

RESEÑA ANALÍTICA

Análisis del aliento: un método promisorio para el diagnóstico del cáncer y factores desencadenantes

Rolando Marbot Ramada e Ivonne Martín Hernández.*

Laboratorio de Química Analítica, Centro de Investigaciones del Petróleo, Washington esquina a Churruga, Cerro, Ciudad de La Habana. Correo electrónico: rmarbot@ceinpet.cupet.cu. *Departamento de Farmacología, Instituto de Neurología y Neurocirugía, Calle 29 entre Calles D y E, El Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: ivonne.martin@infomed.sld.cu

Recibido: 17 de enero de 2007. Aceptado: 15 de marzo de 2007.

Palabras clave: cáncer, cáncer pulmonar, cáncer de mama, cirrosis, *Helicobacter pylori*, aliento, cromatografía de gases, espectrometría de masas.
Key words: cancer, lung cancer, breast cancer, cirrhosis, *Helicobacter pylori*, breath, gas chromatography, mass spectrometry.

RESUMEN. Generalmente, cuando una persona está afectada por una enfermedad, se produce un desbalance en su sistema metabólico que ocasiona un cambio en el perfil de sus productos de excreción. En el caso de una persona afectada por cáncer pulmonar, de mamas y otros tipos de cáncer, así como de enfermedades gástricas, cirrosis hepática, diabetes y esquizofrenia, se ha revelado la presencia de metabolitos volátiles específicos de ellas, que sirven de marcadores y posibilitan el diagnóstico precoz de dichas enfermedades, lo cual facilita la adecuación de tratamientos para su cura o la prevención de su desarrollo. El empleo de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas ha permitido el análisis cualitativo y cuantitativo de la composición del aliento en personas sanas y con diferentes tipos de cáncer, haciendo posible la identificación de los metabolitos volátiles marcadores, por lo cual esto pudiera constituir un método de diagnóstico para tales enfermedades, con las ventajas de ser discriminativo, sensible, rápido, seguro y no invasivo, posibilitando además, la detección precoz de la enfermedad aún antes de la aparición de los síntomas en el paciente, lo que hace posible la realización de tamizajes en poblaciones de riesgo tales como fumadores, alcohólicos y personas expuestas a agentes carcinogénicos, entre otros.

ABSTRACT. Generally, when a person is affected by an illness, an unbalance takes place in its metabolic system that causes a change in the profile of its excretion products. In the case of a person affected with lung cancer, breast cancer, as well as with gastric illnesses, hepatic cirrhosis, diabetic crisis and schizophrenia, the presence of specific volatile metabolites of each ones has been reported, which could be used as markers and then facilitate the early diagnosis of those illnesses, and make possible suitable treatments to heal the sick persons, or to prevent the development of the illnesses. The use of gas chromatography-mass spectrometry allows the qualitative and quantitative analysis of the composition of the breath for healthy persons and patients with different types of cancer, making possible the identification of the volatile marker metabolites. It could be a diagnostic method for these illnesses, taking into account the advantages to be discriminative, sensitive, fast, sure and non invasive method, which also makes possible its early detection, even before the symptoms appear. On the other hand, this method could make possible the screening of risk people like smokers, alcoholic persons, those who are exposed to carcinogenic agents, etc.

INTRODUCCION

A muchas personas, la idea del análisis del aliento, les puede crear la visión de un policía de tránsito en medio de una carretera comprobando con un sensor si el conductor de un vehículo ha ingerido bebidas alcohólicas. El conductor sospechoso debe soplar en un dispositivo manual que al cabo de unos segundos indica la cantidad de etanol que está presente en la sangre.

A pesar de esta asociación algo distorsionada, el análisis del aliento va introduciéndose cada vez más en el área de la tecnología médica. Los médicos han comenzado a utilizarlo como prueba diagnóstica para una creciente variedad de enfermedades, sin el peligro y las molestias de los procedimientos invasivos. Por otra parte, el análisis del aliento permite adentrarse en la comprensión de los procesos bioquímicos del organismo humano.

Frecuentemente, las personas afectadas por una enfermedad ven alterados sus procesos metabólicos, con lo cual varía el perfil de sus productos de excreción. El proceso de excreción de los productos volátiles puede tener efecto por varias vías, incluyendo la

respiración, ya que a través de la membrana celular de los alvéolos pulmonares se produce un intercambio de gases con la sangre, de manera que pasa oxígeno hacia ella y dióxido de carbono hacia el aire que ha de ser exhalado. Pero sería muy simple pensar que solo se excreta dióxido de carbono; en realidad, el proceso metabólico es mucho más complejo que eso y se produce una variedad muy amplia de productos volátiles que son igualmente expulsados por vía respiratoria y que pudieran servir de marcadores para el diagnóstico de enfermedades que provoquen una alteración en el metabolismo, como es el caso de algunos tipos de cáncer.¹

El cáncer es una dolencia mundial que constituye un problema de Salud, al existir más de 20 millones de personas con este diagnóstico y registrarse anualmente más de 10 millones de nuevos casos y más de 6 millones de defunciones. Se pronostica que para el año 2020 se registren anualmente más de 15 millones de nuevos casos y 10 millones de defunciones, aumentando su incidencia en un 50 %.²

Adicionalmente, existen algunas patologías que actúan como factores desencadenantes de aquel como la infección por *Helicobacter pylori*, el síndrome de sobrecrecimiento bacteriano y la cirrosis hepática. Muchos son los métodos que permiten el diagnóstico de los distintos tipos de cáncer y de estas otras patologías, pero resulta atractiva la posibilidad de hacer su diagnóstico mediante el análisis del aliento del paciente.³

SINTESIS HISTORICA

La detección de compuestos orgánicos volátiles en el aliento tiene una larga historia. Desde los tiempos de Hipócrates, los médicos aprendieron que el olor del aliento humano podría servir de indicio para un diagnóstico. Los médicos astutos estaban alertas y si percibían el olor característico de la acetona en el aliento de un paciente, podían sospechar una diabetes incontrolada, si percibían un olor a pescado mohoso, la sospecha sería de una enfermedad hepática, un aliento con olor semejante al de la orina podría ser el resultado de fallos renales, así como un hedor pútrido podría ser causado por un absceso pulmonar. Pero sin un riguroso análisis químico, el olor del aliento no hubiera podido progresar como método de diagnóstico valiéndose solamente de olfatos educados.

