

ANÁLISIS DEL PERFIL METABOLÓMICO EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN Y CABEZA Y CUELLO TRATADOS CON RADIOTERAPIA

Laura Fernández Corbacho
Begoña Gómez Fabra

Dirigido por:

Dra. Meritxell Arenas
Andrea Jiménez

Trabajo de Fin de Grado de Medicina, Tarragona 2025

ÍNDICE

Agradecimientos

Abreviaturas

Resumen

Abstract

Introducción

1. El cáncer
2. Cáncer de pulmón
 - 2.1 Epidemiología
 - 2.2 Histología
3. Cáncer de cabeza y cuello (ORL)
 - 3.1 Epidemiología
 - 3.2 Histología
4. Radioterapia (RT)
5. Metabolómica y cáncer

Hipótesis y objetivos

Material y métodos

1. Participantes del estudio
2. Procesamiento de muestras biológicas
3. Análisis metabolómico
4. Análisis estadístico

Resultados

1. Características clínicas
2. Características de la población con cáncer
3. Análisis metabolómico
 - 3.1 Distribución de las tres poblaciones
 - 3.2 El formiato y el acetato: posibles biomarcadores para el cáncer de pulmón
 - 3.3 Diferencias en el perfil metabolómico pre y post-RT en pacientes con cáncer de pulmón
 - 3.4 El formiato y el acetato: posibles biomarcadores para el cáncer ORL
 - 3.5 Diferencias en el perfil metabolómico pre y post-RT en pacientes con cáncer ORL
 - 3.6 Diferencias entre las poblaciones con cáncer

Discusión

Conclusión

Limitaciones

Bibliografía

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a nuestras tutoras, la Dra. Meritxell Arenas y Andrea Jiménez, por su dedicación, su paciencia y por habernos brindado esta oportunidad.

A mi Bego: no podría haber encontrado a alguien mejor para compartir esta aventura hasta el final. Gracias, amiga.

A mi mamá y a mi abuela, que aunque no estén presentes, siempre confiaron en mí y me dejaron lo más valioso: el ejemplo de cuidar con amor. Esto es por vosotras.

— *Laura*

A la Dra. Meritxell Arenas y Andrea Jiménez, por guiarnos a lo largo de este proyecto con claridad y compromiso.

A mi Lauri: gracias por estar a mi lado, no desde el principio, pero sí hasta el final.

A mis padres y hermano: por apoyarme durante todos estos años.

— *Begoña*

ABREVIATURAS

3-HB: 3-hidroxibutirato
ACSS2: Acetil coA sintetasa 2
AUC: Área bajo la curva (Area Under the Curve)
ALT: Alanina aminotransferasa
AST: Aspartato aminotransferasa
BDH1: 3-hidroxibutirato deshidrogenasa 1
DM: Diabetes mellitus
EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético (anticoagulante)
HDAC10: Histona deacetilasa 10
HER-2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Human Epidermal growth factor Receptor 2)
HTA: Hipertensión arterial
IL-6: Interleucina 6
LID: Lóbulo inferior derecho (del pulmón)
LII: Lóbulo inferior izquierdo (del pulmón)
LSD: Lóbulo superior derecho (del pulmón)
LSI: Lóbulo superior izquierdo (del pulmón)
N: Ganglios (Nodes)
M: Metástasis
Mx: Metástasis no determinada
ORL: Otorrinolaringología (cáncer de cabeza y cuello)
PD: Enfermedad en progresión (Progressive disease)
PLSDA: Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (Partial Least Squares Discriminant Analysis)
QT: Quimioterapia
RC: Remisión completa
RL: Recidiva local
ROC: Curva de características operativas del receptor (Receiver Operating Characteristic)
RT: Radioterapia
RP: Remisión parcial
SD: Enfermedad estable (Stable disease)
TCA: Ácido tricloroacético
TNM: Sistema de estadificación de tumores (Tumor, Node, Metastasis)
T: Tamaño del tumor
Tx: Tumor no determinado
VIP: Variable de importancia en la proyección (Variable Importance in Projection)
VPH: Virus del Papiloma Humano

RESUMEN

Introducción:

La metabolómica ha emergido como una herramienta prometedora para identificar biomarcadores y caracterizar el metabolismo tumoral. Este estudio analiza el perfil metabolómico en pacientes con cáncer de pulmón y de cabeza y cuello (ORL), antes y después de la radioterapia (RT), comparado con individuos sanos. Ambos tipos de cáncer presentan una elevada carga clínica y biológica, y su abordaje continúa siendo un reto diagnóstico y terapéutico.

Métodos:

Se incluyeron 53 pacientes (30 con cáncer de pulmón y 23 con cáncer ORL) y 50 controles sanos. Se realizó un análisis metabolómico dirigido en muestras de plasma obtenidas antes y después de la RT. Se aplicaron análisis estadísticos y multivariantes (PLS-DA, VIP scores, curvas ROC) para detectar diferencias significativas entre grupos.

Resultados:

Se observaron alteraciones significativas en los perfiles metabolómicos de los pacientes frente a los controles, con una reducción destacada de formiato y acetato en ambos tipos de cáncer. Tras la RT, se observó una disminución significativa de la N-acetilespermidina en el grupo de pulmón, mientras que el 3-hidroxibutirato (3-HB) disminuyó de forma más notable en el grupo ORL, lo que sugiere una respuesta metabólica al tratamiento. No se identificaron diferencias significativas entre los perfiles basales de cáncer de pulmón y ORL.

Conclusión:

El formiato y el acetato se perfilan como posibles biomarcadores comunes en cáncer de pulmón y ORL, mientras que la N-acetilespermidina y el 3-HB podría considerarse un marcador dinámico de respuesta a la RT. Estos hallazgos respaldan la utilidad de la metabolómica como herramienta no invasiva para el diagnóstico y la monitorización en oncología.

ABSTRACT

Introduction:

Metabolomics has emerged as a promising tool for the identification of biomarkers and the characterization of tumor metabolism. This study analyzes the metabolomic profile of patients with lung and head and neck cancer (HNC) before and after radiotherapy (RT), compared to healthy individuals. Both cancer types present a high clinical and biological burden, and their management remains a diagnostic and therapeutic challenge.

Methods:

A total of 53 patients (30 with lung cancer and 23 with HNC) and 50 healthy controls were included. A targeted metabolomic analysis was performed on plasma samples collected before and after RT. Statistical and multivariate analyses (PLS-DA, VIP scores, ROC curves) were applied to identify significant differences between groups.

Results:

Significant alterations in the metabolomic profiles of cancer patients compared to controls were observed, with a marked reduction in formate and acetate in both cancer types. After RT, a significant decrease in N-acetylspermidine was observed in the lung cancer group, while 3-hydroxybutyrate (3-HB) showed a more notable reduction in the HNC group, suggesting a metabolic response to treatment. No significant differences were identified between the baseline metabolomic profiles of lung and HNC patients.

Conclusion:

Formate and acetate appear as potential common biomarkers in lung and HNC cancer, while N-acetylspermidine and 3-HB could be considered dynamic markers of response to RT. These findings support the use of metabolomics as a non-invasive tool for diagnosis and treatment monitoring in oncology.

Introducción

1. El cáncer

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo y un desafío creciente para los sistemas de salud. Su impacto no solo se refleja en las tasas de morbilidad y mortalidad, sino también en las consecuencias económicas y sociales para los pacientes, sus familias y la sociedad en general.

A medida que aumenta la esperanza de vida y cambian los hábitos de vida, la incidencia de esta enfermedad sigue en ascenso, convirtiéndola en una prioridad para la investigación, prevención y tratamiento. En 2023 en España el cáncer se situó como la primera causa de muerte, con un 26.6% del total de defunciones, seguidos de las enfermedades del sistema circulatorio (26.5%). Así, por primera vez, la tasa de muerte por esta enfermedad supera a las del sistema circulatorio¹.

En este trabajo se tratarán dos tipos diferentes de cáncer, el de pulmón y el de cabeza y cuello (ORL).

2. Cáncer de pulmón

2.1 Epidemiología

En el año 2023 se diagnosticaron en España 30,670 nuevos casos de cáncer de pulmón, siendo el cuarto más frecuente en el conjunto de la población, según datos del Observatorio del Cáncer de la Asociación Española Contra el Cáncer. En la última década su incidencia se ha visto aumentada en la población femenina, probablemente relacionado con el aumento del consumo de tabaco en mujeres a partir de las décadas más tardías del siglo XX^{2,3}.

Además de frecuente, presenta una alta mortalidad en la población española y mundial, siendo la primera causa de muerte por cáncer en España, estimándose en 23,129 el número de fallecimientos por esta causa en el año 2023. Sin embargo, presenta un alto potencial de prevención, ya que su principal factor de riesgo es el tabaco. El 80% de este tipo de cáncer está relacionado con el hábito tabáquico; por ello el abandono del hábito tabáquico disminuye el riesgo de cáncer de pulmón, siendo esta la principal medida de prevención. Existen, no obstante, otros factores de riesgo asociados, como la exposición a radón, asbesto, la contaminación ambiental, o haber realizado radioterapia (RT) sobre el lecho pulmonar⁴.

