

## Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con carbono 13

### *Breath test based on substrates labeled with carbon 13*

Germán Campuzano-Maya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Docente, Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico.

Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: gcampuzano@hematologico.com; gcm@lch.co.

**Resumen:** Las pruebas de aliento se han utilizado en los laboratorios de investigación desde hace más de 30 años. Originalmente estas pruebas se basaron en sustratos marcados con carbono 14 (<sup>14</sup>C), un isótopo radiactivo, contraindicado en niños y mujeres en edad gestacional y contaminante del medio ambiente, motivo por el cual en las últimas décadas las pruebas se han venido haciendo con sustratos marcados con carbono 13 (<sup>13</sup>C), un isótopo no radiactivo, sin contraindicaciones en niños ni mujeres gestantes, y no contaminante del medio ambiente. Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con <sup>13</sup>C, tras la exitosa introducción de la prueba de aliento con <sup>13</sup>C-urea en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, han venido ganando terreno como opciones no invasivas para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades hepáticas, como sustituto de la biopsia hepática en la cirrosis, en el trasplante hepático, en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades relacionadas con la función exocrina del páncreas, en el estudio del funcionamiento del estómago, en particular en los pacientes con gastroparesia, y en la determinación del tiempo orocecal, sólo para enunciar las aplicaciones clínicas de mayor uso de esta nueva tecnología. En este módulo se analizan los fundamentos de estas pruebas y se describen las cuatro pruebas de aliento más representativas.

**Abstract:** Breath tests have been used in research laboratories for over 30 years. Originally these tests were based on substrates labeled with carbon 14 (<sup>14</sup>C), a radioactive isotope, contraindicated in children and women in gestational age, and harmful for the environment, which is why in recent decades these tests have been using substrates labeled with carbon 13 (<sup>13</sup>C), a non-radioactive isotope, without contraindications in children and pregnant women, and not harmful for the environment. Breath tests, following the successful introduction of the breath test with <sup>13</sup>C-urea in the diagnosis and management of *Helicobacter pylori* infection, have been gaining ground as a non-invasive option for the diagnosis and monitoring of liver disease, as a substitute for liver biopsy in cirrhosis, in liver transplants, in the diagnosis and monitoring of diseases associated with pancreatic exocrine function, in the study of the functioning of the stomach, particularly in patients with gastroparesis, and in the determination of orocecal time, just to mention the most widely used clinical applications of this new technology. This module discusses the basics of these tests and describes the four most representative breath tests.

Conflicto de intereses: el autor es el Médico Director del Laboratorio Clínico Hematológico.

Medicina & Laboratorio 2011; 17: 39-79.

Módulo 14 (Tecnología), número 13. Editora Médica Colombiana S.A., 2011®

Recibido el 19 de enero de 2011; aceptado el 31 de enero de 2011.

**H**asta mediados de la década de los 80, las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ) permanecieron en el ámbito de la investigación exclusivamente, debido primordialmente a tres factores: (1) la falta de instrumentos para medir la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , (2) la falta de reconocimiento de estas pruebas por parte de la mayoría de los sistemas de salud y de las aseguradoras [1], y (3) el desconocimiento de esta tecnología en la comunidad médica y por ende, su falta de utilización. Con la introducción al mercado de la instrumentación médica en general y del laboratorio clínico en particular, de los espectrómetros de masas de relación isotópica (Europa Co. ABCA: *Automatic Breath Carbon Analyzer*, Crewe, Cheshire, UK), también conocidos como IMRS (por su sigla en inglés *Isotope Ratio Mass Spectrometer*), a partir de 1986, para las pruebas de aliento relacionadas con el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, se superó la barrera más importante, como era la falta de instrumentos en los sistemas de salud para medir la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , fundamento de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  [1, 2]. Gracias a lo anterior, su estudio y aplicación a la clínica fueron tomando fuerza y paulatinamente incorporándose al conocimiento médico, hasta llegar a ser una opción costo-efectiva en el manejo de enfermedades como la infección por *Helicobacter pylori* [3], las hepatopatías crónicas, especialmente en los casos de cirrosis y trasplante hepático [4-7], el vaciamiento gástrico [8] y el tiempo orocecal [9] y la función pancreática [10, 11], entre otras aplicaciones clínicas de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como será analizado en el curso de esta revisión.

Este módulo corresponde a la segunda, y última, entrega sobre el uso de las pruebas de aliento en la práctica médica y complementa un primer módulo, en donde se revisaron las pruebas de aliento basadas en la medición de hidrógeno y metano [12]. Se analizarán los aspectos generales sobre los cuales se fundamentan estas pruebas y se enfatizará en las cuatro pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  más representativas. El módulo es el resultado de una revisión exhaustiva de la literatura médica mundial disponible en Pub-Med, y está dirigido a la comunidad médica, como una nueva opción en el diagnóstico y manejo de muchas enfermedades con métodos no-invasivos, con altos grados de sensibilidad y especificidad, de menor valor con relación a los métodos convencionales y, sobre todo, exento de cualquier complicación inherente a la prueba, algunas de ellas disponibles en el medio y otras con posibilidades al futuro, si se tiene en cuenta la disponibilidad de instrumentos para hacerlas localmente.

## Historia de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$

Por los motivos ya expresados, las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , hasta mediados de la década de los 80 permanecieron circunscritas al ámbito de la investigación exclusivamente [1]. Además, originalmente las pruebas de aliento se desarrollaron basadas en sustratos marcados con carbono 14 ( $^{14}\text{C}$ ), un isótopo radiactivo, contraindicado en niños y en mujeres en edad gestante, contaminante del medio ambiente y dependiente de instrumentación costosa [1]. Por lo anterior, además de que el uso de la mayoría de las pruebas de aliento, antes de que se descubriese la infección por *Helicobacter pylori* y se desarrollase la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ , se utilizaron primordialmente en el estudio de enfermedades metabólicas en niños en la primera edad, la comunidad científica viró, para ampliar la aplicación de esta tecnología, al uso de sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , no contraindicados en la población infantil, objeto de estas pruebas, con principios e interpretación similares [5, 13-16].

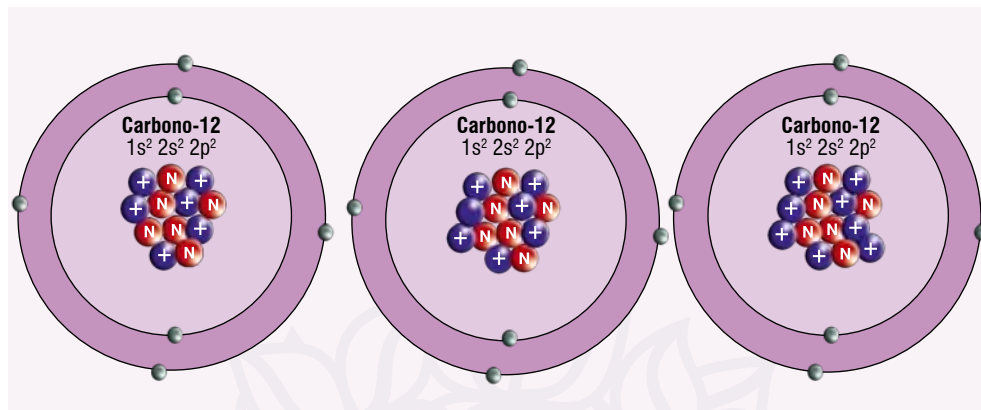
La primera referencia que apareció en la literatura médica mundial sobre la utilización de unido a un sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$ -glucosa) se debe a Lacroix y colaboradores, quienes

en 1973 la propusieron como una nueva alternativa para sustituir las curvas de tolerancia a la glucosa en el diagnóstico de la diabetes [17]; pero el hecho que marcó el verdadero punto de partida, al menos en la clínica, de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , obedece al descubrimiento, en 1983, de que el estómago podía ser colonizado por una bacteria [18], que más tarde se denominó *Helicobacter pylori*, y el desarrollo posterior, en 1987, de la prueba de aliento con urea marcada con  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$ -urea) [19] y la incorporación de espectrómetros de masas de relación isotópica a los laboratorios clínicos para hacer estas pruebas, que ha familiarizado a la comunidad médica con esta metodología, cuando las otras pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  se han ido incorporando a la práctica médica más lentamente pero en forma creciente, con mayor aceptación cada día por parte de la comunidad médica, incluidos los pacientes, y los sistemas de salud, como una opción más conveniente para los pacientes y los diferentes sistemas [1]. Gracias a lo anterior, la comunidad médica dispone de pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para el estudio y manejo de las enfermedades, además de la infección por *Helicobacter pylori* [3, 20, 21], como las hepatopatías crónicas [22, 23], incluido el manejo del trasplante hepático [24], las enfermedades del páncreas [25, 26], la alteración del funcionamiento del estómago y el vaciamiento gástrico (gastroparesia) [27], del tiempo de tránsito orocecal [9], el sobrecrecimiento bacteriano [28, 29], las enfermedades metabólicas, como la intolerancia a la lactosa [30-32] y otros carbohidratos, como la intolerancia a la fructosa [33], la intolerancia a la sucrosa [34] y la intolerancia a la maltosa [35], y, en enfermedades endocrinas como la diabetes [36] y la resistencia a la insulina [37], y se espera con los próximos años que no solo aumente su demanda, sino que se disponga de más sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  con nuevas indicaciones [1, 14, 38].

## Fundamentos que hacen posible las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$

Para tener una idea más clara de qué son y cómo funcionan las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , se deben puntualizar algunos aspectos relacionados con el carbono, los sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  y los instrumentos para la medición de la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ :

- Con respecto a la composición del carbono:
  - En la naturaleza se conocen ocho isótopos de carbono, pero la gran mayoría del carbono que se respira está constituido por dos formas: el  $^{12}\text{C}$  con un 98,89% y el  $^{13}\text{C}$  con un 1,11%;
  - El peso molecular del  $\text{CO}_2$  varía de acuerdo con el carbono con el cual está formado: para el  $^{12}\text{CO}_2$  es de 44, para el  $^{13}\text{CO}_2$  es 45 y para el  $^{14}\text{C}$  es 46, siendo esta diferencia el fundamento mediante el cual el espectrómetro de masas de relación isotópica determina la cantidad de cada uno de los isótopos presentes en la muestra de aliento, como se analizará más adelante;
  - Tanto el  $^{12}\text{C}$  como el  $^{13}\text{C}$  son isótopos estables, es decir, no son objeto de desintegración radiactiva, sin ningún problema con los seres vivos y con el medio ambiente, como sí lo es el carbono  $^{14}\text{C}$ , como se esquematiza en la **figura 1** y se analiza con mayor detalle en el pie de la citada figura;
  - Los isótopos naturales del carbono ( $^{12}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$ ) son inocuos, pueden utilizarse cuantas veces sea necesario y no tienen ninguna contraindicación conocida, en tanto que el isótopo radiactivo ( $^{14}\text{C}$ ) contamina el medio ambiente (permanece 5.730 años aproximadamente), está contraindicado en niños y en mujeres en edad gestante, además de que requiere espacios protegidos para el personal que trabaja con él [16].



**Figura 1.** Los tres isótopos naturales del carbono:  $^{12}\text{C}$  (6 protones y 6 neutrones),  $^{13}\text{C}$  (6 protones y 7 neutrones) y  $^{14}\text{C}$  (6 protones y 8 neutrones). En los tres casos es carbono, tiene el aspecto de carbono y se comporta químicamente como carbono. Sin embargo, sus propiedades físicas varían. Por ejemplo, mientras que el  $^{12}\text{C}$  y el  $^{13}\text{C}$  son estables, el  $^{14}\text{C}$  es inestable y radioactivo: emite radiación beta, uno de sus neutrones “extras” se transforma así en un protón y el núcleo se convierte en nitrógeno 14 ( $^{14}\text{N}$ ) (que tiene 7 protones y 7 neutrones), con el aspecto y las propiedades del nitrógeno (por tener 7 protones). Dado que la mitad de la masa del  $^{14}\text{C}$  pasa a ser  $^{14}\text{N}$  cada 5.730 años aproximadamente (más o menos lo que llevamos de civilización humana), la presencia de este isótopo natural resulta especialmente útil para la datación precisa de objetos históricos, más que para pruebas de laboratorio *in vivo*, en donde el isótopo deber ser ingerido por los pacientes.

- Con los instrumentos:

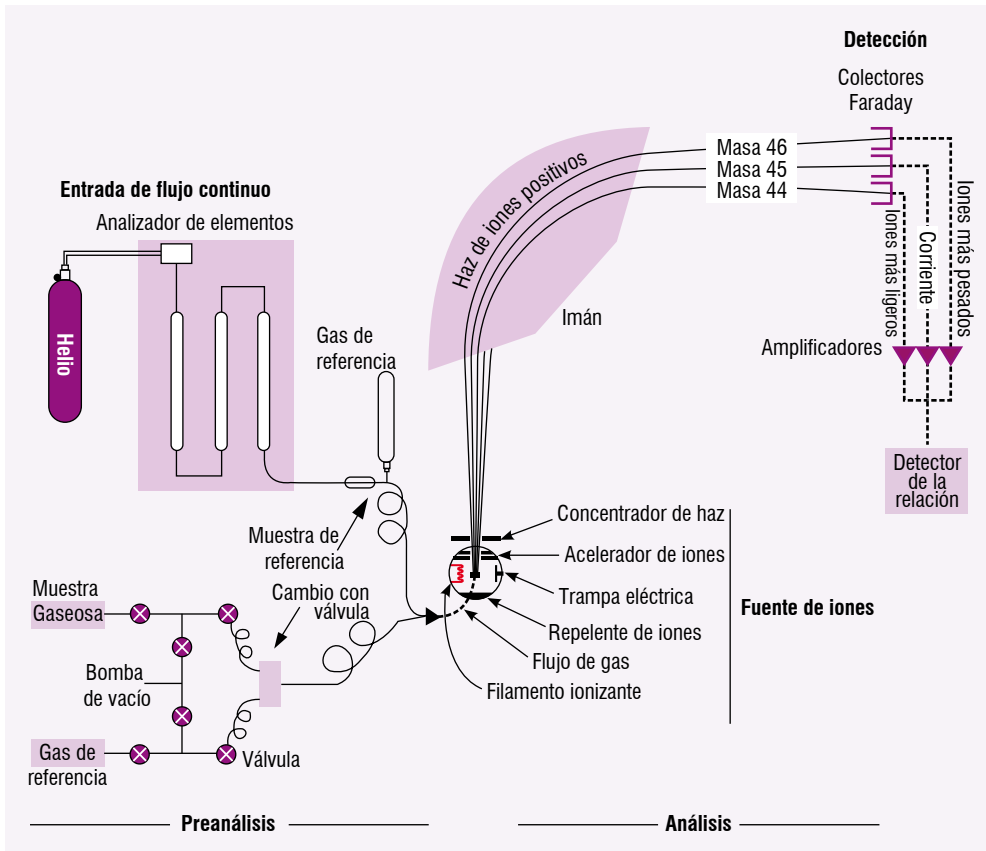
- Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  dependen de instrumentos para medir la relación antes y después de la administración del sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  y para tal efecto se dispone de un instrumento conocido como espectrómetro de masas de relación isotópica [39], como el que se muestra en las **figuras 2 y 3**;
  - En los últimos años se han desarrollado instrumentos, que sin tener la sensibilidad analítica del espectrómetro de masas de relación isotópica, son de menor costo y se pueden utilizar con bajos volúmenes de muestras; se dispone del espectrómetro de infrarrojos no dispersivo también conocido como NDIRS, por su sigla en inglés *non-dispersive isotope-selective infrared spectrometer* y del espectroscopio de absorción por diodos láser [40-42], entre otros, con menor desempeño analítico al que se obtiene con el espectrómetro de masas de relación isotópica.

- Con los sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ :

- Valga anotar que la clave de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  se centra en identificar una sustancia con una reacción conocida y una enzima que desencadena o genera la reacción, en donde,



**Figura 2.** Modelo de espectrómetro de masas de relación isotópica tipo Sercom®, en donde se identifica a la izquierda, el espectrómetro, y a la derecha, la bandeja de muestreo automático. Laboratorio Clínico Hematológico S.A., Medellín, Colombia.



**Figura 3.** Diagrama de funcionamiento del espectrómetro de masas de relación isotópica. A la izquierda, los procesos de preparación (preanalíticos) de la muestra incorporados al instrumento, y a la derecha, los procesos de medición (analíticos) propiamente dichos.

como parte final de la reacción se libera  $^{13}\text{CO}_2$ , que se difunde a la sangre, es transportado a los pulmones y de allí exhalado a través del aire expirado, de donde se pueden tomar las muestras de aliento para posteriormente ser medido en el espectrómetro de masas de relación isotópica. En la **tabla 1** se relacionan algunos de sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  diseñados especialmente para hacer las pruebas de aliento.

- Finalmente, la elección del sustrato marcado en las pruebas en aliento se fundamenta en la solubilidad y retención del sustrato marcado en el alimento de prueba, así como en su rápida movilización al torrente sanguíneo después de ser liberado por el estómago, además de su costo y disponibilidad en el mercado.

## Principio de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$

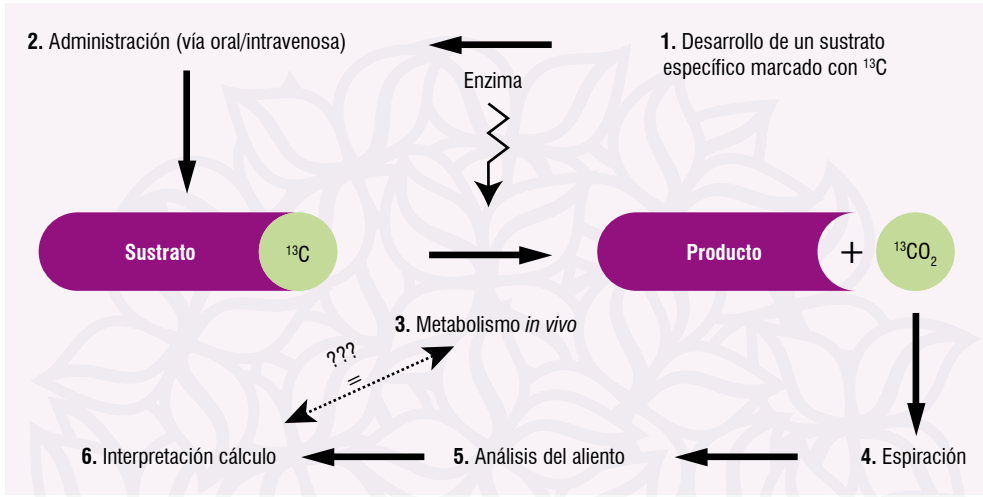
El concepto de prueba del aliento se basa en la utilización de un trazador (sustrato/producto) marcado con  $^{13}\text{C}$ . Se trata de un sustrato diseñado especialmente para una enzima considerada la "puerta de entrada" de una vía metabólica discreta. La conversión del sustrato se puede medir mediante el monitoreo de la descomposición unidireccional de éste en dióxido de carbono marcado. Las muestras de aliento se recogen en intervalos de tiempo determinados. El tiempo límite de la prueba del aliento entre la ingesta de la sustancia marcada hasta

**Tabla 1. Principales sustratos marcados con <sup>13</sup>C, ordenados alfabéticamente, y su respectiva aplicación clínica a través de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con <sup>13</sup>C.**

Sustrato	Campo de aplicación	Bibliografía
<sup>13</sup> C fenilalanina	Oxidación de aminoácidos; evaluación de la función hepática	[6, 23, 43-56]
<sup>13</sup> C-acetato	Vaciamiento gástrico de líquidos	[57-59]
<sup>13</sup> C-ácido acético	Vaciamiento gástrico de sólidos	[60]
<sup>13</sup> C-ácido octanoico ( <sup>13</sup> C-espirulina)	Vaciamiento gástrico de sólidos	[8, 27, 61-97]
<sup>13</sup> C-ácido trioctanoico	Función exocrina del páncreas	[98, 99]
<sup>13</sup> C-alanina	Función exocrina del páncreas	[100]
<sup>13</sup> C-almidón	Función exocrina del páncreas	[101, 102]
<sup>13</sup> C-aminopirina	Función hepática	[103-109, 110]
<sup>13</sup> C-bicarbonato	Vaciamiento gástrico de sólidos	[111]
<sup>13</sup> C-cafeína	Función hepática	[112-114]
<sup>13</sup> C-fenacetina	Función hepática	[115]
<sup>13</sup> C-fenilalanina	Función hepática	[6, 23, 43, 46, 50, 52, 56]
<sup>13</sup> C-galactosa	Función hepática	[106, 116-120]
<sup>13</sup> C-glicina	Encefalopatía por glicina	[121]
<sup>13</sup> C-glicolato	Sobrecrecimiento bacteriano y disfunción ileal	[122]
<sup>13</sup> C-glucosa	Resistencia a la insulina. Diagnóstico de diabetes (en reemplazo de la curva de tolerancia a la glucosa.	[36,37,123-125]
<sup>13</sup> C-hioleína o ácido hioleico	Función exocrina del páncreas	[126-128]
<sup>13</sup> C-lactosa	Deficiencia de lactasa	[30-32]
<sup>13</sup> C-leucina	Oxidación de aminoácidos; estudio de fenilcetonuria (dietoterapia)	[129-132]
<sup>13</sup> C-metacetina	Función hepática	[22-24, 42, 46, 120, 133-159]
<sup>13</sup> C-metanol	Deficiencia de aldehído deshidrogenasa	
<sup>13</sup> C-metionina	Toxicidad mitocondrial en terapia con antirretrovirales	[160],
<sup>13</sup> C-mezcla de triglicéridos	Función exocrina del páncreas	[10, 25, 26, 161-171, 172]
<sup>13</sup> C-octanoato de colesteryl	Función exocrina del páncreas	[99, 173-177]
<sup>13</sup> C-octanoato de sodio	Vaciamiento gástrico de sólidos	[178]
<sup>13</sup> C-pantoprazol	Función hepática	[179]
<sup>13</sup> C-pipectidina	Función exocrina del páncreas	[180]
<sup>13</sup> C-proteínas	Metabolismo de proteínas	[129]
<sup>13</sup> C-sucrosa	Integridad del tracto digestivo	[34]
<sup>13</sup> C-sucrosa	Deficiencia de sucrosa ,	[34, 181, 182]
<sup>13</sup> C-urea	Detección de <i>Helicobacter pylori</i>	[3, 20, 21]
<sup>13</sup> C-xilosa	Sobrecrecimiento bacteriano	[28, 183]
2- <sup>13</sup> C-dihidrouracilo	Deficiencia de dihidropirimidina dehidrogenasa en pacientes que reciben uracilo o 5-fluoracilo para tratamiento de cáncer	[184, 185]
Lactosa <sup>13</sup> C-uridina	Tránsito orocecal	[9, 186-190]
U- <sup>13</sup> C(6)D-glucosa	Diabetes y prediabetes	[36, 123]



la aparición del  $^{13}\text{CO}_2$  en la respiración está determinado por la división del sustrato en la luz gastrointestinal, los procesos de transporte, o la degradación enzimática. Por último, el  $^{13}\text{CO}_2$  se libera como producto final del metabolismo y es exhalado. La prueba del aliento entonces deberá depender de la hipótesis de que el proceso por el que se indaga, determina la tasa de excreción de  $^{13}\text{CO}_2$ , porque los otros procesos metabólicos son mucho más rápidos o invariables. En la **figura 4** se esquematiza el principio general de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ .



**Figura 4.** Principio general de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ .

Para el cálculo de la recuperación del marcador  $^{13}\text{C}$  en el aliento, la producción total de dióxido de carbono debe ser medida o estimada. Por lo general, es de aproximadamente  $300 \text{ mmol CO}_2/\text{m}^2$  área de superficie corporal/h. Al momento de interpretar una prueba de aliento es necesario considerar los factores que influyen en la producción de dióxido de carbono endógeno o en la excreción de este como la ingestión de alimentos, la actividad física, las enfermedades respiratorias, los trastornos de la tiroides y la fiebre, y afectan los resultados de la prueba del aliento. La recuperación del trazador en el aliento nunca es completa, ya que una cantidad sustancial del trazador es retenida en el pool de carbono del cuerpo, por lo tanto, el análisis del  $^{13}\text{C}$  en la prueba del aliento es una herramienta de diagnóstico semicuantitativa.

## Espectro clínico de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$

De acuerdo con el desarrollo tecnológico alrededor de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , podría decirse que el campo de aplicación clínica de estas pruebas, al menos en el orden teórico, es infinito si se tiene en cuenta que la marcación de los sustratos comercialmente es posible, siempre en respuesta a las necesidades de la comunidad científica. Por ahora, las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  son de utilidad clínica, como se esquematiza en la **figura 5**, en los siguientes campos de la medicina:

- En el diagnóstico y en el seguimiento de la infección por *Helicobacter pylori*;
- En el estudio y en el manejo de las enfermedades hepáticas, incluido el trasplante de hígado;

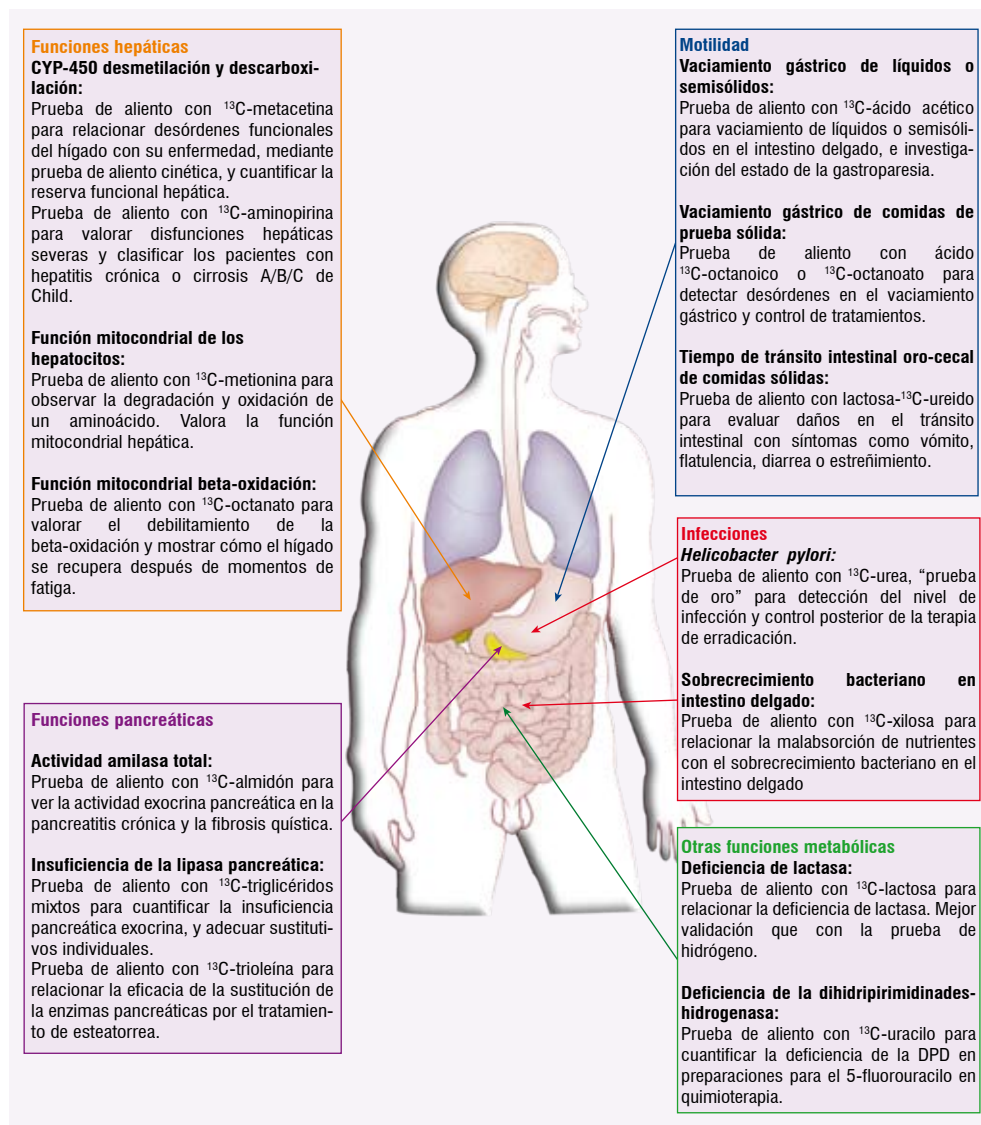


Figura 5. Espectro clínico de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ .

- En el estudio y en el manejo de enfermedades del páncreas, especialmente en el estudio y seguimiento de la función exocrina;
- En el estudio de la función del estómago y el vaciamiento gástrico (gastroparesia);
- En el estudio de tránsito orocecal; y,
- En el estudio del síndrome de sobrecrecimiento bacteriano, la intolerancia a la lactosa, la intolerancia a la fructuosa, la intolerancia a la maltosa y la intolerancia a la sucrosa, entre otros.

En el desarrollo de este módulo se analizan independientemente las áreas antes señaladas y se tendrá como formato de desarrollo del mismo la prueba más representativa de cada uno de ellos.



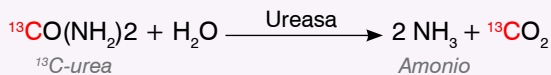
## Prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -urea para el diagnóstico y el manejo de la infección por *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* es una bacteria microaerófila, Gram negativa, que coloniza la mucosa gástrica de los humanos [191], presente en más del 50% de la población mundial [192] con una prevalencia variable entre el 7%, en Checoslovaquia, y el 87%, en Sur África [193]. En Medellín, la prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en niños, por debajo de 12 años, es de 60,9% [194] y en adultos de 77,2% [195]. El diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* se puede hacer por métodos invasivos, que dependen de la endoscopia digestiva alta [196], y por métodos no-invasivos [20, 197], cuando la endoscopia no está indicada, como se analizará en el curso de este subtítulo.

La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea, para el diagnóstico y el manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , es la más estudiada y la que mayor aceptación y aplicación clínica ha alcanzado [3, 20, 21]. La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea está diseñada para detectar la presencia de *Helicobacter pylori* en la cavidad gástrica aprovechando que la ureasa presente en el estómago, en caso que éste esté infectado por *Helicobacter pylori*, desdobra una pequeña cantidad de  $^{13}\text{C}$ -urea, liberando, al final de la reacción, amonio que la bacteria utiliza para elevar el pH del estómago y  $^{13}\text{CO}_2$  que a través de la microcirculación llega al pulmón y de allí al aire espirado en donde puede ser recogido y posteriormente medido en un espectrómetro de masas de relación isotópica [21].

### Principio de la prueba

Como se ha expresado, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea se fundamenta en el conocimiento de que *Helicobacter pylori* para sobrevivir en el medio ácido del estómago, que le es hostil, debe modificar el pH y para lograrlo dispone de una enzima, denominada ureasa, que desdobla la urea que llega en la dieta [198]. La ureasa, presente en la cavidad gástrica, en caso de que la mucosa gástrica esté infectada por *Helicobacter pylori*, en presencia de agua, hidroliza la urea que llega al estómago liberando amonio y  $^{13}\text{CO}_2$ : el amonio se incorpora al moco gástrico para aumentar el pH del estómago y formar lo que se conoce como la “nube de amonio” que protege a la bacteria de la acidez del estómago, en tanto que el  $^{13}\text{CO}_2$ , producto final de la reacción, es eliminado por los pulmones a donde llega a través de la microcirculación, en donde puede ser recogido y medido en un espectrómetro de masas de relación isotópica [21]. En presencia de la infección por *Helicobacter pylori*, por ende, de ureasa en la mucosa gástrica, la  $^{13}\text{C}$ -urea se hidroliza, produciendo amonio y  $^{13}\text{CO}_2$ , de acuerdo con la siguiente reacción:



En caso de que el estómago esté libre de *Helicobacter pylori*, esto es que no haya ureasa, la urea que llega al estómago, tanto la que proviene de los alimentos ( $^{12}\text{C}$ -urea) como la que se utiliza en la prueba de aliento ( $^{13}\text{C}$ -urea), toma el ciclo de la urea y se elimina completamente por la vía urinaria entre 3 y 4 días después de haber sido ingerida [199].

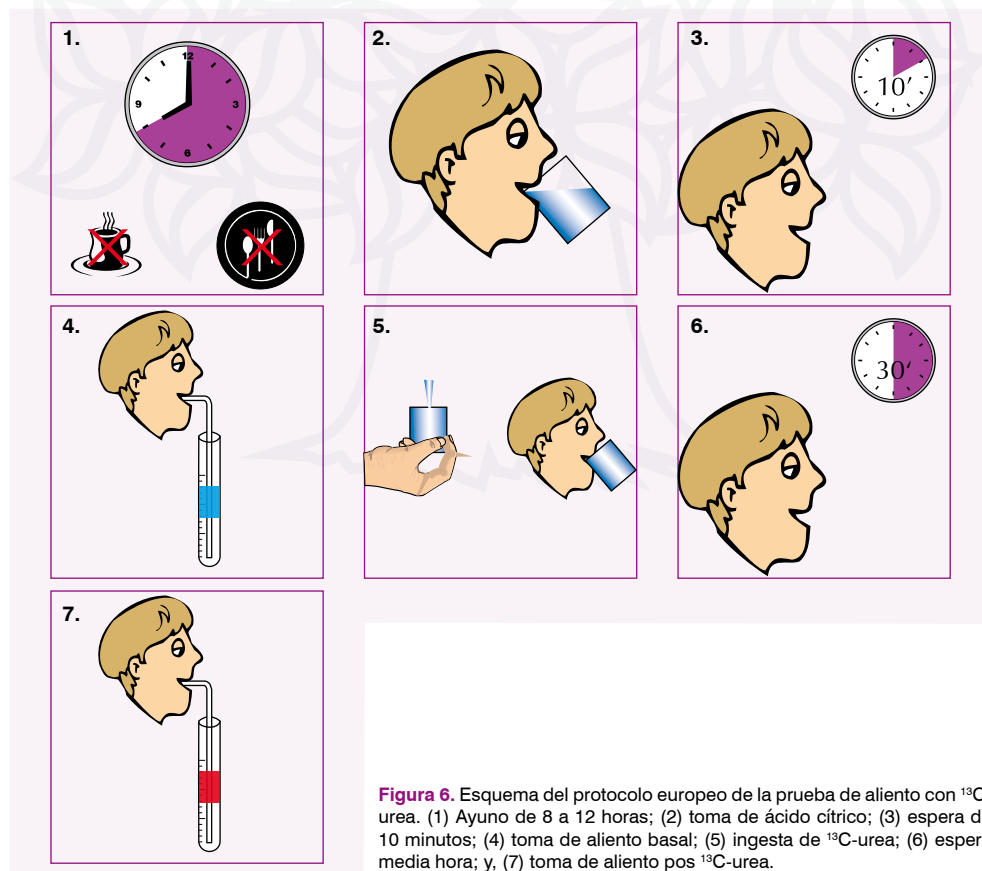
### Evolución de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -urea en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

En el tiempo, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea ha evolucionado desde la concepción original, cuando Graham y colaboradores la describieron en 1987, con una dosis de 2,5 a 10 mg/Kg de  $^{13}\text{C}$ -urea, administrada con una comida rica en grasa, con toma de muestra de

aliento cada 10 minutos, para un total de 20 muestras, incluida la muestra basal, en 200 minutos que tardaba la prueba, antes de ir a la lectura en el espectrómetro de masas de relación isotópica [19]. Hasta el momento, la prueba original ha tenido muchísimas variaciones: se han modificando las dosis y la presentación de la  $^{13}\text{C}$ -urea administrada, el uso o no uso del ácido cítrico u otras comidas, y los tiempos entre la muestra basal y la muestra posurea marcada con  $^{13}\text{C}$  [3, 21], entre otras variaciones tecnológicas, hasta alcanzar, sin perder sus extraordinarias características analíticas, pruebas extremadamente sencillas como la que se utiliza en el medio, en donde se elimina, por innecesario y tóxico a la mucosa gástrica, sobre todo en pacientes con enfermedad ácido péptica, el ácido cítrico, se reduce la carga de la  $^{13}\text{C}$ -urea, de 100 mg a 50 mg, y el tiempo entre la muestra basal y la muestra posurea, de 30 minutos a 10 minutos [21, 200], variable tecnológica que ha sido reconocida como una de las más eficientes de las que hasta ahora se han descrito en la literatura médica mundial [15, 201]. Hoy, en Colombia, podría decirse que para hacer la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea, para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, se dispone de dos protocolos: el protocolo europeo [200] y el protocolo optimizado (colombiano) [21].

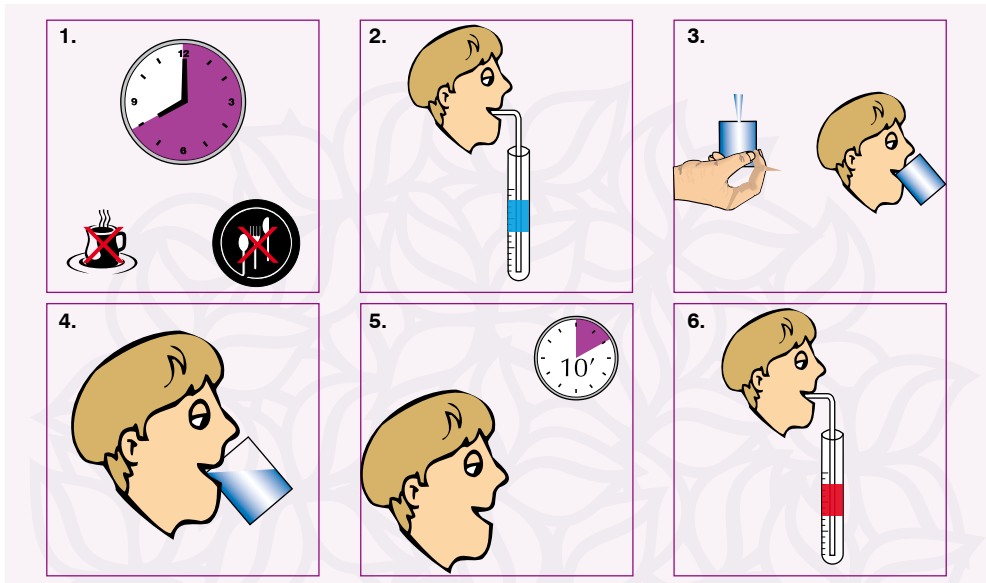
### Protocolo europeo

Después de un ayuno de 8 horas, al paciente se le administran 4,2 g de ácido cítrico disueltos en 200 mL de agua. Diez minutos después se toma una muestra basal de aire espirado e inmediatamente se le administran 100 mg de  $^{13}\text{C}$ -urea disuelta en 125 mL de agua, y 30 minutos después se le toma una segunda muestra de aire espirado posurea [200], como se esquematiza en la **figura 6**.



## Protocolo optimizado (colombiano)

Después de un ayuno de 8 horas, al paciente se le toma una muestra basal de aire espirado, se le administran 50 mg de  $^{13}\text{C}$ -urea disuelta en 20 mL de agua, seguidos inmediatamente de 200 mL de agua y 10 minutos después se le toma una segunda muestra de aire espirado posurea [21], como se esquematiza en la **figura 7**.



**Figura 7.** Esquema del protocolo optimizado (colombiano) de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea. (1) Ayuno de 8 a 12 horas; (2) toma de aliento basal; (3) ingesta de  $^{13}\text{C}$ -urea; (4) toma de agua; (5) espera de 10 minutos; y, (6) toma de aliento pos  $^{13}\text{C}$ -urea.

En ambos protocolos las muestras de aire espirado se analizan en un espectrómetro de masas de relación isotópica, el cual arroja dos resultados: el primero corresponde a relación del  $^{13}\text{CO}_2$  versus el  $^{12}\text{CO}_2$  ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ) presente antes de ingerir la  $^{13}\text{C}$ -urea; y, el segundo, la misma relación pero después de haber ingerido la carga de  $^{13}\text{C}$ -urea ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ), dependiendo del protocolo que se utilice. Con estos dos valores que suministra el espectrómetro de masas de relación isotópica se hace el siguiente cálculo:

$$(^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2 \text{ basal}) - (^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2 \text{ pos } ^{13}\text{C}\text{-urea}) = \text{delta } (\delta)$$

La unidad de medición de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$  es la unidad delta ( $\delta$ ), un valor estandarizado internacionalmente, que técnicamente se define como la expresión en tantos por mil de la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  [16] y la diferencia de estas mediciones da un valor que se denomina delta de  $^{13}\text{CO}_2$  ( $\delta^{13}\text{CO}_2$ ), que se expresa en unidades por mil [39].

## Interpretación de la prueba

Según el protocolo que se aplique, el laboratorio se tiene un valor denominado delta de  $^{13}\text{CO}_2$  ( $\delta^{13}\text{CO}_2$ ) que de estar por encima o por debajo del punto de corte significa que el paciente "tiene" o "no tiene" una infección activa por *Helicobacter pylori* en caso de que esté por encima del punto de corte o negativa en caso de que esté por debajo de éste [39], punto de corte que varía de acuerdo con el protocolo de prueba que se siga. El punto de corte con

el protocolo el protocolo europeo es 2,5  $\delta^{13}\text{CO}_2$  [202] y para el protocolo optimizado es de 1  $\delta^{13}\text{CO}_2$  [21].

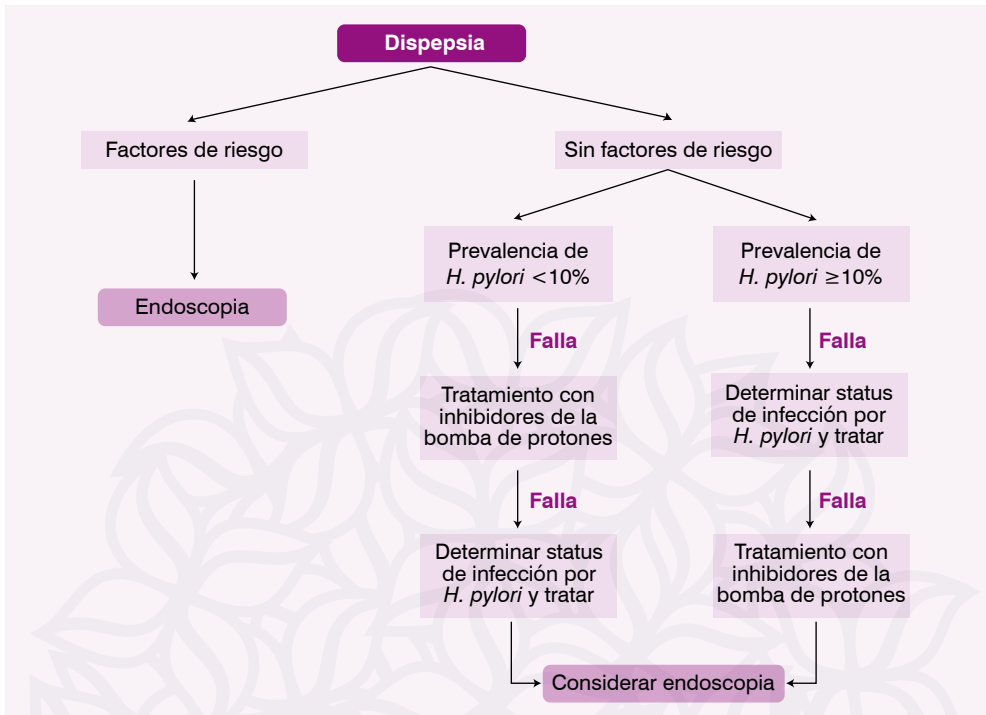
## Indicaciones de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -urea

La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea está indicada como prueba de diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y como prueba de seguimiento poserradicación, como será analizado a continuación.