Este problema atrajo la atención de los científicos hace más de 200 años. En 1784 Antoine Laurent Lavoisier y Pierre Simon Laplace analizaron el aliento de conejillos de India y demostraron que el animal consumía oxígeno y expiraba dióxido de carbono, lo que evidenciaba que en el interior del organismo se producía una combustión de los alimentos. El mismo Lavoisier comprobó la veracidad de su descubrimiento realizando el análisis de su propio aliento. La trampa de Lavoisier consistía en una disolución a través de la cual se burbujeaba un volumen de aire expirado. El dióxido de carbono reaccionaba con la disolución dando lugar a un precipitado visible que podía ser cuantificado. El dióxido de carbono es fácil de detectar puesto que constituye aproximadamente el 5 % de la composición del aliento, sin embargo, la mayoría de los otros componentes volátiles del aliento están presentes en concentraciones mucho menores, en el orden de las partes por millón o aún en menores proporciones. En esa época, el análisis era llevado a cabo por métodos colorimétricos. En este descubrimiento se establecieron las bases de la bioquímica moderna y de aquí además, surge la expresión “utilizar a una persona como conejillo de India”.³

Un tiempo después del descubrimiento de Lavoisier, el médico alemán A. Nebelthau, del Hospital Policlinico de Marburg construyó un dispositivo para realizar el análisis del aliento de pacientes con diabetes *mellitus* en los cuales cuando aparece un descontrol de esta enfermedad se produce un incremento en la concentración de glucosa en sangre y como consecuencia, se generan grandes cantidades de acetona como metabolito mayoritario. Cuando Nebelthau hizo burbujear el aliento de un enfermo en una disolución de yodo en medio alcalino, observó un rápido e intenso cambio de coloración. En 1874 el médico inglés Francis Anstie aplicó técnicas colorimétricas para la determinación de alcohol en el aliento al hacer burbujear el aire espirado en una disolución de ácido crómico, el cual en presencia de etanol cambió su coloración roja a verde. No es hasta 1971 en que Linus Pauling realiza el análisis del aliento por cromatografía de gases, al utilizar una trampa crioscópica, con la que registró más de 250 compuestos,^{4,5} este pudiera ser considerado como el primer análisis del aliento llevado a cabo con el empleo de técnicas analíticas modernas.

Actualmente, las técnicas analíticas, la automatización, la cibernética y la estadística se han desarrollado suficientemente como para permitir el análisis cualitativo y cuantitativo del aliento con gran rapidez, precisión y confiabilidad.³⁻⁸

Clasificación y métodos de captura del aliento

Los ensayos del aliento pueden clasificarse de dos maneras:

- con carga, en los cuales se le suministra al paciente la droga o sustrato y posteriormente, le son medidos los metabolitos correspondientes en el aliento. Se utilizan principalmente en Gastroenterología.
- sin carga, en los cuales al paciente no se le suministra ningún producto antes de la realización del análisis.⁷

Desde el punto de vista analítico, es muy importante el muestreo del aliento, por lo que se han implementado diferentes formas de captura:

- a) Trampa química.
- b) Trampa criogénica o de condensación (Fig. 1).
- c) Trampa de adsorción (Fig. 2).
- d) Bolsa de material inerte.

El método de la trampa química es simple y directo. Generalmente el derivado del compuesto atrapado es coloreado y fácil de medir. Su desventaja radica en su pobre sensibilidad y la incapacidad de detectar varios compuestos simultáneamente.

En la trampa criogénica los compuestos volátiles son capturados por congelación. El aire espirado viaja a través de un tubo inmerso en un fluido refrigerante, como nitrógeno líquido, quedando congelados los compuestos orgánicos volátiles que van a ser analizados, para luego ser descongelados e introducidos en el sistema cromatográfico. La desventaja de este método es que junto a los volátiles orgánicos, también se congela el vapor de agua expelido en el aliento, el cual en poco tiempo puede obstruir los conductos, por lo que se hace necesario utilizar un sistema con trampas capaces de retener el agua, antes de someter el aliento a congelación.

La bolsa de material inerte puede ser utilizada, pero necesita un proceso posterior de concentración de la muestra, pues las proporciones en que se encuentran los componentes orgánicos volátiles en el aliento son tan bajas que muchas veces no son detectados si no se realiza ese proceso.

Las trampas adsorptivas han llegado a convertirse en las más apropiadas para la mayoría de los métodos utilizados hoy día. Estas capturan los compuestos enlazándolos con agentes adsorbentes, tales como el carbón activado, el carbón grafitizado o las resinas adsorbentes, para luego ser desorbidas térmicamente e introducidas en el cromatógrafo.^{7, 9-13}

Problemas técnicos de los ensayos del aliento

Durante la preparación y realización del análisis del aliento con fines diagnósticos, se puede presentar una serie de dificultades e inconvenientes que deben ser superados por el método a utilizar. En primer lugar, el dispositivo colector debe ofrecer una mínima resistencia al paciente mientras dona su aliento, debe tenerse un meticuloso control higiénico en el dispositivo, de forma tal que este no quede contaminado y pueda ser vehículo de enfermedades transmisibles de un paciente a otro, el equipamiento debe asimismo, evitar la condensación de agua y la obstrucción de las tuberías por formación de hielo, no debe producirse contaminación química del sistema, pues la aparición

