

ARTÍCULOS ORIGINALES

Aplicación de modelos metabolómicos para la identificación de EPOC en poblaciones expuestas a humo de leña en una comunidad indígena de México. Application of metabolomic models for the identification of COPD in populations exposed to wood smoke in an indigenous community in Mexico.

Balderas Segura, Berenice¹; Flores Ramírez, Rogelio²; Díaz de León-Martínez, Lorena²; Galván Romero, Vanessa S²; Rodríguez Aguilar, Maribel*³

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. ²Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud, UASLP. ³División de Ciencias de la Salud, UQROO. *Teléfono: (52-983) 835 03 00 ext 529; Dirección: Avenida Erick Paolo S/N Magisterial, CP 77039, México.

*maribel.rodriguez@uqroo.edu.mx

Recibido: 27/04/2022

Aceptado: 15/06/2022

Editores: Susana García y Laura Lanari

Resumen. Propósito: Para la evaluación metabólica de la fisiopatología pulmonar se utiliza principalmente el aliento exhalado, el cual ha tomado una gran relevancia como método de diagnóstico no invasivo, de bajo costo, rápido y seguro. El objetivo del presente estudio fue aplicar modelos metabolómicos para la identificación de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) en población vulnerable expuesta a la quema de biomasa en una comunidad indígena de México. Métodos: El estudio se conformó por 142 participantes, 44 pacientes con EPOC asociado a la quema de biomasa, 60 controles y 38 población indígena expuesta a la quema de biomasa (PIE). Las muestras de aliento exhalado se analizaron mediante una nariz electrónica (HERACLES II, Alpha MOS). Con los datos obtenidos se realizó un Análisis Canónico de Coordenadas principales (CAP), que fue utilizado para la predicción de EPOC de la PIE y se determinó la concentración de 1-hidroxipireno (1-OHP) en muestras de orina. Resultados: Se logró identificar un total 59 COVs en las muestras de aliento exhalado de los grupos de estudio, los cuales se utilizaron para establecer un modelo de discriminación entre la huella química del grupo de pacientes con EPOC y el grupo control. El modelo CAP indicó una separación entre las huellas químicas de los pacientes con EPOC y sujetos sanos, con una correcta predicción de 91,34%, con una sensibilidad y especificidad de 93,2 y 96,7% respectivamente. Se encontraron 10 participantes de la PIE con patrón obstructivo y una alta concentración de 1-OHP, determinando que existe una concentración del $1,31 \pm 0,67 \mu\text{g/mol}$ de creatinina. Esta concentración se encuentra más de 5 veces arriba de los valores de referencia establecidos en el 2001, que es de $0,24 \mu\text{g/mol}$ de creatinina. Al comparar los resultados de la huella química de la PIE se posicionó en el grupo de EPOC. Conclusión: Se logró obtener un diagnóstico oportuno en población vulnerable mediante el uso de la metabolómica y se demostró la exposición y los efectos pulmonares en población indígena de San Luis Potosí.

Palabras clave: EPOC; Metabolómica; Biomasa.

Abstract. Purpose: to evaluate metabolic disorders of the pathophysiology of the lung, the exhaled breath is mainly used, this has become highly relevant as a non-invasive, low-cost, fast and safe diagnostic method. The objective of this study is to apply metabolomic models for the identification of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) in a vulnerable population exposed to biomass burning in an indigenous community in Mexico. Methods: The study consisted of 142 participants, 44 patients with COPD associated with biomass burning, 60 controls and 38 indigenous population exposed to biomass burning (PIE). Exhaled breath samples were analyzed using an electronic nose (HERACLES II, Alpha MOS). With the data obtained, a Canonical Analysis of Principal Coordinates (CAP) was performed, which was used for the prediction of COPD of IEP and the concentration of 1-hydroxypyrene (1-OHP) in urine samples was determined. Results: A total of 59 VOCs were identified in the exhaled breath samples of the study groups, which were used to establish a discrimination model between the chemical fingerprint of the COPD patient group and the control group. The CAP model indicated a separation between the chemical fingerprints of COPD patients and healthy subjects, with a correct prediction of 91,34%, with a sensitivity and specificity of 93,2 and 96,7%, respectively. 10 IEP participants with an obstructive pattern and a high concentration of 1-OHP were found, determining that there is a concentration of $1,31 \pm 0,67 \mu\text{g/mol}$ of creatinine. This concentration is more than 5 times above the reference values established in