### Diagnóstico

De acuerdo con el Consenso de Maastricht III, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea es el “estándar de oro” para establecer el estatus de *Helicobacter pylori*, sobre todo en los casos en donde no está indicada la endoscopia digestiva alta [20]. De acuerdo con la literatura médica mundial, disponible en PubMed, el estudio de la infección por *Helicobacter pylori* está indicado en las siguientes circunstancias:

- En el estudio del paciente con dispepsia (funcional o primaria), particularmente cuando no hay signos de alarma (masa abdominal, anemia, pérdida de peso, etcétera), que en términos generales se denomina dispepsia no complicada, en donde la política conocida como “probar y tratar”, como se esquematiza en la **figura 8** [203], es tan efectiva y tan segura como la endoscopia digestiva alta, sobre todo cuando la prevalencia de la infección en el medio es alta, como sucede en el nuestro y en el resto de los países latinoamericanos [20, 203-206]. Esta estrategia no solo es costo-eficiente para aliviar los síntomas de la dispepsia [207], si no que también es efectiva para prevenir complicaciones, como la úlcera péptica [208] y el cáncer gástrico, íntimamente relacionadas con la infección por *Helicobacter pylori* [20, 204, 209-211] y, por qué no, para reducir costos a los sistemas de salud [20, 212, 213] y las posibles complicaciones iatrogénicas relacionadas con la endoscopia digestiva alta [214], incluida la misma infección por *Helicobacter pylori* [215];
- Cuando se está frente a una enfermedad asociada con la infección por *Helicobacter pylori*, como se resume en la **tabla 2**, en donde la erradicación de la infección puede ser el punto de partida para el tratamiento de la enfermedad de base; y en este sentido el Consenso de Maastricht III ha incluido, recientemente, dos manifestaciones extradigestivas, de origen hematológico, en donde se debe estudiar la infección por *Helicobacter pylori* y erradicar en caso de estar presente en los pacientes con anemia ferropénica y en los pacientes con púrpura trombocitopénica idiopática [20], en donde la erradicación en esta última enfermedad resuelve más del 50% de la enfermedad con normalización del recuento plaquetario tras la erradicación exitosa de la infección [216, 217];
- En personas con antecedentes familiares de cáncer gástrico en primer grado de consanguinidad (padres, hermanos e hijos) [290];
- En personas sometidas a períodos largos de supresión de la acidez gástrica, por ejemplo en pacientes con reflujo gastroesofágico, ya que se ha demostrado que en aquellos que son *Helicobacter pylori* positivos, hasta el 25% de los casos desarrollan gastritis crónica atrófica durante la terapia, la cual, a su vez, avanza con mayor frecuencia al desarrollo de un cáncer de estómago [291];
- Algunos autores también incluyen en este grupo a personas con factores de riesgo relacionados con la raza [292], con grupo sanguíneo A [293] y ciertas asociaciones con el sistema HLA [294] y personas inmunoprometidas, por ejemplo, en pacientes con agammaglobulinemia [295];



**Figura 8.** Algoritmo de estudio de la dispepsia centrado en el enfoque “probar y tratar”, en donde la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea es la prueba que define la conducta a tomar de acuerdo con la Asociación Americana de Gastroenterología [203]. Tomado y adaptado de **Talley NJ, Vakil N, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology.** Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol 2005; 100: 2324-2337 [203].

- En los últimos años se la ha indicado como prueba tamiz para prevenir el cáncer gástrico mediante la detección y erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*, particularmente en los países en vía de desarrollo [296], teniendo en cuenta que esta infección está íntimamente relacionada con la carcinogénesis gástrica [297-300], sin olvidar que el cáncer de estómago es la primera causa de muerte por cáncer en Colombia, con cerca de 6 mil (3.455 hombres y 2.440 mujeres) muertes por año [301], lo que equivale a 16 muertes diarias por esta causa. La erradicación ha probado ser efectiva para reducir el cáncer de estómago en otras regiones [302] con tasas de infección similares a las colombianas, y para la tamización sería suficiente la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea [296, 303], disponible en el medio [21, 197, 304]; y,
- Finalmente en población de riesgo estándar, incluidos los pacientes infectados y asintomáticos, al no haber forma, hasta el momento, de identificar cuál o cuáles de los individuos infectados desarrollarán una enfermedad asociada con la infección por *Helicobacter pylori*, incluido el cáncer gástrico y los linfomas gástricos, de acuerdo con las recomendaciones de las guías y conferencias de consenso. La tamización para *Helicobacter pylori* y la erradicación de la infección, también estaría indicada en personas, que sin caer dentro de los grupos descritos anteriormente, preocupados por el riesgo que puedan correr en caso de estar infectados, deseen hacerse el estudio y erradicar la infección, como lo establecen el Consenso Latinoamericano [290] y el Consenso de Maastricht III [20], posición que ha tomado fuerza en los últimos años, en particular, en las regiones en donde la prevalencia de *Helicobacter pylori* es muy alta [305-309], como sería el caso de Colombia y el resto de países de la región, con tasas de prevalencia de la infección por encima de 60% en niños [194] y de 75% en adultos, [310], donde el cáncer gástrico encabeza las estadísticas de mortalidad y morbilidad en ambos géneros [301].

**Tabla 2. Relación de enfermedades, organizadas alfabéticamente y por especialidades, en las cuales se ha informado, en la literatura médica mundial (PubMed), relación con la infección por *Helicobacter pylori* y en donde, en la mayoría de los casos, el manejo de estas enfermedades pasa por el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y la erradicación, en caso de ser positivo.**

<b>Cardiología</b>	Angina de pecho [218]	Aterogenesis [219, 220]
	Enfermedad isquémica coronaria [221]	Hiperhomocisteinemia [222]
	Hipertensión arterial [223]	Síndrome cardíaco X [224]
	Síndrome coronario agudo [225]	
<b>Dermatología</b>	Alopecia areata [226]	Angioedema [227]
	Dermatitis atópica [228]	Escleroderma [229]
	Esclerosis sistémica [230]	Fenómeno de Raynaud [231]
	Linfoma primario cutáneo (tipo MALT) [232]	Liquen plano [233]
	Postulosis palmoplantar [234]	Prurigo crónico [235]
	Prurigo nodular [233]	Prurigo pigmentoso [236]
	Pruritus cutáneo [237]	Púrpura de Henoch-Schönlein [238]
	Rosácea [239]	Síndrome de Sjögren [240]
Síndrome de Sweet [241]	Soriasis [242]	
Urticaria crónica [243]		
<b>Endocrinología</b>	Diabetes mellitus [219]	Infertilidad (masculina) [244]
	Infertilidad [244]	Retardo en el crecimiento [245]
	Tiroiditis autoinmune [246]	
<b>Gastroenterología</b>	Cáncer gástrico [247-249]	Acalasia [250]
	Cálculos vesiculares por colesterol [251]	Dispepsia [252]
	Enfermedad celíaca [253]	Enfermedad de Ménétrier [254]
	Gastritis crónica [18]	Halitosis [255]
	Linfoma gástrico tipo MALT [256]	Mieloma múltiple gástrico [257, 258]
	Úlcera péptica duodenal [259, 260]	Úlcera péptica gástrica [259, 260]
<b>Ginecoobstetricia</b>	Hiperémesis gravídica [261]	Síndrome de ovario poliquístico [262]
<b>Hematología</b>	Anemia ferropénica [263, 264]	Anemia perniciosa [265]
	Deficiencia de cobalamina (vitamina B <sub>12</sub> ) [222]	Gammapatía monoclonal [266]
	Mieloma múltiple	Neutropenia idiopática [267]
	Púrpura trombocitopénica idiopática [216, 217]	
<b>Neumología</b>	Apnea del sueño [268]	Bronquiectasias [269]
	Bronquitis crónica [270]	Enfermedad de Alzheimer, precipita su aparición [271]
	Enfermedad de Parkinson [272]	Migraña [273]
	Poliradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria (síndrome de Guillain-Barré) [274, 275]	
<b>Odontología</b>	Caries dental [276]	Enfermedad periodontal [277]
<b>Oftalmología</b>	Blefaritis [278]	Coriorretinopatía central serosa [279]
	Glaucoma [280]	
<b>Otorrinolaringología</b>	Enfermedades benignas de la laringe [281]	Faringitis crónica [282]
	Otitis media crónica [283]	Poliposis nasal [284]
	Rinosinosis [285]	Retardo en el crecimiento [245]
<b>Pediatría</b>	Dolor abdominal recurrente [286, 287]	Retardo en el crecimiento intrauterino [288]
	Síndrome de muerte súbita del lactante [289]	

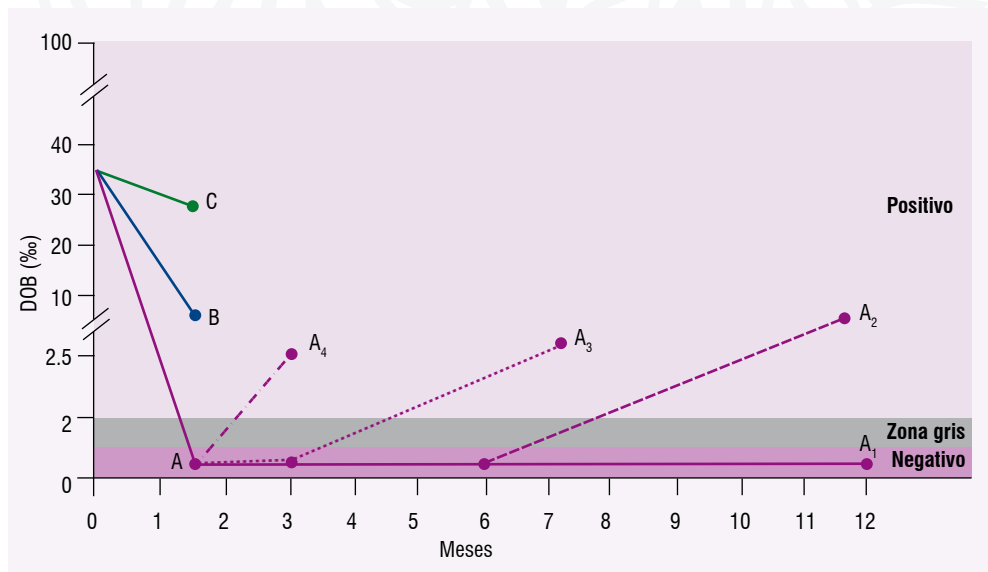


## Seguimiento postratamiento

Sin duda alguna, en donde más coinciden los consensos [20, 290, 311-315] y las guías de manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [203, 316-320] es en señalar a la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea como el “estándar de oro”, independiente del método utilizado para el diagnóstico antes del tratamiento, en el seguimiento de la erradicación de la infección a corto y largo plazo [20]. La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea está indicada en el seguimiento poserradicación, tanto en adultos [20, 315, 321, 322] como en niños [313, 314], incluido el Consenso Latinoamericano para el estudio y diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* [290] y se resume del siguiente modo:

- Entre la semana 6 a 8 después de haber terminado el tratamiento de erradicación. En el caso de haber logrado la erradicación, el resultado de la prueba debe ser negativo. En el caso de que haya resistencia al tratamiento, o éste haya sido inadecuado, la prueba continuará positiva.
- Si la prueba al primer mes después de haber terminado tratamiento de erradicación es negativa es posible que aún persistan algunas bacterias que con el correr de los días recolonizan la mucosa gástrica, por lo cual es recomendable hacer una segunda prueba postratamiento 3 a 6 meses más tarde, e idealmente al concluir el primer año de erradicación. La interpretación es similar al caso anterior.

Para mayor comprensión del uso de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el seguimiento poserradicación de la infección, en la **figura 9** se esquematizan las diferentes posibilidades [197].



**Figura 9.** Seguimiento postratamiento de erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* mediante la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea. De acuerdo con la prueba son varias las opciones, en el siguiente orden: (A) que al mes y medio (6 semanas) después de haber terminado el tratamiento la prueba esté negativa; (A1) que a los tres, seis y doce meses continúe negativa, en cuyo caso se considera curación definitiva de la infección; (A2) que a los tres y seis meses esté negativa y a los doce meses esté positiva, en cuyo caso se considera recaída tardía; (A3) que a los tres meses esté negativa y a los seis meses esté positiva, en cuyo caso también se considera recaída tardía; (A4) que a los tres meses esté positiva, en cuyo caso se considera recaída temprana; (B) que el tratamiento redujo significativamente la cantidad de bacterias pero no fue suficiente para que la prueba se tornase negativa, en cuyo caso está indicado un nuevo tratamiento; (C) que el tratamiento no redujo significativamente la cantidad de bacterias suficientemente para que la prueba se tornase negativa, en cuyo caso está indicado un nuevo tratamiento [197].

## Conveniencia de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -urea

Como se ha expresado, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* es una prueba cercana a la prueba ideal debido a que tiene una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del 100% [21], como se ha demostrado en nuestro medio y en estudios de revisión [3], situación que la ha llevado a ser el “estándar de oro” en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. Además del desempeño analítico, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea es inocua, no tiene ninguna contraindicación y puede hacerse cuantas veces sea necesario, a diferencia de la prueba de aliento basada en  $^{14}\text{C}$ -urea que está contraindicada en niños y en mujeres en edad gestante, debido a que utiliza una sustancia radiactiva que requiere manejo especial y contamina el medio ambiente [323], motivo por el cual está proscrita en muchos países [3], no obstante se continúa haciendo en el medio sin tener en cuenta estas restricciones.

Aparte de lo anterior, vale la pena agregar que la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea, está incluida en el Plan Obligatorio de Salud (POS) de los regímenes contributivo y subsidiado (código 903043) del sistema de seguridad social colombiano [324] y su valor es equivalente, o menos, de lo que costaría hacer el diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante endoscopia digestiva alta con biopsia, coloreada con hematoxilina-eosina. Además, gracias a la simplicidad de la prueba, ésta está diseñada para hacerse en los hogares y enviarse por correo, como funciona en la mayoría de los países europeos [325], y así se empieza a ofrecer en nuestro medio.

## Limitaciones de la prueba

Dependiendo del protocolo utilizado y los sistemas de calidad que lleve el laboratorio, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea puede tener resultados falsos positivos y resultados falsos negativos, que el médico debe conocer al solicitar y al aplicar la prueba, y que el laboratorio clínico debe vigilar para mantener los excelentes índices analíticos, característicos de la prueba.

La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea puede tener resultados falsos positivos por contaminación con bacterias ureasa-positivas presentes en la orofaringe, particularmente en población infantil [326] y con las pruebas que utilizan los protocolos europeos, en donde la sensibilidad de la prueba es 95% [325], sensibilidad que se mejora sustancialmente (100%) en la prueba optimizada, en donde la  $^{13}\text{C}$ -urea residual, que podría permanecer en la orofaringe se elimina rápidamente aplicando cuidadosamente el protocolo de la prueba [21]. Además, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea puede tener resultados falsos negativos en pacientes con antecedentes de estar tomando inhibidores de la bomba de protones o antibióticos, en particular los que hacen parte de los protocolos de erradicación de la infección, por ejemplo la amoxicilina y la claritromicina, situación que se subsana posponiendo la prueba dos semanas después de haber suspendido los antibióticos y cuatro semanas los inhibidores de la bomba de protones [327].

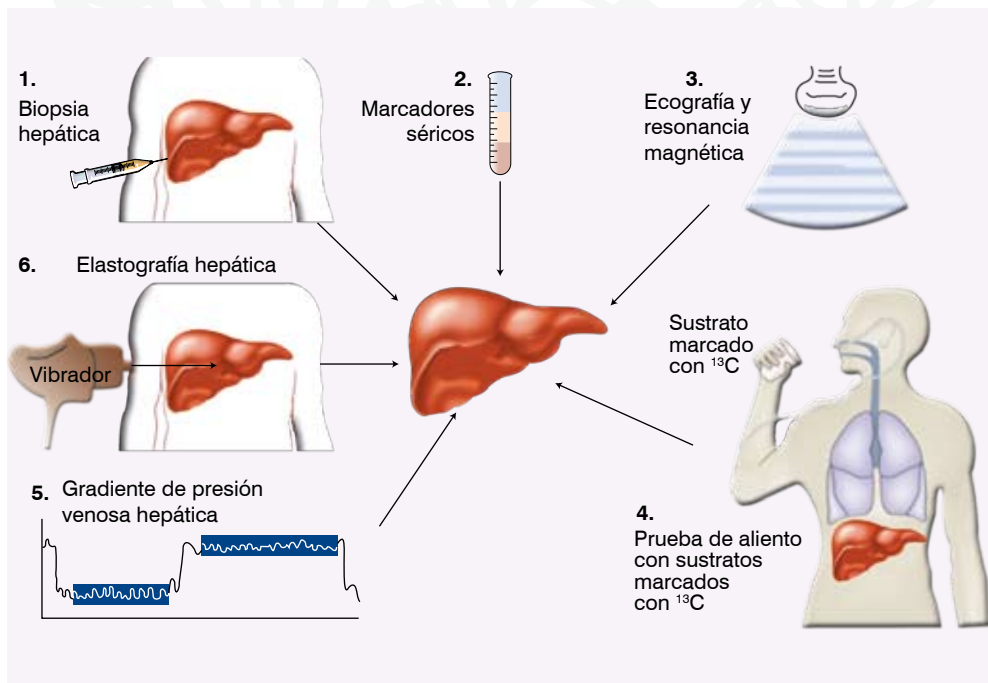
## Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades del hígado

Con la evolución de los últimos años en el manejo de las enfermedades hepáticas, en particular la posibilidad de trasplante de hígado, el estudio de la función hepática cobra una mayor importancia. En la práctica clínica hay una necesidad insatisfecha de pruebas cuantitativas de la función hepática que sean seguras, convenientes y que los resultados expresen confiablemente la gravedad y el pronóstico de la enfermedad [112], y en este caso la comunidad científica está explorando intensamente las pruebas de aliento basadas

en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como se analizará en este segmento. Para mayor información, en la **figura 10** se esquematizan los procedimientos para el diagnóstico de la función hepática [328].

Antes de revisar la nueva metodología disponible para uso clínico vale la pena hacer algunas observaciones sobre las pruebas más utilizadas para evaluar la función del hígado en la actualidad, en particular las pruebas hepáticas, la biopsia de hígado y la esteatosis hepática:

- Las “pruebas hepáticas” que tradicionalmente se han utilizado por muchos años, representan un conjunto de exámenes de sangre que permiten orientar hacia la presencia de inflamación o colestasia y pueden dar una idea de la capacidad sintética y excretora del hígado. Las pruebas más conocidas y las de mayor uso en la clínica son la alanino-amino-transferasa (antes conocida como TGP por transaminasa glutamicopirúvica), la aspartato-amino-transferasa (antes conocida como TGO por transaminasa glutamicooxalacética, la fosfatasa alcalina, la gammaglutamil transpeptidasa (GGT), la bilirrubina, la albúmina y el tiempo de protrombina [328-330];
- Por muchos años se ha considerado a la biopsia de hígado como el “estándar de oro” para el estudio de fondo de la función hepática; sin embargo, la biopsia es un procedimiento invasivo y puede causar complicaciones graves: cerca del 30% de los pacientes a quienes



**Figura 10.** Enfoques de diagnóstico para la evaluación de la función hepática. (1) La biopsia hepática sigue siendo el “estándar de oro” para la evaluación tanto de patologías específicas como del estadio de fibrosis, pero los nuevos enfoques proporcionan información complementaria. Estas nuevas modalidades son: (2) pruebas con marcadores en suero, como el ELF® (por *Enhanced Liver Fibrosis*), el FibroTest® y el fibrometer®, entre otros; (3) modalidades de imagenología como impulso acústico fuerza de radiación (ARFI por *Acoustic Radiation Forcéd Impulse*), una técnica basada en ultrasonido, y técnicas de resonancia magnética; (4) pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  que evalúan la reserva funcional del hígado en lugar de la estructura; (5) gradiente de presión venosa hepática, que requiere cateterismo directo de la vasculatura hepática; y (6) elastografía hepática. Tomado y modificado de **Friedman SL**. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 425-436 [328].

se les practica este procedimiento presentan dolor significativo después de él y algunos de ellos pueden presentar complicaciones serias como neumotórax, sangrado o punción en el árbol biliar y, rara vez, muerte por sangrado [331]. La tasa de fatalidad de la biopsia hepática se estima en 0,01%, lo que equivaldría a una muerte por cada 10.000 biopsias efectuadas [332]. Además de lo anterior, la patología hepática, particularmente la fibrosis, usualmente no es uniforme y este caso, la biopsia hepática puede ser insuficiente para tener una muestra representativa del hígado, si se tiene en cuenta que en manos experimentadas ésta representa tan solo 1/50.000 de la masa total del hígado [333], además de la variabilidad en la interpretación de la histología, debido a que el procedimiento es subjetivo ya que es dependiente del examinador [334, 335]; y,

- En el estudio del hígado graso, ya sea la forma conocida como esteatosis no-alcohólica, también conocida por sus siglas en inglés como NASH por *non-alcoholic steatohepatitis* o NAFLD *non-alcoholic fatty liver disease*, íntimamente relacionado con dislipidemias, hipertrigliceridemia, síndrome lipodistrófico, obesidad visceral, hiperlactatemia, diabetes y la resistencia a la insulina, los virus de hepatitis B y C, y complicaciones a largo plazo por tratamientos con antirretrovirales en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, o el hígado graso por alcoholismo en donde también puede haber complicaciones asociadas, además del consumo de alcohol, puede estar potenciado o asociado con las causas antes citadas en el hígado graso no-alcohólico, el diagnóstico y seguimiento se ha centrado en el ultrasonido o ecografía [336-341]. A pesar de las ventajas del ultrasonido en el diagnóstico del hígado graso como fácil acceso, ausencia de radiación ionizante y bajo costo, hay importantes restricciones como el campo de estudio limitado, falta de medición cuantitativa, operador y equipo dependiente, y pobre sensibilidad para diferenciar la esteatosis hepática de la fibrosis y la cirrosis. Otros métodos como la tomografía axial computarizada de alta resolución y la resonancia magnética, con sus diferentes variables, además del uso de la radiación ionizante a la cual se expone el paciente y el personal de salud que participa en la prueba y su alto costo, no han logrado los estándares para su uso rutinario.

## Evolución de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en el diagnóstico y manejo de las enfermedades del hígado

Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para evaluar la función hepática se descubrieron desde la década de los 80 [108, 133, 135], pero solo a partir de la década de los 90 se vinieron a introducir a la práctica médica [104, 115, 342]. Estas pruebas, al aumentar el número de sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  disponibles en el mercado de los insumos médicos y la introducción de espectrómetros de masas de relación isotópica en los laboratorios clínicos para la medición del  $^{13}\text{CO}_2$  en las pruebas de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, cada día están más al alcance de la comunidad médica, del sistema de salud y de los pacientes.