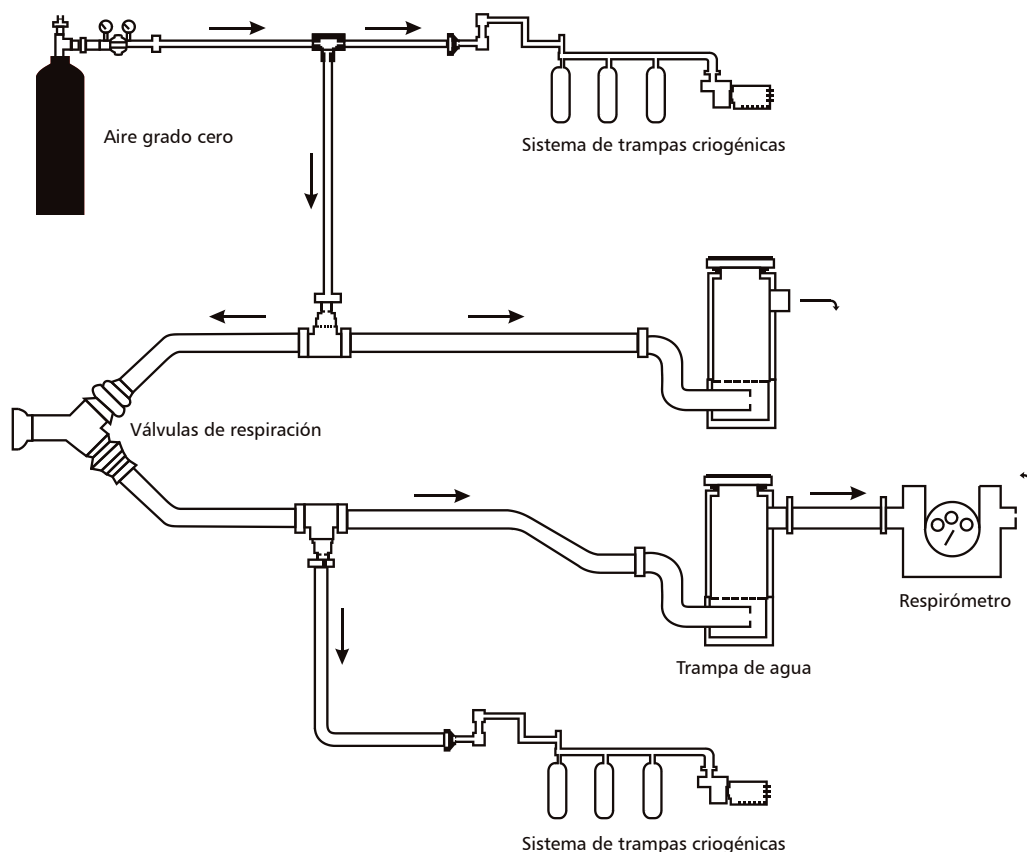


Fig. 1. Trampa criogénica o de condensación.³

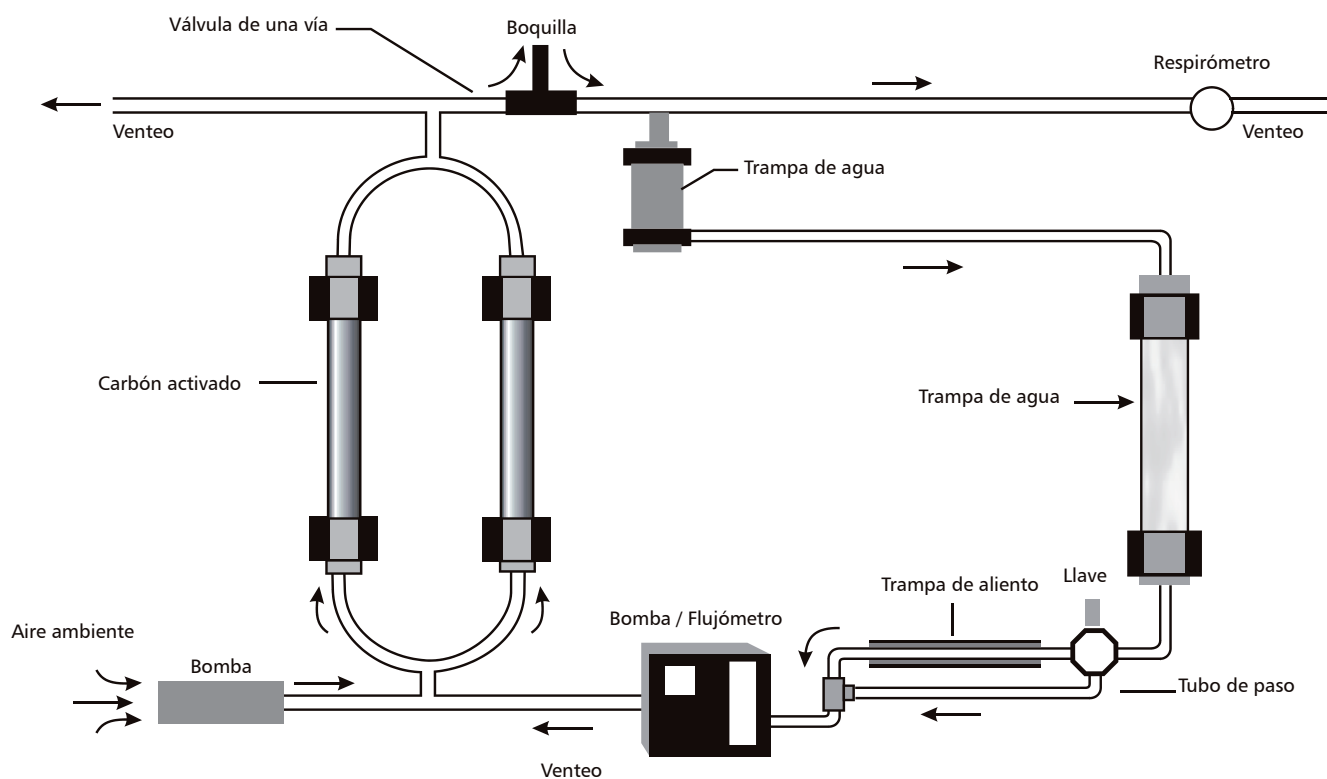


Fig. 2. Trampa de adsorción utilizada por Michael Phillips.¹

de compuestos ajenos al aire expirado por el paciente puede disminuir la eficiencia del método, se ha de considerar el volumen muerto del sistema respiratorio, ya que el intercambio gaseoso solo tiene lugar en las paredes alveolares. El no tener en cuenta el

volumen muerto del tracto respiratorio, podría llevar a resultados erróneos. Por último, deben utilizarse materiales inertes en las tuberías y trampas contenedoras, de manera que no se produzcan artefactos que perjudiquen al análisis.

