

Aplicaciones de las técnicas nucleares en la medicina: Examen de respiración del carbono 13 o 14 ($^{13}\text{O}^{14}\text{C}$)

Applications of the nuclear Techniques in medicine: $^{13}\text{O}^{14}\text{C}$ respiration tests

Alejandro Rivero Santamaría¹

¹Dr. Instituto de Nefrología "Dr. Abelardo Buch Lopez" Calle 26 y Boyeros. Plaza.
Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Los exámenes o tests de respiración del carbono 13 o 14 ($^{13}\text{O}^{14}\text{C}$) han sido aplicados para el estudio de procesos metabólicos y procesos infecciosos, pero la mayoría de ellos aun no han entrado en la etapa de la práctica clínica. En este trabajo daremos una panorámica acerca del presente y futuro de los tests de respiración y como estos están tomando y tomaran parte en el futuro en el diagnostico de forma no invasiva de diversas patologías.

Palabras clave: Test de respiración, carbono 14, carbono13, Técnicas nucleares, *Helicobacter pylori*.

SUMMARY

The ^{14}C or ^{13}C respiration tests have been applied to the study of metabolic and infectious processes, but most of them have not entered yet the clinical practice stage. In this paper, it is offered an overview of the present and future of respiration tests and how they are taking part and will take part in a future in the non-invasive diagnosis of diverse pathologies.

Keywords: Respiration tests, ^{14}C , ^{13}C , Nuclear Techniques, *Helicobacter pylori*.

INTRODUCCIÓN

Los tests de respiración son una herramienta muy útil para el estudio de procesos metabólicos.¹⁻³ La persona que va a ser estudiada debe ingerir cierta cantidad de algún compuesto marcado con ^{13}C o ^{14}C . Si el carbono es transformado en CO_2 y esta transformación es una medida de la actividad metabólica que se está estudiando es posible la caracterización de la cinética del proceso mediante la medición de la cantidad de ^{13}C o ^{14}C exhalado en forma de CO_2 .

Estos tests de respiración originalmente concebidos para realizarlos usando sustancias marcadas con ^{14}C , y la detección de CO_2 radiactivo a través de contadores de centelleo líquido se han ido desplazando hacia la utilización de ^{13}C , debido a normas de seguridad radiológica establecidas para niños y embarazadas que impiden el diagnóstico de casos debido a estas limitaciones.

La utilización de carbono (C) estable encareció notablemente la aplicación de la técnica pues hizo necesario la utilización de espectrómetros de masa para la detección del ^{13}C , equipos muy caros y adquiridos por Hospitales de países desarrollados. En la década del 90 sin embargo, fue desarrollado un sistema de detección a través de un espectrómetro infrarrojo, que hizo que esta técnica comenzara a estar al alcance de casi todos, debido a que los equipos que la desarrollan se han adaptado rápidamente a las necesidades hospitalarias y se han vuelto sumamente simples en su manipulación ([Figura. 1](#)).

Tipo de determinaciones

Los monosacáridos marcados con ^{13}C pueden ser usados para investigar la absorción y utilización de estos últimos y la biotransformación hepática microsomal.^{4,5} Algunos oligo- y polisacáridos son usados para estudiar sus hidrólisis y para el estudio de la función pancreática y la fibrosis quística.⁶ También algunos aminoácidos marcados son válidos para la investigación del catabolismo, para el control de la terapia dietética de la fenilketonuria, para la medición del vaciamiento gástrico, y para el estudio de la función hepática.^{7,8} La digestión y la absorción de proteínas han sido exploradas utilizando proteínas marcadas con ^{13}C . Ciertos ácidos carboxílicos marcados han sido usados en la medición del vaciamiento gástrico y en el estudio de procesos metabólicos del miocardio y esteatosis hepática.

El metabolismo de las grasas, especialmente la mala absorción⁹ es investigada usando lípidos marcados con ^{13}C . Algunos derivados del ácido carbónico son usados en la determinación del tiempo de tránsito gastrointestinal.