2.2 Histología

Existen dos tipos principales de cáncer de pulmón: de células no pequeñas (85% de los casos) y de células pequeñas o microcítico (en el 15% de los casos). Dentro del primero se distinguen dos grandes grupos, los de histología escamosa y los no escamosos o adenocarcinomas⁵.

3. Cáncer de cabeza y cuello (ORL)

3.1 Epidemiología

En este grupo se engloban los tumores malignos localizados en los senos paranasales, nasofaringe, orofaringe (amígdala, paladar blando, base de lengua), hipofaringe, laringe, cavidad oral (mucosa oral, encía, paladar duro, lengua y suelo de boca), lengua y glándulas salivares. Se puede considerar un tipo de tumor infrecuente, ya que representa un 5% de todos los tumores. Aunque su frecuencia varía en las distintas áreas geográficas, en Europa la localización más frecuente es la laringe, seguido de la orofaringe, cavidad oral y nasofaringe y sus principales factores de riesgo son el alcohol y el tabaquismo, así como la infección por el virus del papiloma humano (VPH), aunque en menor porcentaje. Es un tumor predominantemente masculino; siendo en España la proporción 10 a 1 para el varón, aunque en los últimos años debido al aumento del hábito tabáquico en la mujer este cociente se está viendo modificado. La edad media de aparición es por encima de los 50 años, aunque los tumores de nasofaringe y glándulas salivares pueden aparecer antes^{6,7}.

3.2 Histología

Dependiendo de la zona anatómica, la clase histológica cambia: así, en laringe, cavidad oral, orofaringe, cavidad nasal y senos paranasales encontramos principalmente el tipo escamoso; en cavum la OMS diferencia tres tipos, el carcinoma epidermoide queratinizante o diferenciado, el carcinoma epidermoide no queratinizante, y el carcinoma indiferenciado; y a nivel de las glándulas salivales, debido a la gran diversidad de tumores, no existe una única clasificación, siendo los más comunes el carcinoma adenoide quístico, el carcinoma mucoepidermoide y el adenocarcinoma polimorfo de bajo grado^{6,8}.

4. Radioterapia (RT)

El papel de la RT en el cáncer se basa en el uso de radiación ionizante para dañar el ADN de las células tumorales, impidiendo su capacidad de proliferación y llevando a cabo su muerte. Tanto en el cáncer de pulmón como en el de ORL, el plan terapéutico que recibirá el paciente es decidido por un comité interdisciplinar integrado por diferentes especialistas que optarán por el tratamiento más adecuado teniendo en cuenta factores como el estadio tumoral, edad, estado general del paciente y las comorbilidades asociadas que presente⁹.

En el caso del cáncer de pulmón, si hablamos del tipo no microcítico, la RT se emplea con intención radical junto con quimioterapia (QT) en los estadios I a III cuando el paciente no es candidato a cirugía. Esta combinación de RT y QT se puede realizar de forma concomitante o bien secuencial, con una duración aproximada de 7 y 12 semanas, respectivamente. En el tipo microcítico, que disemina más rápidamente, la RT se utiliza en estadios limitados (sin metástasis a distancia) junto con QT. Tanto en estadios limitados como extendidos se valora realizar además RT holocraneal profiláctica para reducir el riesgo de aparición de metástasis cerebrales⁵.

Por otra parte, en el cáncer ORL, podemos decir que en los estadios I y II se obtienen similares resultados con la utilización de cirugía o la RT¹⁰. En los estadios III y IV se puede

plantear un tratamiento quirúrgico seguido de una adyuvancia con RT, y en aquellos casos en los que no se plantee la cirugía o el paciente la rechace, el tratamiento consistirá en una combinación de RT con dosis radicales junto a QT¹¹.

De esta manera, podemos observar como la RT desempeña un papel relevante en el tratamiento del cáncer de pulmón y ORL, y es por esto, que en este trabajo se quiere recalcar su eficacia.

5. Metabolómica y cáncer

El cáncer es una enfermedad compleja caracterizada por una proliferación celular descontrolada que requiere una profunda reprogramación del metabolismo celular. Esta reestructuración metabólica permite a las células tumorales satisfacer las altas demandas energéticas y biosintéticas necesarias para sostener su crecimiento acelerado. Como resultado, las células cancerosas desarrollan fenotipos metabólicos particulares que pueden diferenciarse del metabolismo de las células sanas¹².

En los últimos años, la metabolómica ha emergido como una herramienta poderosa en la investigación oncológica. A diferencia de las técnicas tradicionales que se limitan a la cuantificación de metabolitos individuales o parámetros bioquímicos aislados, la metabolómica permite el análisis global de perfiles metabólicos mediante el estudio sistemático de múltiples moléculas presentes en diversos fluidos biológicos como sangre, orina o tejidos. Esta aproximación integral está mostrando un prometedor potencial en la caracterización de procesos tumorales, la identificación de biomarcadores clínicos y la evaluación de la eficacia de los tratamientos oncológicos en diversos tipos tumorales, como el cáncer colorrectal, de próstata, de mama o hepático¹³.

Más allá del ámbito oncológico, esta nueva ciencia también se ha enfocado en su aplicación en otro tipo de enfermedades como las cardiovasculares, inflamatorias o inmunológicas, identificando perfiles metabólicos alterados en sangre que podrían actuar como herramientas diagnósticas y pronósticas en múltiples contextos clínicos¹⁴.

Hipótesis y objetivos

Los pacientes con cáncer de pulmón y ORL presentan perfiles metabólicos significativamente alterados en comparación con individuos sanos, caracterizados por cambios tanto al alza como a la baja en la concentración de metabolitos clave, reflejando la reprogramación metabólica asociada al desarrollo tumoral. Además, se espera que el tratamiento con RT induzca cambios adicionales en el perfil metabólico, como respuesta al estrés celular y daño inducido por la radiación.

Para probar nuestra hipótesis, proponemos los siguientes objetivos:

- Determinar el perfil metabólico de pacientes con cáncer de pulmón y ORL antes de la RT.
- Evaluar los cambios en el perfil metabólico inducidos por la RT en ambos tipos de cáncer.
- Identificar metabolitos discriminantes y potenciales biomarcadores.

Materiales y métodos

1. Participantes del estudio

Un total de 53 pacientes con cáncer, 30 de pulmón y 23 de ORL, fueron incluidos en el estudio entre 2013 y 2017 en el Hospital Universitario Sant Joan de Reus. Todos ellos recibieron RT como parte del tratamiento oncológico. Como grupo control, se analizaron muestras de 50 individuos sanos, es decir, sin evidencias carcinogénicas, elegidos de forma aleatoria.

Para el desarrollo del proyecto se consideraron algunos criterios de inclusión y exclusión. Fueron incluidos pacientes mayores de 18 años con diagnóstico confirmado de cáncer de pulmón y ORL en cualquier estadiaje con indicación de RT.

Fueron excluidos pacientes con comorbilidades graves no controladas que podrían interferir con la respuesta al tratamiento (insuficiencia cardíaca severa, insuficiencia renal, hepática, etc.) y mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, así como pacientes con trastornos psiquiátricos o de adicción.

Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Sant Joan de Reus.

2. Procesamiento de muestras biológicas

Se recogieron dos tubos de sangre (10 ml cada una) en cada etapa, antes del inicio de la RT y un mes después. Uno de los tubos era sin anticoagulante y el otro con EDTA. Las muestras se procesaron para obtener alícuotas de suero y plasma mediante centrifugación (2500 xg, 15 min, 4 °C) y se almacenaron a -80 °C hasta su análisis. Las muestras del grupo control se procesaron de la misma manera. Todas las muestras se identificaron con el número correspondiente al proceso de anonimización.

3. Análisis metabolómico

Se utilizó metabolómica dirigida para determinar la concentración plasmática de 74 metabolitos asociados al balance energético. Las clases metabólicas analizadas fueron: carbohidratos (fructosa y manosa, galactosa, azúcar nucleótido, TCA, sacarosa), aminoácidos (alanina, aspartato, arginina, prolina, glicina, serina, tirosina), lípidos (glucolípidos y biosíntesis primaria de ácidos biliares), metabolismo de cofactores y vitaminas, nucleótidos (purinas y pirimidinas), biodegradación de xenobióticos (degradación de benzoatos) y metabolismo energético (fosforilación oxidativa).

El equipo utilizado consistió en un cromatógrafo de gases 7890A acoplado a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo cuádruple 7200 con una fuente de impacto electrónico. Además, el sistema estaba equipado con un módulo de muestreador automático 7693 y una columna J&W Scientific HP-5MS (30 ms 0,25 mm, 0,25 µm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). La curva de calibración se obtuvo mediante concentraciones estándar en función del área del pico.

4. Análisis estadístico

Para comparar dos grupos independientes, asumiendo que tienen una distribución no paramétrica, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias significativas cuando el valor p fue < 0.05 . Las variables cuantitativas se expresaron como mediana (rango intercuartílico) y como frecuencia (porcentaje) para las cualitativas.