Otro asunto de la mayor importancia es la detección e identificación de los componentes orgánicos volátiles del aliento, que generalmente se encuentran a niveles de concentración picomolar, para lo cual deberán utilizarse técnicas de concentración apropiadas. En cuanto a este aspecto, las trampas criogénicas y las de adsorción son muy apropiadas, ya que capturan y concentran simultáneamente.^{7, 14-16}

Análisis del aliento como herramienta de diagnóstico

En el caso de las personas afectadas con cáncer pulmonar (CP), cáncer de mamas (CM), enfermedades gástricas, cirrosis hepática, diabetes, esquizofrenia y otras, así como en el rechazo a los trasplantes, se produce un desbalance metabólico y se ha reportado la presencia en sus alientos de metabolitos volátiles específicos de cada una de estas enfermedades, que sirven de marcadores y posibilitarían su diagnóstico precoz.

El empleo de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas ha permitido el análisis cualitativo y cuantitativo de la composición del aliento de pacientes sanos y enfermos, haciendo posible la identificación de los metabolitos volátiles marcadores en etapas tempranas, aún antes de que comiencen a aparecer los síntomas y signos de esas enfermedades.

El análisis del aliento ofrece la ventaja de evitar los riesgos e incomodidades de los métodos de diagnóstico invasivos, además, de que por posibilitar el diagnóstico temprano, viabiliza su utilización para el tamizaje selectivo en las poblaciones de riesgo y el costo de los análisis por esta vía resulta más económico en comparación con otros métodos como la tomografía, la broncoscopia, la mediastinoscopia o las biopsias.^{3, 17-26}

Aunque los datos sobre la eficacia de estos análisis en el diagnóstico tumoral son aún experimentales, los estudios pilotos realizados para los cánceres de pulmón y de mama apoyan esta línea de trabajo.²³⁻²⁶

Cáncer de pulmón

Esta afección constituye la primera causa de muerte entre todos los procesos referidos, siendo el más común en hombres y el tercero más común en mujeres. Generalmente, se estima en estos pacientes una supervivencia global para cinco años aproximada al 15 %, aunque los pacientes que reciben tratamiento quirúrgico presentan un índice de sobrevida de 50 al 80 %, lo que implica la necesidad de mejores tratamientos sistémicos para curar las micrometástasis ocultas.^{27,28} Una de las razones de su pobre diagnóstico es la habilidad como proceso maligno de avanzar sin dar indicaciones clínicas de progresión, permaneciendo en sus primeras etapas casi siempre asintomático, por ello, generalmente no se diagnostica hasta que la enfermedad está muy avanzada.²⁹ Existe un número importante de pruebas diagnósticas para CP, la mayoría invasivas y riesgosas, lo cual da lugar a cierto rechazo o temor por parte de los pacientes, entre ellos se tiene el examen físico, el análisis de sangre, la radiografía de tórax, la tomografía axial computadorizada, la resonancia magnética nuclear (RMN), la tomografía por emisión de positrones, la citología de esputo, la biopsia, la broncoscopia fluorescente y la mediastinoscopia.³⁰⁻³³

El cáncer de pulmón está acompañado por un incrementado estrés oxidativo y la inducción de la enzima citocromo P₄₅₀, ambos procesos afectan la abundancia de compuestos orgánicos volátiles en el aliento (COVs), debido a que el estrés oxidativo causa peroxidación lipídica de los ácidos grasos poli-insaturados en las

membranas produciendo alcanos C-C₂₀ y sus metilalcanos correspondientes, los cuales son catabolizados por la enzima citocromo P450.³⁴⁻³⁷

Los estudios publicados han incluido pacientes con cáncer de pulmón o metástasis en pulmón, comparándolos con individuos sanos, fumadores asintomáticos y pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, identificándose en ellos los COVs (alcanos, metilalcanos, compuestos aromáticos y derivados del benceno) que por su abundancia y luego de complejos análisis estadísticos han sido propuestos como posibles biomarcadores de la enfermedad. Entre los COVs se pueden citar: n-butano, n-pentano, 2-metilhexano, 3-metilhexano, n-heptano, 5-metilheptano, n-octano, 4-metiloctano, 5-metildecano, 3-metiltridecano y 7-metiltridecano, isopreno, etilbenceno, trimetilbenceno, tolueno, n-decano y estireno. Las diferencias entre los diferentes estudios se deben a los problemas técnicos de recogida de muestras, análisis y normalización respectivos.²³⁻²⁵

Cáncer de mama

El cáncer de mama es otro de los tipos de cáncer que más afecta la salud de la población mundial, específicamente, al sexo femenino, se considera que tiene una incidencia anual que se incrementa en todos los países a razón del 3 %, ³⁷ afortunadamente este tipo de afección cuando se detecta tempranamente es una de las que más posibilidades de tratamiento tiene. En las últimas décadas, la mortalidad por CM ha disminuido debido a los programas de detección precoz, el empleo de la mamografía y la mejora de los pronósticos y tratamientos.^{2,38,39}

Entre los métodos que son utilizados para el diagnóstico de CM se pueden mencionar: autoexamen y examen clínico de las mamas, mamografía, pruebas genéticas para los genes BRCA 1 y 2, ecografía, RMN y biopsias. El autoexamen y el examen clínico de las mamas solo brindan la sospecha de un posible tumor, las pruebas genéticas y la RMN resultan costosas y por último, la biopsia es una prueba invasiva, de ellas solamente la ecografía y mamografía resultan eficaces, poco costosas y no invasivas.⁴⁰ Aunque el pesquiasaje por mamografía puede reducir la mortalidad, existe una necesidad clínica de fomentar los métodos que permitan detectar la enfermedad en sus estadios tempranos.

