

# Prueba de aliento con $^{13}\text{C}$ -metacetina en el diagnóstico y manejo de las enfermedades hepáticas

Breath tests with  $^{13}\text{C}$ -methacetin in the diagnosis and management of liver disease

Germán Campuzano-Maya<sup>1</sup>

*“El hígado es un noble eslabón que forma parte de muchas cadenas, por lo cual es también la causa de muchas enfermedades” Paracelso (1490-1541)*

**Resumen:** una prueba diagnóstica, incluidas las del laboratorio clínico, las de patología y las de radiología en sus múltiples aplicaciones, es de utilidad clínica cuando su desempeño analítico alcanza indicadores de precisión y exactitud ideales, es decir, lo más cercano al 100%, cuando se utiliza en el diagnóstico, clasificación y manejo de un grupo de enfermedades para las cuales se ha diseñado. En el caso de las enfermedades hepáticas, ninguna de estas pruebas, hasta el momento disponibles, logra este objetivo e incluso están lejos de alcanzarlo, aun cuando son críticas en el diagnóstico y manejo de estas enfermedades. Con el descubrimiento de que el estómago podía ser colonizado con una bacteria, hoy denominada *Helicobacter pylori*, y el desarrollo posterior de la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -urea), múltiples pruebas de aliento han sido desarrolladas con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , siendo la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina la más representativa para determinar la función hepática por esta metodología. En este módulo se presenta la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina como una nueva alternativa, no invasiva, para el estudio de la función hepática en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades del hígado. Además, se presentan los fundamentos de la prueba, los métodos para realizarla, la interpretación de los resultados, las limitaciones y las indicaciones de la misma.

**Palabras clave:**  $^{13}\text{C}$ -metacetina, pruebas de aliento con  $^{13}\text{C}$ , pruebas funcionales del hígado

**Abstract:** A diagnostic test, including those of clinical laboratory, pathology and radiology, in its many applications, it is clinically useful when their analytical performance achieves ideal accuracy indicators, namely as close to 100%, when it used in diagnosis, classification and management of a group of diseases for which it is designed. In the case of liver disease, none of these tests so far available, achieves this goal and are far from reaching it, even though they are critical to diagnosis and management of these diseases. With the discovery that the stomach could be colonized with bacteria,

<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: gcm@ch.co.

Conflicto de intereses: no tiene conflicto de intereses.

Medicina & Laboratorio 2015; 17: 413-430.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 112. Editora Médica Colombiana S.A., 2015®

Recibido el 24 de septiembre de 2015; aceptado el 24 de octubre de 2015.

now called *Helicobacter pylori*, and the subsequent development of the carbon  $^{13}\text{C}$ -labeled urea ( $^{13}\text{C}$ -urea) breath test, different breath tests have been developed with  $^{13}\text{C}$  labeled substrates, being the  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test the most representative to determine liver function by this methodology. In this module is presents the  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test as a new alternative, non-invasive, for the study of liver function in the diagnosis and monitoring of liver diseases. In addition, are describing the basics of test methods to perform it, the interpretation of results, limitations, and indications of it.

**Keywords:**  $^{13}\text{C}$ -methacetin,  $^{13}\text{C}$  breath tests, liver function tests

Una prueba de diagnóstico, incluidas las del laboratorio clínico, las de patología y las de radiología en sus múltiples aplicaciones, es de utilidad clínica cuando su desempeño analítico alcanza indicadores de precisión y exactitud ideales, eso es, lo más cercano al 100%, cuando se utiliza en el diagnóstico, clasificación y manejo de un grupo de enfermedades para las se ha diseñado. En el caso de las enfermedades hepáticas, ninguna de estas pruebas, hasta el momento disponibles, logra este objetivo [1-5] e incluso están lejos de alcanzarlo, aun cuando ellas son críticas en el diagnóstico y manejo de estas enfermedades [6]. En las dos últimas décadas, gracias en gran parte al conocimiento derivado del diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, donde la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -urea) se ha convertido en el «estándar de referencia» de las pruebas no invasivas [7-9], se ha venido explorando, con éxito y gran expectativa, esta nueva tecnología en el diagnóstico y manejo de los pacientes con enfermedades del hígado, como se analizará en el curso de este módulo.

