



## Carta Científica

### Estudio de la enfermedad pulmonar intersticial difusa mediante el análisis de partículas volátiles en el aire exhalado



#### *Study of Diffuse Interstitial Lung Disease With the Analysis of Volatile Particles in Exhaled Air*

Al Director:

La nariz electrónica es una tecnología no invasiva que gracias a una serie de sensores químicos electrónicos incorporados en el dispositivo permite identificar componentes orgánicos volátiles (COVs) en el aire exhalado<sup>1,2</sup>. Estudios previos que han utilizado esta tecnología han determinado huellas respiratorias específicas en pacientes con diversas enfermedades respiratorias crónicas, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)<sup>3</sup>, el asma<sup>4</sup> o la fibrosis quística<sup>5</sup>. Recientemente, también se ha identificado el valor del análisis de COVs para la discriminación de pacientes con EPID<sup>6</sup> frente a controles sanos. Por ello nos planteamos evaluar si la nariz electrónica es útil para discriminar no solo a aquellos sujetos con EPID respecto a controles sanos, sino también respecto a aquellos con enfermedad respiratoria crónica (EPOC).

Para ello desarrollamos, entre 2016 y 2018, un estudio exploratorio prospectivo y observacional. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética e investigación de la institución (IIBSP-COL-2015-40). Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes antes de su inclusión en el estudio. Los sujetos con EPID fueron incluidos desde una consulta monográfica durante el desarrollo del estudio. El grupo EPOC y el grupo control corresponden a 2 cohortes, también prospectivas, que habían sido seleccionadas en estudios previos de nuestro grupo<sup>7,8</sup>. Los criterios de inclusión del grupo EPID consistían en: mayores 18 años de edad, diagnóstico de EPID según las guías clínicas vigentes de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica<sup>9</sup> y ausencia de contraindicación para participación en el estudio. Los criterios de exclusión fueron: presencia de otra enfermedad pulmonar crónica o aguda, ausencia de TC de tórax o pruebas funcionales respiratorias.

Para evaluar el perfil de COVs el aire exhalado fue recogido según la metodología descrita previamente<sup>4,5,8,10</sup>. Básicamente, el sujeto respira a volumen corriente durante 3 minutos y la muestra se recoge en bolsas de Tedlar<sup>®</sup> gracias a una válvula de Hans Rudolph, que posee un filtro inspiratorio y un reservorio espiratorio de sílice expuesto al aire seco. En las 12 horas previas a la prueba todos los pacientes tuvieron que permanecer en ayunas, no fumar y suspender cualquier medicación inhalada. Mediante la matriz de 32 sensores la nariz electrónica (Cyranose 320<sup>®</sup>, Smith Detections, Pasadena, CA) genera un perfil de COVs exhaladas (huella respiratoria).

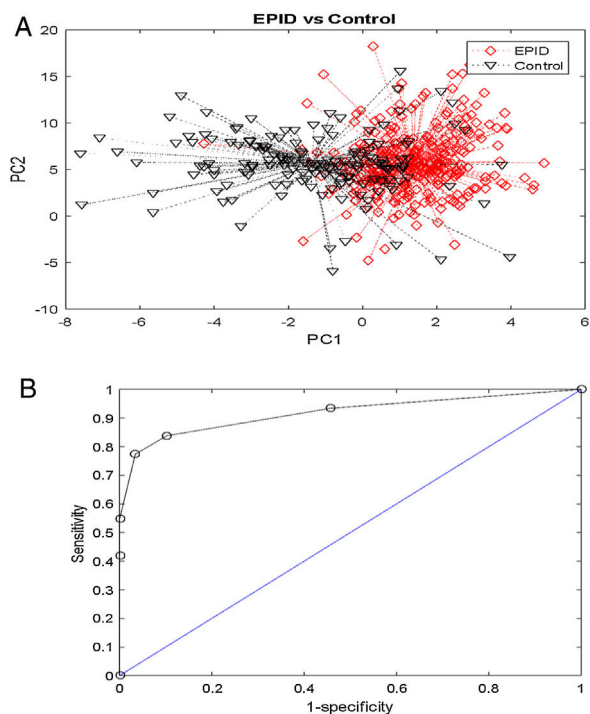
La huella respiratoria de los pacientes incluidos en el estudio fue comparada utilizando una aplicación de reconocimiento de

patrones mediante MATLAB software (v.R2012a). Se representaron mediante una regresión logística como gráficas mono o bidimensionales, siguiendo los algoritmos previamente publicados<sup>8,10</sup>. Los datos crudos fueron reducidos mediante análisis de componentes principales (PCA) a 3 factores principales. Estos factores PCA se analizaron mediante análisis univariante ANOVA seguido del test de diferencia mínima significativa *post-hoc*. La clasificación de los pacientes basada en los factores PCA se realizó utilizando un análisis discriminante canónico lineal, calculado como el que obtiene el mejor porcentaje de pacientes correctamente clasificados. La función discriminante se entrena con muestras de todos menos de un sujeto. Posteriormente se analizan las muestras del sujeto restante. Si se asignan correctamente 3 o 4 muestras la función discriminante se considera válida para este individuo. El proceso se repite para todos los individuos y los resultados se utilizan para calcular el valor porcentual de precisión con validación cruzada<sup>3</sup>. Un valor de *p* menor de 0,05 para la función discriminante entrenada se considera estadísticamente significativo. Finalmente, se generó una curva *Receiver Operating Characteristics* (ROC) utilizando los resultados de la función discriminante y combinando todas las muestras de un sujeto. El área bajo la curva (AUROC) se calculó mediante regresión logística múltiple.