El uso más extendido de este tipo de Test sin embargo no tiene que ver con el metabolismo humano sino con el metabolismo de la bacteria *Helicobacter pylori*. El test de Urea marcada con ^{13}C es considerado el patrón de oro para el diagnóstico de infección por esta bacteria.¹⁰ A continuación presentamos una tabla con el resumen de las principales pruebas que son usadas actualmente empleando esta técnica. ([tabla1](#))

Tipos de detección empleados

Centelleo Líquido: Por lo general la Actividad de ^{14}C ingerida es de alrededor de unos 200 kBq (5 μCi). Las muestras de aire exhalado son colectadas por duplicado en un vial de vidrio que contiene 0.5 mL de Soluene-350, 1.5 mL de etanol y fenoftaleina como indicadores de pH. Posteriormente, son añadidos, 10 mL de Insta-Gel XF a todas las muestras. Se preparan 2 muestras estándar en las mismas condiciones.

Las muestras de aire expirado son contadas durante 10 min en un contador de centelleo líquido. Los resultados son expresados según:¹¹

$$[\text{dpm colectadas} \times 100 \times \text{peso corporal (Kg)}] / [\text{dpm administrada} \times \text{mmol CO}_2 \text{ colectado}].$$

Espectrometría de masa: La espectroscopia de masa de proporción isotópica es utilizada para la medición de isótopos estables. Se basa en el principio que dos iones de diferente masa pueden ser separados en un campo magnético fuerte, el más pesado de ellos será menos desviado respecto al más ligero. La medición de la proporción de las masa 45 con respecto a la masa 44 es usada para determinar el enriquecimiento de ^{13}C con respecto al ^{12}C . El enriquecimiento de la muestra es usualmente comparado con estándares internacionales (PDB) y la diferencia entre la muestra y el estándar es expresada en *delta* (δ) por mil (‰).

El principio del cálculo de δ es común y aceptable para expresar el ^{13}C recuperado en la muestra de aire, para intervalos de tiempo fijos después de la ingestión del sustrato marcado. Esto nos da una tasa de aparición del ^{13}C en el aire, y el tiempo del pico de excreción. Sin embargo, para medir la proporción del sustrato suministrado que está siendo digerido, la manera usual es expresar el resultado como el porcentaje de ^{13}C recuperado (PDR) en el tiempo.

Sin embargo la operación de los espectrómetros de masa requiere de una gran calidad de vacío y niveles extremadamente bajos de impurezas en el gas (CO_2) en las muestras de aire. Esto hace necesario el empleo de la cromatografía gaseosa, para la purificación de las muestras lo que encarece mucho más el proceso. La complejidad de este tipo de determinación provoca que por lo general estos análisis se hagan en equipos asociados a universidades o a centros de investigación, y que la manipulación de los equipos deba ser llevada a cabo por personal calificado en esta rama específica del análisis cromatográfico.

Espectrometría Infrarroja: El desarrollo en la primera mitad de la década del 90 de un método basado en espectrometría infrarroja para la determinación de la fracción de $^{13}\text{CO}_2$ en las muestras de aire, provocó una explosión en el uso de este tipo de técnicas debido al abaratamiento de las determinaciones.

La técnica en cuestión se basa en el principio del alternamiento rotación-vibración de los isótopos de C en la molécula de CO_2 lo que hace surgir una señal diferencial en el espectro infrarrojo de una mezcla de $^{13}\text{CO}_2$ y $^{12}\text{CO}_2$ lo que permite su uso en aplicaciones biomédicas.^{12,13}

El $^{13}\text{CO}_2$ y el $^{12}\text{CO}_2$ difieren en su absorción ante la luz infrarroja debido a la vibración asimétrica que se produce en la molécula lineal de CO_2 . Además ningún gas presente en el aire expirado absorbe cerca de la longitud de onda de este tipo de vibración ($2240\text{-}2290\text{ cm}^{-1}$), lo que no hace necesario la purificación gaseosa.

(Figura. 2)

La espectroscopia IR-diodo láser, la espectroscopia IR transformada de Fourier, y la espectroscopia IR no dispersiva han sido aplicadas para determinar la proporción $^{13}\text{CO}_2$, $^{12}\text{CO}_2$, en muestras de aire con excelentes resultados.^{14,15}

Evaluación de las técnicas de respiración con sustancias marcadas con ^{13}C

En el año 2002 fue publicado un estudio¹⁶ dirigido a la evaluación de los tests de respiración existentes. Estos fueron evaluados respecto a 3 parámetros: importancia, costo y sensibilidad. Estos criterios fueron evaluados numéricamente, buscando lo atractivo de la técnica, la sensibilidad, la especificidad, la velocidad, el precio del substrato a utilizar, el número de muestras colectadas para el análisis, y la actualidad. A cada uno de los 7 parámetros le fue asignado un valor numérico siguiendo el siguiente criterio, 2= favorable, 1= satisfactorio, 0= no favorable, la suma de estos valores fue tomada como la valía total de la prueba de respiración usando un substrato marcado con ¹³C. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: ([tabla 2](#))