El objetivo de este módulo es analizar, en general, las pruebas de aliento con sustratos marcados con carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ) y, en particular, la prueba de aliento con metacetina marcada con  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$ -metacetina) como una nueva herramienta de utilidad clínica en el diagnóstico y manejo de las enfermedades hepáticas. Se analizarán los aspectos generales sobre los cuales se fundamentan las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , se describirán los protocolos para la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina, así como la interpretación de los resultados, las indicaciones y limitaciones de la prueba, entre otros aspectos. Este módulo es el resultado de una revisión exhaustiva de la literatura médica mundial sobre esta prueba disponible en PubMed y de la experiencia local con las pruebas de aliento en general, especialmente con la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -urea para el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [8, 10-13] y la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina, que se viene realizando desde 2008 [14] como una nueva opción en el diagnóstico y manejo de las enfermedades del hígado [15, 16].

## Historia de las pruebas de aliento en el diagnóstico y manejo de las enfermedades hepáticas

Las pruebas de aliento con isótopos, inicialmente con isótopos radiactivos y más recientemente con isótopos naturales o no radiactivos, no son nuevas, tanto en la investigación como en la clínica. Estas se remontan a 1924 cuando Luck descubrió la ureasa y la hidrólisis de la urea en perros y otros animales [17] y a 1954 cuando Komberg y colaboradores describieron una prueba de aliento con urea marcada con carbono 14 ( $^{14}\text{C}$ -urea), que les permitió establecer el origen de la ureasa gástrica [18] muchos años antes de que se descubriese, en 1983, que el

estómago podía ser colonizado por una bacteria [19] productora de ureasa [20] y más adelante denominada *Helicobacter pylori* [21]. Esta tecnología se retomó y se incorporó a la práctica médica a partir de 1987 cuando Graham y colaboradores desarrollaron la primera prueba de aliento para el diagnóstico y manejo de la infección recién descubierta [22], de la cual, además de haberse constituido en el «estándar de referencia» de las pruebas no invasivas en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [7-9], existen más de un centenar de variaciones de la prueba original que se utilizan en la clínica en todo el mundo [7], incluida la versión optimizada, desarrollada en el medio [8, 23].

Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , además de su aplicación en las enfermedades del estómago y del hígado, también han encontrado campo de utilidad clínica en el estudio de las enfermedades del páncreas [24-27], las alteraciones del funcionamiento del estómago y el vaciamiento gástrico (gastroparesia) [28-30], del tiempo de tránsito orocecal [31], del sobrecrecimiento bacteriano (SIBO) [32], de las enfermedades metabólicas, como la intolerancia a la lactosa [33-35] y la intolerancia a la sucrosa [36], y en enfermedades endocrinas como la diabetes [37] y la resistencia a la insulina [38, 39]. Además, se espera que con los próximos años no solo aumente su demanda, sino que se disponga de más sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  con nuevas indicaciones [40-42], como podría ser el diagnóstico y seguimiento de la tuberculosis [43-45], utilizando  $^{13}\text{C}$ -urea como trazador, ya que el bacilo de Koch es productor de ureasa [46, 47].

## Fundamento de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con $^{13}\text{C}$ en general y en hepatología en particular

El principio sobre el cual se fundamentan las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  es común para todas ellas. La prueba se fundamenta en reconocer una determinada reacción bioquímica, idealmente única, que como producto final libere  $\text{CO}_2$ , que en todos los casos se va a eliminar por los pulmones [16, 48, 49]. Como un ejemplo clásico está la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea para la detección de *Helicobacter pylori*: la bacteria para sobrevivir en la cavidad que le es hostil, debido al ambiente ácido (pH 1,5 a 3,5) que naturalmente tiene, debe acondicionar su nicho biológico alcalizándolo [50] y para lograrlo utiliza la ureasa que convierte pequeñas cantidades de urea, de la dieta, en amonio y  $\text{CO}_2$ . El amonio crea lo que se conoce como «nube de amonio», que eleva significativamente el pH del moco gástrico (pH ~ 7) como lo requiere la bacteria, y el  $\text{CO}_2$ , que es eliminado a través de la respiración, de donde se obtienen las muestras para estudio.