2001, which is 0,24 µg/mol of creatinine. When comparing the results of the chemical fingerprint of the PIE, it was positioned in the COPD group. Conclusion: It was possible to obtain an opportune diagnosis in a vulnerable population using metabolomics and exposure and pulmonary effects were demonstrated in the indigenous population of San Luis Potosí.

Key words: COPD; Metabolomics; Biomass.

Introducción

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) se constituye por la disminución del calibre de la pared bronquial (bronquitis crónica), y la destrucción alveolar (enfisema pulmonar) con agrandamiento de los espacios aéreos, dificultando la respiración. A pesar de ser una enfermedad prevenible y tratable, actualmente se encuentra dentro de las primeras cuatro causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Martínez Luna *et al.* 2020; McDonald y Khor 2013).

Dentro de los principales factores de riesgo causantes de la EPOC, el más frecuente es el tabaquismo. No obstante, la exposición prolongada a ciertos polvos en el trabajo, químicos y aire contaminado en ambientes cerrados y abiertos puede contribuir a la enfermedad (Alhamdow *et al.* 2021). En este sentido en países en vías de desarrollo, la exposición al humo de leña es también causa de dichos padecimientos siendo el tiempo de exposición un factor determinante en la severidad de la enfermedad (GIFCOL 2018; Acuña *et al.* 2012; Kaldman *et al.* 2003).

El humo de leña o biomasa se compone de monóxido de carbono, óxido nítrico y sulfúrico, benceno, aldehídos, y partículas de materia respirables PM10 y PM2.5 (WHO 2005; Zhang y Smith 2003), estas partículas se pueden inhalar fácilmente y atravesar la barrera pulmonar entrando al sistema sanguíneo causando efectos dañinos en otros órganos (Juneman 2007). Estudios de la Organización Mundial de la Salud indican que las mujeres con exposición intensa al humo doméstico son tres veces más vulnerables de padecer EPOC y dos veces más a padecer cáncer pulmonar que aquellas que utilizan combustibles más limpios. En este sentido, el impacto a nivel mundial por la quema de leña en el interior de las viviendas está relacionado con 1.6 millones de muertes. Asimismo, existen más de 28 millones de hogares distribuidos en la república mexicana, que utilizan leña para la cocción de los alimentos y satisfacer sus necesidades energéticas básicas (Callejón-Leblic *et al.* 2019), lo que indica la magnitud de la población expuesta y la necesidad de contar con técnicas de detección temprana de enfermedades pulmonares.

Al respecto, la prueba para el diagnóstico de la EPOC es la espirometría, indicando la limitación al flujo aéreo (obstrucción) que persiste después de la administración de un broncodilatador. Esta prueba debe realizarse por equipo y personal especializado, aumentando los costos, por lo que la EPOC permanece subdiagnosticada, no sólo en los estadios tempranos, sino también en los tardíos. La búsqueda de biomarcadores para un diagnóstico temprano de la inflamación crónica de las vías respiratorias en la EPOC presenta perfiles celulares y moleculares distintos a los encontrados en una persona sana. La metabolómica puede permitir la evaluación de perfiles moleculares globales para ser utilizados como biomarcadores, lo que resulta en una huella química específica de la enfermedad (GIFCOL 2018; McDonald y Khor 2013).

Para evaluar desordenes metabólicos de la fisiopatología del pulmón se ha utilizado principalmente el aliento exhalado Rodríguez-Aguilar *et al.* (2019). Este ha tomado una gran relevancia como método de diagnóstico no invasivo, de bajo costo, rápido y seguro. Como el estudio realizado por Rodríguez *et al.* en 2020, donde analizaron el aliento exhalado de 116 pacientes con EPOC (88 asociado a tabaquismo y 28 a quema de biomasa) y 178 sujetos clínicamente sanos, por medio de la nariz electrónica Cyranose 320, logrando encontrar una huella química que separa los pacientes con EPOC de los sujetos sanos, indicando que existen diferentes Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) presentes en el aliento exhalado que pueden contribuir como biomarcadores en la detección de la enfermedad. Asimismo, demostraron que la separación de la huella química está asociada a la enfermedad y no a la causalidad (Rodríguez-Aguilar *et al.* 2020).