## Sustratos utilizados para las pruebas de aliento con $^{13}\text{C}$ en el diagnóstico y manejo de las enfermedades del hígado

En el mercado internacional de reactivos, para las pruebas de aliento orientadas a evaluar la función hepática, se dispone de múltiples sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , entre los cuales están la  $^{13}\text{C}$ -aminopirina [104, 105, 108, 109], la  $^{13}\text{C}$ -galactosa [106, 119, 120], la  $^{13}\text{C}$ -fenacetina [115], la  $^{13}\text{C}$ -cafeína [112-114], la  $^{13}\text{C}$ -fenilalanina [6, 23, 43, 46, 50, 52, 56], el  $^{13}\text{C}$ -pantoprazol [179], y la  $^{13}\text{C}$ -metacetina [22-24, 42, 46, 120, 133-159], siendo éste último sustrato, el que hasta el momento, ha dado los mejores resultados y el más utilizado en la clínica, motivo por el cual se ha implementado en el medio e incorporado a partir de la revisión de 2008,

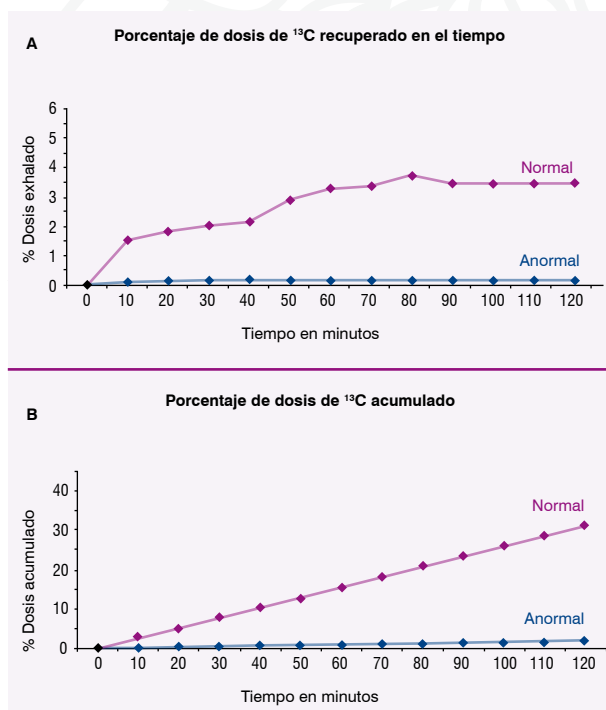


estos deltas (diferencias de  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  antes y después de recibir el sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$ ) y teniendo en cuenta que la  $^{13}\text{C}$ -metacetina se absorbe rápidamente y se metaboliza por los hepatocitos normales en acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ , se obtienen resultados que se expresan como porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  recuperado en el tiempo (figura 11, panel A) y porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  acumulado en el tiempo (figura 11, panel B), después de la administración de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina [144, 154].

Recientemente se ha tratado de minimizar la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina con una lectura antes de administrar la carga de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina y 15 minutos después, con lo cual se obtiene un punto de corte muy similar a la forma como se hace en la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* [150], que con seguridad facilitará tanto la ejecución como la interpretación de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina, además de que podrá ser extensivo a las demás pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  en el estudio y seguimiento de la función hepática.

### Indicaciones de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -metacetina

Con algunas variaciones mínimas, derivadas de los sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  utilizados, las pruebas de aliento en el estudio de la función hepática tienen un amplio espectro como se reproduce en la tabla 3 [5], siendo en pacientes con enfermedad hepática aguda, en pacientes con enfermedad hepática crónica y en pacientes en donde es necesario hacer procedimientos hepáticos, evaluar la reserva hepática, y como prueba tamiz en población aparentemente sana [5].



**Figura 11.** Curva del metabolismo de la metacetina marcada con carbono 13. Después de ser administrada la  $^{13}\text{C}$ -metacetina, ésta se absorbe rápidamente y es metabolizada por los hepatocitos normales en acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ . (A) El porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  recuperado en el tiempo se refiere a la tasa a la cual la  $^{13}\text{C}$ -metacetina es metabolizada y se expresa en porcentaje por hora. (B) El porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  acumulado describe la cantidad total de sustrato metabolizado acumulado en el tiempo y se expresa en porcentaje. En el individuo normal se observa un aumento en el metabolismo de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina (línea púrpura), en tanto que en el individuo anormal, con hepatitis C, se observa poco o ningún metabolismo (línea azul).

como se reproduce en la tabla 3 [5], siendo en pacientes con enfermedad hepática aguda, en pacientes con enfermedad hepática crónica y en pacientes en donde es necesario hacer procedimientos hepáticos, evaluar la reserva hepática, y como prueba tamiz en población aparentemente sana [5].

### Limitaciones de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -metacetina

Las limitaciones de la prueba son las inherentes a todas las pruebas de aliento e incluyen los posibles sesgos relacionados con alteraciones en el estado funcional del estómago y del duodeno, ya que de su integridad depende la absorción del sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  (en este caso de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina), del hígado, que es el órgano blanco del estudio, y de los pulmones responsables de la exhalación del  $^{13}\text{CO}_2$ , que pudieran alterar la producción de  $\text{CO}_2$ , como puede suceder en el caso de los pacientes con insuficiencia hepática, que en este caso



**Tabla 3. Situaciones clínicas en las cuales las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  pueden ser de utilidad clínica [5].**

**Pacientes con enfermedad hepática aguda**

Para el seguimiento de pacientes con enfermedad fulminante o subfulminante para determinar la necesidad de trasplante hepático o para predecir la recuperación

**Pacientes con enfermedad hepática crónica**

Para el seguimiento y predicción de complicaciones, y pronóstico en pacientes con enfermedad hepática crónica

Como herramienta no invasiva para la evaluación del grado de fibrosis hepática

Para el seguimiento de la respuesta al tratamiento (antivirales en hepatitis B y C crónicas; esteroides en hepatitis autoinmune)

Para decidir el mejor momento para un trasplante hepático y dar prioridad a pacientes en la lista de espera

Para evaluar la reserva hepática en pacientes con enfermedades hepáticas colestásicas

En el estudio y seguimiento del hígado graso, independiente de si es de origen alcohólico o no-alcohólico

**Antes y después de procedimientos**

Para evaluar la reserva hepática antes de una hepatectomía

Para evaluar la reserva hepática de los donantes vivos y de los donantes con muerte cerebral

Para determinar la reserva hepática antes de la inserción de una derivación portosistémica intrahepática transyugular

Pre y postquimioembolizaciones hepáticas

Para el seguimiento de la función del hígado trasplantado

Para determinar el daño hepático antes de la cirugía bariátrica o de cualquier otra cirugía mayor no hepática en pacientes con enfermedad hepática crónica

**Tamización de la población saludable**

Para la tamización de enfermedad hepática oculta en población aparentemente saludable

es lo que se está buscando, o pulmonar. Además de lo anterior, una limitación importante de las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  en el estudio y seguimiento de las enfermedades hepáticas, es el costo de los instrumentos, en particular del espectrómetro de masas de relación isotópica, que a pesar de tener un alto costo puede ser utilizado para una región o un país debido a la facilidad de tomar las muestras en cualquier parte y remitirlas a un laboratorio central [5], como podría hacerse en el medio colombiano, en donde se dispone de este instrumento para el diagnóstico y seguimiento de la infección por *Helicobacter pylori*.

La metacetina, como sustrato de la prueba de aliento en las enfermedades hepáticas, con respecto a los otros sustratos utilizados, como los previamente citados, tiene ventajas. Por ejemplo la amipopirina, que es la más estudiada, puede dar agranulocitosis, sobre todo en pacientes en donde el aclaramiento del sustrato es lento [345]. La metacetina se metaboliza rápidamente en acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ , pero el gran inconveniente de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina es su alto valor y que la prueba requiere de 75 mg.

## Ventajas y desventajas de las pruebas de aliento con sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en la evaluación de la función hepática

Las pruebas dinámicas de función hepática basadas en la prueba de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como la  $^{13}\text{C}$ -metacetina, aparte de no ser invasivas, tienen un excelente desempeño diagnóstico, son fáciles de realizar y sin ninguna toxicidad [346, 347], y en consecuencia no representa riesgo ni para el paciente ni para el operador debido a que utiliza un isótopo no radiactivo [5, 347-350]. Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como  $^{13}\text{C}$ -metacetina [23, 46, 140, 145],  $^{13}\text{C}$ -cafeína [112],  $^{13}\text{C}$ -fenilalanina [6, 23, 46, 56, 351, 352],  $^{13}\text{C}$ -aminopirina [104, 105, 353-355] y  $^{13}\text{C}$ -galactosa [119], entre otros sustra-

tos marcados con  $^{13}\text{C}$ , se han evaluado *versus* la puntuación de Child-Pugh y han demostrado tener una estrecha correlación para predecir la presencia de cirrosis y la mortalidad por ésta. Tienen el inconveniente de los altos costos del espectrómetro de masas de relación isotópica, situación que se subsana cuando, como en el caso de Colombia, existen estos instrumentos para el estudio de *Helicobacter pylori* mediante la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea que requiere de este instrumento.

## Pruebas de aliento con sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades del páncreas

El aumento del consumo de alcohol, junto con la tendencia a ingerir alimentos más ricos en grasa y proteínas, ha incrementado la incidencia de pancreatitis crónicas como una de las típicas “enfermedades de la prosperidad” y aunque no son frecuentes, la comunidad médica debe estar preparada para reconocerla lo más temprano posible, antes de que se complique, aun con riesgo de muerte para el paciente [356]. Dentro de estas enfermedades se pueden señalar la pancreatitis crónica tras la pancreatitis aguda, el cáncer de páncreas, la fibrosis quística y la diabetes, y como enfermedades extrapancreáticas como manifestación de alteraciones en la función exocrina del páncreas la enfermedad celíaca, la enfermedad inflamatoria intestinal y el alcoholismo crónico, o como resultado de cambios anatómicos posquirúrgicos del tracto digestivo superior como la gastrectomía parcial o total y la duodenopancreatectomía. El estudio funcional del páncreas tiene utilidad clínica en el diagnóstico de las enfermedades del páncreas, en especial de la pancreatitis crónica, en la clasificación de la gravedad y seguimiento de la misma y en la fibrosis quística, en particular en la indicación de tratamiento enzimático sustitutivo y en el control de la eficacia del mismo.

Las pruebas de función pancreática se dividen en dos grandes categorías: las invasivas, dependen de intubación duodenal e incluyen la prueba de secretina-ceruleína, pueden detectar desde las etapas más tempranas de la insuficiencia pancreática, pero además de ser invasivas, no están disponibles en todas partes y son mal toleradas por los pacientes; y, las no-invasivas, en donde se incluyen el estudio de grasas en materia fecal, la elastasa en materia fecal, la quimiotripsina en materia fecal, la prueba de estimulación con secretina y la prueba de estímulo con colecistoquinina [11], la mayoría de ellas de muy baja disponibilidad en los laboratorios clínicos o centros en donde deberían hacerse, y, más recientemente, las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , con posibilidad de hacerlas en el medio gracias a que se dispone de espectrómetros de masas de relación isotópica, como se analizará a continuación.

En los últimos años se ha venido introduciendo a la práctica clínica pruebas no-invasivas, como las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , muy similares en el fundamento a las pruebas de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* y las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para la evaluación y el seguimiento de las enfermedades hepáticas, como se ha analizado previamente, como las que hasta ahora se han desarrollado utilizando diferentes sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como el  $^{13}\text{C}$ -octanoato de colesteril [99, 173-177], el  $^{13}\text{C}$ -ácido trioctanoico [98, 99], la  $^{13}\text{C}$ -hioleína o ácido hioleico [126-128], el  $^{13}\text{C}$ -almidón [101, 102], la  $^{13}\text{C}$ -piptidina [180], la  $^{13}\text{C}$ -alanina [100] y el  $^{13}\text{C}$ -triglicérido (mezcla de triglicéridos) [10, 25, 26, 161-171],[172], siendo este último sustrato el que hasta el momento ha dado los mejores resultados y por ende, el más utilizado en la clínica, motivo por el cual se ha implementado en el medio e incorporado a partir de la revisión de 2011, bajo el código 28650, al Manual de Codificación, Nomenclatura y Valores de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica, que define las pruebas de laboratorio disponibles en el país [343].

## Principio de las pruebas de aliento con sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ para función pancreática

Independiente del sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  que se utilice, las pruebas de función pancreática, en particular de la función exocrina, basadas en pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  se fundamentan en el conocimiento de que la lipasa, de origen pancreático, es necesaria para romper las cadenas de ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de la molécula del sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$ , que una vez convertido en  $^{13}\text{C}$ -monoglicéridos son absorbidos completamente en el duodeno y rápidamente metabolizado en el hígado, liberando  $^{13}\text{CO}_2$  [164, 357], que se difunde a la sangre y por ésta es transportado hasta los pulmones y de allí exhalado a través del aire espirado, en donde se pueden tomar muestras de aliento para posteriormente ser medida la relación isotópica  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , antes de administrar el sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$  y después de haberse administrado éste, en el espectrómetro de masas de relación isotópica. La cantidad de  $^{13}\text{CO}_2$  eliminado está en relación directa con la capacidad del páncreas para digerir grasas [169].

### Protocolo de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -triglicéridos

Después de un ayuno nocturno, se recoge una muestra basal de aire espirado del paciente y se administran 150 mg de  $^{13}\text{C}$ -triglicéridos junto con 0,25 g de mantequilla por kg de peso, mezclados sobre una tajada de pan. Se recogen luego muestras de aire espirado al minuto 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 y 360 después de ingerirse la tajada de pan con el sustrato marcado. Las muestras se analizan en un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas y se obtienen los resultados, los cuales se grafican e interpretan en una forma muy similar a como se describió previamente para la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina para la evaluación de la función del hígado [162, 171].

### Interpretación de las pruebas de aliento con $^{13}\text{C}$ en el estudio de la función exocrina del páncreas

Independiente del sustrato utilizado, que puede variar, un resultado anormal de la prueba de aliento confirma la presencia de una insuficiencia pancreática de origen exocrino e indica la necesidad de un tratamiento enzimático sustitutivo. Este tratamiento debe ser optimizado hasta demostrar una capacidad normal de digestión de la grasa, lo cual se asocia a un estado nutricional normal en los pacientes con insuficiencia pancreática de origen exocrino [358].

### Indicaciones de las pruebas de aliento con $^{13}\text{C}$ para la función exocrina pancreática

Con algunas variaciones en los trazadores o sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  utilizados, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$  en las enfermedades pancreáticas, como la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -triglicéridos, está indicada en el estudio de la función exocrina del páncreas, tanto en adultos como en niños [359], en particular en pacientes con enfermedad celíaca, sobre todo para monitorear la función pancreática después de la introducción de la dieta libre de gluten [360], en pacientes con fibrosis quística, incluido el seguimiento de la suplementación enzimática [161, 162, 361], en el estudio de pacientes con malabsorción de grasas [164, 362] en el seguimiento de la eficiencia de la suplementación enzimática en pacientes con enfermedades en donde ésta está indicada, como el caso de los pacientes con fibrosis quística [162, 169, 361], y en el seguimiento de pacientes con varios tipos de pancreatoduodenectomía [161, 361].

## Ventajas y desventajas de las pruebas de aliento con $^{13}\text{C}$ en la evaluación de la función pancreática

Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  en el diagnóstico y seguimiento de la función exocrina del páncreas, similar a las pruebas de aliento para el estudio y seguimiento de la infección por *Helicobacter pylori* y la función hepática, no son invasivas, no usan isótopos peligrosos, pueden repetirse cuantas veces sea necesario, por ejemplo en el seguimiento de una terapia enzimática no tienen ninguna contraindicación, especialmente en niños y en mujeres gestantes como sí sucede cuando se usan sustratos marcados con  $^{14}\text{C}$  que es un isótopo radiactivo, además de que tienen un excelente desempeño diagnóstico, son fáciles de realizar y menos costosas que las pruebas de referencia para las situaciones clínicas en donde se indica como prueba de diagnóstico o seguimiento [25, 26, 128, 169, 176, 180]. Por otra parte, las desventajas de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , son similares a la totalidad de las pruebas de aliento basadas en esta tecnología relacionadas con la necesidad de disponer en el medio de un espectrómetro de masas de relación isotópica, el cual es costoso [14, 363] (alrededor de 150.000 libras esterlinas), situación que se atenúa en nuestro medio, gracias a se dispone de este instrumento para la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el estudio y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*; además de lo anterior, los sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  son costosos, pero esto puede reducirse en la medida en que las pruebas se popularicen y sean solicitadas con mayor frecuencia [14, 363]. Además de lo anterior, las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para la evaluación de la función pancreática aún no están incorporadas al sistema de seguridad social, como sí lo está la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [324] y la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina en el estudio de la función hepática [364].

## Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en el estudio del vaciamiento gástrico

El término gastroparesia, literalmente significa “parálisis del estómago”. En la gastroparesia no existe motilidad gástrica o ésta es anormal. En condiciones normales, la contracción estomacal ayuda a triturar la comida ingerida (quimo), para luego propulsar el alimento pulverizado hacia el intestino delgado, en donde continúa el proceso de digestión y absorción de nutrientes. Cuando hay gastroparesia, el estómago no puede contraerse normalmente, y por lo tanto, es incapaz de triturar los alimentos ni propulsarlos hacia el intestino delgado en forma adecuada, y en consecuencia el proceso de digestión normal no puede llevarse a cabo [365]. Existen muchas causas de gastroparesia: infecciones, enfermedades endocrinas como la diabetes, o enfermedades del tejido conectivo como la escleroderma, enfermedades neuromusculares, tratamiento de cáncer con radiación en el tórax o en el abdomen, algunas formas de quimioterapia y cirugía del tracto digestivo superior, en particular cuando se lesiona el nervio vago [365]. De otra lado, la gastroparesia puede ser de origen iatrogénico debido a que se puede presentar con medicamentos como narcóticos para controlar el dolor, antidepresivos tricíclicos, bloqueadores del canal del calcio, clonidina, agonistas de la dopamina, litio, nicotina y medicamentos que contienen progesterona [365]. Entre los síntomas de gastroparesia están la distensión abdominal, náuseas, llenura prematura mientras se come, acidez estomacal y dolor epigástrico; así mismo, podría provocar síntomas el ingerir alimentos sólidos, alimentos altos en fibra como frutas y verduras, comidas grasosas y bebidas muy carbonatadas o con mucha grasa; los pacientes con gastroparesia suelen perder peso a consecuencia de la mala absorción de nutrientes o debido a que se aprovechan muy pocas calorías [365].

La prueba de referencia para la medición del vaciamiento gástrico es la cintigrafía o gammagrafía [366], que además de exponer a la radiactividad al paciente y al personal que hace la prueba, utiliza una sustancia contaminante del medio ambiente y requiere un equipo

costoso que no está al alcance de la mayoría de la población de pacientes que requiere el estudio, y en este sentido las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  son una buena alternativa para medir el vaciamiento gástrico [8, 92, 367, 368]. Como sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  se han utilizado el  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico [8, 61-74], el  $^{13}\text{C}$ -acetato [57], el  $^{13}\text{C}$ -octanoato de sodio [178], el  $^{13}\text{C}$ -bicarbonato [111] y el  $^{13}\text{C}$ -ácido acético [60], entre otros, siendo el  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico el sustrato marcado más referenciado en la literatura médica mundial. Hasta el momento ninguna de estas pruebas está disponible en el medio por falta de demanda médica, más no por falta de posibilidad para hacerlas, ya que existe instrumentación para ello y experiencia con este tipo de pruebas. En la **tabla 4** se resumen las causas de gastroparesia [369].

## Principio de la prueba

La medición del vaciamiento gástrico mediante una prueba de aliento con sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$ , se basa en la administración de un sustrato marcado con  $^{13}\text{C}$ , como el  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico, que una vez que es liberado del estómago se absorbe en el intestino proximal (duodeno) y es transportado al hígado, en donde es oxidado, liberando  $^{13}\text{CO}_2$  que puede ser recogido en el aire expirado y medido en un espectrómetro de masas de relación isotópica [363, 370, 371]. Aunque los datos obtenidos no son una medida directa del vaciamiento gástrico, se asume que la cantidad de  $^{13}\text{C}$  liberado en el metabolismo del sustrato como  $^{13}\text{CO}_2$  que aparece en la sangre y posteriormente en las muestras en aliento, siempre es una proporción constante del marcador absorbido del intestino, esto debido a la conversión metabólica del sustrato ingerido ( $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico) y el  $^{13}\text{CO}_2$  exhalado en el aliento [8, 64, 80, 368, 372-375].

**Tabla 4. Causas de gastroparesia [369]**

### Neurogénicas

Posquirúrgicas (vagotomía con o sin gastrectomía parcial o subtotal)

Diabetes

Medicamentos

Infecciones (*Trypanosoma cruzi*, virus de Epstein-Barr)

Enfermedades neurológicas (apoplejía, esclerosis múltiple)

### Miogénicas

Escleroderma, polimiositis, lupus eritematoso sistémico

Distrofia muscular progresiva

Amiloidosis

### Otras etiologías

Síndrome de Zollinger-Ellison

Gastritis, úlcera péptica

Anorexia nerviosa

Enfermedades endocrinas (hipotiroidismo)

Radiación abdominal

Gastroparesia idiopática

## Protocolo de la prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico

Después de un ayuno de 8 a 12 horas (la noche anterior a la prueba) se administran 100 mg de  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico. El  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico se suministra al paciente incorporado en un "desayuno" que contiene 280 Kcal. Se toman muestras de aliento antes de iniciar la ingestión del  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico y a partir del momento en que termine el consumo del trazador se toman muestras cada 10 ó 15 minutos por 4 a 6 horas que tarda la prueba. Otra alternativa es tomar las muestras de aliento pos  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico cada 15 minutos las primeras 4 horas y cada 30 minutos las dos últimas horas [8, 61]. Las muestras de aliento se procesan en un espectrómetro de masas de relación isotópica y con los resultados se hace una curva similar a la que se hace con la  $^{13}\text{C}$ -metacetina en el caso del estudio de la función hepática. Cuando se requiere medir el vaciamiento gástrico para alimentos líquidos, como sucede en alimentación parenteral, funciona mejor como sustrato el  $^{13}\text{C}$ -ácido acético que el  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico [376].



Los resultados con la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico se correlacionan con la gammagrafía [65, 70, 73, 83, 87, 90, 92, 377, 378], actualmente considerada el método de referencia para la medición del vaciamiento gástrico [379].

## Indicaciones para el estudio de vaciamiento gástrico con prueba de aliento con $^{13}\text{C}$

Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  están indicadas en pacientes con manifestaciones clínicas sugestivas de gastroparesia o con diagnóstico de enfermedades en donde la gastroparesia puede dar origen a complicaciones o manifestaciones clínicas que el médico debe conocer para manejar adecuadamente.