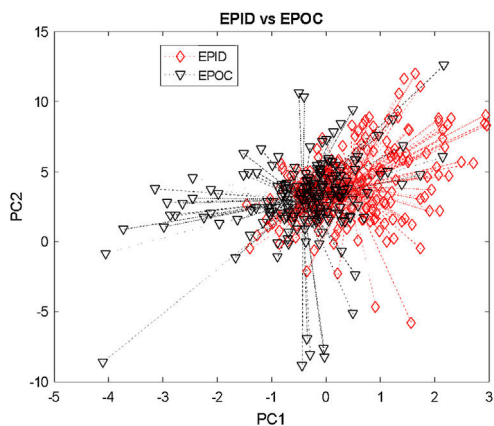
Se incluyeron en el análisis del estudio un total de 130 sujetos, distribuidos de la siguiente forma: 59 pacientes (45%) en el grupo EPID, 40 pacientes (31%) en el grupo EPOC y 31 pacientes (24%) en el grupo control de sujetos sanos. Aunque los sujetos de los grupos EPID y EPOC tenían edades similares (65 y 68 años respectivamente) el grupo control era más joven (42 años). Paralelamente en este grupo la mayoría no tenía historial de exposición al tabaco (16,1%), mientras que los otros 2 grupos estaban conformados mayoritariamente por fumadores o exfumadores (EPID 59,3%, EPOC 100%). Respecto a la función pulmonar, obviamente en el grupo EPOC había un patrón obstructivo en la espirometría (FEV1 41% ± 10 DS) que no estaba presente en los otros 2 grupos.

El perfil de COVs (huella respiratoria) determinado por la nariz electrónica en el grupo EPID y el grupo control fue claramente distinta a la evaluación visual (fig. 1A). El análisis discriminante canónico mostró una precisión de validación cruzada del 90% (*p* < 0,001). La capacidad de la técnica para detectar pacientes con EPID según el análisis ROC fue óptima (AUROC 0,92), con una sensibilidad del 96,6%, una especificidad del 77,4%, un valor predictivo positivo (VPP) de 0,89 y valor predictivo negativo (VPN) de 0,73 (fig. 1B). La comparación entre el grupo EPID y EPOC también mostró resultados estadísticamente significativos, pero en esta ocasión la precisión fue menor. El análisis discriminante canónico mostró una precisión de validación cruzada del 66% (*p* = 0,007) (fig. 2) y el valor AUROC fue de 0,73.

Por tanto, los hallazgos del presente estudio demuestran que la nariz electrónica podría ser una herramienta útil para discriminar entre EPID y sujetos sanos. En la literatura médica disponemos



**Figura 1.** Perfil COVs (huella respiratoria) grupo EPID y grupo control. A. Representación gráfica del análisis de componentes principales que muestra las diferencias en la huella respiratoria entre pacientes con EPID y sujetos sanos (precisión validación cruzada del 90% [ $p < 0,001$ ]). B. Curva AUROC para la discriminación de sujetos con EPID según la huella respiratoria.



**Figura 2.** Perfil COVs entre grupo EPID y grupo EPOC. Representación gráfica del análisis de componentes principales que muestra las diferencias en la huella respiratoria entre pacientes con EPID y aquellos con EPOC (precisión validación cruzada 66%,  $p = 0,007$ ).

tan solo de 2 estudios similares al nuestro. El primero, publicado por Krauss et al. analizó diferentes EPID, como fibrosis pulmonar idiopática o neumonía organizada criptogénica frente a controles sanos<sup>11</sup>. Más recientemente Moor et al. compararon una cohorte mayor de sujetos con EPID (322) frente a controles sanos, obteniendo una AUROC de 1<sup>6</sup>. Es importante mencionar que en este estudio se incluyó también una cohorte de validación, en la que se obtuvo el mismo valor. Estos resultados son superponibles a los obtenidos en nuestro estudio (AUROC de 0,92). Como novedad, nuestra investigación además demuestra que, aunque con menor capacidad discriminativa (precisión de validación cruzada 66%, AUROC 0,73), la nariz electrónica también es capaz de distinguir entre sujetos con EPID frente a casos con EPOC.