Por lo tanto, el objetivo de la investigación es aplicar modelos metabolómicos para la identificación de la EPOC en población vulnerable expuesta a la quema de biomasa determinado por la concentración del metabolito de 1-hidroxipireno en una comunidad indígena de México.

Materiales y Métodos

Selección de participantes para el estudio. Se realizó un muestreo de aliento exhalado a 142

participantes: 44 pacientes con EPOC asociado a la quema de biomasa, 60 controles y 38 participantes de la población indígena expuesta a la quema de biomasa (PIE).

Aprobación del estudio. El estudio contó con la aprobación del comité de bioética e investigación del Hospital Central “Ignacio Morones Prieto”, con número 23-16.

Criterios de inclusión. Los criterios de inclusión para los tres grupos de estudio (Grupo control, Grupo de pacientes con EPOC y Grupo PIE) fueron los siguientes: I) Contar con una espirometría actual y una valoración médica, II) Contestar cuestionario para conocer su estado de salud, III) Firmar el consentimiento informado, IV) El grupo de PIE haber vivido siempre en la zona Indígena (Tocoy, San Antonio, S.L.P.) y contestar el cuestionario para determinar el nivel de exposición.

Prueba de función pulmonar. Se realizó una prueba de espirometría a todos los participantes antes y después de la administración de 200 µg de salbutamol, siguiendo las pautas de los estándares American ATS/ERS (American Thoracic Society/ European Respiratory Society) (Alhmdow *et al.* 2021). Los valores normales predichos fueron los establecidos para la población mexicoamericana a partir del estudio NHANES III (Lareau 2019). La respuesta significativa al broncodilatador se definió como un aumento del Volumen Espiratorio Forzado al primer segundo (FEV1) en la prueba post broncodilatador igual o superior a 200ml (12%). Se determinaron los valores de FEV1 y Capacidad Vital Forzada (FVC) y su relación después de la prueba broncodilatadora. La gravedad de la limitación del flujo de aire (patrón obstructivo) se calificó de acuerdo con las categorías GOLD (Koo *et al.* 2014).

Obtención de muestras. Las muestras de aliento exhalado se tomaron en bolsas Tedlar de 1L previamente purgadas con nitrógeno, por duplicado en los tres grupos de estudio, bajo criterios estandarizados (ayuno de 8 horas, realizando enjuague bucal con agua y sin toma de medicamentos). Al grupo PIE se les pidió muestra de orina para la determinación de 1-hidroxipireno indicando la exposición a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs). Todas las muestras se transportaron a 4°C y se almacenaron a -40°C hasta su análisis.

Análisis metabólico del aliento exhalado
Se utilizó un cromatógrafo de gases ultrarrápido con

detector de nariz electrónica modelo HERACLES II (Alpha MOS) el cual cuenta con dos columnas de diferentes polaridades, dos detectores de ionización por flama (MXT-5-FID1 y MXT-1701-FID2) y una trampa de pre-concentración para aumentar la sensibilidad de la respuesta de los metabolitos. La caracterización de los compuestos químicos se basó en los índices de Kovats. De cada bolsa se tomó una muestra de 40 mL de aliento en un vial herméticamente sellado, posteriormente se incubó durante 900s a una temperatura de 40°C con una agitación de 500 rpm, y se inyectó por la técnica de espacio de cabeza en el cromatógrafo de gases con detector de nariz electrónica.

