for selective solid-phase microextraction of aldehydes from exhaled breath of lung cancer patients. *Mikrochim Acta.* 2018 May 22;185(6):307. doi: 10.1007/s00604-018-2843-1. PubMed PMID: 29789955.
9. Zhong X, Li D, Du W, Yan M, Wang Y, Huo D, Hou C. Rapid recognition of volatile organic compounds with colorimetric sensor arrays for lung cancer screening. *Anal Bioanal*

- Chem. 2018 Jun;410(16):3671-3681. doi: 10.1007/s00216-018-0948-3. Epub 2018 Apr 13. PubMed PMID: 29654337.
10. Thriumani R, Zakaria A, Hashim YZH, Jeffree AI, Helmy KM, Kamarudin LM, Omar MI, Shakaff AYM, Adom AH, Persaud KC. A study on volatile organic compounds emitted by in-vitro lung cancer cultured cells using gas sensor array and SPME-GCMS. *BMC Cancer*. 2018 Apr 2;18(1):362. doi: 10.1186/s12885-018-4235-7. PubMed PMID: 29609557; PubMed Central PMCID: PMC5879746.
 11. Fischer-Tenhagen C, Johnen D, Nehls I, Becker R. A Proof of Concept: Are Detection Dogs a Useful Tool to Verify Potential Biomarkers for Lung Cancer? *Front Vet Sci*. 2018 Mar 14;5:52. doi: 10.3389/fvets.2018.00052. eCollection 2018. PubMed PMID: 29594162; PubMed Central PMCID: PMC5861141.
 12. Rocco G, Pennazza G, Santonico M, Longo F, Rocco R, Crucitti P, Antonelli Incalzi R. Breathprinting and Early Diagnosis of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2018 Jul;13(7):883-894. doi: 10.1016/j.jtho.2018.02.026. Epub 2018 Mar 8. Review. PubMed PMID: 29526822.
 13. Van de Goor R, van Hooren M, Dingemans AM, Kremer B, Kross K. Training and Validating a Portable Electronic Nose for Lung Cancer Screening. *J Thorac Oncol*. 2018 May;13(5):676-681. doi: 10.1016/j.jtho.2018.01.024. Epub 2018 Feb 6. PubMed PMID: 29425703.
 14. Lamote K, Vynck M, Thas O, Van Cleemput J, Nackaerts K, van Meerbeeck JP. Exhaled breath to screen for malignant pleural mesothelioma: a validation study. *Eur Respir J*. 2017 Dec 21;50(6). pii: 1700919. doi: 10.1183/13993003.00919-2017. Print 2017 Dec. PubMed PMID: 29269578.
 15. Tong H, Wang Y, Li Y, Liu S, Chi C, Liu D, Guo L, Li E, Wang C. Volatile organic metabolites identify patients with gastric carcinoma, gastric ulcer, or gastritis and control patients. *Cancer Cell Int*. 2017 Nov 21;17:108. doi: 10.1186/s12935-017-0475-x. eCollection 2017. PubMed PMID: 29200968; PubMed Central PMCID: PMC5699190.
 16. Zhou J, Huang ZA, Kumar U, Chen DDY. Review of recent developments in determining volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers for lung cancer diagnosis. *Anal Chim Acta*. 2017 Dec 15;996:1-9. doi: 10.1016/j.aca.2017.09.021. Epub 2017 Sep 13. Review. PubMed PMID: 29137702.
 17. Chen X, Wang F, Lin L, Dong H, Huang F, Ghulam Muhammad K, Chen L, Gorlova OY. Association of Smoking with Metabolic Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath. *Int J Mol Sci*. 2017 Oct 25;18(11). pii: E2235. doi: 10.3390/ijms18112235. PubMed PMID: 29068415; PubMed Central PMCID: PMC5713205.
 18. Oakley-Girvan I, Davis SW. Breath based volatile organic compounds in the detection of breast, lung, and colorectal cancers: A systematic review. *Cancer Biomark*. 2017 Dec 12;21(1):29-39. doi: 10.3233/CBM-170177. Review. PubMed PMID: 29060925.