Respecto a las investigaciones previas el mayor valor de este estudio es que es el primero que incluye de forma prospectiva casos incidentes de EPID (nuevo diagnóstico) y que, por lo tanto, no habían recibido tratamiento previo. Por el contrario, las principales limitaciones provienen del hecho de ser un estudio unicéntrico, con una cohorte relativamente pequeña. Por supuesto, es preciso realizar estudios multicéntricos para validar estos resultados. Otra posible limitación es el hecho de que el grupo de controles sanos sea más joven que el grupo de estudio. Sin embargo, estudios ya publicados indican que ni la edad, ni el sexo ni el hábito tabáquico tienen influencia significativa en la huella respiratoria<sup>12–14</sup>.

En conclusión, la nariz electrónica es una tecnología no invasiva que potencialmente podría ser útil para la detección de sujetos con EPID en la población general, lo cual podría significar una mejora en el proceso de cribado de la enfermedad.

## Financiación

Esta investigación contó con el soporte de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica mediante la beca EPID Futuro 2015.

## Autoría

D.C., S.B. y O.S. diseñaron el estudio. D.C., S.B. y P.M-B fueron los responsables de la inclusión de pacientes, J.G. de la determinación nariz electrónica y J.L.M. del análisis de partículas volátiles. Todos los autores participaron en el análisis de datos y redacción del manuscrito.

## Agradecimientos

Agradecer a los pacientes su desinteresada participación en este estudio.

## Bibliografía

1. Turner AP, Magan N. Electronic noses and disease diagnostics. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2:161–6.
2. 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;15:933–56.
3. Fens N, Zwinderman AH, van der Schee MP, de Nijs SB, Dijkers E, Roldaan AC, et al. Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180:1076–82.
4. Dragonieri S, Schot R, Mertens BJ, Le Cessie S, Gauw SA, Spanevello A, et al. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:856–62.
5. Paff T, van der Schee MP, Daniels JM, Pals G, Postmus PE, Sterk PJ, et al. Exhaled molecular profiles in the assessment of cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia. *J Cyst Fibros.* 2013;12:454–60.
6. Moor CC, Oppenheimer JC, Nakshbandi G, Aerts J, Brinkman P, Maitland-van der Zee AH, et al. Exhaled breath analysis by use of eNose technology: a novel diagnostic tool for interstitial lung disease. *Eur Respir J.* 2020;57:2002042, <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.02042-2020>.
7. Shafiek H, Fiorentino F, Merino JL, Lopez C, Oliver A, Segura J, et al. Using the electronic nose to identify airway infection during COPD exacerbations. *PLoS One.* 2015;10:e0135199.
8. Sibila O, Garcia-Bellmunt L, Giner J, Merino JL, Suarez-Cuartin G, Torrego A, et al. Identification of airway bacterial colonization by an electronic nose in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2014;108:1608–14.
9. Xaubet A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas. *Arch Bronconeumol.* 2003;39:580–600.
10. Suarez-Cuartin G, Giner J, Merino JL, Rodrigo-Troyano A, Feliu A, Perea L, et al. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and airway bacterial colonization by an electronic nose in bronchiectasis. *Respir Med.* 2018;136:111–7.
11. 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.* 2019;1698:8, <http://dx.doi.org/10.3390/jcm8101698>.
12. De Vries R, Dagelet YWF, Spoor P, Snoey E, Jak PMC, Brinkman P, et al. Clinical and inflammatory phenotyping by breathomics in chronic airway diseases irrespective of the diagnostic label. *Eur Respir J.* 2018;51:1701817.

13. Dragonieri S, Quaranta VN, Carratu P, Ranieri T, Resta O. Influence of age and gender on the profile of exhaled volatile organic compounds analyzed by an electronic nose. *J Bras Pneumol*. 2016;42:143–5.
14. Brinkman P, Wagener AH, Hekking PP, Bansal AT, Maitland-van der Zee AH, Wang Y, et al. Identification and prospective stability of electronic nose (eNose)-derived inflammatory phenotypes in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143:1811–20, e7.

Diego Castillo Villegas<sup>a,\*</sup>, Silvia Barril<sup>a,b</sup>, Jordi Giner<sup>a</sup>, Paloma Millan-Billi<sup>a,b,c</sup>, Ana Rodrigo-Troyano<sup>a,b,c,d</sup>, Jose Luis Merino<sup>e</sup> y Oriol Sibila<sup>a,f</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Neumología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Barcelona, España

<sup>b</sup> Servicio de Neumología, Hospital Arnau de Vilanova, Lleida, España  
<sup>c</sup> Servicio de Neumología, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, España

<sup>d</sup> Servicio de Neumología, Hospital Son Espases, Palma de Mallorca, España

<sup>e</sup> Electronic Systems Group, Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca, España

<sup>f</sup> Instituto del Tórax, Servicio de Neumología, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, IDIBAPS, CIBERES, Barcelona, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [dcastillo@santpau.cat](mailto:dcastillo@santpau.cat) (D. Castillo Villegas).