Se utilizó Metabolanalyst 6.0 (www.metaboanalyst.ca) para generar el Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA, en inglés), el gráfico de volcanes, la Puntuación de Importancia de la Variable en la Proyección (VIP score, del inglés), y la curva ROC (curva de características operativas del receptor).

Para evaluar la capacidad discriminativa global del perfil metabolómico entre grupos se utilizó el PLS-DA. Se generó un gráfico de volcán para identificar los metabolitos con diferencias significativas en términos de expresión y relevancia estadística. Seguidamente, con el VIP score identificamos los componentes más importantes. Este análisis permite destacar los metabolitos con mayor peso en la diferenciación entre grupos.

Para el análisis de biomarcadores, se generaron curvas ROC combinando variables significativas.

Finalmente, se generó un diagrama de caja con el programa RStudio 4.5.0 para evaluar la distribución y el grado de asimetría de las variables significativas. Para ello, se utilizaron los paquetes *ggplot2* para la construcción gráfica y *gridExtra* para la disposición y combinación de paneles. Para las tablas descriptivas y de comparación se utilizaron los paquetes *dplyr* para la manipulación y limpieza de datos, *tableone* para la generación de tablas de características de la cohorte, *ggplot2* para la visualización complementaria de los datos, *openxlsx* para la exportación de tablas a archivos Excel. Todos los paquetes utilizados se encuentran actualizados, disponibles en CRAN (cran.r-project.org) a fecha 1 de mayo del 2025.

Resultados

1. Características clínicas

Las principales características clínicas de los pacientes con cáncer y de grupo control se recogen en la **Tabla 1**. La edad media fue significativamente superior en los grupos de pacientes oncológicos respecto al grupo control, destacando una mediana de 74 años en el grupo de cáncer de pulmón y de 65 años en el grupo ORL, frente a 42 años en los controles. Esta diferencia se corresponde con el perfil epidemiológico habitual de estas patologías. La mayoría de los pacientes oncológicos eran varones, con una proporción del 90 % en el grupo de pulmón y 91.3 % en ORL, en contraste con el 50 % en el grupo control.

El hábito tabáquico fue también significativamente más frecuente entre los pacientes, especialmente en el grupo de pulmón (93.3 %) y ORL (81.8 %) frente al 38.6 % en los controles. La hipertensión arterial mostró diferencias marcadas, con una prevalencia del 66.7 % en pulmón y del 65.2 % en ORL, comparado con el 8.0 % en el grupo control. También se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de diabetes mellitus (DM) y en los niveles de glucosa en sangre, con valores más elevados en los grupos de pacientes. En cuanto a las enzimas hepáticas, la aspartato aminotransferasa (AST) fue

significativamente menor en el grupo de pulmón, mientras que no se encontraron diferencias relevantes en los niveles de alanina aminotransferasa (ALT).

Tabla 1. Características clínicas de los controles y pacientes con cáncer

	Grupo control (n = 50)	Pacientes Pulmón (n= 30)	Pacientes ORL (n = 23)	P valor
Edad	42 (36 – 47)	74 (70 – 78)	65 (58 – 73)	3.20 x10 ⁻¹⁵
Hombres	25 (50.0)	27 (90.0)	21 (91.3)	3.50 x10 ⁻⁵
Tabaquismo	17 (38.6)	28 (93.3)	18 (81.8)	1.40 x10 ⁻⁶
Enolismo	15 (34.1)	14 (53.8)	12 (57.1)	0.123
HTA	4 (8.0)	20 (66.7)	15 (65.2)	3.40 x10 ⁻⁸
DM	5 (10.0)	10 (33.3)	6 (26.1)	0.046
Glucosa (mmol/L)	4.8 (4.4 – 5.3)	5.2 (5.0 – 6.4)	5.6 (5.2 – 6.1)	0.002
AST (uKAT/L)	0.3 (0.3 – 0.4)	0.2 (0.2 – 0.3)	0.3 (0.2 – 0.4)	0.034
ALT (uKAT/L)	0.3 (0.2 – 0.4)	0.3 (0.2 – 0.4)	0.3 (0.2 – 0.4)	0.66

Los valores se proporcionan como frecuencia (porcentaje) para las variables cualitativas y con la media (rango intercuartílico) para las cuantitativas. Se utilizaron la prueba U de Mann-Whitney para variables cuantitativas y la prueba de χ^2 de independencia (chi-cuadrado) para las cualitativas. La significancia se determinó con valores $p < 0.05$. ORL: cabeza y cuello; AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa. HTA: hipertensión arterial; DM: diabetes mellitus.

2. Características de la población con cáncer

Las características clínico-patológicas de los pacientes oncológicos se resumen en la **Tabla 2**. En cuanto a sublocalización tumoral, en el grupo de pulmón, los tumores se distribuyeron principalmente en los lóbulos superiores (derecho e izquierdo), representando en conjunto un 66.6 % de los casos. En cambio, los casos de cáncer ORL se localizaron con mayor frecuencia en la laringe (47.8 %), seguidos de la orofaringe (21.7 %) y cavidad oral (13.0 %).

Respecto al tipo histológico, en el grupo de pulmón se observó una mayor heterogeneidad respecto al ORL, con predominio del carcinoma escamoso (56.7 %), seguido por adenocarcinoma (36.7 %) y microcítico (6.7 %); los pacientes ORL, por su parte, también presentaron el carcinoma escamoso (91.3 %) como tipo histológico mayoritario.

En relación con el tamaño tumoral (clasificación T del sistema TNM), los pacientes con cáncer de pulmón presentaron con más frecuencia estadios iniciales (T1: 36.7 %) así como intermedios (T2: 26.7%) y avanzados (T4: 26.7 %), mientras que la mayoría de los pacientes ORL se encontraban en estadios intermedios (T2: 34.8 %; T3: 30.4 %). No se observaron diferencias llamativas en la afectación ganglionar (N), siendo N0 el estadio más común en ambos grupos. La presencia de metástasis a distancia al diagnóstico fue escasa, reportándose únicamente en un paciente con cáncer de pulmón (3.3 %).

La distribución por estadios clínicos mostró una mayor proporción de tumores localizados en estadio I entre los pacientes pulmonares (43.3 %), mientras que los pacientes ORL presentaron mayoritariamente enfermedad avanzada en estadio IV (39.1%).

En cuanto al tratamiento, 23.3% del grupo pulmón recibió QT frente el 52.2 % de los pacientes ORL.

La respuesta al tratamiento también difirió entre ambos grupos: la remisión completa (RC) fue menos frecuente en pulmón (25.9 %) respecto a ORL (84.1%), mientras que la remisión parcial (RP) predominó en el primero (37.0 %). Además, el desarrollo de metástasis a distancia post-tratamiento fue mucho más frecuente en pacientes pulmonares (51.7 %) que en ORL (0 %). Finalmente, la tasa de éxitus fue elevada en ambos grupos, especialmente en el de pulmón (80.0 %) frente a ORL (52.2%).

Tabla 2. Características de los pacientes con cáncer.

	Pacientes pulmón (n = 30)	Pacientes ORL (n = 23)
Sublocalización		
Cavidad oral	-	3 (13.0)
Orofaringe	-	5 (21.7)
Laringe	-	11 (47.8)
Hipofaringe	-	2 (8.7)
Glándula parótida	-	2 (8.7)
LID	7 (23.3)	-
LSD	10 (33.3)	-
LII	2 (6.7)	-
LSI	10 (33.3)	-
LSD, LID	1 (3.3)	-
Histología		
Carcinoma escamoso	17 (56.7)	21 (91.3)
Otros (adenoma pleomorfo)	-	1 (4.3)
Adenocarcinoma	11 (36.7)	1 (4.3)
Microcítico (oat cell)	2 (6.7)	-
Tamaño (sistema TNM)		
Tx	1 (3.3)	-
T1	11 (36.7)	3 (13.0)
T2	8 (26.7)	8 (34.8)

T3	2 (6.7)	7 (30.4)
T4	8 (26.7)	5 (21.7)
Nódulos (sistema TNM)		
N0	16 (53.3)	12 (52.2)
N1	4 (13.3)	1 (4.3)
N2	7 (23.3)	9 (39.1)
N3	3 (10.0)	1 (4.3)
Metástasis (sistema TNM)		
Mx	1 (3.3)	1 (4.3)
M0	28 (93.3)	22 (95.7)
M1	1 (3.3)	-
Estadio		
I	13 (43.3)	3 (13.0)
II	3 (10.0)	5 (21.7)
III	13 (43.3)	6 (26.1)
IV	1 (3.3)	9 (39.1)
QT	7 (23.3)	12 (52.2)
Tipo de respuesta		
SD	7 (25.9)	1 (5.3)
RC	7 (25.9)	16 (84.1)
RP	10 (37.0)	1 (5.3)
PD	1 (3.7)	1 (5.3)
No aplica	2 (7.5)	-
RL	15 (50.0)	4 (18.2)
M1 post-tratamiento	15 (51.7)	-
Éxito	24 (80.0)	12 (52.2)

Los valores de las variables cualitativas se proporcionan como frecuencia (porcentaje). Sublocalización: LID (Lóbulo inferior derecho), LSD (Lóbulo superior derecho), LII (Lóbulo inferior izquierdo), LSI (Lóbulo superior izquierdo). Tipo de respuesta: RC (remisión completa), RP (remisión parcial, reducción mínima 30%), PD (enfermedad en progresión), SD (enfermedad estable). RL (Recidiva local). Estadíaje TNM: T (tamaño del tumor), N (ganglios), M (metástasis).

