

La breathomica nelle patologie respiratorie croniche: alla ricerca di nuovi biomarcatori

Giulia Scioscia^{1,2}, Fabrizia La Torre¹,
Piera Soccio¹

Introduzione

La Medicina di precisione (MP) rappresenta una delle frontiere più innovative nella gestione delle patologie respiratorie croniche, come l'asma e la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO). A differenza dell'approccio tradizionale, che si basa su trattamenti standardizzati, la MP mira a personalizzare le terapie, tenendo conto delle specifiche caratteristiche genetiche, molecolari e ambientali di ciascun paziente (tratti trattabili). Un elemento chiave della MP è l'uso dei biomarcatori, molecole misurabili che forniscono indicazioni su specifici processi biologici e sul tipo di infiammazione presente. Nonostante i progressi, la MP nelle malattie respiratorie croniche presenta ancora alcune sfide. La variabilità genetica e ambientale tra i pazienti rende complesso trovare biomarcatori universali e le terapie biologiche sono spesso costose, limitandone l'accesso. Tuttavia, la crescente disponibilità di

strumenti diagnostici avanzati e la ricerca nelle scienze omiche (genomica, metabolomica e proteomica) stanno favorendo una comprensione sempre più profonda delle basi biologiche di queste malattie.

La *breath analysis* e la breathomica

La *breath analysis* (analisi dell'espirsto) è una metodica non invasiva, economica, adatta a tutti i soggetti; inoltre, non richiede la presenza di personale specializzato, è sicura per i pazienti e il personale medico e può essere ripetuta frequentemente. Nonostante tutti questi vantaggi, l'analisi dell'espirsto è ancora poco impiegata come tecnica di routine in campo medico, a causa della scarsa presenza di procedure operative standardizzate. La metabolomica basata sull'analisi del respiro, anche chiamata breathomica, è una tra le più recenti scienze omiche sviluppate ed è focalizzata sullo studio di *pattern* di composti organici volatili (VOC), presenti nell'espirsto come nuova possibile tecnica di *screening* o di monitoraggio. Le potenzialità di questa disciplina per la diagnosi e il monitoraggio non invasivo delle pato-

¹ Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia, giulia.scioscia@unifg.it

² U.O. Malattie Apparato Respiratorio Universitaria, Policlinico di Foggia

logie respiratorie croniche sono messe in evidenza dal crescente numero di studi di settore.

I VOC, prodotti dai processi metabolici che avvengono nell'organismo, variano in base allo stato di salute e possono fornire informazioni preziose sui meccanismi fisiopatologici alla base di malattie come asma e BPCO. Le tecnologie analitiche hanno fatto notevoli progressi, permettendo una misurazione sempre più accurata e rapida dei VOC presenti nell'espirato. L'obiettivo principale della *breathomica* è individuare biomarcatori specifici in grado di caratterizzare diverse condizioni patologiche e predire la risposta ai trattamenti, offrendo così un'alternativa ai metodi diagnostici tradizionali, spesso più invasivi. L'analisi dei VOC nell'aria espirata consente, inoltre, di monitorare l'evoluzione delle malattie respiratorie nel tempo.

Il presupposto sul quale si fonda la nascita della *breathomica* è che ogni patologia è associata ad alterazioni del metabolismo e della fisiologia cellulare che possono promuovere cambiamenti a livello della regolazione genica, dell'espressione proteica e della produzione di metaboliti. Tali alterazioni determinano significative differenze nel *pattern* VOC misurati in differenti distretti corporei, tra cui l'espirato.

L'espirato umano è infatti normalmente costituito da una miscela complessa di azoto (74-79%), argon (1%), ossigeno (15%), anidride carbonica (5%), vapore acqueo e innumerevoli metaboliti gassosi di natura endogena ed esogena. Questi componenti riflettono lo stato metabolico complessivo dell'organismo e sono influenzati da fattori quali età, stile di vita, alimentazione e ambiente. Le alterazioni patologiche possono essere collegate a cambiamenti nel profilo dei VOC e rap-

presentano quindi una preziosa fonte di informazioni diagnostiche¹.