En estos pacientes, el análisis del aliento para COVs (alcanos y metilalcanos) como marcadores del estrés oxidativo provee una serie de biomarcadores sensibles y específicos que podrían ser utilizados para el pesquiasaje, entre ellos, los propuestos son: 5-metiltridecano, 3-metilundecano, 6-metilpentadecano, 2-metilpropano, 3-metilnonadecano, 4-metildodecano y 2-metiloctano.²⁶

El análisis del aliento no se ha extendido como prueba diagnóstica para el CP y el CM permaneciendo todavía en investigación porque para su implementación se necesita una gran inversión inicial, ya que el equipamiento analítico es costoso, se requieren técnicas analíticas sofisticadas para la concentración de las muestras y su análisis, además de un personal especializado y del montaje de métodos validados y confiables. Por último, ambos estudios para la búsqueda y selección de los biomarcadores exigen de la construcción de modelos estadísticos con análisis discriminante de múltiples variables, de los cuales dependerá la sensibilidad y especificidad del método objeto de estudio para el diagnóstico precoz de estas enfermedades.

Infección con *Helicobacter pylori*

Esta bacteria constituye uno de los factores de riesgo de padecer carcinoma gástrico, el cual constituye la primera causa de muerte en muchos países. El 15 % de las personas infectadas con *H. pylori* desarrollan úlceras pépticas o adenocarcinomas gástricos. Los niños con esta infección pueden a largo plazo desarrollar lesiones precancerosas, como atrofia y metaplasia de la mucosa gástrica. Estudios recientes constatan la predisposición para el desarrollo de linfoma MALT (tejido linfoma asociado a mucosa) a nivel gástrico. Se han informado casos excepcionales de determinados linfomas gástricos en niños, que han retrocedido tras la erradicación del *H. pylori*.⁴¹⁻⁴⁷

Se han establecido diferentes métodos de diagnóstico para la detección de la infección por *H. pylori* como las técnicas invasivas de histología y cultivo y no invasivas como las serologías por ELISA y rápida, determinación del antígeno en heces y en saliva y el Enterotest. La prueba de la urea es un método no invasivo mediante el cual se le administra al paciente una carga de urea marcada con los isótopos C^{13} (no radiactivo y estable) y C^{14} (radiactivo e inestable) y se basa en la capacidad de la bacteria de producir ureasa, una enzima extremadamente potente que hidroliza la urea marcada. Se libera CO_2 marcado que se excreta en la respiración y que puede ser detectado mediante el análisis del aliento utilizando una cámara gamma o cromatografía de gases-espectrometría de masas. El método radiactivo no alcanzó difusión por su riesgo potencial, aunque fuera mínimo. No está permitida su aplicación en niños y mujeres embarazadas. El método con el marcaje con isótopo estable C^{13} se ha aplicado con diversas variantes metodológicas y es la más aceptada por los pacientes, por la facilidad de realización, la carencia de efectos adversos, su excelente tolerancia y gran sensibilidad y especificidad.⁴⁵⁻⁵⁴

Síndrome de sobrecrecimiento bacteriano

Se está en presencia del síndrome de sobrecrecimiento bacteriano (SSB) cuando aparece una proliferación de la flora de tipo colónico en el intestino delgado que produce alteraciones en la digestión y la absorción intestinal. El aumento de la concentración bacteriana intraluminal mantenida a largo plazo, se ha relacionado con la aparición de neoplasias del tubo digestivo a través de la producción de sustancias carcinogénicas como las nitrosaminas. En el SSB la concentración bacteriana (aeróbica y anaeróbica) aumenta hasta 10^7 - 10^9 CFU/mL en el intestino delgado.⁵⁵⁻⁵⁸

Existen varios métodos útiles para su diagnóstico. Algunos son directos y consisten en cuantificar el número de gérmenes presentes en la luz intestinal, por lo que requieren procedimientos invasivos como el sondeo y la aspiración intestinal. Otros son indirectos, los cuales demuestran la existencia de un aumento del metabolismo bacteriano y pueden ser invasivos como las determinaciones bioquímicas intraluminares o no invasivos como el análisis del aliento para la detección de hidrógeno utilizando glucosa/ lactulosa como sustrato.

Esta prueba diagnóstica se recomienda para el tamizaje de las personas con historia familiar de cáncer gástrico y alguna condición gástrica premaligna y se basa en la capacidad de la flora bacteriana de fermentar los carbohidratos de la luz intestinal, los cuales liberan hidrógeno, que es absorbido y excretado en el aire exhalado. Por ejemplo, cuando se le administra oralmente al paciente glucosa como sustrato, esta se absorbe muy activamente en el yeyuno sin llegar al colon, sugiriendo un SSB a nivel yeyunal.

Otras pruebas del aliento utilizan ^{14}C -ácido glicocólico o ^{14}C -D-xilosa y miden el $^{14}CO_2$ producido por el metabolismo bacteriano en un contador β . Dada la larga vida media del ^{14}C , este tipo de exploraciones isotópicas no pueden realizarse en niños ni embarazadas. Además la ^{14}C -D-xilosa, al absorberse rápidamente en los primeros tramos intestinales, solo es de utilidad en SSB proximales.^{55,59-63}

Cirrosis hepática

La cirrosis hepática es una enfermedad crónica caracterizada por una alteración difusa del parénquima hepático con presencia de fibrosis y nódulos de regeneración. Estos cambios conducen al desarrollo de hipertensión portal e insuficiencia hepática que condicionan las posibles complicaciones que se pueden presentar, constituye la décimo segunda causa de muerte por enfermedades (fallecen unas 26 000 personas al año) y es el segundo factor desencadenante de cáncer de hígado, con un riesgo del 20 % a los cinco años de seguimiento. Se conoce que el 50 a 80 % de los pacientes con carcinoma hepatocelular están asociados con cirrosis.