3. Análisis metabólico

3.1 Distribución de las tres poblaciones

En primer lugar, para hacernos una idea general de las similitudes y diferencias presentes entre los pacientes con cáncer y los controles se realizó un análisis PLS-DA tridimensional que mostró cómo se distribuyen las muestras de las tres poblaciones.

Se observó que el grupo control se encuentra concentrado y agrupado en una región diferenciada del espacio de componentes, lo que sugiere una mayor homogeneidad metabólica en individuos sanos. Los pacientes con cáncer ORL se situaron entre los controles y los pacientes con cáncer de pulmón, mostrando cierto solapamiento con ambos, pero con una tendencia a agruparse de forma independiente. Por otro lado, los pacientes con cáncer de pulmón se presentaron con un perfil metabólico más heterogéneo ya que como podemos observar, se encuentran más dispersos (**Figura 1**).

Este patrón indica que tanto los pacientes con cáncer de pulmón como ORL tienen perfiles metabólicos alterados respecto a los controles.

Al observar esta variabilidad entre grupos, hemos creído conveniente estudiar los dos grupos de pacientes (pulmón y ORL) de forma independiente, para poder comprender mejor dichos perfiles metabólicos.

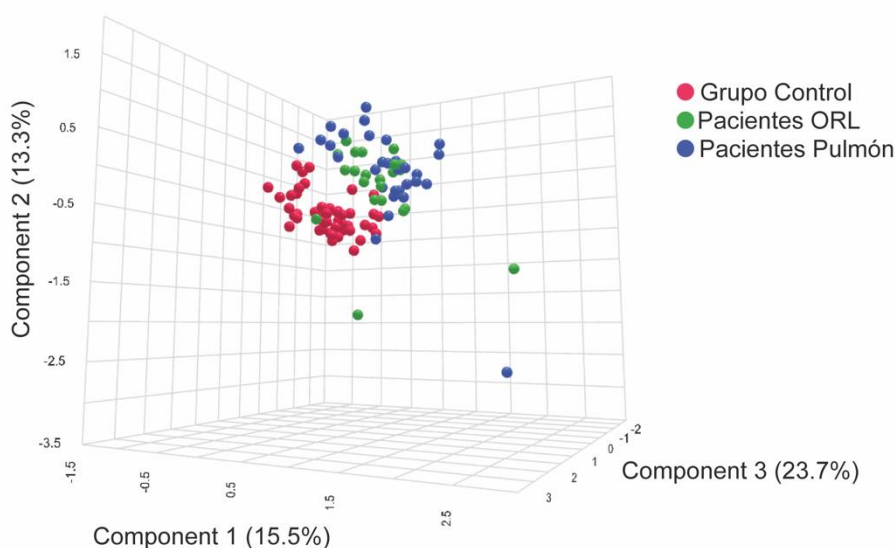


Figura 1. Determinación de la distribución de las tres poblaciones (PLS-DA).
ORL: cabeza y cuello.

3.2 El formiato y el acetato: posibles biomarcadores para cáncer de pulmón

Para poder comprender mejor el perfil metabólico de los pacientes con cáncer de pulmón, estudiamos a estos pacientes en estadio pre-RT y analizamos sus diferencias respecto a la población sana.

El análisis mediante PLS-DA reveló una separación nítida entre los perfiles metabólicos de los pacientes con cáncer de pulmón y los individuos controles, lo que indica que existen alteraciones metabólicas relevantes asociadas a la presencia de cáncer de pulmón (**Figura 2A**).

En el gráfico tipo Volcano se observaron varios metabolitos significativamente alterados entre pacientes y controles: formiato, acetato y glutamina mostraron niveles disminuidos en pacientes con cáncer de pulmón, mientras que el glutamato y 3-HB (3-hidroxibutirato) presentaron concentraciones incrementadas respecto a la población control (**Figura 2B**).

Se analizaron los VIP scores para identificar los metabolitos más relevantes en la separación entre pacientes con cáncer de pulmón y controles, que fueron: formiato y acetato (**Figura 2C**).

El diagrama de cajas mostró que el formiato se encuentra significativamente disminuido en la población con cáncer de pulmón respecto al grupo control (**Figura 2D**). En cuanto al acetato, el diagrama muestra que los niveles son también inferiores en el grupo de pacientes respecto a los controles.

Para evaluar la fiabilidad del modelo PLS-DA, se generó una curva ROC empleando los metabolitos formiato y acetato, la cual mostró un AUC de 0.998, con un intervalo de confianza del 95% entre 0.993 y 1, lo cual indica una muy buena capacidad del modelo para clasificar correctamente las muestras entre pacientes con cáncer de pulmón y controles (**Figura 2E**).

3.3 Diferencias en el perfil metabolómico pre y post-RT en pacientes con cáncer de pulmón

Para comprender el impacto de la RT sobre el perfil metabolómico en pacientes con cáncer de pulmón, se estudiaron los cambios entre los perfiles pre y post-RT.

El análisis de PLS-DA permitió visualizar una separación entre ambos grupos, más sutil que en el gráfico previo, aunque se aprecia una cierta tendencia a la diferenciación en los componentes principales (**Figura 3A**).

El gráfico Volcano indicó que los metabolitos que presentan diferencias estadísticamente significativas entre los estados pre y post-RT en pacientes con cáncer de pulmón son: 3-HB, formiato, glutamato, acetona y N-acetilespermidina, estando todos incrementados en el estado pre-RT (**Figura 3B**).

El análisis de VIP scores identificó como metabolitos más relevantes en la diferenciación entre los perfiles pre y post-RT al 3-HB y N-acetilespermidina (**Figura 3C**).

Sin embargo, el diagrama de cajas mostró que, aunque estos metabolitos están disminuidos en el estado post-RT, las diferencias en la concentración de 3-HB no alcanzaron significación estadística (**Figura 3D**). Esta aparente discrepancia refleja que el VIP score captura la contribución del 3-HB a la separación multivariante, considerando el efecto conjunto de todos los metabolitos, mientras que el análisis univariante (boxplot) evalúa únicamente la diferencia media de 3-HB entre los grupos.

El rendimiento del modelo se evaluó mediante una curva ROC que obtuvo una puntuación de 0.884, con un intervalo de confianza del 95% entre 0.754 y 1, utilizando como metabolitos el 3-HB y N-acetilespermidina (**Figura 3E**). Este resultado indica una capacidad moderada de clasificación entre los perfiles pre y post-RT y sugiere que existen cambios metabolómicos detectables tras el tratamiento.