 19. Bianchi F, Riboni N, Carbognani P, Gnetti L, Dalcanale E, Ampollini L, Careri M. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry followed by

- multivariate data analysis for the identification of volatile organic compounds as possible biomarkers in lung cancer tissues. *J Pharm Biomed Anal.* 2017 Nov 30;146:329-333. doi: 10.1016/j.jpba.2017.08.049. Epub 2017 Sep 6. PubMed PMID: 28915496.
20. Jouyban A, Djozan D, Mohammadandashti P, Alizadeh-Nabil A, Ghorbanpour H, Khoubnasabjafari M, Mohammadzadeh M. Co-liquefaction with acetone and GC analysis of volatile compounds in exhaled breath as lung cancer biomarkers. *Bioimpacts.* 2017;7(2):99-108. doi: 10.15171/bi.2017.13. Epub 2017 Jun 20. PubMed PMID: 28752074; PubMed Central PMCID: PMC5524991.
 21. Shlomi D, Abud M, Liran O, Bar J, Gai-Mor N, Ilouze M, Onn A, Ben-Nun A, Haick H, Peled N. Detection of Lung Cancer and EGFR Mutation by Electronic Nose System. *J Thorac Oncol.* 2017 Oct;12(10):1544-1551. doi: 10.1016/j.jtho.2017.06.073. Epub 2017 Jul 12. PubMed PMID: 28709937.
 22. Nardi-Agmon I, Peled N. Exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer: recent developments and future prospects. *Lung Cancer (Auckl).* 2017 May 17;8:31-38. doi: 10.2147/LCTT.S104205. eCollection 2017. Review. PubMed PMID: 28553152; PubMed Central PMCID: PMC5439719.
 23. Callol-Sanchez L, Munoz-Lucas MA, Gomez-Martin O, Maldonado-Sanz JA, Civera-Tejuca C, Gutierrez-Ortega C, Rodriguez-Trigo G, Jareno-Esteban J. Observation of nonanoic acid and aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer. *J Breath Res.* 2017 Apr 25;11(2):026004. doi: 10.1088/1752-7163/aa6485. PubMed PMID: 28440225.
 24. Oguma T, Nagaoka T, Kurahashi M, Kobayashi N, Yamamori S, Tsuji C, Takiguchi H, Niimi K, Tomomatsu H, Tomomatsu K, Hayama N, Aoki T, Urano T, Magatani K, Takeda S, Abe T, Asano K. Clinical contributions of exhaled volatile organic compounds in the diagnosis of lung cancer. *PLoS One.* 2017 Apr 6;12(4):e0174802. doi: 10.1371/journal.pone.0174802. eCollection 2017. PubMed PMID: 28384298; PubMed Central PMCID: PMC5383041.
 25. Kort S, Brusse-Keizer M, Gerritsen JW, van der Palen J. Data analysis of electronic nose technology in lung cancer: generating prediction models by means of Athena. *J Breath Res.* 2017 Jun 1;11(2):026006. doi: 10.1088/1752-7163/aa6b08. PubMed PMID: 28373602.
 26. Sakumura Y, Koyama Y, Tokutake H, Hida T, Sato K, Itoh T, Akamatsu T, Shin W. Diagnosis by Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath from Lung Cancer Patients Using Support Vector Machine Algorithm. *Sensors (Basel).* 2017 Feb 4;17(2). pii: E287. doi: 10.3390/s17020287. PubMed PMID: 28165388; PubMed Central PMCID: PMC5335963.
 27. Li Z, Xu C, Shu J, Yang B, Zou Y. Doping-assisted low-pressure photoionization mass spectrometry for the real-time detection of lung cancer-related volatile organic compounds. *Talanta.* 2017 Apr 1;165:98-106. doi: 10.1016/j.talanta.2016.12.039. Epub 2016 Dec 19. PubMed PMID: 28153325.
 28. Saalberg Y, Bruhns H, Wolff M. Photoacoustic Spectroscopy for the Determination of Lung Cancer Biomarkers-A Preliminary Investigation. *Sensors (Basel).* 2017 Jan 21;17(1). pii:

- E210. doi: 10.3390/s17010210. PubMed PMID: 28117732; PubMed Central PMCID: PMC5298781.