Para el estudio del vaciamiento gástrico de sólidos la prueba con mejor desempeño es la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -ácido octanoico para comidas sólidas [8, 27, 61-97] y la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -acetato para comidas líquidas [57-59]. De acuerdo con la documentación bibliográfica, disponible a nivel de PubMed, la medición del vaciamiento gástrico, con pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , está indicada en pacientes con enfermedad de Parkinson [178, 380], en pacientes con antecedentes de cirugía de páncreas como la pancreaticoduodenectomía [381], en pacientes con antecedentes de gastrectomía [382], en pacientes con estenosis pilórica [383], en pacientes con diabetes [64, 83, 89], en niños con reflujo gastroesofágico [384] y en pacientes obesos [377], entre otros.

## Ventajas y desventajas de las pruebas de aliento con $^{13}\text{C}$ en el estudio del vaciamiento gástrico

Como en el caso de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, independiente del sustrato utilizado para hacer la prueba de aliento basada en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para el estudio del vaciamiento gástrico, las ventajas de éstas con respecto a la gammagrafía, que es el “estándar de oro” o la prueba de referencia, son la simplicidad y la seguridad, si se tiene en cuenta que el  $^{13}\text{C}$  es inocuo, por lo que puede utilizarse en toda la población, lo que no sucede con la gammagrafía que utiliza isótopos radiactivos (usualmente  $^{14}\text{C}$ ) que están contraindicados en niños y en mujeres en edad gestacional, y contamina el medio ambiente. No se afecta por factores preanalíticos y la muestra es estable pudiendo analizarse con una frecuencia de semanas a meses y remitirse a un laboratorio de referencia que tenga un espectrómetro de masas de relación isotópica para su medición, lo cual es particularmente importante tanto desde el punto de vista clínico como en el campo de la investigación [8, 65, 73].

Finalmente, el estudio del funcionamiento del estómago mediante pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , es más barato y más conveniente por las circunstancias antes citadas que los métodos convencionales como la gammagrafía y el ultrasonido, además de que la toma de la muestra, como la mayoría de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , pueden hacerse en los niveles de atención primaria y remitirse a un laboratorio clínico central para su lectura en un espectrómetro de masas de relación isotópica [1].

## Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en el estudio del tiempo de tránsito orocecal

El tiempo de tránsito orocecal se define como el tiempo que toma una sustancia desde el momento en que es ingerida y el momento en que es detectada en el ciego. El tiempo de tránsito orocecal puede ser muy rápido, como el que se presenta cuando hay diarrea e infecciones intestinales, o el tránsito intestinal puede ser muy lento como sucede en los casos de



constipación, pseudoobstrucción intestinal, fibrosis quística o enfermedad de Crohn. La determinación del tiempo de tránsito orocecal es difícil y para lograrlo se ha intentado la cintigrafía o gammagrafía [385], que además de exponer a la radiactividad al paciente y al personal que hace la prueba, utiliza una sustancia contaminante del medio ambiente y requiere un equipo costoso que no está al alcance de la mayoría de la población de pacientes que requiere el estudio, y en este sentido las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  representan una buena alternativa para medir el tiempo de tránsito orocecal o tiempo de tránsito intestinal. Para lograr el cometido, se utiliza una prueba de aliento basada en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  y se dispone de  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ -uridina [9].

## Futuro de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$

En el curso de este módulo se analizaron con detenimiento las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  de mayor uso médico en la actualidad, pero a nivel de investigación se está trabajando en otras aplicaciones como las que se relacionan a continuación:

- Recientemente se ha diseñado una prueba de aliento para el diagnóstico de diabetes utilizando como trazador U- $^{13}\text{C}$ (6)D-glucosa que podría ser muy útil en particular en estudio de niños y estados prediabéticos o tempranos de la enfermedad [36, 123], sin embargo, es posible que la prueba no tenga futuro debido a que el diagnóstico de la diabetes se ha trasladado recientemente a la medición de la HbA1c o hemoglobina glicada [386-388];
- Recientemente se ha desarrollado una nueva prueba de aliento como un nuevo biomarcador de la integridad del intestino delgado utilizando como trazador sucrosa marcada con  $^{13}\text{C}$ -sucrosa [34], particularmente útil en el estudio de niños con enteropatías crónicas en países en vía de desarrollo, particularmente útil si se conoce que esta situación predispone a retraso en el desarrollo y a una mayor susceptibilidad a las infecciones en estos niños [389];
- Para medir la toxicidad mitocondrial derivada de la administración de antirretrovirales en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, se ha desarrollado una prueba que utiliza como trazador la  $^{13}\text{C}$ -metionina [160], prueba que ha mostrado ser de importancia en estos pacientes, especialmente en aquellos con hiperlactatemia, una condición potencialmente fatal [390];
- Los pacientes que reciben uracilo o 5-fluoracilo, en el tratamiento de múltiples neoplasias, dependen de la enzima dihidropirimidina dehidrogenasa para catabolizar el medicamento y llevarlo a metabolitos inactivos [391], y los pacientes con deficiencia de esta enzima, que se estima entre ~0,1% a 3% y 5% de la población [392], podrían al recibir uno de estos medicamentos intoxicarse con ellos, con severa toxicidad hematológica hasta en el 60% de los que reciben el medicamento y tienen la deficiencia [393]. La prueba de aliento con 2- $^{13}\text{C}$ -dihidrouracilo permite identificar a los pacientes con deficiencia enzimática [184, 185] que potencialmente se podrían complicar con el tratamiento de quimioterapia basada en uno de estos citostáticos;
- Recientemente se ha informado la posibilidad de utilizar la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea, como una modificación a la prueba de aliento utilizada en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, administrando la  $^{13}\text{C}$ -urea en nebulización como una prueba de utilidad en el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis pulmonar [394], gracias a que las micobacterias son productoras de ureasa [395, 396], similar a la que tiene *Helicobacter pylori* [397] en la cual se fundamenta la prueba de aliento para su diagnóstico

[21]. Los estudios hasta ahora se han circunscrito a modelos animales y de acuerdo con resultados preliminares la prueba es prometedora [394].

- Para el estudio de asimilación de proteínas se ha desarrollado una prueba de aliento con L-1-<sup>13</sup>C-leucina [398] y la <sup>13</sup>C-leucina en estudio de oxidación de aminoácidos y el estudio de fenilcetonuria (dietoterapia) [129-132];
- Para el diagnóstico de encefalopatía por glicina se ha desarrollado una prueba de aliento que utiliza como sustrato <sup>13</sup>C-glicina [121]; y,
- Otras pruebas de aliento como la prueba de aliento para la deficiencia de lactasa y la malabsorción de la lactosa con <sup>13</sup>C-lactosa [30, 399], prueba de aliento para el sobrecrecimiento bacteriano con la <sup>13</sup>C-xilosa [28, 183] y prueba de aliento para la evaluación de la integridad del tracto digestivo con la <sup>13</sup>C-sucrosa [34], entre otras.

El futuro de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con <sup>13</sup>C apenas empieza y dependerá de la iniciativa de los investigadores y de los clínicos responsables de su adecuada utilización en la clínica del día a día, saliendo de los laboratorios de investigación a los consultorios y las salas de los hospitales como unas pruebas más amables con la comunidad de pacientes y médicos, y con el medio ambiente [13]

## Bibliografía

1. Klein PD. <sup>13</sup>C breath tests: visions and realities. *J Nutr* 2001;131:1637S-1642S.
2. Braden B. Methods and functions: Breath tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009;23:337-352.
3. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: <sup>13</sup>C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:1001-1017.
4. Becker M. <sup>13</sup>C breath test for measurement of liver function. *Gut* 1998;43 Suppl 3:S25-27.
5. Ilan Y. Review article: the assessment of liver function using breath tests. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1293-1302.
6. Zhang GS, Bao ZJ, Zou J, Yin SM, Huang YQ, Huang H, et al. Clinical research on liver reserve function by <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test in aged patients with chronic liver diseases. *BMC Geriatr* 2010;10:23.
7. Carey E, Carey WD. Noninvasive tests for liver disease, fibrosis, and cirrhosis: Is liver biopsy obsolete? *Cleveland Clinic journal of medicine* 2010;77:519-527.
8. Ghos YF, Maes BD, Geypens BJ, Mys G, Hiele MI, Rutgeerts PJ, et al. Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labeled octanoic acid breath test. *Gastroenterology* 1993;104:1640-1647.
9. Wutzke KD, Heine WE, Plath C, Leitzmann P, Radke M, Mohr C, et al. Evaluation of oro-coecal transit time: a comparison of the lactose-[<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N]ureide <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>- and the lactulose H<sub>2</sub>-breath test in humans. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:11-19.
10. Weaver LT, Amarri S, Swart GR. <sup>13</sup>C mixed triglyceride breath test. *Gut* 1998;43 Suppl 3:S13-19.
11. Lieb JC, 2nd, Draganov PV. Pancreatic function testing: here to stay for the 21st century. *World J Gastroenterol* 2008;14:3149-3158.
12. Campuzano-Maya G. Pruebas de aliento basadas en hidrógeno. *Medicina & Laboratorio* 2009;15:431-456.
13. Fischer H, Wetzel K. The future of <sup>13</sup>C-breath tests. *Food and nutrition bulletin* 2002;23:53-56.
14. Cao W, Duan Y. Breath analysis: potential for clinical diagnosis and exposure assessment. *Clinical chemistry* 2006;52:800-811.
15. Saad RJ, Chey WD. Breath tests for gastrointestinal disease: the real deal or just a lot of hot air? *Gastroenterology* 2007;133:1763-1766.
16. Braden B, Lembcke B, Kuker W, Caspary WF. <sup>13</sup>C-breath tests: current state of the art and future directions. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2007;39:795-805.
17. Lacroix M, Mosora F, Pontus M, Lefebvre P, Luyckz A, Lopez-Habib G. Glucose naturally labeled with carbon-13: use for metabolic studies in man. *Science* 1973;181:445-446.
18. Warren J, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1273-1275.
19. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet* 1987;1:1174-1177.
20. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maasricht III Consensus Report. *Gut* 2007;56:772-781.

21. **Campuzano-Maya G.** An optimized  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2007;13:5454-5464.
22. **Petrolati A, Festi D, De Berardinis G, Colaiocco-Ferrante L, Di Paolo D, Tisone G, et al.**  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:785-790.
23. **Festi D, Capodicasa S, Sandri L, Colaiocco-Ferrante L, Staniscia T, Vitacolonna E, et al.** Measurement of hepatic functional mass by means of  $^{13}\text{C}$ -methacetin and  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath tests in chronic liver disease: comparison with Child-Pugh score and serum bile acid levels. *World J Gastroenterol* 2005;11:142-148.
24. **Candelli M, Armuzzi A, Nista EC, Fini L, Gasbarrini G, Gasbarrini A.**  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:243.
25. **Herzog DC, Delvin EE, Albert C, Marcotte JE, Pelletier VA, Seidman EG.**  $^{13}\text{C}$ -labeled mixed triglyceride breath test ( $^{13}\text{C}$  MTC-BT) in healthy children and children with cystic fibrosis (CF) under pancreatic enzyme replacement therapy (PERT): a pilot study. *Clin Biochem* 2008;41:1489-1492.
26. **Nakamura H, Morifuji M, Murakami Y, Uemura K, Ohge H, Hayashidani Y, et al.** Usefulness of a  $^{13}\text{C}$ -labeled mixed triglyceride breath test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery. *Surgery* 2009;145:168-175.
27. **Hauser B, De Schepper J, Cavelliers V, Salvatore S, Salvatoni A, Vandenplas Y.** Variability of the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test for gastric emptying of solids in healthy children. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:1315-1319.
28. **Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK, Delente J, Heubi JE.** The  $^{13}\text{C}$ -xylose breath test for the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;25:153-158.
29. **Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, Scarpellini E, Lupascu A, Ojetti V, et al.** Small intestinal bacterial overgrowth: diagnosis and treatment. *Dig Dis* 2007;25:237-240.
30. **Hiele M, Ghooys Y, Rutgeerts P, Vantrappen G, Carchon H, Eggermont E.**  $^{13}\text{C}$ -enriched lactose for detection of lactase deficiency in patients with gastrointestinal symptoms. *J Lab Clin Med* 1988;112:193-200.
31. **Koetse HA, Stellaard F, Bijleveld CM, Elzinga H, Boverhof R, van der Meer R, et al.** Non-invasive detection of low-intestinal lactase activity in children by use of a combined  $^{13}\text{C}$ - $\text{CO}_2/\text{H}_2$  breath test. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:35-40.
32. **Vonk RJ, Stellaard F, Priebe MG, Koetse HA, Hagedoorn RE, De Bruijn S, et al.** The  $^{13}\text{C}/2\text{H}$ -glucose test for determination of small intestinal lactase activity. *Eur J Clin Invest* 2001;31:226-233.
33. **Choi YK, Johlin FC, Jr., Summers RW, Jackson M, Rao SS.** Fructose intolerance: an under-recognized problem. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1348-1353.
34. **Ritchie BK, Brewster DR, Davidson GP, Tran CD, McNeil Y, Hawkes JS, et al.**  $^{13}\text{C}$ -sucrose breath test: novel use of a noninvasive biomarker of environmental gut health. *Pediatrics* 2009;124:620-626.
35. **Gudmand-Hoyer E.** Sucrose malabsorption in children: a report of thirty-one Greenlanders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985;4:873-877.
36. **Dillon EL, Janghorbani M, Angel JA, Casperson SL, Grady JJ, Urban RJ, et al.** Novel noninvasive breath test method for screening individuals at risk for diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:430-435.
37. **Lewanczuk RZ, Paty BW, Toth EL.** Comparison of the  $^{13}\text{C}$ -glucose breath test to the hyperinsulinemic-euglycemic clamp when determining insulin resistance. *Diabetes Care* 2004;27:441-447.
38. **Ghoos Y, Geypens B, Rutgeerts P.** Stable isotopes and  $^{13}\text{C}$ - $\text{CO}_2$  breath tests for investigating gastrointestinal functions. *Food Nutr Bull* 2002;23:166-168.
39. **Parente F, Bianchi Porro G.** The  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: which procedure and which measuring equipment? *European journal of gastroenterology & hepatology* 2001;13:803-806.
40. **Hildebrand P, Beglinger C.** Nondispersive infrared spectrometry: a new method for the detection of *Helicobacter pylori* infection with the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. *Clin Infect Dis* 1997;25:1003-1005.
41. **Braden B, Caspary WF, Lembcke B.** Nondispersive infrared spectrometry for  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -measurements: a clinically feasible analyzer for stable isotope breath tests in gastroenterology. *Z Gastroenterol* 1999;37:477-481.
42. **Adamek RJ, Goetze O, Boedeker C, Pfaffenbach B, Luypaerts A, Geypens B.**  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test: isotope-selective nondispersive infrared spectrometry in comparison to isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with liver cirrhosis. *Z Gastroenterol* 1999;37:1139-1143.
43. **Ishii T, Takatori K, Iida K, Higuchi T, Ohshima A, Naruse H, et al.** Optimum conditions for the  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath test. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1998;46:1330-1332.
44. **Ishii Y, Asai S, Kohno T, Suzuki S, Ishii M, Hosoi I, et al.**  $^{13}\text{CO}_2$  peak value of L-1- $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath test reflects hepatopathy. *J Surg Res* 1999;86:130-135.
45. **Tugtekin I, Radermacher P, Wachter U, Barth E, Weidenbach H, Adler G, et al.** Comparison between the oral and intravenous L-1- $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath test for the assessment of liver function. *Isotopes Environ Health Stud* 1999;35:147-156.
46. **Lara Baraque S, Razquin M, Jimenez I, Vazquez A, Gisbert JP, Pajares JM.**  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine and  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease. *Dig Liver Dis* 2000;32:226-232.
47. **Ito A, Kohno T, Hosoi I, Ohshima J, Ishii Y, Asai S, et al.** High correlation between results of the L-1- $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath test and phenylalanine hydroxylase (EC 1.14.16.1) activity of the liver in rats. *Digestion* 2001;63:130-138.
48. **Kobayashi T, Kubota K, Imamura H, Hasegawa K, Inoue Y, Takayama T, et al.** Hepatic phenylalanine metabolism measured by the  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine breath test. *Eur J Clin Invest* 2001;31:356-361.

49. **Ishii Y, Asai S, Kohno T, Ito A, Iwai S, Ishikawa K.** Recovery of liver function in two-third partial hepatectomized rats evaluated by L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test. *Surgery* 2002;132:849-856.
50. **Ishii Y, Suzuki S, Kohno T, Aoki M, Ito A, Takayama T, et al.** L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test reflects histological changes in the liver. *J Surg Res* 2003;114:120-125.
51. **Ishii Y, Suzuki S, Kohno T, Aoki M, Ito A, Takayama T, et al.** L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test reflects phenylalanine hydroxylase activity of the whole liver. *J Surg Res* 2003;112:38-42.
52. **Koeda N, Iwai M, Kato A, Suzuki K.** Validity of <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in patients with liver cirrhosis and acute hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:851-859.
53. **Yan W, Sun D, Lin X, Jiang Y, Sun X.** <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test and hepatic phenylalanine metabolism enzymes in cirrhotic rats. *Eur J Clin Invest* 2005;35:644-652.
54. **Yan W, Xiong P, Liu Z, Huang G.** Results of L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test with air isotope ratio mass spectrometry can reflect the activity of phenylalanine hydroxylase in cirrhotic rat liver. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2006;20:602-608.
55. **Yan WL, Sun DY, Lin XT, Jiang YB, Sun X.** L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test results reflect the activity of phenylalanine hydroxylase in carbon tetrachloride acute injured rat liver. *Life Sci* 2006;78:838-843.
56. **Moran S, Gallardo-Wong I, Rodriguez-Leal G, McCollough P, Mendez J, Castaneda B, et al.** L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test in patients with chronic liver disease of different etiologies. *Isotopes Environ Health Stud* 2009;45:192-197.
57. **Mossi S, Meyer-Wyss B, Beglinger C, Schwizer W, Fried M, Ajami A, et al.** Gastric emptying of liquid meals measured noninvasively in humans with <sup>13</sup>C-acetate breath test. *Dig Dis Sci* 1994;39:1075-1095.
58. **Barbosa L, Vera H, Moran S, Del Prado M, Lopez-Alarcon M.** Reproducibility and reliability of the <sup>13</sup>C-acetate breath test to measure gastric emptying of liquid meal in infants. *Nutrition* 2005;21:289-294.
59. **Hauser B, De Schepper J, Caveliers V, Salvatore S, Salvatoni A, Vandenplas Y.** Variability of the <sup>13</sup>C-acetate breath test for gastric emptying of liquids in healthy children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;42:392-397.
60. **Uchida M, Endo N, Shimizu K.** Simple and noninvasive breath test using <sup>13</sup>C-acetic acid to evaluate gastric emptying in conscious rats and its validation by metoclopramide. *J Pharmacol Sci* 2005;98:388-395.
61. **Maes BD, Ghoos YF, Geypens BJ, Mys G, Hiele MI, Rutgeerts PJ, et al.** Combined carbon-13-glycine/carbon-14-octanoic acid breath test to monitor gastric emptying rates of liquids and solids. *J Nucl Med* 1994;35:824-831.
62. **Maes BD, Ghoos YF, Rutgeerts PJ, Hiele MI, Geypens B, Vantrappen G.** [<sup>13</sup>C]octanoic acid breath test to measure gastric emptying rate of solids. *Dig Dis Sci* 1994;39:1045-1065.
63. **Veereman-Wauters G, Ghoos Y, van der Schoor S, Maes B, Hebbalkar N, Devlieger H, et al.** The <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test: a noninvasive technique to assess gastric emptying in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996;23:111-117.
64. **Ziegler D, Schadewaldt P, Pour Mirza A, Piolot R, Schommartz B, Reinhardt M, et al.** <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for non-invasive assessment of gastric emptying in diabetic patients: validation and relationship to gastric symptoms and cardiovascular autonomic function. *Diabetologia* 1996;39:823-830.
65. **Choi MG, Camilleri M, Burton DD, Zinsmeister AR, Forstrom LA, Nair KS.** <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids: accuracy, reproducibility, and comparison with scintigraphy. *Gastroenterology* 1997;112:1155-1162.
66. **Choi MG, Camilleri M, Burton DD, Zinsmeister AR, Forstrom LA, Nair KS.** Reproducibility and simplification of <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids. *Am J Gastroenterol* 1998;93:92-98.
67. **Maes BD, Geypens BJ, Ghoos YF, Hiele MI, Rutgeerts PJ.** <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for gastric emptying rate of solids. *Gastroenterology* 1998;114:856-859.
68. **Maes BD, Mys G, Geypens BJ, Evenepoel P, Ghoos YF, Rutgeerts PJ.** Gastric emptying flow curves separated from carbon-labeled octanoic acid breath test results. *Am J Physiol* 1998;275:G169-175.
69. **Perri F, Clemente R, Festa V, Quitadamo M, Niro G, Andriulli A.** <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test: a reliable tool for measuring gastric emptying. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998;30:211-217.
70. **Barnett C, Snel A, Omari T, Davidson G, Haslam R, Butler R.** Reproducibility of the <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for assessment of gastric emptying in healthy preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;29:26-30.
71. **Toepfer M, Folwaczny C, Lochmuller H, Schroeder M, Riepl RL, Pongratz D, et al.** Noninvasive (<sup>13</sup>C)-octanoic acid breath test shows delayed gastric emptying in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Digestion* 1999;60:567-571.
72. **Cappello G, Malatesta MG, Ferri A, Ciccaglione AF, Toracchio S, Grossi L, et al.** Gastric emptying of a solid-liquid meal measured with <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test and real-time ultrasonography: a comparative study. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3097-3100.
73. **Delbende B, Perri F, Couturier O, Leodolter A, Mauder P, Bridgi B, et al.** <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for gastric emptying measurement. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:85-91.
74. **Lee JS, Camilleri M, Zinsmeister AR, Burton DD, Choi MG, Nair KS, et al.** Toward office-based measurement of gastric emptying in symptomatic diabetics using <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2751-2761.
75. **Kulik W, van Weissenbruch MM, Menelik N, Craendonk A, Kneepkens CM, Lafeber HN.** Improved use of the <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test as intra-individual parameter to study the effect of a prokinetic drug on gastric emptying in preterm infants with oral feeding intolerance. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001;750:147-153.
76. **Ritz MA, Fraser R, Edwards N, Di Matteo AC, Chapman M, Butler R, et al.** Delayed gastric emptying in ventilated critically ill patients: measurement by <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. *Crit Care Med* 2001;29:1744-1749.