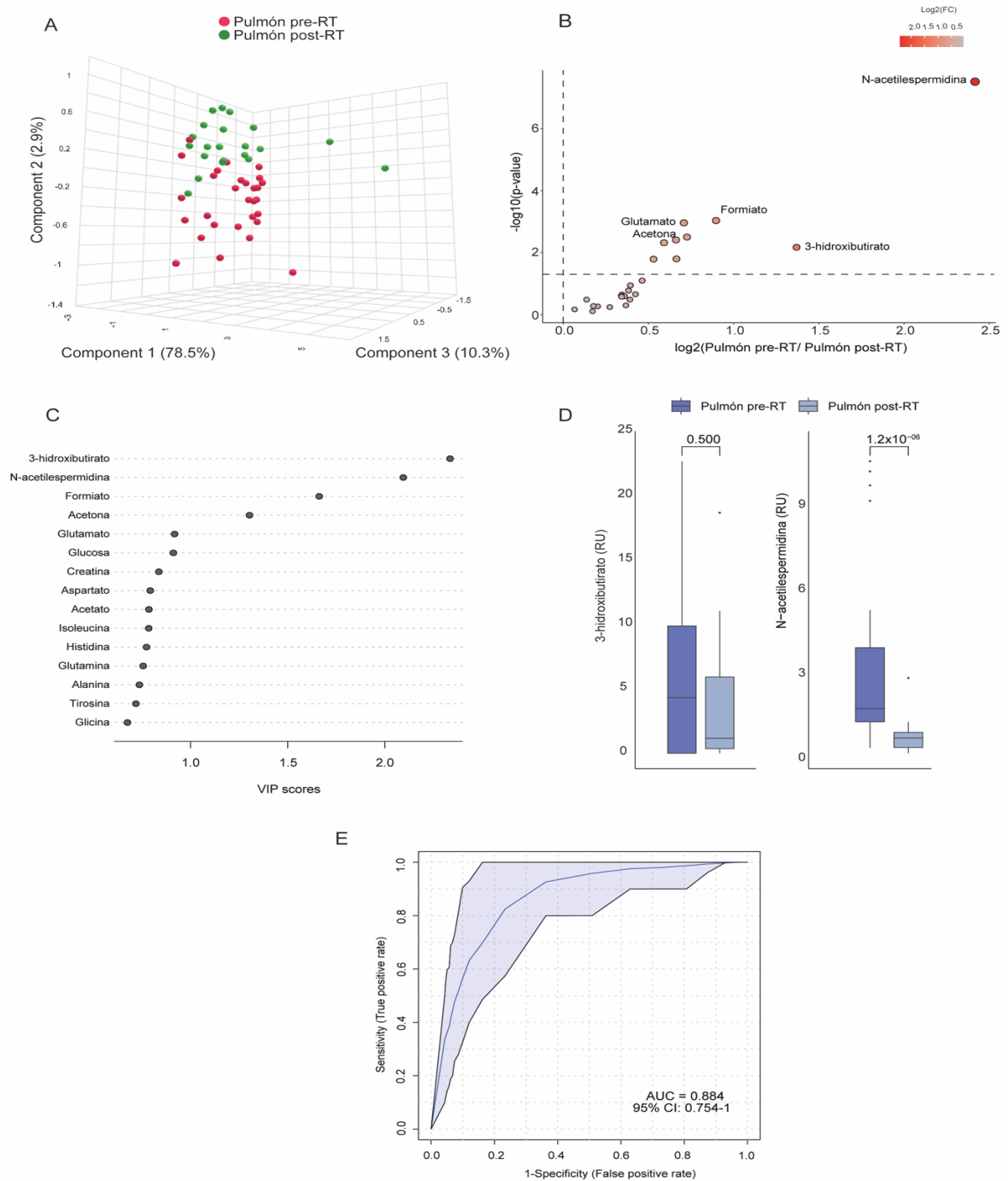


Figura 3. Comparación grupo pulmón pre vs post-RT.

(A) Análisis PLS-DA para la diferenciación entre grupos, (B) Gráfica Volcano, (C) puntuación VIP, (D) Diagrama de cajas, (E) Curva ROC.

La significancia se determinó por la prueba de U-Mann-Whitney, $p < 0.05$.

3.4 El formiato y el acetato: posibles biomarcadores para cáncer ORL

De la misma manera que se comparó el perfil metabolómico de pacientes con cáncer de pulmón pre-RT y población sana, se realizó también con pacientes con cáncer ORL.

Se llevó a cabo un análisis PLS-DA con el objetivo de evaluar si los perfiles metabolómicos de los pacientes con cáncer ORL se diferenciaban de forma significativa respecto a los sujetos controles. El modelo mostró una clara separación entre ambos grupos en el espacio de componentes principales, lo que sugiere la existencia de diferencias relevantes en las concentraciones de metabolitos entre pacientes y controles (**Figura 4A**).

Como podemos observar en el Volcano (**Figura 4B**), varios metabolitos se presentaron significativamente alterados entre pacientes ORL y controles, destacando el glutamato (incrementado), mientras que formiato, acetato, glutamina, tirosina se presentaron disminuidos a nivel sistémico en pacientes ORL.

El análisis de los VIP scores nos indicó que los metabolitos que más contribuyen a la diferenciación son: formiato, y acetato (**Figura 4C**).

El diagrama de cajas mostró que el formiato y el acetato se encuentran significativamente disminuidos en la población con cáncer ORL respecto al grupo control (**Figura 4D**).

Para evaluar el rendimiento del modelo PLS-DA en la clasificación de las muestras, se generó una curva ROC con la combinación de metabolitos seleccionados a partir del VIP score (formiato y acetato). Se presenta un AUC (área bajo la curva) de 0.997, con un intervalo de confianza del 95% entre 0.987 y 1 (**Figura 4E**). Este resultado indica que el modelo posee una excelente capacidad discriminativa, para distinguir entre pacientes con cáncer ORL y controles sanos.

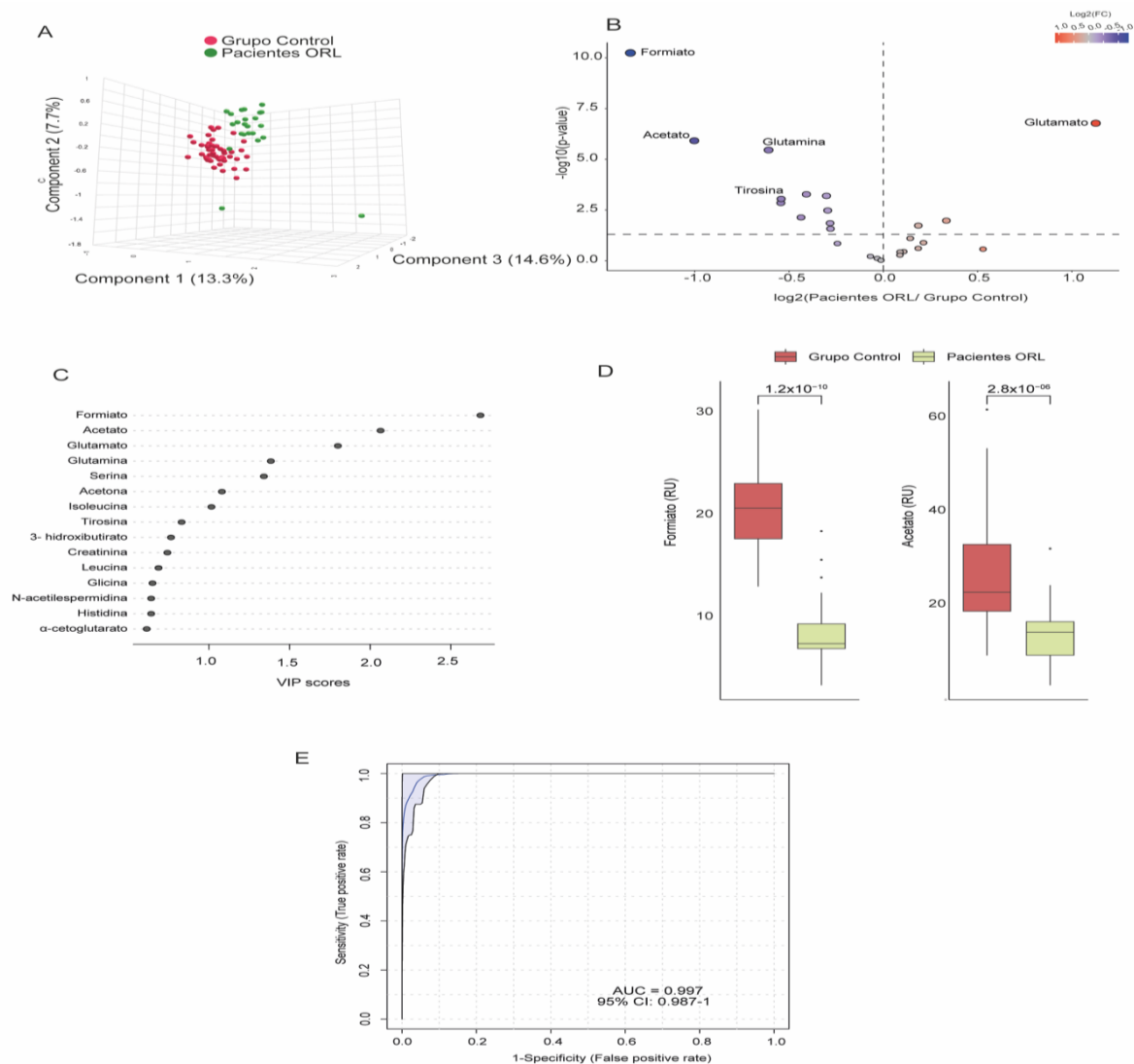


Figura 4. Comparación grupo control vs grupo cáncer ORL.

(A) Análisis PLS-DA para la diferenciación entre grupos, (B) Gráfica Volcano, (C) puntuación VIP, (D) Diagrama de cajas, (E) Curva ROC.

La significancia se determinó por la prueba de U-Mann-Whitney, $p < 0.05$.

3.5 Diferencias en el perfil metabólico pre y post-RT en pacientes con cáncer ORL

Para comprender el impacto de la RT sobre el perfil metabólico en pacientes con cáncer ORL, se ha creído conveniente estudiar cómo evoluciona el perfil antes y después de la RT.

El análisis de PLS-DA reveló una moderada separación entre las muestras pre y post-RT. Aunque las elipses de ambos grupos mostraron cierta superposición, existe una tendencia clara a agruparse por estado de tratamiento (**Figura 5A**).

El gráfico Volcano nos indicó que los metabolitos que presentan diferencias estadísticamente significativas entre los estados pre y post-tratamiento son: N-acetilespermidina, 3-HB, glutamato, acetato y formiato, presentándose todos éstos incrementados en el estadio pre-RT (**Figura 5B**).

El análisis de VIP scores identificó que el metabolito más relevante para la separación entre pre y post-RT es el 3-HB (**Figura 5C**), teniendo una puntuación superior a 2.

El diagrama de cajas mostró que el 3-HB se encuentra significativamente disminuido en los pacientes post-RT en cáncer ORL (**Figura 5D**).

Para validar el modelo PLS-DA, se utilizó una curva ROC seleccionando el 3-HB, que mostró un AUC = 0.860, con un intervalo de confianza del 95% entre 0.726 y 0.984, lo cual indica una buena capacidad del modelo para distinguir entre los perfiles pre y post-RT (**Figura 5E**).