Quantificación de 1-hidroxipireno (1-OHP)

Es un metabolito del benzo (a)pirenocompuesto representativo de los HAPs en muestras de orina. Para cuantificación de 1-OHP se utilizó un HPLC Agilent 1260 con detector de fluorescencia.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis multivariados (Análisis canónico de las coordenadas principales-CAP) para encontrar los ejes a través de la nube de datos euclidianos que da una mayor separación entre grupos predefinidos (EPOC vs Control). Se realizaron curvas ROC para determinar la especificidad y sensibilidad diagnóstica. Además, se utilizó el CAP como método de tamizaje para determinar de la PIE aquellas huellas químicas que se parecen a la de los pacientes con EPOC.

Resultados

El estudio se conformó por 142 participantes, de los cuales 44 presentan EPOC asociado a la quema de biomasa (Edad: $68,41 \pm 6,88$ años; $FEV1=54,6 \pm 13,45$; $FEV1/FCV=58,10 \pm 9,82$) de los cuales 56,81% eran mujeres y 43,18% hombres con una exposición de $229,5 \pm 68,53$ horas/leña, 60 sujetos sin afecciones pulmonares que conforman el grupo control (Edad= 6 años, $FEV1= 89,35 \pm 9,73$, $FEV1/FCV=84,12 \pm 4,90$) de los cuales 66,7% eran mujeres y 33,3% hombres y 38 pertenecen al grupo de Población Indígena Expuesta a la quema de biomasa (PIE) (Edad= $52,5 \pm 7,18$ años; $FEV1= 82,93 \pm 16,7$; $FEV1/FCV= 78 \pm 5,27$) de los cuales 71,1% eran mujeres y 28,9% hombres.

Se identificaron un total 59 compuestos orgánicos volátiles (COVs) en las muestras de aliento exhalado de los grupos de estudio, los cuales se utilizaron para establecer un modelo de discriminación entre la huella química del grupo de pacientes con EPOC y el grupo control. Al respecto, nuestros resultados concuerdan con Rodríguez

et al. (2019, 2020) y Dragonieri et. al. (2009), ya que el CAP logró la separación del grupo de pacientes con EPOC de los sujetos sanos con una

$r^2=0,80$ indicando la asociación del eje CAP1 con los COVs, con un 91,34% de una correcta clasificación (Figura 1).

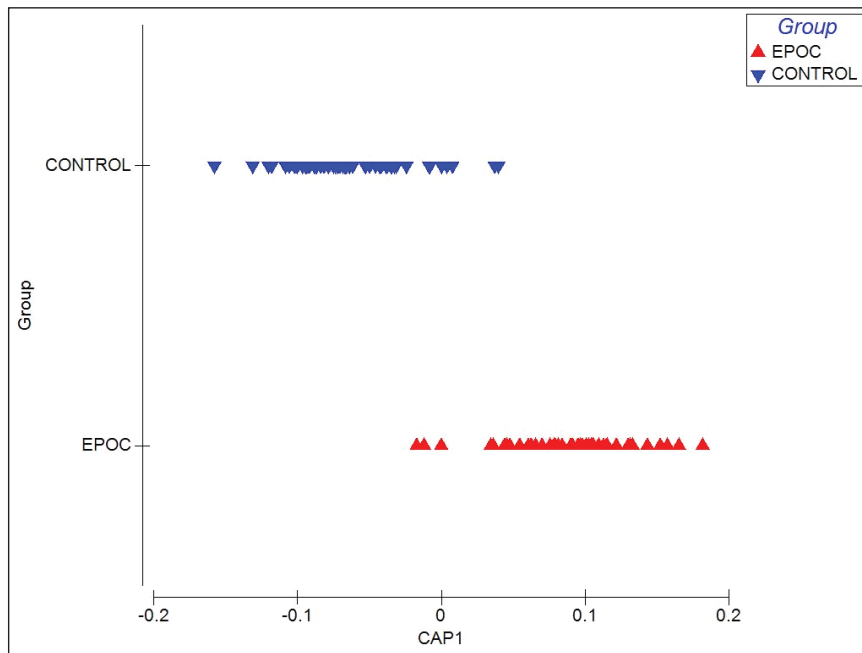


Figura 1. Análisis Canónico de Coordenadas Principales de pacientes con EPOC vs Sanos.