En el caso de las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como los que se relacionan en la [tabla 1](#), son varias las reacciones bioquímicas conocidas que a nivel del hígado cumplen con las condiciones ideales para desarrollar sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ . En la [figura 1](#) se esquematizan las reacciones bioquímicas que son el fundamento de las principales pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  utilizadas para el estudio de la función hepática, en razón a los diferentes sustratos utilizados [16].

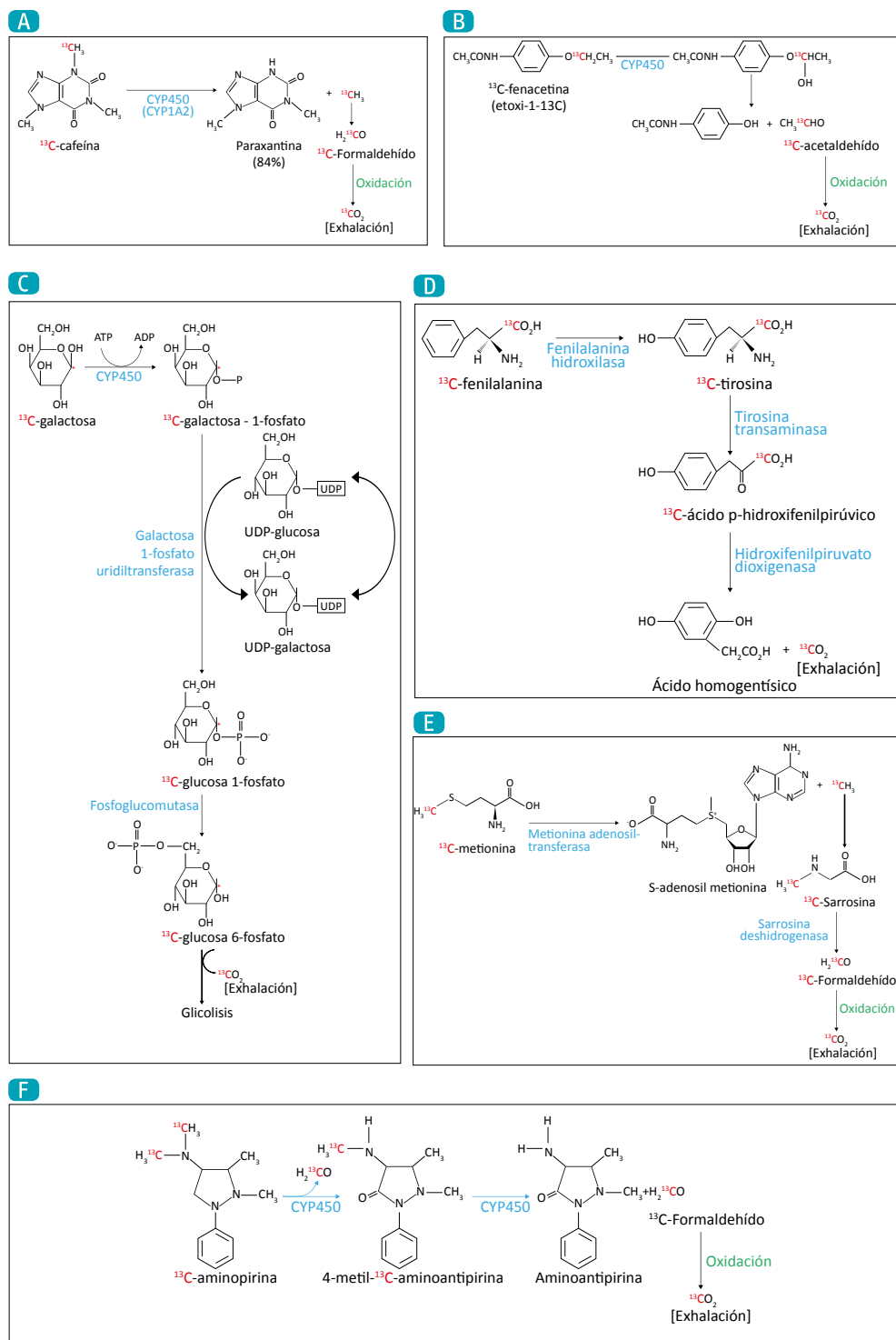


Figura 1. Principales sustratos utilizados en las pruebas de aliento basados en  $^{13}\text{C}$ , de acuerdo con sus respectivas reacciones bioquímicas, en el estudio de la función hepática. A.  $^{13}\text{C}$ -cafeína, B.  $^{13}\text{C}$ -fenacetina, C.  $^{13}\text{C}$ -galactosa, D.  $^{13}\text{C}$ -fenilalanina, E.  $^{13}\text{C}$ -metionina, F.  $^{13}\text{C}$ -aminopirina.

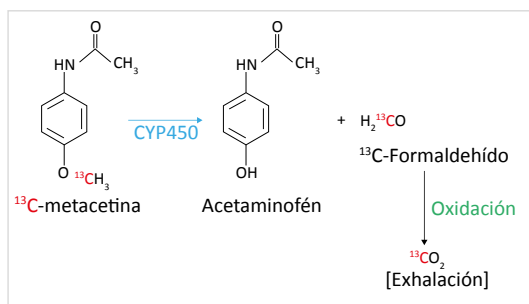
## Fundamento de la prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina

De todas las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  para el diagnóstico y manejo de las enfermedades hepáticas descritas, se presenta la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina, que además de ser una de las más estudiada hasta el momento [51-80], está disponible en el medio [14] y hay experiencia local en su uso.

La prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina se fundamenta en el conocimiento de que la metacetina, una sustancia exógena, se metaboliza en el hígado por la enzima microsomal citocromo P450 1A2 (CYP1A2) a una tasa que es proporcional a la integridad de la función hepática, que a su vez es dependiente de la integridad celular del hepatocito [15, 138], con una reacción bioquímica como se esquematiza en la figura 2. Como se observa en la citada figura, la  $^{13}\text{C}$ -metacetina, una vez que llega al hígado es metabolizada por el citocromo P450 a acetaminofén y  $^{13}\text{C}$ -formaldehído, que mediante unos pasos rápidos, enzimáticos, es convertido en  $^{13}\text{CO}_2$ , que es eliminado por la respiración, de donde se obtienen las muestras para estudio [16].

**Tabla 1. Principales sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , ordenados alfabéticamente, utilizados para evaluar la función hepática mediante pruebas de aliento**

Sustrato	Bibliografía
$^{13}\text{C}$ fenilalanina	[58, 65, 81-94]
$^{13}\text{C}$ -aminopirina	[92, 95-108]
$^{13}\text{C}$ -cafeína	[99, 109-114]
$^{13}\text{C}$ -fenacetina	[115, 116]
$^{13}\text{C}$ -galactosa	[66, 96, 102, 117-121]
$^{13}\text{C}$ -metacetina	[51-80, 122]
$^{13}\text{C}$ -metionina	[74, 123-137]