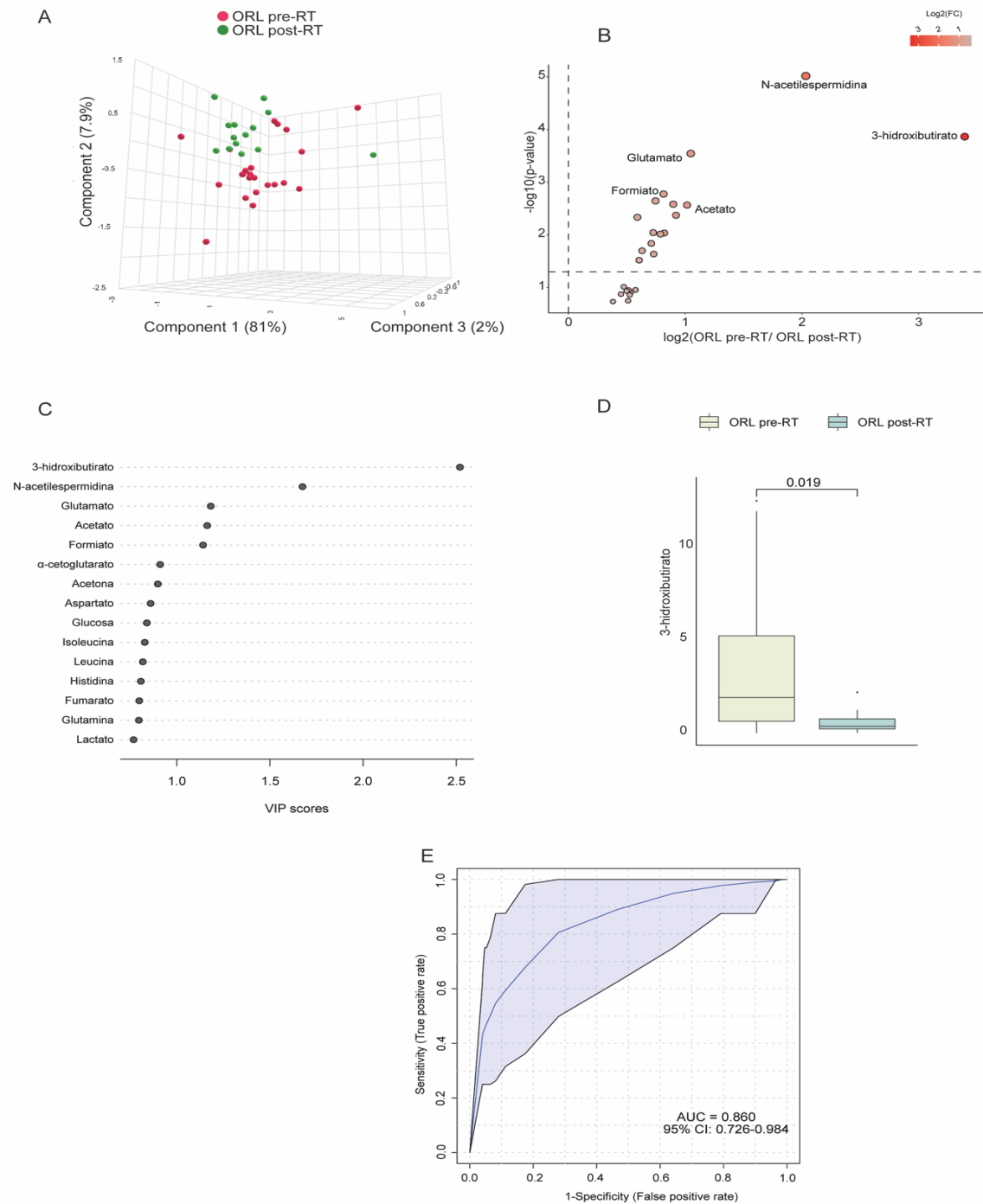


Figura 5. Comparación grupo ORL pre vs post-RT.

(A) Análisis PLS-DA para la diferenciación entre grupos, (B) Gráfica Volcano, (C) puntuación VIP, (D) Diagrama de cajas, (E) Curva ROC.

La significancia se determinó por la prueba de U-Mann-Whitney, $p < 0.05$.

3.6 Diferencias entre las poblaciones con cáncer

Tras haber estudiado cómo se comportan los perfiles metabolómicos de las dos poblaciones con cáncer de forma independiente, creímos relevante estudiar también cuáles son las diferencias o similitudes entre ambos grupos, cáncer de pulmón y ORL.

El análisis de PLS-DA mostró una superposición notable entre ambos grupos (**Figura 6A**). Aunque existe cierta dispersión, no se observa una separación clara como la que se aprecia cuando se comparan pacientes con controles sanos.

El gráfico de Volcano mostró cinco metabolitos con cambios más evidentes: acetato (aumentado), y creatinina, acetona, glucosa y 3-HB disminuidos en la población con cáncer ORL respecto pulmón (**Figura 6B**).

El gráfico de VIP scores indicó que los metabolitos acetato y creatinina alcanzaron el umbral de significancia para ser considerados discriminativos (**Figura 6C**).

El diagrama de cajas mostró que el grupo de cáncer de pulmón presentaba niveles de acetona y creatinina superiores al grupo ORL (**Figura 6D**).

La curva ROC generada con los metabolitos creatinina y acetona para evaluar la capacidad del modelo de clasificar correctamente las muestras entre los grupos ORL y pulmón mostró un AUC de 0.530, con un intervalo de confianza del 95% entre 0.187 y 0.807 (**Figura 6E**), lo que indica que el modelo no consigue discriminar adecuadamente entre los dos tipos de cáncer.

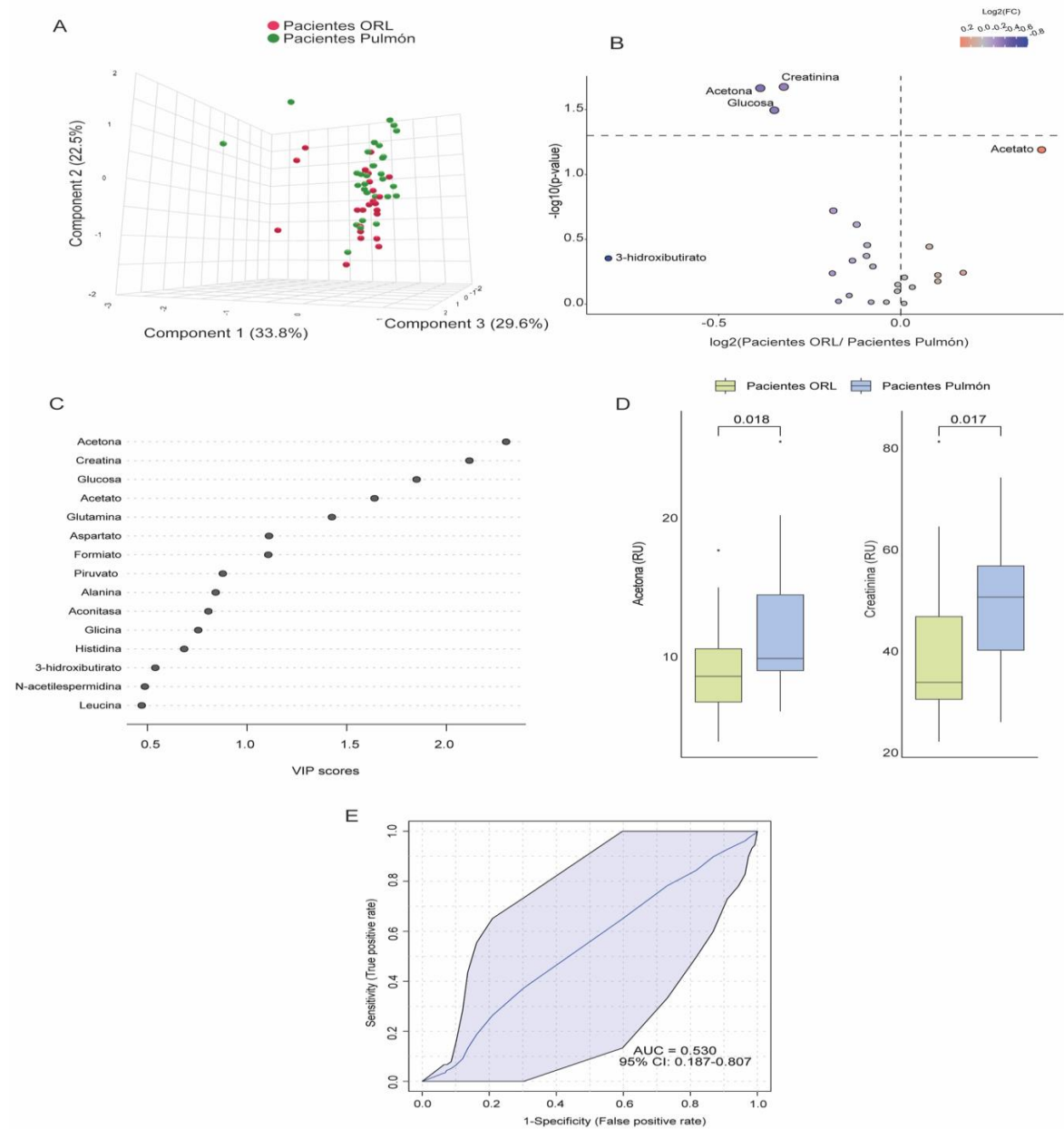


Figura 6. Comparación grupo pulmón vs ORL.