Estos resultados indicaron que gran parte de estos tests pueden ser llevados a las prácticas clínicas de inmediato de manera tal que en un futuro no lejano la batería de diagnóstico de test de respiración pudiera quedar de esta manera: ([tabla 3](#))

Como es posible apreciar, en gran parte de las ramas de la medicina será posible el empleo de estos métodos, logrando así mejorar la calidad de vida del paciente, pues las pruebas dejarán de ser invasivas y disminuirá el tiempo en que se obtiene el resultado.

Técnicas de respiración mas usada en nuestros días en la práctica clínica rutinaria

Determinación de infecciones por *Helicobacter pylori*: En gran parte del pasado siglo, las opiniones médicas favorecían el dictamen, no acidez, no ulcera. Esto hacia que todos los tratamientos terapéuticos estuvieran dirigidos a remover o suprimir cualquier secreción de exceso de ácidos gástricos, con limitado éxito la mayoría de las veces.

En 1984, Marshall y col ^{17,18} demostraron que un organismo que ellos identificaron en principio como un *Campylobacter*, posteriormente identificado como una *Helicobacter* era total o parcialmente responsable del desarrollo de las úlceras gástricas o duodenales.

Este organismo espiral fue nombrado *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*). Por lo tanto la terapia con antibióticos (solos o en conjunción con supresores de acidez) fue establecida para erradicar la infección, con espectaculares resultados de mejoría en la mayoría de los pacientes. ^{19, 20}

Métodos para la detección de infección por *H. Pylori*: La obtención de cultivos del organismo para el diagnóstico de la patología a través de biopsias gástricas, es extremadamente complicado y no es aplicable como método rutinario. Sin embargo las pruebas de infecciones por *H. pylori* fueron originalmente realizadas usando técnicas rutinarias de biopsias gástricas y duodenales obtenidas mediante endoscopia. Sin embargo la sensibilidad de este método ha sido reportada inferior al 85 %. La *H. pylori* tiende a colonizar la mucosa gástrica de forma irregular, por lo que son necesarias múltiples biopsias, para su detección. Un método más simple de biopsia fue desarrollado, la prueba de CLO (*Campylobacter Like Organism*), en la cual la muestra es colocada en una placa de microscopio e inmovilizada con un gel de Urea y un indicador. La actividad de la ureasa en este organismo destruye la estructura de la Urea causando una variación de pH la cual es registrada mediante un cambio de color en la muestra. A pesar de la simplicidad de esta técnica, el principal problema es la obtención de las muestras que sigue siendo a través de biopsia, además la supresión de ácidos, la atrofia gástrica y la contaminación de las muestras con bilis pueden provocar la obtención de falsos positivos. En pacientes infectados, el organismo degrada la urea a amoníaco y el conteo de

$^{14}\text{CO}_2$ o $^{13}\text{CO}_2$ aumenta en las muestras de aire recolectado. En los pacientes no infectados, no ocurre el rompimiento de la urea marcada, la cual es excretada en orina casi en su totalidad según se muestra en la [Figura. 3](#).

La significativa ventaja de este tipo de test esta en el hecho de que no constituye una técnica invasiva, es capaz de detectar la infección en cualquier parte del estomago pues no depende de la obtención de una muestra discreta. Además la ureasa producida por otros organismos como las Proteus y la Klebsiella es despreciable y es raramente encontrada en el estomago y por tanto no representa problema en el diagnostico certero de la patología.

CONCLUSIONES

La información recogida en esta revisión nos lleva a pensar que gran parte de estos test van a formar parte en muy corto plazo de los diagnósticos clínicos rutinarios, la aparición de la alternativa de la espectrometría infrarroja para la medición de el $^{13}\text{CO}_2$ ha permitido que esta técnica abandonara las universidades y grandes centros de investigación para convertirse en una opción fiable y necesaria en los servicios hospitalarios de todo el mundo.

El ser procedimientos no invasivos, su rapidez, y la fiabilidad de los métodos nucleares hacen que en la actualidad la aplicación de estas técnicas estén presentes en la mayor parte de los diagnósticos de las patologías médicas existentes.