29. Chien PJ, Suzuki T, Tsujii M, Ye M, Toma K, Arakawa T, Iwasaki Y, Mitsubayashi K. Bio-sniffer (gas-phase biosensor) with secondary alcohol dehydrogenase (S-ADH) for determination of isopropanol in exhaled air as a potential volatile biomarker. *Biosens Bioelectron.* 2017 May 15;91:341-346. doi: 10.1016/j.bios.2016.12.050. Epub 2016 Dec 22. PubMed PMID: 28043076.
 30. Jalali M, Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Berijani N, Mahjub H. Oxidative Stress Biomarkers in Exhaled Breath of Workers Exposed to Crystalline Silica Dust by SPME-GC-MS. *J Res Health Sci.* 2016 Summer;16(3):153-161. PubMed PMID: 27840344.
 31. Itoh T, Miwa T, Tsuruta A, Akamatsu T, Izu N, Shin W, Park J, Hida T, Eda T, Setoguchi Y. Development of an Exhaled Breath Monitoring System with Semiconductive Gas Sensors, a Gas Condenser Unit, and Gas Chromatograph Columns. *Sensors (Basel).* 2016 Nov 10;16(11). pii: E1891. PubMed PMID: 27834896; PubMed Central PMCID: PMC5134550.
 32. Schallschmidt K, Becker R, Jung C, Bremser W, Walles T, Neudecker J, Leschber G, Frese S, Nehls I. Comparison of volatile organic compounds from lung cancer patients and healthy controls-challenges and limitations of an observational study. *J Breath Res.* 2016 Oct 12;10(4):046007. PubMed PMID: 27732569.
 33. Liu L, Zhang D, Zhang Q, Chen X, Xu G, Lu Y, Liu Q. Smartphone-based sensing system using ZnO and graphene modified electrodes for VOCs detection. *Biosens Bioelectron.* 2017 Jul 15;93:94-101. doi: 10.1016/j.bios.2016.09.084. Epub 2016 Sep 25. PubMed PMID: 27712992.
 34. Shehada N, Cancilla JC, Torrecilla JS, Pariente ES, Brönstrup G, Christiansen S, Johnson DW, Leja M, Davies MP, Liran O, Peled N, Haick H. Silicon Nanowire Sensors Enable Diagnosis of Patients via Exhaled Breath. *ACS Nano.* 2016 Jul 26;10(7):7047-57. doi: 10.1021/acsnano.6b03127. Epub 2016 Jul 14. PubMed PMID: 27383408.
 35. Saalberg Y, Wolff M. VOC breath biomarkers in lung cancer. *Clin Chim Acta.* 2016 Aug 1;459:5-9. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.013. Epub 2016 May 21. Review. PubMed PMID: 27221203.
 36. Li Z, Shu J, Zhang P, Sun W, Yang B, Zhang H. Real-time ultrasensitive VUV-PIMS detection of representative endogenous volatile markers in cancers. *Cancer Biomark.* 2016;16(3):477-87. doi: 10.3233/CBM-160587. PubMed PMID: 27062705.
 37. Nardi-Agmon I, Abud-Hawa M, Liran O, Gai-Mor N, Ilouze M, Onn A, Bar J, Shlomi D, Haick H, Peled N. Exhaled Breath Analysis for Monitoring Response to Treatment in Advanced Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016 Jun;11(6):827-37. doi: 10.1016/j.jtho.2016.02.017. Epub 2016 Mar 9. PubMed PMID: 26968885.
 38. Gasparri R, Santonico M, Valentini C, Sedda G, Borri A, Petrella F, Maisonneuve P, Pennazza G, D'Amico A, Di Natale C, Paolesse R, Spaggiari L. Volatile signature for the

- early diagnosis of lung cancer. *J Breath Res.* 2016 Feb 9;10(1):016007. doi: 10.1088/1752-7155/10/1/016007. PubMed PMID: 26857451.