77. Aoki S, Haruma K, Kusunoki H, Hata J, Hara M, Yoshida S, et al. Evaluation of gastric emptying measured with the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test in patients with functional dyspepsia: comparison with ultrasonography. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:662-666.
78. Maes BD, Evenepoel P, Geypens B, Rutgeerts P, Ghos Y. Gastric emptying in renal failure patients using the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test: facts and artifacts. *Perit Dial Int* 2002;22:732-733; author reply 734-735.
79. Schoonjans R, Van Vlem B, Van Heddeghem N, Vandamme W, Vanholder R, Lameire N, et al. The  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test: validation of a new non-invasive method of measuring gastric emptying in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2002;14:287-293.
80. Pozler O, Neumann D, Vorisek V, Bukac J, Bures J, Kokstein Z. Development of gastric emptying in premature infants. Use of the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test. *Nutrition* 2003;19:593-596.
81. Sanaka M, Yamamoto T, Kuyama Y. The "corrected" half emptying time is a valueless parameter in the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test: misuse of the regression analysis. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:284-285.
82. Sanaka M, Yamamoto T, Kuyama Y, Shimomura Y, Hattori K, Anjiki H. The ratio of  $^{13}\text{C}$  exhalation at 120 min to  $^{13}\text{C}$  exhalation at 60 min as a simpler gastric emptying parameter in the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test: a preliminary study. *J Gastroenterol* 2003;38:298-299.
83. Zahn A, Langhans CD, Hoffner S, Haberkorn U, Rating D, Haass M, et al. Measurement of gastric emptying by  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test versus scintigraphy in diabetics. *Z Gastroenterol* 2003;41:383-390.
84. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Vanrenterghem Y. The rate of gastric emptying determines the timing but not the extent of oral tacrolimus absorption: simultaneous measurement of drug exposure and gastric emptying by carbon-14-octanoic acid breath test in stable renal allograft recipients. *Drug Metab Dispos* 2004;32:1421-1425.
85. Mansi C, Melga P, Savarino V. Gastric emptying evaluation by  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test. *Diabetes Nutr Metab* 2004;17:43-46.
86. Yamamoto T, Ishii T, Sanaka M, Osanai Y, Kawakami T, Anjiki H, et al. Modified  $^{13}\text{C}$ -octanoate breath test and impact of sampling points. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:669-670.
87. Usai Satta P, Scarpa M, Oppia F, Loriga F.  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test in functional and organic disease: critical review of literature. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005;9:9-13.
88. Bluck LJ, Coward WA. Measurement of gastric emptying by the  $^{13}\text{C}$ -octanoate breath test--rationalization with scintigraphy. *Physiol Meas* 2006;27:279-289.
89. Nohara S, Iwase M, Imoto H, Sasaki N, Nakamura U, Uchizono Y, et al. Gastric emptying in patients with type 2 diabetes mellitus and diabetes associated with mitochondrial DNA 3243 mutation using  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test. *J Diabetes Complications* 2006;20:295-301.
90. Punkkinen J, Konkka I, Punkkinen O, Korppi-Tommola T, Farkkila M, Koskenpato J. Measuring gastric emptying: comparison of  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test and scintigraphy. *Dig Dis Sci* 2006;51:262-267.
91. Mawatari H, Inamori M, Fujita K, Yoneda M, Iida H, Endo H, et al. The continuous real-time  $^{13}\text{C}$ -octanoate breath test for patients with nonalcoholic steatohepatitis using the BreathID system. *Hepatogastroenterology* 2009;56:1436-1438.
92. Verbeke K. Will the  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test ever replace scintigraphy as the gold standard to assess gastric emptying? *Neurogastroenterol Motil* 2009;21:1013-1016.
93. Galmiche JP, Delbende B, Perri F, Andriulli A.  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test. *Gut* 1998;43 Suppl 3:S28-30.
94. Perri F, Pastore MR, Annesse V.  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test for measuring gastric emptying of solids. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005;9:3-8.
95. Eradi B, Wright J, Gibbons NJ, Blackshaw PE, Perkins AC, Wakefield J, et al. Validity of  $^{13}\text{C}$  octanoic acid breath test for measurement of solid meal gastric emptying time in children. *J Pediatr Surg* 2006;41:2062-2065.
96. Clegg ME, Shafat A. Procedures in the  $^{13}\text{C}$  octanoic acid breath test for measurement of gastric emptying: analysis using Bland-Altman methods. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:852-861.
97. Perri F, Bellini M, Portincasa P, Parodi A, Bonazzi P, Marzio L, et al.  $^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test (OBT) with a new test meal (EXPIROGer): Toward standardization for testing gastric emptying of solids. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2010;42:549-553.
98. Kato H, Nakao A, Kishimoto W, Nonami T, Harada A, Hayakawa T, et al.  $^{13}\text{C}$ -labeled trioctanoic acid breath test for exocrine pancreatic function test in patients after pancreatoduodenectomy. *Am J Gastroenterol* 1993;88:64-69.
99. Miyakawa S, Hayakawa M, Horiguchi A, Mizuno K, Ishihara S, Niwamoto N, et al. Estimation of fat absorption with the  $^{13}\text{C}$ -trioctanoic acid breath test after pancreatoduodenectomy or pancreatic head resection. *World J Surg* 1996;20:1024-1028; discussion 1028-1029.
100. Uchida M, Mogami O. Usefulness of breath test for evaluating pancreatic exocrine function using N-benzoyl-L-tyrosyl-L- $^{13}\text{C}$ -L-alanine sodium in non-invasive and conscious rats. *Biol Pharm Bull* 2008;31:785-788.
101. Hiele M, Ghos Y, Rutgeerts P, Vantrappen G. Starch digestion in normal subjects and patients with pancreatic disease, using a  $^{13}\text{C}$  breath test. *Gastroenterology* 1989;96:503-509.
102. Loser C, Mollgaard A, Aygen S, Hennemann O, Folsch UR.  $^{13}\text{C}$ -starch breath test--comparative clinical evaluation of an indirect pancreatic function test. *Z Gastroenterol* 1997;35:187-194.
103. Jager-Roman E, Rating D, Platzek T, Helge H. Development of N-demethylase activity measured with the  $^{13}\text{C}$ -aminopyrine breath test. *Eur J Pediatr* 1982;139:129-134.
104. Mion F, Queneau PE, Rousseau M, Brazier JL, Paliard P, Minaire Y. Aminopyrine breath test: development of a  $^{13}\text{C}$ -breath test for quantitative assessment of liver function in humans. *Hepatogastroenterology* 1995;42:931-938.

105. **Giannini E, Fasoli A, Chiarbonello B, Malfatti F, Romagnoli P, Botta F, et al.** <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test to evaluate severity of disease in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:717-725.
106. **Giannini EG, Fasoli A, Borro P, Botta F, Malfatti F, Fumagalli A, et al.** <sup>13</sup>C-galactose breath test and <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test for the study of liver function in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:279-285.
107. **Schneider AR, Teuber G, Paul K, Nikodem A, Duesterhoeft M, Caspary WF, et al.** Patient age is a strong independent predictor of <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test results: a comparative study with histology, duplex-Doppler and a laboratory index in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:300-304.
108. **Irving CS, Schoeller DA, Nakamura KI, Baker AL, Klein PD.** The aminopyrine breath test as a measure of liver function. A quantitative description of its metabolic basis in normal subjects. *J Lab Clin Med* 1982;100:356-373.
109. **Perri F, Pastore M, Andriulli A.** Aminopyrine breath test. *Dig Dis Sci* 1994;39:2445-2447.
110. **Fasoli A, Giannini E, Botta F, Romagnoli P, Risso D, Celle G, et al.** <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> excretion in breath of normal subjects and cirrhotic patients after <sup>13</sup>C-aminopyrine oral load. Comparison with MEGX test in functional differentiation between chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2000;47:234-238.
111. **Bjorkman DJ, Moore JG, Klein PD, Graham DY.** <sup>13</sup>C-bicarbonate breath test as a measure of gastric emptying. *Am J Gastroenterol* 1991;86:821-823.
112. **Park GJ, Katelaris PH, Jones DB, Seow F, Le Couteur DG, Ngu MC.** Validity of the <sup>13</sup>C-caffeine breath test as a noninvasive, quantitative test of liver function. *Hepatology* 2003;38:1227-1236.
113. **Caubet MS, Comte B, Brazier JL.** Determination of urinary <sup>13</sup>C-caffeine metabolites by liquid chromatography-mass spectrometry: the use of metabolic ratios to assess CYP1A2 activity. *J Pharm Biomed Anal* 2004;34:379-389.
114. **Schmilovitz-Weiss H, Niv Y, Pappo O, Halpern M, Sulkes J, Braun M, et al.** The <sup>13</sup>C-caffeine breath test detects significant fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:408-412.
115. **Kajiwara M, Okazaki T, Iida K, Narumi S, Hirose M, Ijichi M, et al.** Studies on <sup>13</sup>C-phenacetin metabolism. II. A combination of breath test and urine test of in vivo metabolites in the diagnosis of liver disease. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1996;44:1258-1260.
116. **Mion F, Rousseau M, Scoazec JY, Berger F, Minaire Y.** <sup>13</sup>C-galactose breath test: correlation with liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Invest* 1999;29:624-629.
117. **Suzuki S, Ishii Y, Asai S, Kohno T, Mazaki T, Takahashi Y, et al.** <sup>13</sup>C-galactose breath test for quantitative measurement of liver function in a short period. *Digestion* 2000;62:194-199.
118. **Suzuki S, Ishii Y, Asai S, Kohno T, Mazaki T, Takahashi Y, et al.** <sup>13</sup>C breath test of galactose and fructose for quantitative liver function. *J Surg Res* 2001;96:90-95.
119. **Saadeh S, Behrens PW, Parsi MA, Carey WD, Connor JT, Grealis M, et al.** The utility of the <sup>13</sup>C-galactose breath test as a measure of liver function. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:995-1002.
120. **Holtmeier J, Leuschner M, Schneider A, Leuschner U, Caspary WF, Braden B.** <sup>13</sup>C-methacetin and <sup>13</sup>C-galactose breath tests can assess restricted liver function even in early stages of primary biliary cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:1336-1341.
121. **Kure S, Korman SH, Kanno J, Narisawa A, Kubota M, Takayanagi T, et al.** Rapid diagnosis of glycine encephalopathy by <sup>13</sup>C-glycine breath test. *Ann Neurol* 2006;59:862-867.
122. **Solomons NW, Schoeller DA, Wagonfeld JB, Ott D, Rosenberg IH, Klein PD.** Application of a stable isotope <sup>13</sup>C-labeled glycocholate breath test to diagnosis of bacterial overgrowth and ileal dysfunction. *J Lab Clin Med* 1977;90:431-439.
123. **Banerjee D, Vikram N, Mishra P, Bhatt R, Prakash S, Misra A.** Correlation of a <sup>13</sup>C-glucose breath test with surrogate markers of insulin resistance in urban and rural Asian Indians. *Metab Syndr Relat Disord* 2009;7:215-219.
124. **Jetha MM, Nzekwu U, Lewanczuk RZ, Ball GD.** A novel, non-invasive <sup>13</sup>C-glucose breath test to estimate insulin resistance in obese prepubertal children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009;22:1051-1059.
125. **Mizrahi M, Lalazar G, Adar T, Raz I, Ilan Y.** Assessment of insulin resistance by a <sup>13</sup>C glucose breath test: a new tool for early diagnosis and follow-up of high-risk patients. *Nutrition journal* 2010;9:25.
126. **Lembcke B, Braden B, Caspary WF.** Exocrine pancreatic insufficiency: accuracy and clinical value of the uniformly labelled <sup>13</sup>C-Hiolein breath test. *Gut* 1996;39:668-674.
127. **Braden B, Picard H, Caspary WF, Posselt HG, Lembcke B.** Monitoring pancreatin supplementation in cystic fibrosis patients with the <sup>13</sup>C-Hiolein breath test: evidence for normalized fat assimilation with high dose pancreatin therapy. *Z Gastroenterol* 1997;35:123-129.
128. **Sun DY, Jiang YB, Rong L, Jin SJ, Xie WZ.** Clinical application of <sup>13</sup>C-Hiolein breath test in assessing pancreatic exocrine insufficiency. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003;2:449-452.
129. **Evenepoel P, Hiele M, Luybaerts A, Geypens B, Buyse J, Decuyper E, et al.** Production of egg proteins, enriched with L-leucine-<sup>13</sup>C1, for the study of protein assimilation in humans using the breath test technique. *J Nutr* 1997;127:327-331.
130. **Bujko J, Schreurs VV, Nolles JA, Verreijen AM, Koopmanschap RE, Verstegen MW.** Application of a <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test to study short-term amino acid catabolism during the postprandial phase of a meal. *Br J Nutr* 2007;97:891-897.
131. **Candelli M, Armuzzi A, Miele L, Nista EC, Pignataro G, Zileri Dal Verme L, et al.** Gender affects <sup>13</sup>C-ketioisocaproic acid breath test. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2007;11:401-406.
132. **Kasicka-Jonderko A, Jonderko K, Kaminska M, Bielecka M, Blonska-Fajfrowska B.** <sup>13</sup>C-alpha-ketioisocaproic acid breath test revisited: an in-depth repro-



- ducibility study advocates an extended breath sampling period. *Dig Dis Sci* 2007;52:3481-3487.
133. **Krumbiegel P, Gunther K, Faust H, Mobius G, Hirschberg K, Schneider G.** Nuclear medicine liver function tests for pregnant women and children. 1. Breath tests with <sup>14</sup>C-methacetin and <sup>13</sup>C-methacetin. *Eur J Nucl Med* 1985;10:129-133.
  134. **Tang ZD, Qiu YQ.** [Assessment of liver function with the <sup>13</sup>C-methacetin breath test]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 1986;25:722-724, 775.
  135. **Matsumoto K, Suehiro M, Iio M, Kawabe T, Shiratori Y, Okano K, et al.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test for evaluation of liver damage. *Dig Dis Sci* 1987;32:344-348.
  136. **Powers HJ.** The potential of a <sup>13</sup>C-methacetin breath test for estimating ascorbic acid requirements. *Int J Vitam Nutr Res* 1987;57:455.
  137. **Iwasaki A, Yamashita Y, Tsubaki T, Matsuda S, Sugihara Y, Akimoto K, et al.** [Study of liver function in babies with atopic dermatitis by using <sup>13</sup>C-methacetin breath test]. *Arerugi* 1992;41:645-653.
  138. **Iikura Y, Iwasaki A, Tsubaki T, Akasawa A, Onda T, Katsunuma T, et al.** Study of liver function in infants with atopic dermatitis using the <sup>13</sup>C-methacetin breath test. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:189-193.
  139. **Zeng W, Zhang W, Xu S, Yang Z, Liu C, Zhu D, et al.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test parameter S for liver diseases diagnosis. *Sci China C Life Sci* 1996;39:87-98.
  140. **Klatt S, Taut C, Mayer D, Adler G, Beckh K.** Evaluation of the <sup>13</sup>C-methacetin breath test for quantitative liver function testing. *Z Gastroenterol* 1997;35:609-614.
  141. **Pfaffenbach B, Gotze O, Szymanski C, Hagemann D, Adamek RJ.** [The <sup>13</sup>C-methacetin breath test for quantitative noninvasive liver function analysis with an isotope-specific nondispersive infrared spectrometer in liver cirrhosis]. *Dtsch Med Wochenschr* 1998;123:1467-1471.
  142. **Mikhno'ova NM, Shypulin VP.** [Role of <sup>13</sup>C-methacetin breath test in patients with chronic diffuse liver disease]. *Lik Sprava* 2001;155-158.
  143. **Candelli M, Cazzato IA, Nista EC, Pignataro G, Gasbarrini A.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test and oxygen supply. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:1176.
  144. **Ciccocioppo R, Candelli M, Di Francesco D, Ciocca F, Taglieri G, Armuzzi A, et al.** Study of liver function in healthy elderly subjects using the <sup>13</sup>C-methacetin breath test. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:271-277.
  145. **Zipprich A, Meiss F, Steudel N, Sziegoleit U, Fleig WE, Kleber G.** <sup>13</sup>C-Methacetin metabolism in patients with cirrhosis: relation to disease severity, haemoglobin content and oxygen supply. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:1559-1562.
  146. **Braden B, Faust D, Sarrazin U, Zeuzem S, Dietrich CF, Caspary WF, et al.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test as liver function test in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:179-185.
  147. **Liu YX, Huang LY, Wu CR, Cui J.** Measurement of liver function for patients with cirrhosis by <sup>13</sup>C-methacetin breath test compared with Child-Pugh score and routine liver function tests. *Chin Med J (Engl)* 2006;119:1563-1566.
  148. **Oliveira AC, Reber M, Lanzoni V, Ferraz ML, Parise ER.** Teste respiratório da <sup>13</sup>C-metacetina na doença hepática crônica pelo vírus C. *Arq Gastroenterol* 2006;43:41-44.
  149. **Goetze O, Selzner N, Fruehauf H, Fried M, Gerlach T, Mullhaupt B.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test as a quantitative liver function test in patients with chronic hepatitis C infection: continuous automatic molecular correlation spectroscopy compared to isotopic ratio mass spectrometry. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:305-311.
  150. **Schneider A, Caspary WF, Saich R, Dietrich CF, Sarrazin C, Kuker W, et al.** <sup>13</sup>C-methacetin breath test shortened: 2-point-measurements after 15 minutes reliably indicate the presence of liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2007;41:33-37.
  151. **Danicke S, Beineke A, Goyarts T, Valenta H, Beyer M, Humpf HU.** Effects of a Fusarium toxin-contaminated triticale, either untreated or treated with sodium metabisulphite (Na2S2O5, SBS), on weaned piglets with a special focus on liver function as determined by the <sup>13</sup>C-methacetin breath test. *Arch Anim Nutr* 2008;62:263-286.
  152. **Dinesen L, Caspary WF, Chapman RW, Dietrich CF, Sarrazin C, Braden B.** <sup>13</sup>C-methacetin-breath test compared to also noninvasive biochemical blood tests in predicting hepatic fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C. *Dig Liver Dis* 2008;40:743-748.
  153. **Hydzik P, Bielanski W, Ponka M, Wojcicki M, Lubikowski J, Pach J, et al.** Usefulness of <sup>13</sup>C-methacetin breath test in liver function testing in Amanita phalloides poisoning; breast feeding woman case. *Clin Toxicol (Phila)* 2008;46:1077-1082.
  154. **Lalazar G, Pappo O, Hershcovici T, Hadjaj T, Shubi M, Ohana H, et al.** A continuous <sup>13</sup>C-methacetin breath test for noninvasive assessment of intrahepatic inflammation and fibrosis in patients with chronic HCV infection and normal ALT. *J Viral Hepat* 2008;15:716-728.
  155. **Shirin H, Aeed H, Shalev T, Sorin V, Stavinski S, Shahmurov M, et al.** Utility of a <sup>13</sup>C-methacetin breath test in evaluating hepatic injury in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1762-1768.
  156. **Wutzke KD, Forberger A, Wigger M.** Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by <sup>13</sup>C-methacetin- and [methyl-<sup>13</sup>C] methionine-breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2008;44:219-226.
  157. **Li HX, Wang JP, Yang Y, Zhang J, Feng QL.** [The value of studying liver function reserve in hepatic carcinoma by <sup>13</sup>C-methacetin breath test]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2009;48:383-387.
  158. **Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzthutter HG, Malinowski M, Neuhaus P, et al.** Interpretation of non-invasive breath tests using <sup>13</sup>C-labeled substrates - A preliminary report with superset <sup>13</sup>C-methacetin. *Eur J Med Res* 2009;14:547-550.
  159. **Lalazar G, Adar T, Ilan Y.** Point-of-care continuous <sup>13</sup>C-methacetin breath test improves decision making in acute liver disease: results of a pilot clinical trial. *World J Gastroenterol* 2009;15:966-972.
  160. **Milazzo I, Piazza M, Sangaletti O, Gatti N, Cappelletti A, Adorni F, et al.** <sup>13</sup>C-methionine breath test: a novel method to detect antiretroviral drug-related mitochondrial toxicity. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:84-89.