Possiamo distinguere tre fasi chiave dell'espiazione:

- 1) fase I – rappresenta i primi istanti dell'espiazione. Il gas campionato durante questa fase non contiene né CO₂ né VOC endogeni ed è noto come spazio morto anatomico;
- 2) fase II – in questa fase si osserva un rapido aumento della CO₂ e si campiona una miscela gassosa costituita da componenti alveolari e dello spazio morto, definita espirato misto;
- 3) fase III – questa fase, conosciuta come *plateau* alveolare o espiratorio, corrisponde allo svuotamento alveolare, con un minimo aumento della CO₂. È in questa fase che si concentra la porzione più ricca di VOC endogeni ed è questa la fase utile all'analisi dell'espirato. In quest'ultima fase, infatti, si possono ottenere misurazioni precise dei VOC nell'espirato alveolare, che forniranno informazioni critiche sul metabolismo e lo stato infiammatorio (Figura 1).

Le misurazioni dei VOC vengono effettuate con tecniche di campionamento: quella *off-line* GC-MS (gas cromatografia-massa spettrometria) risulta una delle più utilizzate². Nello specifico, il campionamento dell'espirato alveolare avviene tramite respiri multipli, che consentono la raccolta di campioni gassosi su due cartucce adsorbenti. Una cartuccia immagazzina i VOC presenti nell'aria ambientale durante il campionamento, mentre l'altra raccoglie i composti provenienti dal tratto alveolare del respiro del paziente. Questa tecnica permette di distinguere l'impatto dell'ambiente sui VOC del paziente e di migliorare, pertanto, l'accuratezza diagnostica.

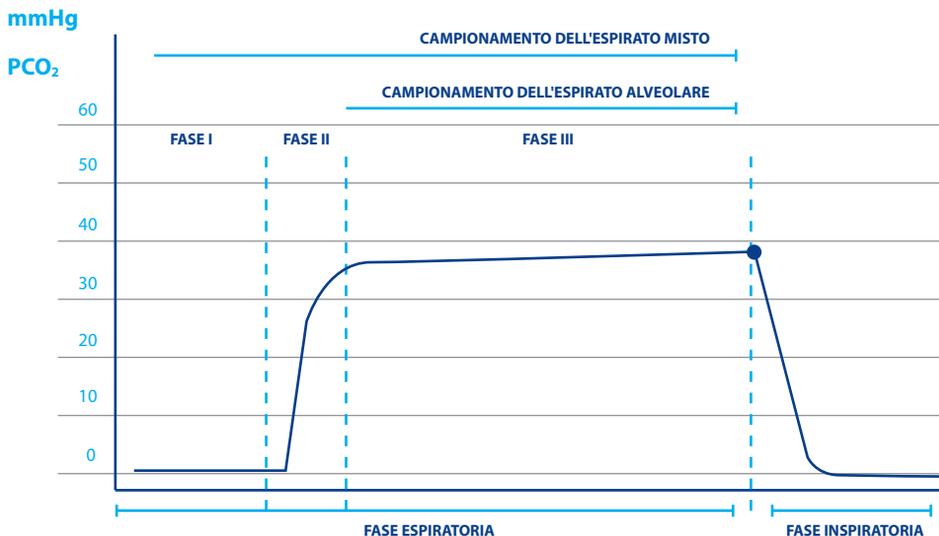


Figura 1. Raccolta e campionamento dell'espriato.

Produzione di VOC nelle patologie respiratorie croniche

Asma

Nell'asma bronchiale, caratterizzato da un'inflammatione cronica delle vie respiratorie, il profilo dei VOC appare significativamente alterato rispetto a quello dei soggetti sani. Studi hanno dimostrato che alcuni VOC, come isoprene, pentano e ossido nitrico (NO), sono spesso presenti a livelli più elevati nei pazienti asmatici. Questo è dovuto in parte all'aumento dello stress ossidativo nelle cellule delle vie respiratorie e alla rottura delle membrane cellulari, che rilascia acidi grassi e altri componenti che contribuiscono alla formazione di VOC³. Nell'asma, lo stress ossidativo gioca un ruolo cruciale nella produzione dei VOC. I radicali liberi e altre specie reattive dell'ossigeno, prodotti in risposta all'inflammatione cronica, contribuiscono all'ossidazione dei lipidi cellulari, generando composti come etanolo e acetone. Il monitoraggio di questi composti potrebbe quindi fornire informazioni sullo

stato ossidativo delle vie aeree, un parametro importante nell'asma, particolarmente nei casi più severi e nei pazienti con scarsa risposta ai corticosteroidi.