39. Rocco R, Incalzi RA, Pennazza G, Santonico M, Pedone C, Bartoli IR, Vernile C, Mangiameli G, La Rocca A, De Luca G, Rocco G, Crucitti P. BIONOTE e-nose technology may reduce false positives in lung cancer screening programmes†. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016 Apr;49(4):1112-7; discussion 1117. doi: 10.1093/ejcts/ezv328. Epub 2015 Sep 18. PubMed PMID: 26385981.

8.2. ANEXO II

Búsqueda realizada el 7 de diciembre de 2018 combinando los términos: *Volatile organic compounds [and] Exhaled breath [and] Diagnosis [and] Cancer [and] Date of publication > 2015 [and] Review*:

1. Zhou J, Huang ZA, Kumar U, Chen DDY. Review of recent developments in determining volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers for lung cancer diagnosis. *Anal Chim Acta*. 2017 Dec 15;996:1-9. doi: 10.1016/j.aca.2017.09.021. Epub 2017 Sep 13. Review. PubMed PMID: 29137702.
2. Saalberg Y, Wolff M. VOC breath biomarkers in lung cancer. *Clin Chim Acta*. 2016 Aug 1;459:5-9. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.013. Epub 2016 May 21. Review. PubMed PMID: 27221203.
3. Di Lena M, Porcelli F, Altomare DF. Volatile organic compounds as new biomarkers for colorectal cancer: a review. *Colorectal Dis*. 2016 Jul;18(7):654-63. doi: 10.1111/codi.13271. Review. PubMed PMID: 26752703.
4. Yazbeck R, Jaenisch SE, Watson DI. From blood to breath: New horizons for esophageal cancer biomarkers. *World J Gastroenterol*. 2016 Dec 14;22(46):10077-10083. doi: 10.3748/wjg.v22.i46.10077. Review. PubMed PMID: 28028355; PubMed Central PMCID: PMC5155166.
5. Sun X, Shao K, Wang T. Detection of volatile organic compounds (VOCs) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis. *Anal Bioanal Chem*. 2016 Apr;408(11):2759-80. doi: 10.1007/s00216-015-9200-6. Epub 2015 Dec 16. Review. PubMed PMID: 26677028.
6. Brooks SW, Moore DR, Marzouk EB, Glenn FR, Hallock RM. Canine olfaction and electronic nose detection of volatile organic compounds in the detection of cancer: a review. *Cancer Invest*. 2015;33(9):411-9. doi: 10.3109/07357907.2015.1047510. Epub 2015 Jun 26. Review. PubMed PMID: 26114998.
7. Haick H, Broza YY, Mochalski P, Ruzsanyi V, Amann A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev*. 2014 Mar 7;43(5):1423-49. doi: 10.1039/c3cs60329f. Epub 2013 Dec 4. Review. PubMed PMID: 24305596; PubMed Central PMCID: PMC4909138.
8. Oakley-Girvan I, Davis SW. Breath based volatile organic compounds in the detection of breast, lung, and colorectal cancers: A systematic review. *Cancer Biomark*. 2017 Dec 12;21(1):29-39. doi: 10.3233/CBM-170177. Review. PubMed PMID: 29060925.
9. Hakim M, Broza YY, Barash O, Peled N, Phillips M, Amann A, Haick H. Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways. *Chem Rev*. 2012 Nov 14;112(11):5949-66. doi: 10.1021/cr300174a. Epub 2012 Sep 19. Review. PubMed PMID: 22991938.

10. Dragonieri S, Pennazza G, Carratu P, Resta O. Electronic Nose Technology in Respiratory Diseases. *Lung*. 2017 Apr;195(2):157-165. doi: 10.1007/s00408-017-9987-3. Epub 2017 Feb 25. Review. PubMed PMID: 28238110.
11. Amann A, Costello Bde L, Miekisch W, Schubert J, Buszewski B, Pleil J, Ratcliffe N, Risby T. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res*. 2014 Sep;8(3):034001. doi: 10.1088/1752-7155/8/3/034001. Epub 2014 Jun 19. Review. PubMed PMID: 24946087.