161. Swart GR, Baartman EA, Wattimena JL, Rietveld T, Overbeek SE, van den Berg JW. Evaluation studies of the <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test in healthy controls and adult cystic fibrosis patients with exocrine pancreatic insufficiency. *Digestion* 1997;58:415-420.
162. Amarri S, Harding M, Coward WA, Evans TJ, Weaver LT. <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test and pancreatic enzyme supplementation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1997;76:349-351.
163. Kalivianakis M, Verkade HJ, Stellaard F, van der Were M, Elzinga H, Vonk RJ. The <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test in healthy adults: determinants of the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> response. *Eur J Clin Invest* 1997;27:434-442.
164. Vantrappen GR, Rutgeerts PJ, Ghoo YF, Hiele MI. Mixed triglyceride breath test: a noninvasive test of pancreatic lipase activity in the duodenum. *Gastroenterology* 1989;96:1126-1134.
165. Loser C, Brauer C, Aygen S, Hennemann O, Folsch UR. Comparative clinical evaluation of the <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test as an indirect pancreatic function test. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:327-334.
166. Perri F, Pastore M, Festa V, Clemente R, Quitadamo M, D'Altilla MR, et al. Intraduodenal lipase activity in celiac disease assessed by means of <sup>13</sup>C mixed-triglyceride breath test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;27:407-410.
167. Boedeker C, Goetze O, Pfaffenbach B, Luybaerts A, Geypens B, Adamek RJ. <sup>13</sup>C mixed-triglyceride breath test: isotope selective non-dispersive infrared spectrometry in comparison with isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:1153-1156.
168. van Dijk-van Aalst K, Van Den Driessche M, van Der Schoor S, Schiffelers S, van't Westeinde T, Ghoo Y, et al. <sup>13</sup>C mixed triglyceride breath test: a noninvasive method to assess lipase activity in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;32:579-585.
169. Dominguez-Munoz JE, Iglesias-Garcia J, Vilarino-In-sua M, Iglesias-Rey M. <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test to assess oral enzyme substitution therapy in patients with chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:484-488.
170. Moran-Villota S, Arteaga ME, Rodríguez-Leal GA, Medina-Zavala M, Gallardo-Wong I, Milke-García P, et al. Evaluación de la digestión de lípidos por medio de la prueba en aliento con triglicérido mixto marcado con <sup>13</sup>C en pacientes con pancreatitis crónica. *Rev Gastroenterol Mex* 2007;72:202-206.
171. Jonderko K, Dus Z, Szymaszal M, Kasicka-Jonderko A, Blonska-Fajfrowska B. Normative values for the <sup>13</sup>C-mixed triglyceride breath test in two age groups. *Med Sci Monit* 2009;15:CR255-259.
172. Suzuki M, Tanaka K, Ohtani K, Kitamura K, Kudo T, Shoji H, et al. Estimation of postoperative fat absorption using the <sup>13</sup>C mixed-triglyceride breath test in children with choledochal cyst. *Eur J Pediatr* 2009;168:35-38.
173. Cole SG, Rossi S, Stern A, Hofmann AF. Cholesteryl octanoate breath test. Preliminary studies on a new noninvasive test of human pancreatic exocrine function. *Gastroenterology* 1987;93:1372-1380.
174. Mundlos S, Kuhnelt P, Adler G. Monitoring enzyme replacement treatment in exocrine pancreatic insufficiency using the cholesteryl octanoate breath test. *Gut* 1990;31:1324-1328.
175. Bruno MJ, Hoek FJ, Delzenne B, van Leeuwen DJ, Scheingart CD, Hofmann AF, et al. Simultaneous assessments of exocrine pancreatic function by cholesteryl-[<sup>14</sup>C]octanoate breath test and measurement of plasma p-aminobenzoic acid. *Clin Chem* 1995;41:599-604.
176. Ventrucci M, Cipolla A, Ubalducci GM, Roda A, Roda E. <sup>13</sup>C labelled cholesteryl octanoate breath test for assessing pancreatic exocrine insufficiency. *Gut* 1998;42:81-87.
177. Van Den Driessche M, Peeters K, Marien P, Ghoo Y, Devlieger H, Veereman-Wauters G. Gastric emptying in formula-fed and breast-fed infants measured with the <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;29:46-51.
178. Goetze O, Wiczorek J, Mueller T, Przuntek H, Schmidt WE, Weitalla D. Impaired gastric emptying of a solid test meal in patients with Parkinson's disease using <sup>13</sup>C-sodium octanoate breath test. *Neurosci Lett* 2005;375:170-173.
179. Desta Z, Modak A, Nguyen PD, Lemler SM, Kurogi Y, Li L, et al. Rapid identification of the hepatic cytochrome P450 2C19 activity using a novel and noninvasive <sup>13</sup>C-pantoprazole breath test. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;329:297-305.
180. Ishii Y, Kohno T, Ito A, Suzuki S, Takayama T, Asai S. Measurement of extra-pancreatic secretory function by <sup>13</sup>C-dipeptide breath test. *Transl Res* 2007;149:298-303.
181. Clarke JM, Pelton NC, Bajka BH, Howarth GS, Read LC, Butler RN. Use of the <sup>13</sup>C-sucrose breath test to assess chemotherapy-induced small intestinal mucositis in the rat. *Cancer Biol Ther* 2006;5:34-38.
182. Tooley KL, Howarth GS, Lynn KA, Butler RN. Optimization of the non-invasive <sup>13</sup>C-sucrose breath test in a rat model of methotrexate-induced mucositis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010;65:913-921.
183. Hope HB, Tveit K, Aase S, Messelt E, Utzon P, Skar V. Small intestinal malabsorption in chronic alcoholism determined by <sup>13</sup>C-D-xylose breath test and microscopic examination of the duodenal mucosa. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:39-45.
184. Mattison LK, Ezzeldin H, Carpenter M, Modak A, Johnson MR, Diasio RB. Rapid identification of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency by using a novel 2-<sup>13</sup>C-uracil breath test. *Clin Cancer Res* 2004;10:2652-2658.
185. Mattison LK, Fourie J, Hirao Y, Koga T, Desmond RA, King JR, et al. The uracil breath test in the assessment of dihydropyrimidine dehydrogenase activity: pharmacokinetic relationship between expired <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> and plasma 2-<sup>13</sup>C-dihydrouracil. *Clin Cancer Res* 2006;12:549-555.
186. Morrison DJ, Zavoshy R, Edwards CA, Dodson B, Preston T, Weaver LT. Lactose <sup>13</sup>C-ureide as a marker for colonic fermentation and the deconvolution of a complex <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test curve. *Biochemical Society transactions* 1998;26:S184.
187. Geypens B, Bennink R, Peeters M, Evenepoel P, Mortelmans L, Maes B, et al. Validation of the lactose-

- <sup>13</sup>C-ureide breath test for determination of orocecal transit time by scintigraphy. Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine 1999;40:1451-1455.
188. **Van Den Driessche M, Van Malderen N, Geypens B, Ghoos Y, Veereman-Wauters G.** Lactose-<sup>13</sup>C-ureide breath test: a new, noninvasive technique to determine orocecal transit time in children. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition 2000;31:433-438.
  189. **Christian M, Morrison D, Dodson B, Preston T, Amari S, Franchini F, et al.** Measurement of oro-cecal transit time in young children using lactose <sup>13</sup>C-ureide requires further validation. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition 2002;34:570-571; author reply 571.
  190. **Berthold HK, Schober P, Scheurlen C, Marklein G, Horre R, Gouni-Berthold I, et al.** Use of the lactose-<sup>13</sup>C-ureide breath test for diagnosis of small bowel bacterial overgrowth: comparison to the glucose hydrogen breath test. Journal of gastroenterology 2009;44:944-951.
  191. **Suerbaum S, Michetti P.** *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med 2002;347:1175-1186.
  192. **Correa P, Piazzuelo MB.** Natural history of *Helicobacter pylori* infection. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver 2008;40:490-496.
  193. **Ford AC, Axon AT.** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. Helicobacter 2010;15 Suppl 1:1-6.
  194. **Duque JJ.** *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica de cadáveres de niños. Iatreia 1999;12:135-138.
  195. **Campuzano-Maya G, Hoyos-Castano D, Calvo-Betancur VD, Suarez-Ramirez OA, Lizcano-Cardona D, Rojas-Arbelaez CA.** Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia. Acta Gastroenterol Latinoam 2007;37:99-103.
  196. **Pajares-García JM.** Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive methods. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998;30 Suppl 3:S320-323.
  197. **Campuzano-Maya G.** Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: ¿serología, prueba de aliento con <sup>13</sup>C-urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal? Medicina & Laboratorio 2007;13:211-232.
  198. **Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ.** Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clinical microbiology reviews 2006;19:449-490.
  199. **Pathak CM, Bhasin DK, Khanduja KL.** Urea breath test for *Helicobacter pylori* detection: present status. Trop Gastroenterol 2004;25:156-161.
  200. **Logan RP, Polson RJ, Misiewicz JJ, Rao G, Karim NQ, Newell D, et al.** Simplified single sample <sup>13</sup>Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture, and ELISA serology. Gut 1991;32:1461-1464.
  201. **Granstrom M, Lehours P, Bengtsson C, Megraud F.** Diagnosis of *Helicobacter pylori*. Helicobacter 2008;13 Suppl 1:7-12.
  202. **Logan AC, Venket Rao A, Irani D.** Chronic fatigue syndrome: lactic acid bacteria may be of therapeutic value. Med Hypotheses 2003;60:915-923.
  203. **Talley NJ, Vakil N, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology.** Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol 2005;100:2324-2337.
  204. **Ford AC, Qume M, Moayyedi P, Arents NL, Lassen AT, Logan RF, et al.** *Helicobacter pylori* "test and treat" or endoscopy for managing dyspepsia: an individual patient data meta-analysis. Gastroenterology 2005;128:1838-1844.
  205. **Mahadeva S, Chia YC, Vinothini A, Mohazmi M, Goh KL.** Cost-effectiveness of and satisfaction with a *Helicobacter pylori* "test and treat" strategy compared with prompt endoscopy in young Asians with dyspepsia. Gut 2008;57:1214-1220.
  206. **Rotolo G, Dominguez LJ, Sarakatsianou V, Mangiarcina D, Figlioli F, Barbagallo M.** Test-and-treat strategy for *Helicobacter pylori* (HP) infection in older patients. Archives of Gerontology and Geriatrics 2010;51:237-240.
  207. **Lane JA, Murray LJ, Noble S, Egger M, Harvey IM, Donovan JL, et al.** Impact of *Helicobacter pylori* eradication on dyspepsia, health resource use, and quality of life in the Bristol *Helicobacter* project: randomised controlled trial. Bmj 2006;332:199-204.
  208. **Ford A, Delaney B, Forman D, Moayyedi P.** Eradication therapy for peptic ulcer disease in *Helicobacter pylori* positive patients. Cochrane Database Syst Rev 2004;CD003840.
  209. **Malfertheiner P.** <sup>13</sup>C-urea breath test: further modification towards an unrestricted use. Digestion 2005;71:206-207.
  210. **Ito M, Tanaka S, Kamada T, Haruma K, Chayama K.** Causal role of *Helicobacter pylori* infection and eradication therapy in gastric carcinogenesis. World J Gastroenterol 2006;12:10-16.
  211. **Ando T, Goto Y, Maeda O, Watanabe O, Ishiguro K, Goto H.** Causal role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12:181-186.
  212. **American Gastroenterological Association.** American Gastroenterological Association medical position statement: evaluation of dyspepsia. Gastroenterology 1998;114:579-581.
  213. **Marshall JK, Armstrong D, O'Brien BJ.** Test and treat strategies for *Helicobacter pylori* in uninvestigated dyspepsia: a Canadian economic analysis. Can J Gastroenterol 2000;14:379-388.
  214. **Palmer KR.** Complications of gastrointestinal endoscopy. Gut 2007;56:456-457.
  215. **Shimada T, Terano A, Ota S, Takikawa H, Sumino S.** Risk of iatrogenic transmission of *Helicobacter pylori* by gastroscopes. Lancet 1996;347:1342-1343.
  216. **Campuzano-Maya G.** Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America. Helicobacter 2007;12:265-273.
  217. **Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB, Osborn J, Evangelista ML, Cooper N, et al.** Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. Blood 2009;113:1231-1240.

218. Grabczewska Z, Nartowicz E, Kubica J, Rosc D. Endothelial function parameters in patients with unstable angina and infection with *Helicobacter pylori* and Chlamydia pneumoniae. Eur J Intern Med 2006;17:339-342.
219. Ohnishi M, Fukui M, Ishikawa T, Ohnishi N, Ishigami N, Yoshioka K, et al. *Helicobacter pylori* infection and arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism 2008;57:1760-1764.
220. Niccoli G, Franceschi F, Cosentino N, Giupponi B, De Marco G, Merra G, et al. Coronary atherosclerotic burden in patients with infection by CagA-positive strains of *Helicobacter pylori*. Coron Artery Dis 2010;21:217-221.
221. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, et al. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. Br Heart J 1994;71:437-439.
222. Marino MC, de Oliveira CA, Rocha AM, Rocha GA, Clementino NC, Antunes LF, et al. Long-term effect of *Helicobacter pylori* eradication on plasma homocysteine in elderly patients with cobalamin deficiency. Gut 2007;56:469-474.
223. Migneco A, Ojetti V, Specchia L, Franceschi F, Candelini M, Mettimano M, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* infection improves blood pressure values in patients affected by hypertension. Helicobacter 2003;8:585-589.
224. Skandarian R, Malek M, Mousavi SH, Babaei M. Association of *Helicobacter pylori* infection with cardiac syndrome X. Singapore Med J 2006;47:704-706.
225. Miyazaki M, Babazono A, Kadowaki K, Kato M, Takata T, Une H. Is *Helicobacter pylori* infection a risk factor for acute coronary syndromes? J Infect 2006;52:86-91.
226. Campuzano-Maya G. Cure of alopecia areata after eradication of *Helicobacter pylori*: A new association? World J Gastroenterol 2011; In press.
227. Rais M, Unzeitig J, Grant JA. Refractory exacerbations of hereditary angioedema with associated *Helicobacter pylori* infection. J Allergy Clin Immunol 1999;103:713-714.
228. Murakami K, Fujioka T, Nishizono A, Nagai J, Tokieda M, Kodama R, et al. Atopic dermatitis successfully treated by eradication of *Helicobacter pylori*. J Gastroenterol 1996;31 Suppl 9:77-82.
229. Yazawa N, Fujimoto M, Kikuchi K, Kubo M, Ihn H, Sato S, et al. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with systemic sclerosis: association with esophageal involvement. J Rheumatol 1998;25:650-653.
230. Reinauer S, Goerz G, Ruzicka T, Susanto F, Humfeld S, Reinauer H. *Helicobacter pylori* in patients with systemic sclerosis: detection with the <sup>13</sup>C-urea breath test and eradication. Acta Derm Venereol 1994;74:361-363.
231. Gasbarrini A, Serricchio M, Tondi P, Gasbarrini G, Pola P. Association of *Helicobacter pylori* infection with primary Raynaud phenomenon. Lancet 1996;348:966-967.
232. Mandekou-Lefaki I, Delli FS, Kountouras I, Athanasiou E, Mattheou-Vakali G. Primary cutaneous MALT-type lymphoma and *Helicobacter pylori*: a possible relationship. J Eur Acad Dermatol Venereol 2006;20:606-608.
233. Neri S, Ierna D, D'Amico RA, Giarratano G, Leotta C. *Helicobacter pylori* and prurigo nodularis. Hepatogastroenterology 1999;46:2269-2272.
234. Saez-Rodriguez M, Noda-Cabrera A, Garcia-Bustinduy M, Guimera-Martin-Neda F, Dorta-Alom S, Escoda-Garcia M, et al. Palmoplantar pustulosis associated with gastric *Helicobacter pylori* infection. Clin Exp Dermatol 2002;27:720.
235. Wedi B, Kapp A. *Helicobacter pylori* infection in skin diseases: a critical appraisal. Am J Clin Dermatol 2002;3:273-282.
236. Erbagci Z. Prurigo pigmentosa in association with *Helicobacter pylori* infection in a Caucasian Turkish woman. Acta Derm Venereol 2002;82:302-303.
237. Shiotani A, Okada K, Yanaoka K, Itoh H, Nishioka S, Sakurane M, et al. Beneficial effect of *Helicobacter pylori* eradication in dermatologic diseases. Helicobacter 2001;6:60-65.
238. Reinauer S, Megahed M, Goerz G, Ruzicka T, Borchard F, Susanto F, et al. Schönlein-Henoch purpura associated with gastric *Helicobacter pylori* infection. J Am Acad Dermatol 1995;33:876-879.
239. Boixeda de Miquel D, Vazquez Romero M, Vazquez Sequeiros E, Foruny Olcina JR, Boixeda de Miquel P, Lopez San Roman A, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy in rosacea patients. Rev Esp Enferm Dig 2006;98:501-509.
240. Hernando-Harder AC, Booken N, Goerdts S, Singer MV, Harder H. *Helicobacter pylori* infection and dermatologic diseases. Eur J Dermatol 2009.
241. Kurkcüüglü N, Aksoy F. Sweet's syndrome associated with *Helicobacter pylori* infection. J Am Acad Dermatol 1997;37:123-124.
242. Dauden E, Cabrera MM, Oñate MJ, Pajares JM, García-Díez A. CagA seropositivity in *Helicobacter pylori* positive patients with psoriasis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2004;18:116-117.
243. Shakouri A, Compalati E, Lang DM, Khan DA. Effectiveness of *Helicobacter pylori* eradication in chronic urticaria: evidence-based analysis using the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation system. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2010;10:362-369.
244. Figura N, Piomboni P, Ponzetto A, Gambera L, Lenzi C, Vaira D, et al. *Helicobacter pylori* infection and infertility. Eur J Gastroenterol Hepatol 2002;14:663-669.
245. Mera RM, Correa P, Fontham EE, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, et al. Effects of a new *Helicobacter pylori* infection on height and weight in Colombian children. Ann Epidemiol 2006;16:347-351.
246. Figura N, Di Cairano G, Lore F, Guarino E, Gragnoli A, Cataldo D, et al. The infection by *Helicobacter pylori* strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders. J Physiol Pharmacol 1999;50:817-826.
247. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996;5:477-481.



248. Whiteman DC, Parmar P, Fahey P, Moore SP, Stark M, Zhao ZZ, et al. Association of *Helicobacter pylori* infection with reduced risk for esophageal cancer is independent of environmental and genetic modifiers. *Gastroenterology* 2010;139:73-83; quiz e11-72.
249. Shin CM, Kim N, Yang HJ, Cho SI, Lee HS, Kim JS, et al. Stomach cancer risk in gastric cancer relatives: interaction between *Helicobacter pylori* infection and family history of gastric cancer for the risk of stomach cancer. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:e34-39.
250. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis and autoimmunity as proposed pathogenetic links between *Helicobacter pylori* infection and idiopathic achalasia. *Med Hypotheses* 2004;63:624-629.
251. Abayli B, Colakoglu S, Serin M, Erdogan S, Isiksal YF, Tuncer I, et al. *Helicobacter pylori* in the etiology of cholesterol gallstones. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:134-137.
252. Selgrad M, Kandulski A, Malfrather P. Dyspepsia and *Helicobacter pylori*. *Dig Dis* 2008;26:210-214.
253. Villanacci V, Bassotti G, Liserre B, Lanzini A, Lanzarotto F, Genta RM. *Helicobacter pylori* Infection in patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1880-1885.
254. Bayerdorffer E, Ritter MM, Hatz R, Brooks W, Ruckdeschel G, Stolte M. Healing of protein losing hypertrophic gastropathy by eradication of *Helicobacter pylori*--is *Helicobacter pylori* a pathogenic factor in Ménétrier's disease? *Gut* 1994;35:701-704.
255. Tiomny E, Arber N, Moshkowitz M, Peled Y, Gilat T. Halitosis and *Helicobacter pylori*. A possible link? *J Clin Gastroenterol* 1992;15:236-237.
256. Isaacson PG. Gastric MALT lymphoma: from concept to cure. *Ann Oncol* 1999;10:637-645.
257. Doberauer C, Sanner B, Henning B. Multiple myeloma involving the stomach with vitamin B12 deficiency. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:205-207.
258. Shapiro M, Kimchi NA, Herbert M, Scapa E. Gastric plasmacytoma and *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:56-57.
259. Veldhuyzen van Zanten SJ, Sherman PM. *Helicobacter pylori* infection as a cause of gastritis, duodenal ulcer, gastric cancer and nonulcer dyspepsia: a systematic overview. *Cmaj* 1994;150:177-185.
260. Kuipers EJ, Thijs JC, Festen HP. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 Suppl 2:59-69.
261. Frigo P, Lang C, Reisenberger K, Kolbl H, Hirschl AM. Hyperemesis gravidarum associated with *Helicobacter pylori* seropositivity. *Obstet Gynecol* 1998;91:615-617.
262. Yavasoglu I, Kucuk M, Cildag B, Arslan E, Gok M, Kafkas S. A novel association between polycystic ovary syndrome and *Helicobacter pylori*. *Am J Med Sci* 2009;338:174-177.
263. Dufour C, Brisigotti M, Fabretti G, Luxardo P, Mori PG, Barabino A. *Helicobacter pylori* gastric infection and sideropenic refractory anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993;17:225-227.
264. Annibale B, Marignani M, Monarca B, Antonelli G, Marcheggiano A, Martino G, et al. Reversal of iron deficiency anemia after *Helicobacter pylori* eradication in patients with asymptomatic gastritis. *Ann Intern Med* 1999;131:668-672.
265. Ma JY, Borch K, Sjostrand SE, Janzon L, Mardh S. Positive correlation between H,K-adenosine triphosphatase autoantibodies and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with pernicious anemia. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:961-965.
266. Malik AA, Ganti AK, Potti A, Levitt R, Hanley JF. Role of *Helicobacter pylori* infection in the incidence and clinical course of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1371-1374.
267. Papadaki HA, Pontikoglou C, Stavroulaki E, Minadakis G, Eliopoulos DA, Pyrovolaki K, et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection and monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Ann Hematol* 2005;84:317-320.
268. Unal M, Ozturk I, Ozturk C, Kabal A. The seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with obstructive sleep apnoea: a preliminary study. *Clin Otolaryngol* 2003;28:100-102.
269. Tsang KW, Lam SK, Lam WK, Karlberg J, Wong BC, Hu WH, et al. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* in active bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1047-1051.
270. Roussos A, Philippou N, Gourgoulis KI. *Helicobacter pylori* infection and respiratory diseases: a review. *World J Gastroenterol* 2003;9:5-8.
271. Kountouras J, Gavalas E, Zavos C, Stergiopoulos C, Chatzopoulos D, Kapetanakis N, et al. Alzheimer's disease and *Helicobacter pylori* infection: Defective immune regulation and apoptosis as proposed common links. *Med Hypotheses* 2006.
272. Weller C, Oxlade N, Dobbs SM, Dobbs RJ, Charlett A, Bjarnason IT. Role of inflammation in gastrointestinal tract in aetiology and pathogenesis of idiopathic parkinsonism. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;44:129-135.
273. Gasbarrini A, De Luca A, Fiore G, Franceschi F, Ojetti VV, Torre ES, et al. Primary headache and *Helicobacter Pylori*. *International Journal of Angiology* 1998;7:310-312.
274. Kountouras J, Deretzi G, Zavos C, Karatzoglou P, Touloumis L, Nicolaidis T, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Eur J Neurol* 2005;12:139-143.
275. Chiba S, Sugiyama T, Yonekura K, Tanaka S, Matsuoto H, Fujii N, et al. An antibody to VacA of *Helicobacter pylori* in cerebrospinal fluid from patients with Guillain-Barre syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:76-78.
276. Kolho KL, Holta P, Alaluusua S, Lindahl H, Savilahti E, Rautelin H. Dental caries is common in Finnish children infected with *Helicobacter pylori*. *Scand J Infect Dis* 2001;33:815-817.
277. Butt AK, Khan AA, Bedi R. *Helicobacter pylori* in dental plaque of Pakistanis. *J Int Acad Periodontol* 1999;1:78-82.