Estas técnicas solo dependen de la obtención de nuevos substratos que al ser marcados pueden informarnos a nivel fisiológico y metabólico el funcionamiento de nuestro cuerpo. La medicina molecular ha dejado de ser un sueño, para convertirse en una realidad.

Agradecimientos

Al Dr. Manuel Hernández Triana, del Centro Nacional de Higiene de los Alimentos, por la valiosa ayuda prestada para la realización de esta revisión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roth E. Critical evaluation of the use and analysis of stable isotopes. Pure Appl Chem 1997;69:1753–1828.
2. Chai ZF. Introduction to activation analysis. (in Chinese) Beijing: Atomic Energy Press, 1980.
3. Chai ZF. Applications of neutron activation analysis in environmental science, biology and geoscience. Beijing: Atomic Energy Press, 1992.
4. Irving CS. Schoeller DA. Nakaura K. Baker AL. Klein PO. The aminopyrine breath test as measure of liver function. J Lab Clin Med 1982: 100:356-73.

5. Renner E, Welholtz H, Huguenm P, amud MJ, Preisig R. Caffeine. A model compound for measuring liver function. *Hepatology* 1984; 4:38-46.
6. Vantrappen GR, Rutgeers PJ, Ghos Y, Hiele MI. Mixed triglycine bresth test a noninvasive test of pancreatic lipase activity in duodenum. *Gastroenterology* 1989;96: 1 125-34.
7. Ghos Y, Macs B, Geypens 8. Measurement of gastric emptying rate solids by means of carbon labeled octanoic acid breath test. *Gastroenterology* 1993: 104:1640-7.
8. Maes B, Ghos Y, Geypens BJ et al. Combined carbon 13-glycine/carbon-14-octanoic acid breath test to monitor gastric emptying rates of liquids and solids. *JNuclMed* 1994: 35:824-31.
9. Watkins JB, Schoeller DA, Klein PD, On DG, Newcomer AD, Hofmann AF. Trioctanon. A nonradiative breath test to detect malabsorption. *J Lab C Med* 1977; 70:422-9.
10. Graham KS, Graham DY. Contemporary diagnosis and management of *Helicobacter pylori* associated gastrointestinal diseases. Newtown, Penn., USA: Handbooks in Health Care Co., 1998.
11. Marshall B. J and Surveyor I. Carbon-14 breath test for the diagnosis of *Capylobacter pyroli* associated gastritis. *J Nucl Med* 29, 11-16. 1988.
12. Irving Cs Measuremnet of $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ abundance by nondispersive infrared heterodyne ratiometry as alternative to gas isotope ratios mass spectrometry. *AnalChem* 1975: 53: 2172-8.
13. Murnick DE, Peer BJ. Laser-based analysis of carton isotope ratios. *Science* 1994:263:945-7.
14. Haish M, Hering P, Fuk W, Fabinsky W. A sensitive isotope selective nondispersive infrared spectrometer for $^{13}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ concentration measurements breath samples. *Isotonopenpraxis. Eviron Health Stud* 1994: 30:247-51.
15. Haish M, Hering P. Biomedical applications of an isotope selectine nondispersive infrared spectrometer for $^{13}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ concentration measurements breath samples. *Isotonopenpraxis. Eviron Health Stud* 1994: 30:253-7.
16. H Fischer, K Wetzal. The future of ^{13}C -breath tests. *Food and Nutrition Bulletin*, vol. 23, no. 3. 2002.
17. Marshall B.J., Royce H., Annear D.I. et al. 1984. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbiol. Lett.* 25:83-88.
18. Marshall B.J., Warren J.R. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* i:1311-4.
19. Sung J.J., Chung S.C., Ling T.K.W. et al. 1995. Antibacterial treatment of gastric ulcers associated with *Helicobacter pylori*. *NEJM* 332(3):139-42.
20. Mendall M.A., Northfield T.C. 1995. Transmission of *Helicobacter pylori*. *Gut* 37:30-34.

Recibido: 18 de septiembre del 2007.
Aprobado: 29 de septiembre del 2007.

Dr. Alejandro Rivero Santamaría. Instituto de Nefrología "Dr. Abelardo Buch Lopez"
Calle 26 y Boyeros. Plaza. Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico:
mninef@infomed.sld.cu

Figura. 1. FAN Espectrómetro Infrarrojo no dispersivo usado en los test de respiración de ^{13}C .