Muchos son los métodos empleados para el diagnóstico de esta enfermedad, entre los que se pueden citar: tomografía axial computadorizada, ultrasonido, RMN, laparoscopia y biopsia.⁶⁴⁻⁶⁶

El análisis del aliento en los individuos enfermos muestra grandes cantidades de sulfuro de dimetilo. Por otra parte, la realización en estos pacientes de los ensayos del aliento con carga utilizando sustratos marcados isotópicamente como metacetina- C^{13} , galactosa- C^{13} , fenilalanina- C^{13} y aminopirina- C^{13} permiten valorar las funciones hepatocelulares mediante la evaluación de una actividad enzimática específica.⁶⁷⁻⁷⁴

CONCLUSIONES

El cáncer es una enfermedad con una elevada mortalidad, lo que genera una necesidad clínica que obliga al surgimiento de nuevas técnicas para su diagnóstico y para determinadas patologías que lo desencadenan. Los ensayos del aliento deben verse como técnicas promisorias complementarias a las existentes y nunca como técnicas competitivas, cada una ocupando el lugar que le corresponde, este método conducido por técnicas tan poderosas como la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas, identificará posibles biomarcadores volátiles que permitirán realizar estudios epidemiológicos e indagar en las enfermedades con largos períodos de latencia pudiendo ser utilizados como oportunos indicadores de riesgo y como técnica preventiva de detección temprana de estas enfermedades

BIBLIOGRAFIA

1. St. John T.M. With Every Breath. A Lung Cancer Guidebook. Vancouver 2003. <http://lungcancerguidebook.org/book.htm>. (Consultado: 23 de noviembre de 2003.)
2. Organización Mundial de la Salud. Informe de la 58a Asamblea Mundial de la Salud A58/16. 7 de Abril del 2005. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/es/>. (Consultado: 12 de diciembre de 2005.)
3. Phillips M. Breath Test in Medicine. *Sci. Amer.*, **267**, 74-9, 1992.
4. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J. and Cataneo R.N. Variation in Volatile Organic Compounds in the Breath of Normal Humans. *J. Chrom. B*, **729**, 75-88, 1999.
5. Pauling L., Robinson A.B., Teranishi R. and Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 2374-6, 1971.