278. Sacca SC, Pascotto A, Venturino GM, Prigione C, Mastromarino A, Baldi F, et al. Prevalence and treatment of *Helicobacter pylori* in patients with blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:501-508.
279. Giusti C. Association of *Helicobacter pylori* with central serous chorioretinopathy: hypotheses regarding pathogenesis. *Med Hypotheses* 2004;63:524-527.
280. Kountouras J, Mylopoulos N, Boura P, Bessas C, Chatzopoulos D, Venizelos J, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and glaucoma. *Ophthalmology* 2001;108:599-604.
281. Rubin JS, Benjamin E, Prior A, Lavy J, Ratcliffe P. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in benign laryngeal disorders. *J Voice* 2002;16:87-91.
282. Zhang JP, Peng ZH, Zhang J, Zhang XH, Zheng QY. *Helicobacter pylori* infection in the pharynx of patients with chronic pharyngitis detected with TDI-FP and modified Giemsa stain. *World J Gastroenterol* 2006;12:468-472.
283. Yilmaz MD, Aktepe O, Cetinkol Y, Altuntas A. Does *Helicobacter pylori* have role in development of otitis media with effusion? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69:745-749.
284. Koc C, Arikan OK, Atasoy P, Aksoy A. Prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with nasal polyps: a preliminary report. *Laryngoscope* 2004;114:1941-1944.
285. Morinaka S, Ichimiya M, Nakamura H. Detection of *Helicobacter pylori* in nasal and maxillary sinus specimens from patients with chronic sinusitis. *Laryngoscope* 2003;113:1557-1563.
286. Frank F, Stricker T, Stallmach T, Braegger CP. *Helicobacter pylori* infection in recurrent abdominal pain. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:424-427.
287. Malaty HM, Abudayyeh S, Graham DY, Gilger MA, Rabeneck L, O'Malley K. A prospective study for the association of *Helicobacter pylori* infection to a multi-dimensional measure for recurrent abdominal pain in children. *Helicobacter* 2006;11:250-257.
288. Eslick GD, Yan P, Xia HH, Murray H, Spurrett B, Talley NJ. Foetal intrauterine growth restrictions with *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1677-1682.
289. Pattison CP, Marshall BJ. Proposed link between *Helicobacter pylori* and sudden infant death syndrome. *Med Hypotheses* 1997;49:365-369.
290. Coelho LG, Leon-Barua R, Quigley EM. Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Latin-American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AIGE). *Am J Gastroenterol* 2000;95:2688-2691.
291. Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Jansen JB, Lamers CB, Nelis F, Snel P, et al. Long-term treatment with omeprazole for refractory reflux esophagitis: efficacy and safety. *Ann Intern Med* 1994;121:161-167.
292. Kimura K, Satoh K, Ido K, Taniguchi Y, Takimoto T, Takemoto T. Gastritis in the Japanese stomach. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;214:17-20; discussion 21-13.
293. Shibata A, Hamajima N, Ikehara Y, Saito T, Matsuo K, Katsuda N, et al. ABO blood type, Lewis and Secretor genotypes, and chronic atrophic gastritis: a cross-sectional study in Japan. *Gastric Cancer* 2003;6:8-16.
294. Quintero E, Pizarro MA, Rodrigo L, Pique JM, Lanas A, Ponce J, et al. Association of *Helicobacter pylori*-related distal gastric cancer with the HLA Class II Gene DQB10602 and cagA strains in a southern european population. *Helicobacter* 2005;10:12-21.
295. Simons E, Spacek LA, Lederman HM, Winkelstein JA. *Helicobacter cinaedi* bacteremia presenting as macules in an afebrile patient with X-linked agammaglobulinemia. *Infection* 2004;32:367-368.
296. Wiwanitkit V. *Helicobacter pylori* screening to prevent gastric cancer: an economical analysis for a tropical developing country. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010;11:571-572.
297. Nomura A, Stemmermann GN. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 1993;8:294-303.
298. Nobuta A, Asaka M, Sugiyama T, Kato M, Hige S, Takeda H, et al. *Helicobacter pylori* infection in two areas in Japan with different risks for gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20 Suppl 1:1-6.
299. Ferreccio C, Rollan A, Harris PR, Serrano C, Gederlini A, Margozzini P, et al. Gastric cancer is related to early *Helicobacter pylori* infection in a high-prevalence country. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:662-667.
300. Kato M, Asaka M. Recent knowledge of the relationship between *Helicobacter pylori* and gastric cancer and recent progress of gastroendoscopic diagnosis and treatment for gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2010;40:828-837.
301. Piñeros M, Ferlay J, Murillo R. Cancer incidence estimates at the national and district levels in Colombia. *Salud Publica Mex* 2006;48:455-465.
302. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:187-194.
303. Xie F, O'Reilly D, Ferrusi IL, Blackhouse G, Bowen JM, Tarride JE, et al. Illustrating economic evaluation of diagnostic technologies: comparing *Helicobacter pylori* screening strategies in prevention of gastric cancer in Canada. *J Am Coll Radiol* 2009;6:317-323.
304. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con <sup>13</sup>C-urea en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín* 1999;12:25-37.
305. Leivo T, Salomaa A, Kosunen TU, Tuominen R, Farkkila M, Linna M, et al. Cost-benefit analysis of *Helicobacter pylori* screening. *Health Policy* 2004;70:85-96.
306. McColl KE. Screening for early gastric cancer. *Gut* 2005;54:740-742.
307. Marshall BJ, Windsor HM. The relation of *Helicobacter pylori* to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical presentation, treatment, and prevention. *Med Clin North Am* 2005;89:313-344.



308. **Malfertheiner P, Fry LC, Monkemuller K.** Can gastric cancer be prevented by *Helicobacter pylori* eradication? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20:709-719.
309. **Leung WK.** *Helicobacter pylori* and gastric neoplasia. *Contrib Microbiol* 2006;13:66-80.
310. **Campuzano-Maya G, Hoyos-Castano D, Calvo-Be-tancur VD, Suarez-Ramirez OA, Lizcano-Cardona D, Rojas-Arbelaez CA.** Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2007;37:99-103.
311. **Hunt RH, Fallone CA, Thomson AB.** Canadian *Helicobacter pylori* Consensus Conference update: infections in adults. Canadian *Helicobacter Study* Group. *Can J Gastroenterol* 1999;13:213-217.
312. **Drumm B, Koletzko S, Oderda G.** *Helicobacter pylori* infection in children: a consensus statement. European Paediatric Task Force on *Helicobacter pylori*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:207-213.
313. **Casswall T.** European consensus on *Helicobacter pylori* infection in children. *Lakartidningen* 2001;98:1240-1242.
314. **Bourke B, Ceponis P, Chiba N, Czinn S, Ferraro R, Fischbach L, et al.** Canadian *Helicobacter Study* Group Consensus Conference: Update on the approach to *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents--an evidence-based evaluation. *Can J Gastroenterol* 2005;19:399-408.
315. **Hu FL, Hu PJ, Liu WZ, De Wang J, Lv NH, Xiao SD, et al.** Third Chinese National Consensus Report on the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Dig Dis* 2008;9:178-184.
316. **Lambert JR, Dev A.** Management of *Helicobacter pylori*. European and North American guidelines. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:653-654.
317. **Howden CW, Hunt RH.** Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. Ad Hoc Committee on Practice Parameters of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1998;93:2330-2338.
318. **Macarthur C, Jaakkimainen L.** Clinical practice guidelines and *Helicobacter pylori* infection in children. *Can J Gastroenterol* 1999;13:560-562.
319. **Peterson WL, Fendrick AM, Cave DR, Peura DA, Garabedian-Ruffalo SM, Laine L.** *Helicobacter pylori*-related disease: guidelines for testing and treatment. *Arch Intern Med* 2000;160:1285-1291.
320. **Fujioka T, Yoshiiwa A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K.** Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection in Japan: current status and future prospects. *J Gastroenterol* 2007;42 Suppl 17:3-6.
321. **Talley NJ, Vakili N, Delaney B, Marshall B, Bytzer P, Engstrand L, et al.** Management issues in dyspepsia: current consensus and controversies. *Scand J Gastroenterol* 2004;39:913-918.
322. **Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, et al.** Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24:1587-1600.
323. **Kishore R.** Radiolabeled microorganisms: comparison of different radioisotopic labels. *Rev Infect Dis* 1981;3:1179-1185.
324. **República de Colombia, Ministerio de Protección Social, Comisión de Regulación en Salud (CRES).** Acuerdo número 03 de 2009 (julio 30) por el cual se aclaran y se actualizan los planes obligatorios de salud de los regímenes contributivo y subsidiado. Bogotá, D.C. Colombia: 2009, p. 1-213.
325. **Logan RP, Dill S, Bauer FE, Walker MM, Hirschl AM, Gummert PA, et al.** The European <sup>13</sup>C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991;3:915-921.
326. **Czinn SJ.** *Helicobacter pylori* infection: detection, investigation, and management. *J Pediatr* 2005;146:S21-26.
327. **Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB.** Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med* 1998;129:547-550.
328. **Friedman SL.** Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:425-436.
329. **LimdiJK, HydeGM.** Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgraduate medical journal* 2003;79:307-312.
330. **Donnan PT, McLernon D, Steinke D, Ryder S, Roderrick P, Sullivan FM, et al.** Development of a decision support tool to facilitate primary care management of patients with abnormal liver function tests without clinically apparent liver disease [HTA03/38/02]. *Abnormal Liver Function Investigations Evaluation (ALFIE)*. *BMC health services research* 2007;7:54.
331. **Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD.** Liver biopsy. *Hepatology* 2009;49:1017-1044.
332. **Estep JM, Biredinc A, Younossi Z.** Non-invasive diagnostic tests for non-alcoholic fatty liver disease. *Current molecular medicine* 2010;10:166-172.
333. **Bravo AA, Sheth SG, Chopra S.** Liver biopsy. *The New England journal of medicine* 2001;344:495-500.
334. **Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al.** Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *The American journal of gastroenterology* 2002;97:2614-2618.
335. **Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al.** Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898-1906.
336. **de Meijer VE, Kalish BT, Puder M, Ijzermans JN.** Systematic review and meta-analysis of steatosis as a risk factor in major hepatic resection. *The British journal of surgery* 2010;97:1331-1339.
337. **Cross TJ, Rashid MM, Berry PA, Harrison PM.** The importance of steatosis in chronic hepatitis C infection and its management: A review. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2010;40:237-247.
338. **Albano E, Mottaran E, Occhino G, Reale E, Vidali M.** Review article: role of oxidative stress in the progression of non-alcoholic steatosis. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;22 Suppl 2:71-73.

339. **Lonardo A, Lombardini S, Ricchi M, Scaglioni F, Loria P.** Review article: hepatic steatosis and insulin resistance. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;22 Suppl 2:64-70.
340. **Adinolfi LE, Durante-Mangoni E, Zampino R, Ruggiero G.** Review article: hepatitis C virus-associated steatosis--pathogenic mechanisms and clinical implications. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;22 Suppl 2:52-55.
341. **Bugianesi E.** Review article: steatosis, the metabolic syndrome and cancer. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;22 Suppl 2:40-43.
342. **Perri F, Pastore M, Annese V, Andriulli A.** The aminopyrine breath test. *Ital J Gastroenterol* 1994;26:306-317.
343. **Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** *Manual de Codificación, Nomenclatura y Valores.* Medellín, Colombia: Edimeco S.A., 2008.
344. **Grattagliano I, Lauterburg BH, Palasciano G, Portincasa P.** <sup>13</sup>C-breath tests for clinical investigation of liver mitochondrial function. *Eur J Clin Invest* 2010;40:843-850.
345. **Utrecht JP, Ma HM, MacKnight E, McClelland R.** Oxidation of aminopyrine by hypochlorite to a reactive dication: possible implications for aminopyrine-induced agranulocytosis. *Chemical research in toxicology* 1995;8:226-233.
346. **Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Andreoli A, De Lorenzo A, Nista EC, et al.** Review article: breath testing for human liver function assessment. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2002;16:1977-1996.
347. **Nista EC, Fini I, Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Cazzato IA, et al.** <sup>13</sup>C-breath tests in the study of microsomal liver function. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004;8:33-46.
348. **Festi D, Capodicasa S, Vestito A, Mazzella G, Roda E, Vitacolonna E, et al.** Breath tests with stable isotopes: have they a role in liver transplantation? *European review for medical and pharmacological sciences* 2004;8:55-58.
349. **Perri F, Marras RM, Ricciardi R, Quitadamo M, Andriulli A.** <sup>13</sup>C-breath tests in hepatology (cytosolic liver function). *European review for medical and pharmacological sciences* 2004;8:47-49.
350. **Palmieri VO, Grattagliano I, Minerva F, Pollice S, Palasciano G, Portincasa P.** Liver function as assessed by breath tests in patients with hepatocellular carcinoma. *The Journal of surgical research* 2009;157:199-207.
351. **Kobayashi T, Imamura H, Takayama T, Makuuchi M.** The role of preoperative phenylalanine breath test in hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2003;50:1124-1127.
352. **Gallardo-Wong I, Moran S, Rodriguez-Leal G, Castaneda-Romero B, Mera R, Poo J, et al.** Prognostic value of <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test on predicting survival in patients with chronic liver failure. *World J Gastroenterol* 2007;13:4579-4585.
353. **Wensing G, Lotterer E, Ahlsdorf H, Kugler CF, Hahn EG, Fleig WE.** Relationship of the aminopyrine breath test and the Child-Pugh score to urinary sodium retention in patients with liver cirrhosis. *Z Gastroenterol* 1995;33:150-154.
354. **Merkel C, Morabito A, Sacerdoti D, Bolognesi M, Angeli P, Gatta A.** Updating prognosis of cirrhosis by Cox's regression model using Child-Pugh score and aminopyrine breath test as time-dependent covariates. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998;30:276-282.
355. **Degre D, Bourgeois N, Boon N, Le Moine O, Louis H, Donckier V, et al.** Aminopyrine breath test compared to the MELD and Child-Pugh scores for predicting mortality among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Transpl Int* 2004;17:31-38.
356. **Kalaitzakis E, Webster GJ.** Review article: autoimmune pancreatitis - management of an emerging disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2011;33:291-303.
357. **Chowdhury RS, Forsmark CE.** Review article: Pancreatic function testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:733-750.
358. **Dominguez-Munoz JE.** Pancreatic enzyme therapy for pancreatic exocrine insufficiency. *Curr Gastroenterol Rep* 2007;9:116-122.
359. **Manson WG, Coward WA, Harding M, Weaver LT.** Development of fat digestion in infancy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999;80:F183-187.
360. **Perri F, Andriulli A.** "Mixed" triglyceride breath test: methodological problems and clinical applications. *Rev Med Univ Navarra* 1998;42:99-103.
361. **De Boeck K, Delbeke I, Eggermont E, Veereman-Wauters G, Ghoos Y.** Lipid digestion in cystic fibrosis: comparison of conventional and high-lipase enzyme therapy using the mixed-triglyceride breath test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:408-411.
362. **Ghoos YF, Vantrappen GR, Rutgeerts PJ, Schurmans PC.** A mixed-triglyceride breath test for intraluminal fat digestive activity. *Digestion* 1981;22:239-247.
363. **Anania C, Pacifico L, Olivero G, Osborn JF, Bonaiuto E, Chiesa C.** Breath tests in pediatrics. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2008;397:1-12.
364. **Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** *Manual de Codificación, Nomenclatura y Valores.* Medellín, Colombia: Edimeco S.A., 2011.
365. **Rodríguez-Varón A, Zuleta J.** De la fisiología del vaciamiento gástrico al entendimiento de la gastroparesia. *Rev Col Gastroenterol* 2010;25:219-225.
366. **Meyer JH, MacGregor IL, Gueller R, Martin P, Cavalieri R.** <sup>99m</sup>Tc-tagged chicken liver as a marker of solid food in the human stomach. *The American journal of digestive diseases* 1976;21:296-304.
367. **Sanaka M, Nakada K, Nosaka C, Kuyama Y.** The Wagner-Nelson method makes the <sup>13</sup>C-breath test comparable to radioscintigraphy in measuring gastric emptying of a solid/liquid mixed meal in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34:641-644.
368. **Dickman R, Steinmetz A, Bernstine H, Groshar D, Niv Y.** A novel continuous breath test versus scintigraphy for gastric emptying rate measurement. *Journal of clinical gastroenterology* 2011;45:22-25.
369. **Masaoka T, Tack J.** Gastroparesis: current concepts and management. *Gut and liver* 2009;3:166-173.

370. Hofmann AF, Lauterburg BH. Breath test with isotopes of carbon: progress and potential. *J Lab Clin Med* 1977;90:405-411.
371. Swart GR, van den Berg JW. <sup>13</sup>C breath test in gastroenterological practice. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998;225:13-18.
372. Vantrappen G. Methods to study gastric emptying. *Digestive diseases and sciences* 1994;39:915-945.
373. Maes BD, Hiele MI, Geypens BJ, Rutgeerts PJ, Ghooys YF, Vantrappen G. Pharmacological modulation of gastric emptying rate of solids as measured by the carbon labelled octanoic acid breath test: influence of erythromycin and propantheline. *Gut* 1994;35:333-337.
374. Gonlachanvit S, Chey WD, Goodman KJ, Parkman HP. Effect of meal size and test duration on gastric emptying and gastric myoelectrical activity as determined with simultaneous <sup>13</sup>C-octanoate breath test and electrogastronomy in normal subjects using a muffin meal. *Dig Dis Sci* 2001;46:2643-2650.
375. van Nieuwenhoven MA, Wagenmakers AJ, Senden JM, Brouns F, Brummer RJ. Performance of the <sup>13</sup>C-acetate gastric emptying breath test during physical exercise. *Eur J Clin Invest* 1999;29:922-928.
376. Uchida M, Shimizu K. <sup>13</sup>C-acetic acid is more sensitive than <sup>13</sup>C-octanoic acid for evaluating gastric emptying of liquid enteral nutrient formula by breath test in conscious rats. *Biol Pharm Bull* 2007;30:487-489.
377. Jackson SJ, Leahy FE, McGowan AA, Bluck LJ, Coward WA, Jebb SA. Delayed gastric emptying in the obese: an assessment using the non-invasive <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. *Diabetes Obes Metab* 2004;6:264-270.
378. Bluck LJ, Jackson SJ, Vlasakakis G, Mander A. Bayesian Hierarchical Methods to Interpret the C-Octanoic Acid Breath Test for Gastric Emptying. *Digestion* 2011;83:96-107.
379. Tougas G, Chen Y, Coates G, Paterson W, Dallaire C, Pare P, et al. Standardization of a simplified scintigraphic methodology for the assessment of gastric emptying in a multicenter setting. *The American journal of gastroenterology* 2000;95:78-86.
380. Tanaka Y, Kato T, Nishida H, Yamada M, Koumura A, Sakurai T, et al. Is there a delayed gastric emptying of patients with early-stage, untreated Parkinson's disease? An analysis using the <sup>13</sup>C-acetate breath test. *Journal of neurology* 2011;258:421-426.
381. Chijiwa K, Imamura N, Ohuchida J, Hiyoshi M, Nagano M, Otani K, et al. Prospective randomized controlled study of gastric emptying assessed by <sup>13</sup>C-acetate breath test after pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy: comparison between antecolic and vertical retrocolic duodenojejunostomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009;16:49-55.
382. Katsube T, Konno S, Murayama M, Yoshimatsu K, Shiozawa S, Shimakawa T, et al. Gastric emptying after pylorus-preserving gastrectomy: assessment using the <sup>13</sup>C-acetic acid breath test. *Hepatogastroenterology* 2007;54:639-642.
383. Yamanaka H, Inamori M, Fujisawa N, Akimoto K, Akiyama T, Fujita K, et al. Two cases of pyloduodenal stenosis: the efficiency of gastric emptying evaluation using <sup>13</sup>C continuous breath test (BreathID System). *Digestion* 2006;74:238.
384. Okada T, Sasaki F, Asaka M, Kato M, Nakagawa M, Todo S. Delay of gastric emptying measured by <sup>13</sup>C-acetate breath test in neurologically impaired children with gastroesophageal reflux. *Eur J Pediatr Surg* 2005;15:77-81.
385. Graff J, Brinch K, Madsen JL. Simplified scintigraphic methods for measuring gastrointestinal transit times. *Clinical physiology* 2000;20:262-266.
386. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010;33 Suppl 1:S11-61.
387. Campuzano-Maya G, Latorre-Sierra G. La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. *Medicina & Laboratorio* 2010;16:211-241.
388. Standards of medical care in diabetes--2011. *Diabetes Care* 2011;34 Suppl 1:S11-61.
389. Welsh JD, Poley JR, Bhatia M, Stevenson DE. Intestinal disaccharidase activities in relation to age, race, and mucosal damage. *Gastroenterology* 1978;75:847-855.
390. Ogedegbe AE, Thomas DL, Diehl AM. Hyperlactaemia syndromes associated with HIV therapy. *Lancet Infect Dis* 2003;3:329-337.
391. Naguib FN, el Kouni MH, Cha S. Enzymes of uracil catabolism in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Res* 1985;45:5405-5412.
392. Lu Z, Zhang R, Carpenter JT, Diasio RB. Decreased dihydropyrimidine dehydrogenase activity in a population of patients with breast cancer: implication for 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1998;4:325-329.
393. Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Zoetekouw L, Van Gennip AH. High prevalence of the IVS14 + 1G>A mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene of patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity. *Pharmacogenetics* 2002;12:555-558.
394. Jassal MS, Nedelchev GG, Lee JH, Choi SW, Atudorei V, Sharp ZD, et al. <sup>13</sup>C-urea breath test as a novel point-of-care biomarker for tuberculosis treatment and diagnosis. *PLoS One* 2010;5:e12451.
395. Pawlicki SA, Hertz CS, Green RA. Urease activity of mycobacteria. *The American review of respiratory disease* 1963;87:284-285.
396. Steadham JE. Reliable urease test for identification of mycobacteria. *Journal of clinical microbiology* 1979;10:134-137.
397. Graham DY, Go MF, Evans DJ, Jr. Review article: urease, gastric ammonium/ammonia, and *Helicobacter pylori*--the past, the present, and recommendations for future research. *Aliment Pharmacol Ther* 1992;6:659-669.
398. Geboes KP, Bammens B, Luybaerts A, Malheiros R, Buyse J, Evenepoel P, et al. Validation of a new test meal for a protein digestion breath test in humans. *J Nutr* 2004;134:806-810.
399. Vonk RJ, Lin Y, Koetse HA, Huang C, Zeng G, Elzinga H, et al. Lactose (mal)digestion evaluated by the <sup>13</sup>C-lactose digestion test. *Eur J Clin Invest* 2000;30:140-146.