Tabla 1

13 o 14 C-substrato	Implicación en el metabolismo
Monosacáridos	Absorción y utilización; Transformación hepática microsomal..
Oligo- y Polisacáridos.	Hidrólisis de oligo- y polisacáridos; función pancreática); Fibrosis quística.
Aminoácidos	Catabolismo de los aminoácidos; Terapia dietética de la fenilketonuria (leucina); Vaciamiento gástrico (glicina); función hepática (fenilalanina)
Proteínas	Digestión y reabsorción de proteínas
Ácidos carboxílicos	Tiempo de Vaciamiento gástrico (acetato, ácido octanoico); estudio del metabolismo del miocardio; esteatosis hepática
Lípidos	Metabolismo de las grasas, especialmente mala absorción de grasas.
Ácido Carbónico y derivados	Evidencia de infección de <i>Helicobacter pylori</i> (urea; gastrointestinal/ intestinal/orocecal tiempo de tránsito)
Varios (metacetin, aminopirina, cafeína, etc.)	Transformación hepática microsomal.

Figura 2. Ilustración esquemática de la sensibilidad en la vibración asimétrica isotópica en la molécula de CO₂. El C mas pesado ¹³C vibrara con una menor frecuencia causando una diferencia con el Carbono menos pesado ¹²C de aproximadamente 66 cm⁻¹ con lo cual es posible apreciar la separación de las bandas vibracionales del ¹³CO₂ y el ¹²CO₂.

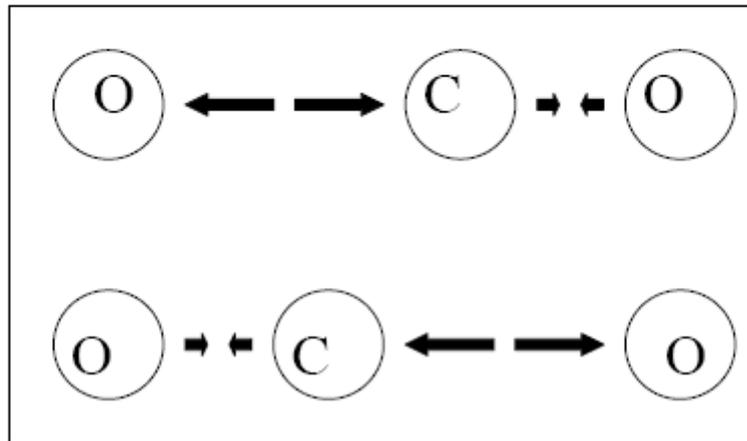


Tabla 2

Substrato	Importancia	Costo	Exactitud	Valor Total
Urea	5	2	6	13
Aminopirina	6	2	5	13
Galactosa	6	2	5	13
Acetato	5	2	5	12
Ácido octanoico	6	1	4	11
Cafeína	5	2	4	11
Fenilalanina	4	2	5	11
Trioctanoín	5	1	4	10
Glucosa	5	2	3	10
Lactosa	6	2	2	10
Trioleín	6	2	1	9
Triglicéridos	6	1	2	9
Corn starch	6	1	2	9
Lactosa ureide	6	2	1	9
Hioleín	6	2	0	8
Bicarbonato	3	1	4	8
Acido Palmítico	4	1	3	8
Tripalmitín	6	1	1	8
Etanol	2	1	5	8
Acido Ketoisocaproico	3	0	5	8
Proteína-materia	4	1	3	8
Fructuosa	4	1	3	8
Xylose	4	2	2	8

Tabla 3

Substrato	Capacidad de diagnostico
Dolencias gástricas y del duodeno	
Ácido octanoico	Vaciamiento gástrico de sólidos
Acetato Urea	Vaciamiento gástrico de líquidos y infección por <i>Helicobacter pylori</i>
Dolencias Pancreaticas.	
Trioctanoín	Metabolismo de las grasas; fibrosis cística; steatorrhea
Dolencias del Hígado	
Aminopirina, Cafeína	Actividad de las monooxigenasa microsomales en la biotransformación microsomal hepática.
Galactosa, Glucosa, Fenilalanina	Fibrosis del Hígado en Hepatitis B crónica, absorción de la glucosa y utilización, especialmente en niños con diabetes mellitas, capacidad funcional de los Hepatocitos, actividad de la enzimas citosolicas.
Dolencias Intestinales	
Lactosa	Deficiencia de Lactosa; asimilación de lactosa.

Figura.3 Secuencia operacional del test de ¹⁴C-Urea