12. Pasechnikov V, Chukov S, Fedorov E, Kikuste I, Leja M. Gastric cancer: prevention, screening and early diagnosis. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct 14;20(38):13842-62. doi: 10.3748/wjg.v20.i38.13842. Review. PubMed PMID: 25320521; PubMed Central PMCID: PMC4194567.
13. Fitzgerald J, Fenniri H. Cutting Edge Methods for Non-Invasive Disease Diagnosis Using E-Tongue and E-Nose Devices. *Biosensors (Basel)*. 2017 Dec 7;7(4). pii: E59. doi: 10.3390/bios7040059. Review. PubMed PMID: 29215588; PubMed Central PMCID: PMC5746782.
14. Lubes G, Goodarzi M. GC-MS based metabolomics used for the identification of cancer volatile organic compounds as biomarkers. *J Pharm Biomed Anal*. 2018 Jan 5;147:313-322. doi: 10.1016/j.jpba.2017.07.013. Epub 2017 Jul 17. Review. PubMed PMID: 28750734.
15. Goldstraw P, Ball D, Jett JR, Le Chevalier T, Lim E, Nicholson AG, Shepherd FA. Non-small-cell lung cancer. *Lancet*. 2011 Nov 12;378(9804):1727-40. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62101-0. Epub 2011 May 10. Review. PubMed PMID: 21565398.
16. Markar SR, Wiggins T, Kumar S, Hanna GB. Exhaled breath analysis for the diagnosis and assessment of endoluminal gastrointestinal diseases. *J Clin Gastroenterol*. 2015 Jan;49(1):1-8. doi: 10.1097/MCG.0000000000000247. Review. PubMed PMID: 25319742.
17. Bomers MK, Smulders YM. [An odour of disease and decay: the nose as a diagnostic instrument]. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2015;159:A9434. Review. Dutch. PubMed PMID: 26606582.
18. Queralto N, Berliner AN, Goldsmith B, Martino R, Rhodes P, Lim SH. Detecting cancer by breath volatile organic compound analysis: a review of array-based sensors. *J Breath Res*. 2014 Jun;8(2):027112. doi: 10.1088/1752-7155/8/2/027112. Epub 2014 May 27. Review. PubMed PMID: 24862241.
19. Li W, Liu HY, Jia ZR, Qiao PP, Pi XT, Chen J, Deng LH. Advances in the early detection of lung cancer using analysis of volatile organic compounds: from imaging to sensors. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(11):4377-84. Review. PubMed PMID: 24969857.
20. Palmieri B, Nardo B, Lippi G, Palmieri L, Vadalà M, Laurino C. Dogs'olfactory diagnostics applied on human species: state of the art and clinical perspectives. *Clin Ter*. 2016 Jul-Aug;167(4):e78-84. doi: 10.7417/CT.2016.1943. Review. PubMed PMID: 27598027.

21. Shirasu M, Touhara K. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J Biochem*. 2011 Sep;150(3):257-66. doi: 10.1093/jb/mvr090. Epub 2011 Jul 19. Review. PubMed PMID: 21771869.
22. Kalluri U, Naiker M, Myers MA. Cell culture metabolomics in the diagnosis of lung cancer- the influence of cell culture conditions. *J Breath Res*. 2014 Jun;8(2):027109. doi: 10.1088/1752-7155/8/2/027109. Epub 2014 May 27. Review. PubMed PMID: 24861817.
23. de Boer NK, de Meij TG, Oort FA, Ben Larbi I, Mulder CJ, van Bodegraven AA, van der Schee MP. The scent of colorectal cancer: detection by volatile organic compound analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jul;12(7):1085-9. doi: 10.1016/j.cgh.2014.05.005. Epub 2014 May 10. Review. PubMed PMID: 24823289.
24. Nardi-Agmon I, Peled N. Exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer: recent developments and future prospects. *Lung Cancer (Auckl)*. 2017 May 17;8:31-38. doi: 10.2147/LCTT.S104205. eCollection 2017. Review. PubMed PMID: 28553152; PubMed Central PMCID: PMC5439719.