(A) Análisis PLS-DA para la diferenciación entre grupos, (B) Gráfica Volcano, (C) puntuación VIP, (D) Diagrama de cajas, (E) Curva ROC.

La significancia se determinó por la prueba de U-Mann-Whitney, $p < 0.05$.

Discusión

La caracterización del perfil metabólico en pacientes con cáncer supone una herramienta para comprender las alteraciones bioquímicas subyacentes al desarrollo tumoral y su respuesta al tratamiento. En este estudio, se han comparado los perfiles metabólicos de individuos sanos con los de pacientes con cáncer de pulmón y cáncer ORL, evaluando además los posibles cambios inducidos por la RT. Estos hallazgos permiten identificar diferencias metabólicas características entre los distintos grupos, además de explorar el impacto terapéutico de la radiación sobre el metabolismo celular. La interpretación de los resultados podría presentar implicaciones potenciales en el desarrollo de biomarcadores diagnósticos, pronósticos, así como en la personalización del tratamiento oncológico.

Uno de los aspectos metodológicos a considerar es la diferencia significativa de edad entre los pacientes oncológicos y los controles, lo cual podría actuar como factor de confusión en los análisis metabólicos. Esta variabilidad responde a la distribución epidemiológica esperada de las patologías oncológicas y a la disponibilidad real de muestras, lo que impidió un emparejamiento más preciso. A pesar de esta limitación, se ha tenido en cuenta en la interpretación de los resultados, y los hallazgos observados reflejan cambios atribuibles principalmente a la enfermedad.

Se observó que tanto los pacientes con cáncer de pulmón como ORL presentaron niveles significativamente más bajos de los metabolitos acetato y formiato en comparación con los controles sanos. Este hallazgo es consistente con estudios previos en los que se describen niveles plasmáticos reducidos de estos metabolitos en pacientes con cáncer, atribuibles a su mayor consumo por parte de las células tumorales para satisfacer las demandas biosintéticas y energéticas propias del proceso neoplásico¹⁵. En particular, en el estudio de Schug ZT, et al.¹⁶, se demostró que las células tumorales pueden utilizar activamente el acetato como fuente alternativa de carbono en condiciones de estrés, gracias a la actividad de la enzima acetil-CoA sintetasa 2 (ACSS2). Esta vía permite sostener la síntesis de lípidos y la producción de energía, favoreciendo así la supervivencia y proliferación celular en el microambiente tumoral hipóxico y pobre en nutrientes¹⁶. Dichos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la disminución del acetato en pacientes oncológicos refleja su captación aumentada por parte del tumor en el contexto de una reprogramación metabólica característica del cáncer.

En el trabajo de Cláudia M. Rocha, et al.¹⁵, se evaluó la posible influencia de factores de confusión como la edad, el sexo y el tabaquismo en el perfil metabólico, concluyéndose que la enfermedad tiene un peso discriminativo mucho mayor. En particular, se observó que el poder del modelo disminuye cuando se utilizan controles de edad avanzada, lo que refuerza la importancia de considerar esta variable, aunque sin invalidar el valor discriminativo del perfil tumoral. En cuanto al tabaquismo, observaron que los metabolitos discriminantes fueron los mismos en controles fumadores y no fumadores, lo que sugiere que el tabaquismo no era el principal factor responsable de la diferenciación entre grupos¹⁵. En nuestro estudio, se incluyó tanto a fumadores como a no fumadores en ambos grupos, con una mayor proporción de fumadores en el grupo de pacientes frente al grupo control, y a pesar de no poder descartar completamente un efecto parcial del tabaquismo sobre el perfil metabólico observado, el estudio mencionado nos sugiere una mayor influencia por parte de la enfermedad.

En otro estudio, los autores también observaron una disminución de los niveles circulantes de formiato en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de mama HER2+ frente a individuos sanos, sugiriendo un posible papel del formiato como biomarcador en contextos oncológicos aunque ciertas condiciones metabólicas como la obesidad severa o la DM pueden alterar sus niveles¹⁷. En nuestra cohorte la proporción de pacientes con DM fue mayor en el grupo oncológico, sin embargo, esta diferencia no parece explicar por sí sola las variaciones observadas en los niveles de formiato.

Concluimos que los menores niveles tanto de formiato como acetato en los pacientes con cáncer de pulmón y ORL pueden reflejar una mayor utilización intracelular por parte del tumor para sostener la proliferación, crecimiento y adaptación metabólica, es decir, que estos cambios quedarían justificados por el fenómeno conocido como reprogramación metabólica del cáncer. La presencia de niveles más altos de formiato en la población control también podría reflejar un estado metabólico equilibrado y una menor demanda de biosíntesis celular, en contraste con el estado hipermetabólico tumoral.

Futuras investigaciones podrían estudiar más exhaustivamente si la alteración de ambos metabolitos podría ser utilizada como biomarcador de pulmón y ORL, e incluso aplicarse como herramienta no invasiva para la identificación de estos tipos de cáncer.

Por otra parte, al analizar los cambios inducidos por la RT en ambos tipos de cáncer, se observó que los niveles de 3-HB después del tratamiento se encontraban disminuidos en pacientes con cáncer ORL y que mostraban una tendencia a la disminución en cáncer de pulmón. Este patrón sugiere que el 3-HB podría tener un papel relevante como marcador dinámico del estado tumoral y de la respuesta terapéutica.

Fernández-Castillejo, et al.¹⁸, describieron que niveles elevados de 3-HB en pacientes con linfoma difuso de células B grandes asociaban un peor pronóstico clínico, menor supervivencia libre de progresión y menor supervivencia global. En su interpretación, el 3-HB actuaría como biomarcador de estrés metabólico tumoral avanzado, posiblemente asociado a un estado catabólico sistémico, uso activo de cuerpos cetónicos por parte del tumor o a una reprogramación del metabolismo hacia la β -oxidación¹⁸.

Además, un estudio reciente en carcinoma hepatocelular ha descrito una disminución significativa en la expresión de la enzima BDH1 (3-hidroxiacetil-CoA deshidrogenasa 1), implicada en el metabolismo del 3-HB, asociada a un peor pronóstico clínico y mayor agresividad tumoral¹⁹. La baja expresión de esta enzima sugiere una alteración en la capacidad del tumor para metabolizar cuerpos cetónicos, lo que apoya la idea de que el 3-HB se encuentra implicado en el metabolismo tumoral avanzado. Aunque este estudio no evalúa directamente los niveles plasmáticos del metabolito, sus hallazgos refuerzan la hipótesis de que el 3-HB se relaciona con el estado metabólico del tumor y que su disminución tras la RT podría reflejar una reducción de la carga tumoral o del estrés metabólico inducido por el cáncer.

Esta perspectiva coincide con nuestros hallazgos pre-RT, donde niveles más altos de 3-HB podrían asociarse a una mayor carga tumoral, proliferación celular y adaptación metabólica al entorno tumoral. La disminución de este metabolito tras la RT podría interpretarse como un marcador de respuesta terapéutica positiva, al disminuir la carga tumoral y con ello la presión metabólica y la necesidad de cuerpos cetónicos.

Asimismo, el análisis multivariante identificó la N-acetilspermidina como otro metabolito relevante en la separación entre los perfiles pre y post-RT en cáncer de pulmón. La N-

acetilpermidina, concretamente en su isoforma N8-acetilada, es un metabolito derivado de las poliaminas, implicadas en la proliferación celular y en la homeostasis de estas moléculas. En el contexto del cáncer de pulmón, se ha descrito que el metabolismo de las poliaminas se encuentra frecuentemente desregulado, y los derivados acetilados como la N-acetilpermidina se han propuesto como posibles biomarcadores y dianas terapéuticas. Recientes estudios señalan que la enzima HDAC10 desacetila específicamente la N8-acetilpermidina para regenerar espermidina, un proceso que favorece la proliferación celular tumoral. La inhibición de la biosíntesis de poliaminas puede suprimir el crecimiento tumoral, pero las células cancerosas pueden compensar importando poliaminas acetiladas como la N-acetilpermidina^{20,21}. Este hallazgo sugiere que la disminución observada en los niveles plasmáticos de la N-acetilpermidina tras la RT podría reflejar un efecto terapéutico de la radiación al interrumpir esta vía de soporte metabólico tumoral. Aunque su aplicación clínica como biomarcador en cáncer de pulmón aún requiere más validación, estos resultados refuerzan la importancia de explorar el metabolismo de las poliaminas en la progresión y respuesta terapéutica del cáncer.