Con los valores obtenidos de la huella química del modelo del CAP a través del eje CAP1, se estableció el punto de corte de 0,021, el cual proporcionó una sensibilidad de 93,2% (IC 84,1-98,9%) y una especificidad del 96,7% (IC 90-100%), con

un área bajo la curva de 0,89 a través de la curva ROC. Asimismo, se obtuvo un box-plot donde se observa el comportamiento de las huellas químicas de cada paciente, así como el punto de corte obtenido en la curva ROC (Figura 2).

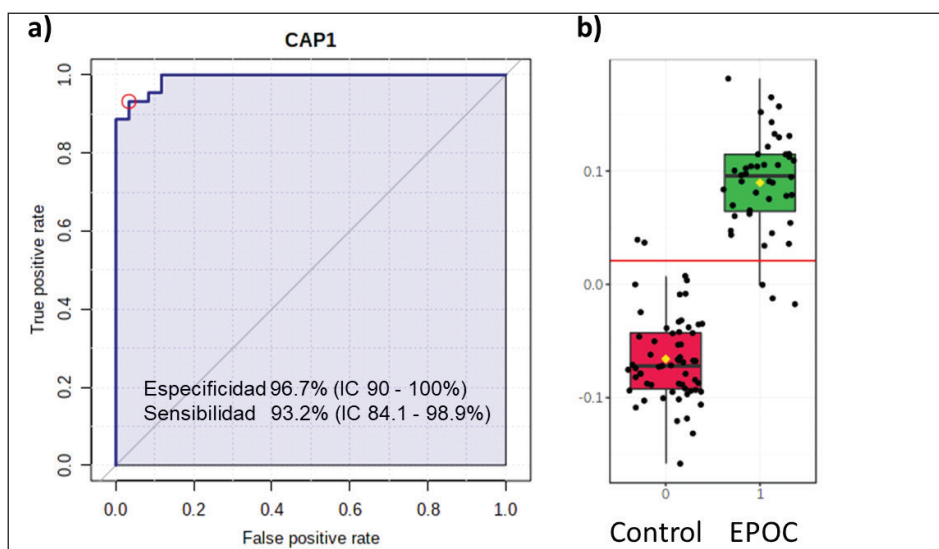


Figura 2. Gráficos de evaluación de la sensibilidad y especificidad obtenida en el modelo realizado con muestras de aliento exhalado. a) Curva ROC con un intervalo de confianza del 95%. b) Box-plot de la distribución de las muestras en el eje CAP1 de pacientes con EPOC y CONTROL, indicando con una línea de color rojo el punto de corte donde se obtiene la mejor relación entre la sensibilidad y especificidad.

Los metabolitos encontrados en los PIE permitieron identificar mediante la huella química la predicción de 17 participantes con alto riesgo de padecer EPOC en base al modelo CAP obtenido

de EPOC (Figura 3). Asimismo, se determinó el nivel de exposición a HAPs por medio de la determinación de 1-hidroxipiereno de cada participante del PIE y la función pulmonar por medio del espirómetro (Tabla1).