6. Phillips M. and Greenberg J. Method for the Collection and Analysis of Volatile Compounds in the Health. **J. Chrom.**, **564**, 242-9, 1991.
7. Phillips M. Detection of volatile organic compound in breath. In: Disease markers in exhaled breath. Marczin N., Kharitonov S.A., Yacoub M.H. and Barnes P.J., (ed.) New York, Marcel Dekker, 219-31, 2002.
8. Cheng W.H., Lee W.J. Technology development in breath microanalysis for clinical diagnosis. **J. Lab. Clin. Med.**, **133**, 218-28, 1999.
9. Knutson M.D. and Viteri F.E. Concentrating breath samples using liquid nitrogen: a reliable method for the simultaneous determination of ethane and pentane. **Anal. Biochem.**, **242**, 129-35, 1996.
10. Dannecker J.R., Shaskan E.G. and Phillips M. A new highly sensitive assay for breath acetaldehyde: detection of endogenous levels in human. **Anal. Biochem.**, **114**, 1-7, 1981.
11. Grote C., Pawliszyn J. Solid-phase microextraction for the analysis of human breath. **Anal. Chem.**, **69**, 587-96, 1997.
12. Zabiegała B., Namiesnik J. and Przyk E. Changes in concentration levels of selected VOCs in newly erected and remodelled building in Gdansk. **Chemosphere**, **39**, 2035-46, 1999.
13. Rappaport S.M., Kure E., Petreas M., Ting D. and Woodlee J. A field method for measuring solvent vapors in exhaled air—application to styrene exposure. **Scand. J. Work Environ. Health**, **17**, 195-204, 1991.
14. Phillips M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. **Anal. Biochem.**, **247**, 272-8, 1997.
15. LeBlanc A., Levesque B. and Allaire S. Rapid, sensitive and noninvasive sampling technique for the determination of chloroform in alveolar breath. **J. Anal. Toxicol.**, **19**, 56-7, 1995.
16. Schoeller D.A. and Klein P.D. A simplified technique for the collecting breath CO₂ for isotope ratio mass spectrometry. **Biomed. Mass Spectrom.**, **5**, 29-31, 1978.
17. Grundmann A., Bandur R. and Hoffmann Th. Determination of biomarkers in human breath by TDS/GC/MS. IAEAC: The 6th Workshop on Biosensors and BioAnalytical μ -Techniques in Environmental and Clinical Analysis, ENEA - University of Rome "La Sapienza", Rome, Italy, October 8-12, 2004.
18. Krotoszynski B., Gabriel G. and O'Neill H. Characterization of human expired air: A Promising Investigative and Diagnostic Technique, **J. Chrom. Sci.**, **15**, 239-44, 1977.
19. Dubowski K. M. Breath analysis as a technique in clinical chemistry, **Clin. Chem.**, **20**, 966-72, 1974.
20. Manolis A. The diagnostic potential of breath analysis. **Clin. Chem.**, **29**, 5-15, 1983.
21. Jacoby M. Breath Analysis for medical diagnosis. **Sci. & Techn.**, **82**, 29-31, 2004.
22. Corradi M. and Mutti A. Exhaled breath analysis: from occupational to respiratory medicine. **Acta Biomed, Ateneo Parmense**, **76**, 20-9, 2005.
23. Phillips M., Gleeson K., Hughes J.M.B., Greenberg J., Cataneo R.N. and Baker L. Volatile Organic Compounds in Breath as Markers of Lung Cancer: A Cross-Sectional Study, **Lancet**, **353**, 1930-3, 1999.
24. Poli D., Carbognani P., Corradi M., Goldoni M., Acampa O., Balbi B., *et al.* Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study. **Respir. Res.**, **6**, 71-75, 2005.
25. Phillips M., Cataneo R.N., Andrew R.C.C., Gagliardi A.J., Gleeson K., Greenberg J., *et al.* Detection of lung cancer with volatile markers in the breath. **Chest**, **123**, 2115-23, 2003.
26. Phillips M. Volatile markers of breast cancer in the breath. **The Breast Journal**, **9**, 184-191, 2003.
27. Jemal A., Thomas A., Murray T., Samuels A., Ghafoor A., Ward E., *et al.* Cancer statistics, 2003. **CA Cancer J. Clin.**, **53**, 5-26, 2003.
28. Haura E.B. Treatment of advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. A review of Current Randomized Clinical Trials and an Examination of Emerging Therapies. **Cancer Control**, **8**, 326-36, 2001.
29. McWilliams A., Mayo J., Mac Donald S., LeRiche J.C., Palcic B., Szabo E., *et al.* Lung cancer screening. A different paradigm. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, **168**, 1167-73, 2003.
30. Swensen S.J., Jett J.R., Sloan J.A., Midthun D.E., Hartman T.E., Sykes A.M., *et al.* Screening for lung cancer with low-dose spiral computed tomography. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, **165**, 508-13, 2002.
31. Diederich S., Wormanns D., Semik M., Thomas M., Lenzen H., Roos N., *et al.* Screening for early lung cancer with low-dose spiral CT: prevalence in 817 asymptomatic smokers. **Radiology**, **222**, 773-81, 2002.
32. Mateo M.L. and Domingo J.A. Cáncer de pulmón: Aspectos generales. Diagnóstico. <http://www.opolanco.es/Apat/BO-LET297.html>. (Consultado: 12 de diciembre de 2005.)
33. Kneepkens C.M., Lepage G. and Roy C.C. The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation. **Free Radic. Biol. Med.**, **17**, 127-60, 1994.
34. Loft S. and Poulsen H.E. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. **J. Mol. Med.**, **74**, 297-312, 1996.
35. Phillips M., Cataneo R.N., Greenberg J., Gunawardena R., Naidu A. and Rahbari-Oskoui F. Effect of age on the breath methylated alkane contour, a display of apparent new markers of oxidative stress. **J. Lab. Clin. Med.**, **136**, 243-9, 2000.
36. Remmer H., Hintze T., Frank H. and Muh-Zange M. Cytochrome P-450 oxidation of alkanes originating as scission products during lipid peroxidation. **Xenobiotica**, **14**, 207-19, 1984.
37. Greenlee R.T., Murray T., Bolden S., *et al.* Cancer statistics, 2000. **Ca-A Cancer J. for Clinicians**, **50**, 7-33, 2000.
38. Olsen A.H., Njor S.H. and Vejborg I. Breast cancer mortality in Copenhagen after introduction of mammography screening: cohort study. **BMJ**, **330**, 220, 2005.
39. Gill P.G., Farshid G., Luke C.G. and Roder D.M. Detection by screening mammography is powerful independent predictor of survival in women diagnosed with breast cancer. **Breast**, **13**, 15-22, 2004.
40. Lippman M.E. Breast cancer. In: Principles of Internal Medicine. 14 Edition, Fauci A., Braunwald E., Isselbacher K.J., Wilson J.D., Martin J.B., Kasper D.L. (ed.), Harrison's, McGraw-Hill, New York, CD-ROM, 1998.
41. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease: NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. **JAMA**, **272**, 65-9, 1994.
42. Correa P. Is gastric carcinoma an infectious disease? **N. Engl. J. Med.**, **325**, 1170-1, 1991.
43. Wotherspoon A.C., Ortiz-Hidalgo C., Falzon M.R. and Isaacson P.G. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. **Lancet**, **342**, 575-7, 1993.
44. Wotherspoon A.C., Doglioni C., Diss T.C., Pan L., Moschini A., de Boni M., *et al.* Regression of primary low-grade B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. **Lancet**, **342**, 575-7, 1993.
45. Gold B., Colleti R., Abbott M., Czinn S.J., Elitsur Y., Hassall E., *et al.* The North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *Helicobacter pylori* infection in children: recommendations for diagnosis and treatment. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **31**, 490-7, 2000.
46. Sherman P., Czinn S., Drumm B., Gottrand F., Kawakami E., Madrazo A., Oderda G., Seo J-K., Sullivan P., Toyoda S., Weaver L. and Wu T-Ch. *Helicobacter* infection in Children and Adolescents: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **35**, 128-33, 2002.
47. Pajares J.M. and Gisbert J.P. *Helicobacter pylori*: its discovery and relevance for medicine. **Rev. Esp. Enferm. Dig.**, **98**, 770-85, 2006.
48. Logan R.P.H. and Walker M.M. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **B.M.J.**, **323**, 920-2, 2001.
49. Pérez-Trallero E., Montes M., Alcorta M., Zubillaga P., Tellera E. Non-endoscopic method to obtain *Helicobacter pylori* for culture. **Lancet**, **345**, 622-3, 1995.
50. Oderda G., Rapa A., Boldorini R., Bozzola C., Zavallone A., Stringini L., *et al.* Non-invasive Tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection in very young Children. **Gut**, **39**, 75, 2001.