25. Schmidt K, Podmore I. Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer. *J Biomark*. 2015;2015:981458. doi: 10.1155/2015/981458. Epub 2015 Mar 30. Review. PubMed PMID: 26317039; PubMed Central PMCID: PMC4437398.
26. Boedeker E, Friedel G, Walles T. Sniffer dogs as part of a bimodal bionic research approach to develop a lung cancer screening. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012 May;14(5):511-5. doi: 10.1093/icvts/ivr070. Epub 2012 Feb 17. Review. PubMed PMID: 22345057; PubMed Central PMCID: PMC3329290.
27. Cummins G, Yung DE, Cox BF, Koulaouzidis A, Desmulliez MPY, Cochran S. Luminally expressed gastrointestinal biomarkers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Dec;11(12):1119-1134. doi: 10.1080/17474124.2017.1373017. Epub 2017 Sep 14. Review. PubMed PMID: 28849686.
28. Scarlata S, Pennazza G, Santonico M, Pedone C, Antonelli Incalzi R. Exhaled breath analysis by electronic nose in respiratory diseases. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015;15(7):933-56. doi: 10.1586/14737159.2015.1043895. Epub 2015 May 11. Review. PubMed PMID: 25959642.
29. Noldus J. [Prostate cancer]. *Urologe A*. 2011 Sep;50 Suppl 1:171-2. doi: 10.1007/s00120-011-2674-8. Review. German. PubMed PMID: 21837490.
30. Patel T. New insights into the molecular pathogenesis of intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol*. 2014 Feb;49(2):165-72. doi: 10.1007/s00535-013-0894-y. Epub 2013 Oct 22. Review. PubMed PMID: 24145988; PubMed Central PMCID: PMC3944910.
31. Krilaviciute A, Heiss JA, Leja M, Kupcinskas J, Haick H, Brenner H. Detection of cancer through exhaled breath: a systematic review. *Oncotarget*. 2015 Nov 17;6(36):38643-57. doi: 10.18632/oncotarget.5938. Review. PubMed PMID: 26440312; PubMed Central PMCID: PMC4770726.

32. Jezierski T, Walczak M, Ligor T, Rudnicka J, Buszewski B. Study of the art: canine olfaction used for cancer detection on the basis of breath odour. Perspectives and limitations. *J Breath Res.* 2015 May 6;9(2):027001. doi: 10.1088/1752-7155/9/2/027001. Review. PubMed PMID: 25944810.
33. van der Schee MP, Paff T, Brinkman P, van Aalderen WMC, Haarman EG, Sterk PJ. Breathomics in lung disease. *Chest.* 2015 Jan;147(1):224-231. doi: 10.1378/chest.14-0781. Review. PubMed PMID: 25560860.
34. Hanna GB, Boshier PR, Markar SR, Romano A. Accuracy and Methodologic Challenges of Volatile Organic Compound-Based Exhaled Breath Tests for Cancer Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2018 Aug 16:e182815. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2815. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30128487.
35. Mazzone PJ. Analysis of volatile organic compounds in the exhaled breath for the diagnosis of lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2008 Jul;3(7):774-80. doi: 10.1097/JTO.0b013e31817c7439. Review. PubMed PMID: 18594325.
36. Dent AG, Sutedia TG, Zimmerman PV. Exhaled breath analysis for lung cancer. *J Thorac Dis.* 2013 Oct;5 Suppl 5:S540-50. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.44. Review. PubMed PMID: 24163746; PubMed Central PMCID: PMC3804873.
37. Rocco G, Pennazza G, Santonico M, Longo F, Rocco R, Crucitti P, Antonelli Incalzi R. Breathprinting and Early Diagnosis of Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2018 Jul;13(7):883-894. doi: 10.1016/j.jtho.2018.02.026. Epub 2018 Mar 8. Review. PubMed PMID: 29526822.
38. Kabir KMM, Donald WA. Cancer breath testing: a patent review. *Expert Opin Ther Pat.* 2018 Mar;28(3):227-239. doi: 10.1080/13543776.2018.1423680. Epub 2018 Jan 6. Review. PubMed PMID: 29297703.