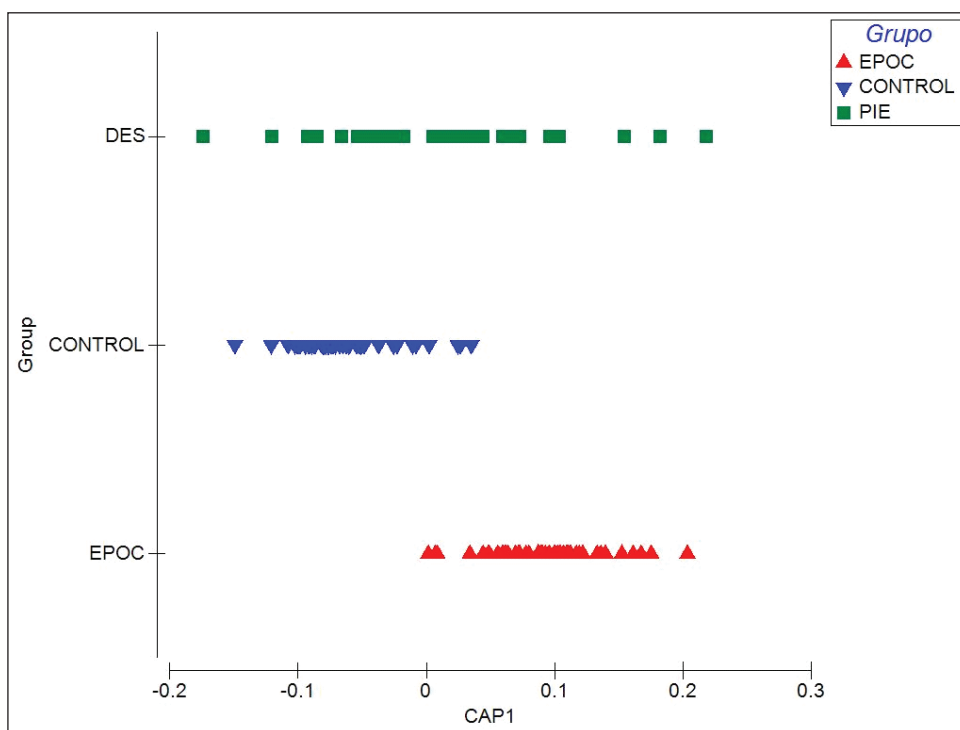


Figura 3. CAP de pacientes con EPOC vs Sanos con Predicción de población indígena expuesta (PIE) a la quema de biomasa.

Tabla 1. Determinaciones de la exposición y función pulmonar de la PIE.

Determinación	PIE (Población Indígena Expuesta)	Referencia
1-OHP	1,31 ± 0,67 µg/mol de creatinina	0,24 µg/mol de creatinina*
FEV1 (%)	81,6 ± 17,3	> 80**
FEV1/FVC	0,78 ± 0,05	> 0,7**

(*Jongeneelen 2001; ** Guía GOLD 2020)

Discusión

En el presente estudio se demostró la utilidad de la nariz electrónica para identificar la huella química del aliento exhalado de pacientes con EPOC y sujetos sanos. La principal aportación de nuestro estudio se basa en el uso de un modelo de predicción de EPOC, utilizado en población vulnerable expuesta a la quema de biomasa. Las evaluaciones más estudiadas de las huellas químicas en el aliento exhalado se han realizado en pacientes con enfermedades respiratorias

principalmente cáncer de pulmón y EPOC. En este sentido, un estudio de Poli *et al.* (2005) mostró una discriminación entre las huellas químicas de pacientes con cáncer de pulmón del 72,2% (n=36) y del 82,7% para pacientes con EPOC (n=25) con una sensibilidad y especificidad del 72 y 93,6% respectivamente, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Poli *et al.* 2005). Asimismo Jareño *et al.* en el 2016, observaron que no existían diferencias estadísticamente significativas entre el

grupo de pacientes con EPOC y el grupo control, además de que no encontraron relación entre la detección de COVs con la edad y el género, lo que concuerda con nuestros resultados.

En un estudio de Chen *et al.* (2013), analizaron los COVs presentes en el aliento exhalado de 18 pacientes con EPOC y 10 controles de la misma edad y características biométricas, el estudio de los patrones de COVs permitió reconocer correctamente a todos los pacientes con EPOC y a 8 de 10 de los controles, lo que representaba una sensibilidad del 100% y una especificidad del 92% en el diagnóstico de la enfermedad, en comparación con nuestro estudio se conformó por 142 participantes, de los cuales 44 presentaban EPOC asociado a la quema de biomasa, 60 sujetos sin afecciones pulmonares que conforman el grupo control, el modelo CAP indicó una separación entre las huellas químicas de un mayor número de pacientes con EPOC y sujetos sanos, obteniendo una correcta predicción de 91,34%, con una sensibilidad y especificidad de 93,2 y 96,7% respectivamente. Asimismo, se logró establecer un modelo de discriminación entre la huella química del grupo de pacientes con EPOC y el grupo control.