51. Malaty H.D., Haveman T., Graham D.Y., Fraley J. and Ken-
nard J.K. *Helicobacter pylori* infection in Asymptomatic
Children: Impact of Epidemiologic Factors on Accuracy
of Diagnostic Tests. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **35**,
59-63, 2002.
52. Cadranet S., Corvaglia L., Bontems P. *et al.* Detection of *Helicobacter pylori* infection in children with standardized and
simplified ¹³C-urea breath test. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **27**, 275-80, 1998.
53. Martínez Gómez M.J., Urruzuno P., Cilleruelo M.L. *et al.* Test del
aliento con Urea ¹³C en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. **Ann. Esp. Pediatr.**, **69**, 56-7, 1995.
54. Monés J., Gisbert J.P., Bordá E., Domínguez Muñoz E.
and Grupo Conferencia Española de Consenso. Indica-
tions, diagnostic methods and eradication treatment of
Helicobacter pylori. Recommendations of the second
Spanish Consensus Conference. **Rev. Esp. Enferm. Dig.**,
97, 348-74, 2005.
55. Casellas F. Manejo del sobrecrecimiento bacteriano. [http://
www.prous.com/digest/protocolos/view_protocolo.asp?id_
protocolo=2](http://www.prous.com/digest/protocolos/view_protocolo.asp?id_protocolo=2). (Consultado: 14 de diciembre de 2005.)
56. Hill M.J., Drasar B.A.S., Aries V., Crowther J.S., Hawksworth
G. and Williams R.E. Bacteria and aetiology of cancer of
large bowel. **Lancet**, **1**, 95-100, 1971.
57. King C.E., Toskes P.P. Small intestine bacterial overgrowth.
Gastroenterology, **76**, 1035-55, 1979.
58. Robert S.H., James O. and Jarvis E.H. Bacterial overgrowth
syndrome without "blind loop": a cause for malnutrition in
the elderly. **Lancet**, **2**, 1193-5, 1977.
59. Ginsburg P.M., Janefalkar P., Rubtn D.T. and Ehrenprets
E.D. Malabsorption testing: a review. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, **2**, 370-7, 2000.
60. Rhodes J.M., Middleton P. and Jewell D.P. The lactulose hydro-
gen breath test as a diagnostic test for small-bowel bacterial
overgrowth. **Scand. J. Gastroenterol.**, **14**, 333-6, 1979.
61. Flourie B., Turk J., Lemann M., Florent C., Colimon R.,
Rambaud J.C. Breath hydrogen in bacterial overgrowth.
Gastroenterology, **96**, 1225-31, 1989.
62. Casellas F., Guarner L., Vaquero E., Antolín M., Gracia X.
and Malagelada J.R. Hydrogen breath test with glucose
in exocrine pancreatic insufficiency. **Pancreas**, **16**, 481-
486, 1998.
63. Gisbert J.P. and Gonzalez-Lama Y. Breath test in diagnosis
of gastrointestinal diseases. **Gastroenterol. Hepatol.**, **28**,
407-16, 2005.
64. Isselbacher K.J. and Dienstag J.L. Tumors of the liver and
biliar tract. In: Harrison's Principles of Internal Medicine .
14 ed., Fauci A, Braunwald E, Isselbacher K.J., Wilson J.D.,
Martin J.B., Kasper D.L., (ed.) New York, McGraw-Hill,
1998. (CD-ROM).
65. Med News, Nacional cancer Institute. University of
Bonn, Medical Center. Germany. Cáncer primario
de hígado en adultos. [http://www.meb.uni-bonn.de/
cancernet/spanish/101195.html](http://www.meb.uni-bonn.de/cancernet/spanish/101195.html). (Consultado: 12 de
diciembre de 2005.)
66. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney
Diseases. Bethesda, USA. Cirrosis del hígado. [http://dige-
stive.niddk.nih.gov/spanish/pubs/cirrhosis/](http://digestive.niddk.nih.gov/spanish/pubs/cirrhosis/). (Consultado: 12
de diciembre de 2005.)
67. Chen S., Zieve L. and Mahadevan V. Mercaptans and dime-
thyl sulfide in breath of patients with cirrhosis of liver. **J. Lab. Clin. Med.**, **75**, 628-35, 1970.
68. Kaji H., Hisamura M., Saito N., Murao M. Evaluation of
volatile sulfur compounds in expired alveolar gas patients
with liver cirrhosis. **Clin. Chim. Acta**, **85**, 279-84, 1978.
69. Tangerman A., Meuwese-Arends M. T. and van Tongeren
J.H. A new sensitive assay for measuring volatile sulphur
compounds in human breath by Tenax trapping and gas
chromatography and its application in liver cirrhosis. **Clin. Chim. Acta.**, **130**, 103-10, 1983.
70. Armuzzi A., Candelli M., Zocco M.A., Andreoli A., De Lorenzo
A., Nista E.C., *et al.* Breath testing for human liver function
assessment. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, **16**, 1977-96, 2002.
71. Ocker M., Ganstmayr M., Zopf S., Gahr S., Janson C.,
Hahn E. and Herold C. Improvement of quantitative testing
of liver function in patients with chronic hepatitis C after
installment of antiviral therapy. **World J. Gastroenterol.**,
11, 5521-4, 2005.
72. Giannini E.G., Fasoli A., Borro P., Botta F., Malfatti F., Fuma-
galli A., *et al.* ¹³C-galactose breath test and ¹³C-aminopyrine
breath test for the study of liver function in chronic liver
disease. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, **3**, 279-85, 2005.
73. Koeda N., Iwai M., Kato A. and Suzuki K. Validity of ¹³C-
phenylalanine breath test to evaluate functional capacity of
hepatocyte in patients with liver cirrhosis and acute
hepatitis. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, **21**, 851-9, 2005.
74. Braden B., Faust D., Sarrazin U., Zeuzem S., Dietrich C.F.,
Caspary W.F., *et al.* ¹³C-methacetin breath test as liver func-
tion test in patients with chronic hepatitis C virus infection.
Aliment. Pharmacol. Ther., **21**, 179-85, 2005.