39. Arasaradnam RP, Covington JA, Harmston C, Nwokolo CU. Review article: next generation diagnostic modalities in gastroenterology--gas phase volatile compound biomarker detection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 Apr;39(8):780-9. doi: 10.1111/apt.12657. Epub 2014 Feb 20. Review. PubMed PMID: 24612215.
40. van de Kant KD, van der Sande LJ, Jöbsis Q, van Schayck OC, Dompeling E. Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: a systematic review. *Respir Res.* 2012 Dec 21;13:117. doi: 10.1186/1465-9921-13-117. Review. PubMed PMID: 23259710; PubMed Central PMCID: PMC3549749.
41. Amann A, Mochalski P, Ruzsanyi V, Broza YY, Haick H. Assessment of the exhalation kinetics of volatile cancer biomarkers based on their physicochemical properties. *J Breath Res.* 2014 Mar;8(1):016003. doi: 10.1088/1752-7155/8/1/016003. Epub 2014 Feb 24. PubMed PMID: 24566039; PubMed Central PMCID: PMC4966621.
42. Hua Q, Zhu Y, Liu H. Detection of volatile organic compounds in exhaled breath to screen lung cancer: a systematic review. *Future Oncol.* 2018 Jul;14(16):1647-1662. doi: 10.2217/fon-2017-0676. Epub 2018 Jun 25. PubMed PMID: 29939068.

43. Sethi S, Nanda R, Chakraborty T. Clinical application of volatile organic compound analysis for detecting infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2013 Jul;26(3):462-75. doi: 10.1128/CMR.00020-13. Review. PubMed PMID: 23824368; PubMed Central PMCID: PMC3719490.
44. Horváth I, Lázár Z, Gyulai N, Kollai M, Losonczy G. Exhaled biomarkers in lung cancer. *Eur Respir J.* 2009 Jul;34(1):261-75. doi: 10.1183/09031936.00142508. Review. PubMed PMID: 19567608.
45. Konvalina G, Haick H. Sensors for breath testing: from nanomaterials to comprehensive disease detection. *Acc Chem Res.* 2014 Jan 21;47(1):66-76. doi: 10.1021/ar400070m. Epub 2013 Aug 8. Review. PubMed PMID: 23926883.
46. Amann A, Corradi M, Mazzone P, Mutti A. Lung cancer biomarkers in exhaled breath. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011 Mar;11(2):207-17. doi: 10.1586/erm.10.112. Review. PubMed PMID: 21405971.
47. Yoon JW, Lee JH. Toward breath analysis on a chip for disease diagnosis using semiconductor-based chemiresistors: recent progress and future perspectives. *Lab Chip.* 2017 Oct 25;17(21):3537-3557. doi: 10.1039/c7lc00810d. Review. PubMed PMID: 28971204.
48. Capelli L, Taverna G, Bellini A, Eusebio L, Buffi N, Lazzeri M, Guazzoni G, Bozzini G, Seveso M, Mandressi A, Tidu L, Grizzi F, Sardella P, Latorre G, Hurle R, Lughezzani G, Casale P, Meregali S, Sironi S. Application and Uses of Electronic Noses for Clinical Diagnosis on Urine Samples: A Review. *Sensors (Basel).* 2016 Oct 14;16(10). pii: E1708. Review. PubMed PMID: 27754437; PubMed Central PMCID: PMC5087496.
49. Belda-Iniesta C, de Castro Carpeño J, Carrasco JA, Moreno V, Casado Sáenz E, Feliu J, Sereno M, García Río F, Barriuso J, González Barón M. New screening method for lung cancer by detecting volatile organic compounds in breath. *Clin Transl Oncol.* 2007 Jun;9(6):364-8. Review. PubMed PMID: 17594950.
50. Huddy JR, Ni MZ, Markar SR, Hanna GB. Point-of-care testing in the diagnosis of gastrointestinal cancers: current technology and future directions. *World J Gastroenterol.* 2015 Apr 14;21(14):4111-20. doi: 10.3748/wjg.v21.i14.4111. Review. PubMed PMID: 25892860; PubMed Central PMCID: PMC4394071.