Cabe destacar que los cambios metabólicos inducidos por la RT fueron más sutiles que los observados entre pacientes oncológicos y controles. Esta menor diferenciación podría deberse a una respuesta parcial o incipiente del metabolismo tumoral al tratamiento, o a la necesidad de intervalos más prolongados para observar efectos más marcados.

Por otra parte, al comparar directamente los perfiles metabólicos basales entre pacientes con cáncer de pulmón y ORL, no se observó una diferenciación clara. A pesar de algunas diferencias individuales (como niveles mayores de acetona y creatinina en pulmón), el modelo no logró discriminar eficazmente entre ambos grupos, lo que sugiere una base común de reprogramación metabólica tumoral compartida por ambos tipos de cáncer. Esta conclusión es coherente con el hecho de que los metabolitos discriminantes respecto a los controles fueron los mismos en ambos grupos (formiato y acetato), reforzando su posible valor como marcadores universales de alteración metabólica en el contexto oncológico.

Finalmente, remarcamos el papel del acetato y formiato como metabolitos discriminantes tanto para el cáncer de pulmón como para el cáncer ORL, que han demostrado en este trabajo presentar concentraciones alteradas respecto a la población sana, con valores de curvas ROC de 0.998 y 0.997, respectivamente, así como el papel de la N-acetilpermidina y el 3-HB como potenciales marcadores de respuesta tumoral, ya que sus niveles parecen disminuir post-RT, con valores en la curva ROC de 0.884 y 0.860 para pulmón y ORL, respectivamente, datos que apoyan su utilidad diagnóstica.

Conclusión

Este estudio ha demostrado que los pacientes con cáncer de pulmón y ORL presentan alteraciones significativas en su perfil metabólico respecto a individuos sanos, siendo el formiato y el acetato los metabolitos con mayor capacidad discriminativa. Estos resultados refuerzan la hipótesis de una reprogramación metabólica asociada al proceso tumoral y sugieren el potencial de dichos metabolitos como biomarcadores diagnósticos. Asimismo, se ha observado que, en el caso del cáncer de pulmón, tanto el 3-HB como la N-acetilpermidina disminuyen tras la RT, mientras que en ORL disminuye únicamente el 3-

HB, lo que podría representar un marcador dinámico de respuesta al tratamiento, aunque se requieren más estudios para validar su valor pronóstico o terapéutico. La similitud entre los perfiles metabólicos basales de ambos tipos de cáncer indica una huella metabólica común, lo que refuerza la idea de un metabolismo tumoral compartido. En conjunto, estos hallazgos subrayan el valor de la metabolómica como herramienta útil para el desarrollo de estrategias diagnósticas y terapéuticas personalizadas en oncología.

Limitaciones

A pesar de los hallazgos relevantes obtenidos, este estudio presenta una serie de limitaciones que deben ser tenidas en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

En primer lugar, el tamaño muestral reducido, especialmente tras la estratificación por tipo de cáncer que puede limitar la potencia estadística y la generalización de los resultados obtenidos.

Asimismo, se identificaron diferencias significativas entre los grupos oncológicos y control en las variables edad, sexo, tabaquismo y DM. Estas diferencias podrían actuar como factores de confusión, lo que podría influir en las concentraciones de algunos metabolitos.

Además, el intervalo de tiempo post-RT, de aproximadamente un mes, podría no ser suficiente para captar cambios metabólicos de mayor magnitud o duración, por lo que sería recomendable un seguimiento más prolongado en futuros estudios.

Por último, dado que el estudio se ha realizado en una única cohorte, será necesario validarlo en futuras investigaciones multicéntricas con un mayor tamaño muestral y análisis metabolómicos ampliados para confirmar la reproducibilidad de los hallazgos.

Bibliografía

1. INE-Instituto Nacional de Estadística. Estadística de Defunciones según la Causa de Muerte [Internet]. INE. 2024. Disponible en: <https://www.ine.es/dyngs/Prensa/pEDCM2023.htm>
2. Cáncer de pulmón [Internet]. Asociación Española Contra el Cáncer. Disponible en: <https://www.contraelcancer.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-pulmon>
3. AstraZeneca España. Cáncer de pulmón [Internet]. Madrid: AstraZeneca. Disponible en: <https://www.astrazeneca.es/areas-terapeuticas/oncologia/Cancer-de-pulmon.html>
4. Factores de riesgo para el cáncer de pulmón [Internet]. Cancer.org. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-pulmon/causas-riesgos-prevencion/factores-de-riesgo.html>
5. Cáncer de pulmón [Internet]. Seom.org. 2023. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-pulmon?start=1>
6. Tumores de cabeza y cuello - O.R.L - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019 [Internet]. Seom.org. 2023. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/orl?start=1>
7. Cánceres de cavidad oral, orofaringe, hipofaringe y laringe (PDQ®) [Internet]. Cancer.gov. 2014. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/cabeza-cuello/pro/prevencion-cavidad-oral-pdq>
8. American Cancer Society. ¿Qué es el cáncer de cavidad oral y de orofaringe? [Internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2021. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-orofaringe-y-de-cavidad-oral/acerca/que-es-cancer-de-cavidad-oral.html>
9. Radioterapia para el cáncer [Internet]. Cancer.gov. 2017 [citado el 25 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/radioterapia>
10. Khalifa J, Lerouge D, Le Péchoux C, Pourel N, Darréon J, Mornex F, Giraud P. Radiotherapy for primary lung cancer. *Cancer Radiother.* 2022;26(1–2):231–43. doi:10.1016/j.canrad.2021.11.005. PMID: 34953709.
11. Sociedad Española de Oncología Radioterápica (SEOR). Guía de tratamiento oncológico en cáncer de cabeza y cuello [Internet]. Madrid: SEOR; 2020. Disponible en: https://seor.es/wp-content/uploads/2020/03/GuiaTratamientoOncologico_cabeza_cuello.pdf
12. Schmidt DR, Patel R, Kirsch DG, Lewis CA, Vander Heiden MG, Locasale JW. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(4):333–58. doi:10.3322/caac.21670. PMID: 33982817; PMCID: PMC8298088.
13. Cheung PK, Ma MH, Tse HF, Yeung KF, Tsang HF, Chu MKM, et al. The applications of metabolomics in the molecular diagnostics of cancer. *Expert Rev Mol Diagn.* 2019 Sep;19(9):785–793. doi:10.1080/14737159.2019.1656530.
14. Demicheva E, Dordiuk V, Polanco Espino F, Ushenin K, Aboushanab S, Shevyrin V, et al. Advances in Mass Spectrometry-Based Blood Metabolomics Profiling for Non-Cancer Diseases: A Comprehensive Review. *Metabolites.* 2024 Jan 14;14(1):54. doi:10.3390/metabo14010054.
15. Metabolic Signatures of Lung Cancer in Biofluids: NMR-Based Metabonomics of Blood Plasma
Cláudia M. Rocha, Joana Carrola, António S. Barros, Ana M. Gil, Brian J. Goodfellow, Isabel M. Carreira, João Bernardo, Ana Gomes, Vitor Sousa, Lina Carvalho, and Iola F. Duarte

16. Schug ZT, Peck B, Jones DT, Zhang Q, Grosskurth S, Alam IS, et al. Acetyl-CoA synthetase 2 promotes acetate utilization and maintains cancer cell growth under metabolic stress. *Cancer Cell*. 2015 Jan 12;27(1):57–71. doi:10.1016/j.ccell.2014.12.002.
17. Shyh-Chang et al. (2019) [PMID: 31049200]. Pietzke M, Arroyo SF, Sumpton D, Mackay GM, Martin-Castillo B, Camps J, Joven J, Menendez JA, Vazquez A; METTEN study group. Stratification of cancer and diabetes based on circulating levels of formate and glucose. *Cancer Metab*. 2019 Apr 24;7:3. doi: 10.1186/s40170-019-0195-x. PMID: 31049200; PMCID: PMC6482583.
18. Fernández-Castillejo S, Badia J, de la Cruz-Merino L, Martín Garcia-Sáncho A, Carnicero-González F, Palazón-Carrión N, et al. Ketone Bodies Are Potential Prognostic Biomarkers in Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Results from the R2-GDP-GOTEL Trial. *Cancers (Basel)*. 2025;17(3):532. doi:10.3390/cancers17030532.
19. Zhang X, Zhu Y, Hu S, Zheng J, Gao L, Liu Y, et al. Downregulation of BDH1 promotes tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Front Oncol*. 2022;12:946674. doi:10.3389/fonc.2022.946674. PMID: 36115334.
20. Stewart TM, Foley JR, Holbert CE, Bessette DC, Angststadt AY, Casero RA Jr. Histone Deacetylase-10 Liberates Spermidine to Support Polyamine Homeostasis and Tumor Cell Growth. *J Biol Chem*. 2022;298(10):102407. doi:10.1016/j.jbc.2022.102407.
21. Hiramatsu K, Sugimoto M, Kamei S, Kasuya Y, Sakaike Y, Inoue H. Diagnostic and Prognostic Usefulness of N1,N8-Diacetylspermidine and N1,N12-Diacetylspermine in Urine as Novel Markers of Malignancy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1997;123(10):539–45. doi:10.1007/s004320050102.