BPCO

La produzione di VOC nei pazienti affetti da BPCO è un argomento di grande interesse per la ricerca; nella BPCO, caratterizzata da inflammatione cronica e danno tissutale progressivo delle vie aeree, il profilo dei VOC nell'espriato risulta alterato, e diversi studi hanno suggerito che tali molecole possano agire come potenziali biomarcatori per monitorare la malattia e la risposta al trattamento. Lo stress ossidativo è uno dei principali fattori che contribuisce alla produzione di VOC nella BPCO. La malattia è associata a una produzione elevata di radicali liberi e altre specie reattive dell'ossigeno, che generano danni ossidativi alle membrane cellulari. Questo processo porta alla perossidazione lipidica, che a sua volta produce VOC come etanolo, etanale e isoprene⁴. Il monitoraggio di

questi composti volatili può quindi offrire una misura indiretta del livello di stress ossidativo e della gravità dell'inflammatione nelle vie respiratorie. Diversi studi hanno esplorato l'uso dei VOC come biomarcatori diagnostici e prognostici nella BPCO. Per esempio, è stato descritto come specifici VOC presenti nell'aria esalata possono distinguere i pazienti con BPCO dai soggetti sani con un'accuratezza significativa⁵. Altri composti, come pentano e 2-butanone, risultano particolarmente elevati nei pazienti con BPCO e sembrano essere correlati con la progressione della malattia e con l'intensità dell'inflammatione. L'analisi dei VOC può anche offrire informazioni utili per personalizzare il trattamento della BPCO. Per esempio, livelli più elevati di VOC legati all'inflammatione neutrofila, come toluene e xilene, possono indicare una maggiore attività infiammatoria che richiede trattamenti mirati. Inoltre, il monitoraggio dei VOC nel tempo permette di valutare l'efficacia delle terapie antinfiammatorie o broncodilatatorie, e di ottimizzare la gestione clinica del paziente.

Obiettivi futuri

La misurazione dei VOC esalati offre una prospettiva innovativa e non invasiva per comprendere i meccanismi di infiammazione e stress ossidativo nelle patologie respiratorie croniche. L'identificazione di VOC specifici potrebbe consentire di sviluppare nuovi strumenti per la diagnosi, la prognosi e il monitoraggio dei pazienti, migliorando la qualità della vita, ottimizzando i percorsi terapeutici e riducendo i costi sanitari a lungo termine.

Nonostante il grande potenziale, la breathomica deve ancora affrontare alcune sfide prima di essere adottata su larga scala nella pratica clinica. La standardizzazio-

ne dei protocolli di raccolta e di analisi, ai fini di azzerare l'influenza di fattori esterni come l'alimentazione e l'esposizione ambientale, è essenziale per garantire risultati riproducibili. Inoltre, l'integrazione di modelli di apprendimento automatico è ancora agli inizi e richiede ulteriori sviluppi per migliorare la precisione diagnostica.

Bibliografia

- 1) SMOLINSKA A, HAUSCHILD AC, FIJTEN RR, ET AL. *Current breathomics - a review on data pre-processing techniques and machine learning in metabolomics breath analysis*. J Breath Res 2014;8:027105.
- 2) SAVITO L, SCARLATA S, BIKOV A, ET AL. *Exhaled volatile organic compounds for diagnosis and monitoring of asthma*. World J Clin Cases 2023;11:4996-5013.
- 3) DRAGONIERI S, SCHOT R, MERTENS BJ, ET AL. *An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls*. J Allergy Clin Immunol 2007; 120:856-62.
- 4) LI L, CHEN H, SHI J, ET AL. *Exhaled breath analysis for the discrimination of asthma and chronic obstructive pulmonary disease*. J Breath Res 2024;18 046002.
- 5) KUO PH, JHONG YC, KUO TC, ET AL. *A clinical breathomics dataset*. Sci Data 2024;11:203.