51. Bax C, Taverna G, Eusebio L, Sironi S, Grizzi F, Guazzoni G, Capelli L. Innovative Diagnostic Methods for Early Prostate Cancer Detection through Urine Analysis: A Review. *Cancers (Basel).* 2018 Apr 18;10(4). pii: E123. doi: 10.3390/cancers10040123. Review. PubMed PMID: 29670060; PubMed Central PMCID: PMC5923378.
52. Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GF. Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds. *Clin Chim Acta.* 2004 Sep;347(1-2):25-39. Review. PubMed PMID: 15313139.
53. Di Lena M, Travaglio E, Altomare DF. New strategies for colorectal cancer screening. *World J Gastroenterol.* 2013 Mar 28;19(12):1855-60. doi: 10.3748/wjg.v19.i12.1855. PubMed PMID: 23569331; PubMed Central PMCID: PMC3613101.

54. Wu X, Zhu L, Ma PC. Next-Generation Novel Noninvasive Cancer Molecular Diagnostics Platforms Beyond Tissues. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2018 May 23;(38):964-977. doi: 10.1200/EDBK_199767. Review. PubMed PMID: 30231325.
55. Irigaray P, Newby JA, Clapp R, Hardell L, Howard V, Montagnier L, Epstein S, Belpomme D. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed Pharmacother*. 2007 Dec;61(10):640-58. Epub 2007 Nov 20. Review. PubMed PMID: 18055160.
56. Wilson AD, Baietto M. Advances in electronic-nose technologies developed for biomedical applications. *Sensors (Basel)*. 2011;11(1):1105-76. doi: 10.3390/s110101105. Epub 2011 Jan 19. Review. PubMed PMID: 22346620; PubMed Central PMCID: PMC3274093.
57. Chan HP, Lewis C, Thomas PS. Exhaled breath analysis: novel approach for early detection of lung cancer. *Lung Cancer*. 2009 Feb;63(2):164-8. doi: 10.1016/j.lungcan.2008.05.020. Epub 2008 Jul 2. Review. PubMed PMID: 18599152.
58. Chapman EA, Thomas PS, Yates DH. Breath analysis in asbestos-related disorders: a review of the literature and potential future applications. *J Breath Res*. 2010 Sep;4(3):034001. doi: 10.1088/1752-7155/4/3/034001. Epub 2010 Aug 27. Review. PubMed PMID: 21383477.
59. Kopylov FIu, Syrkin AL, Chomakhidze PSh, Bykova AA, Shaltaeva IuR, Belyakov VV, Pershenkov VS, Samotaev NN, Golovin AV, Vasil'ev VK, Malkin EK, Gromov EA, Ivanov IA, Lipatov DIu, Iakovlev DIu. [Pathology diagnostics by human breath analyze]. *Klin Med (Mosk)*. 2013;91(10):16-21. Review. Russian. PubMed PMID: 25696945.
60. Buszewski B, Keszy M, Ligor T, Amann A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed Chromatogr*. 2007 Jun;21(6):553-66. Review. PubMed PMID: 17431933.
61. Kałużna-Czaplińska J. Current medical research with the application of coupled techniques with mass spectrometry. *Med Sci Monit*. 2011 May;17(5):RA117-23. Review. PubMed PMID: 21525822; PubMed Central PMCID: PMC3539600.
62. Duramad P, Tager IB, Holland NT. Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies. *Toxicol Lett*. 2007 Jul 30;172(1-2):48-59. Epub 2007 May 25. Review. PubMed PMID: 17624696; PubMed Central PMCID: PMC2047341.
63. Weaver VM, Buckley TJ, Groopman JD. Approaches to environmental exposure assessment in children. *Environ Health Perspect*. 1998 Jun;106 Suppl 3:827-32. Review. PubMed PMID: 9646045; PubMed Central PMCID: PMC1533077.
64. Salerno-Kennedy R, Cashman KD. Potential applications of breath isoprene as a biomarker in modern medicine: a concise overview. *Wien Klin Wochenschr*. 2005 Mar;117(5-6):180-6. Review. PubMed PMID: 15875756.