Donaire *et al.* (2005), estudiaron 12 pacientes con agudizaciones de la EPOC (AEPOC), 18 pacientes con EPOC estable y 10 controles con función pulmonar normal, los resultados del estudio de los patrones de COVs permitió reconocer correctamente 11 de 12 de los pacientes con AEPOC (91%), 18 de los 18 pacientes con EPOC (100%) y 8 de 10 de los controles (80%). En los casos donde no se pudo reconocer ningún patrón de COVs (8%), el sujeto era fumador activo, en nuestros resultados pudimos observar que los metabolitos encontrados en la PIE (38 participantes que pertenecían al grupo de Población Indígena Expuesta a la quema de biomasa) permitieron identificar mediante la huella química la predicción de 17 participantes con alto riesgo de padecer EPOC, asimismo, la evaluación pulmonar mediante espirometría indicó que 10 de los participantes tenían un nivel de obstrucción leve y moderado, mientras que 4 de los 17 participantes con huella metabólica característica de un paciente con EPOC tenía un bajo FEV1 y FVC sin aun ser obstructivo. Los últimos 3 participantes no fue concluyente su espirometría. Estos datos se obtuvieron en varias sesiones de la prueba espirométrica, ya que la prueba fue compleja para poder tener resultados valorables además de la diferencia de lenguaje que no lograron realizar las maniobras de una

manera eficiente.

En cuanto a la exposición de las poblaciones indígena a los HAPs se evaluó la concentración del metabolito de 1-hidroxipireno (1-OHP), determinando que existe una concentración del $1,31 \pm 0,67 \mu\text{g/mol}$ de creatinina. Esta concentración se encuentra más de 5 veces arriba de los valores de referencia establecidos en el 2001, que es de $0,24 \mu\text{g/mol}$ de creatinina. No obstante, no se encontró una correlación significativa entre los valores espirométricos (FEV1, FEV1/FVC) y la concentración de 1-OHP determinadas, por lo que indica que este metabolito no está asociado a la EPOC. Sin embargo, se sugiere identificar otros metabolitos de los HAPs como el fenantreno que se ha sugerido que tiene esta asociación inversa con el daño pulmonar (Zelikoff *et al.* 2002).

Conclusión

Se demostró la exposición y efecto por neurotóxicos en población indígena de San Luis Potosí. Se logró obtener un diagnóstico oportuno en población vulnerable mediante el uso de la metabolómica, además se estableció una huella química de los pacientes con EPOC y sujetos sanos. Demostrando así, que los COVs encontrados en el aliento exhalado están relacionados con el estrés oxidativo que producen estas enfermedades, incluyendo aquellos que se producen para contrarrestar el efecto, así como, el incremento de ciertas enzimas específicas de la enfermedad. Sin embargo, se consideró que se necesita incrementar el número de participantes para obtener una huella metabolómica más compleja y de mayor certidumbre, finalmente se considera que ésta huella metabolómica puede ser utilizada como monitoreo de la enfermedad en sujetos en riesgo (fumadores, población expuesta a neurotóxicos, entre otros).

Agradecimientos. Los autores agradecen la contribución de la investigación a todos los participantes de la comunidad de Tocooy, San Antonio, S.L.P

Bibliografía

Acuña Kaldman M, Canizales Cobos M, Chanona Alcocer O, Domínguez Flores ME, Domínguez Peregrina A, Galindo Galindo JO, García Guillén MdeL, Loustaunau Andrade MA. 2003. Segundo consenso mexicano para el diagnóstico y tratamiento de la EPOC. Edición especial del INER y de la Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax. p. 9-13.

Alhmdow A, Zettergren A, Kull I, Hallberg J, An-

dersson N, Ekström S, Berglund M, Wheelock CE, Essig YJ, Kraiss AM, *et al.* 2021. Chen S, Wang Y, Choi S. 2013. Applications and Technology of Electronic Nose for Clinical Diagnosis. *Open Journal of Applied Biosensor*. 2: 39-50. doi: 10.4236/ojab.2013.22005. Low-level exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons is associated with reduced lung function among Swedish young adults. *Environ Res*. 197:111169. doi:10.1016/j.envres.2021.111169

Callejón-Leblic B, Pereira-Vega A, Vázquez-Gandullo E, Sánchez-Ramos JL, Gómez-Ariza JL, García-Barrera T. 2019. Study of the metabolomic relationship between lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease based on direct infusion mass spectrometry. *Biochimie*. 157:111-122. doi:10.1016/j.biochi.2018.11.007

Dragonieri S, Annema JT, Schot R, van der Schee MP, Spanevello A, Carratú P, Resta O, Rabe KF, Sterk PJ. 2009. An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung Cancer*. 64(2):166-170. doi:10.1016/j.lungcan.2008.08.008

Dragonieri S, Quaranta VN, Carratu P, Ranieri T, Resta O. 2016. Exhaled breath profiling in patients with COPD and OSA overlap syndrome: a pilot study. *J Breath Res*. 10(4):041001. doi:10.1088/1752-7155/10/4/041001

[G.I.F.C.O L] Global initiative for chronic lung Disease. 2018. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/11/GOLD-2018-v6.0-FINAL-revised-20-Nov_WMS.pdf

Juneman A, Legarreta G. 2007. Inhalación de humo de leña: una causa relevante pero poco reconocida de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. *Revista Americana de Medicina Respiratoria*. 7(2):21-57 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382138370004>

Koo I, Shi X, Kim S, Zhang X. 2014. iMatch2: compound identification using retention index for analysis of gas chromatography-mass spectrometry data. *J Chromatogr A*. 1337:202-210. doi:10.1016/j.chroma.2014.02.049

Lareau SC, Fahy B, Meek P, Wang A. 2019. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Am J Respir Crit Care Med*. 199(1):P1-P2. doi: 10.1164/

rccm.1991P1

Martínez Luna M, Rojas Granados A, Lázaro Pacheco RI, Meza Alvarado JE, Ubaldo Reyes L, Castellanos AM. 2020. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Bases para el médico general. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*. 63(3): 28-35.

McDonald CF, Khor Y. 2013. Advances in chronic obstructive pulmonary disease. *Intern Med J*. 43(8):854-862. doi:10.1111/imj.12219

Pizzini A, Filipiak W, Wille J, Ager C, Wiesenhofer H, Kubinec R, Blaško J, Tschurtschenthaler C, Mayhew CA, Weiss G, Bellmann-Weiler R. 2018. Analysis of volatile organic compounds in the breath of patients with stable or acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Breath Res*. 12(3):036002. doi: 10.1088/1752-7163/aaa4c5

Poli D, Carbognani P, Corradi M, Goldoni M, Acampa O, Balbi B, Mutti A. 2005. Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study. *Respir Res*. 6:71. doi:10.1186/1465-9921-6-71

Rodríguez-Aguilar M, Díaz de León-Martínez L, Gorocica-Rosete P, Domínguez-Reyes C.A, Martínez-Bustos V, Tenorio-Torres J.A, Flores-Ramírez R. 2020. Identification of profiles of volatile organic compounds in exhaled breath by means of an electronic nose as a proposal for a screening method for breast cancer: a case-control study. *J Breath Res*. 14:046009. <http://dx.doi.org/10.1088/1752-7163/aba83f>.

Rodríguez-Aguilar M, Ramírez-García S, Ilizaliturri-Hernández C, Gómez-Gómez A, Van-Brussel E, Díaz-Barriga F, Flores-Ramírez R. 2019. Ultrafast gas chromatography coupled to electronic nose to identify volatile biomarkers in exhaled breath from chronic obstructive pulmonary disease patients: A pilot study. *Biomed Chromatogr*. 33(12):e4684. doi:10.1002/bmc.4684

[WHO] World Health Organization 2005. Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: Summary of risk assessment. Global Update. Offset Publication, WHO, Geneva.

Zelikoff JT, Chen LC, Cohen MD, Schlesinger RB. 2002. The toxicology of inhaled woodsmoke. *J*

Toxicol Environ Health B Crit Rev. 5(3):269-282.
doi:10.1080/10937400290070062

Zhang J, Smith KR. 2003. Indoor air pollution: a global health concern. Br Med Bull. 68:209-225.
doi:10.1093/bmb/ldg029.