**Figura 2.** Metabolismo hepático de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina.

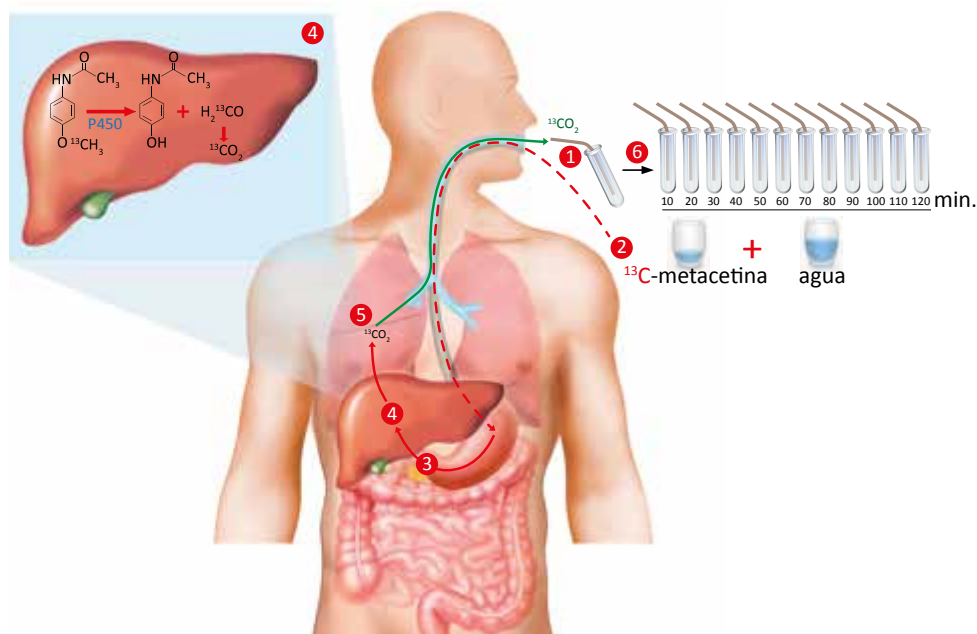
## Procedimiento de la prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina

Gracias al gran número de estudios con la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina en la práctica clínica se han perfilado dos tipos de pruebas: la prueba estándar y la prueba optimizada, como se analizará a continuación.

### Prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina estándar

Como se muestra en la figura 3, muy similar a la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -urea original en el caso de la infección por *Helicobacter pylori* [22], en la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina el paciente, previo ayuno de 12 horas, ingiere 75 mg de  $^{13}\text{C}$ -metacetina disuelta en una pequeña cantidad de agua (10 mL), seguida de 150 a 200 mL de agua para que «barra» los restos de sustrato que pudiesen haber quedado en la cavidad oral y dar mayor volumen para que el sustrato se disuelva mejor en la cavidad gástrica. La  $^{13}\text{C}$ -metacetina se absorbe rápidamente en el duodeno

y por vía sanguínea llega al hígado en donde se produce la reacción bioquímica antes citada. Como se ha expresado, como resultado de esta interacción bioquímica entre el sustrato y el citocromo P450 se produce acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ , que es eliminado a través de los procesos biológicos de la respiración, siendo posible detectarlo rápidamente en muestras de aliento y analizarlos con la ayuda de un espectrómetro de masas de relación isotópica, un instrumento de alta tecnología, como el que se muestra en la [figura 4](#).



**Figura 3.** Prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina estándar. 1. Toma de muestra basal (T0); 2. Ingestión de 75 mg de  $^{13}\text{C}$ -metacetina disuelta en 10 mL de agua, seguida de la ingesta de 150 mL de agua; 3. Absorción de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina a nivel del duodeno; 4. Metabolismo hepático por el citocromo P450 de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina que da como resultado final acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ ; 5. El  $^{13}\text{CO}_2$  del pulmón sale vía respiratoria. 6. Toma de muestras (T1-T12) posmetacetina en los momentos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 y 120 minutos.

De acuerdo con el protocolo estándar se toman muestras posmetacetina cada 10 minutos durante dos horas a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 y 120 minutos, para un total de 12 muestras (T1-T12): una muestra (basal) antes de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina y 12 muestras posmetacetina (véase [figura 3](#)). Con la ayuda del espectrómetro de masas de relación isotópica se determina la cantidad de  $^{13}\text{CO}_2$  y  $^{12}\text{CO}_2$  en cada muestra, que se expresa en una relación conocida como  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , y con los resultados obtenidos en cada una de las muestras se procede a graficarlos para obtener curvas como se analizará más adelante.

## Prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada

Como en el caso de la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina estándar, en la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada, como se muestra en la [figura 5](#), el paciente, previo ayuno de 12 horas, ingiere 75 mg de  $^{13}\text{C}$ -metacetina disuelta en una pequeña cantidad de agua (10 mL), seguida de 150 a 200 mL para barrer los restos del sustrato que pudiesen haber quedado en la cavi-

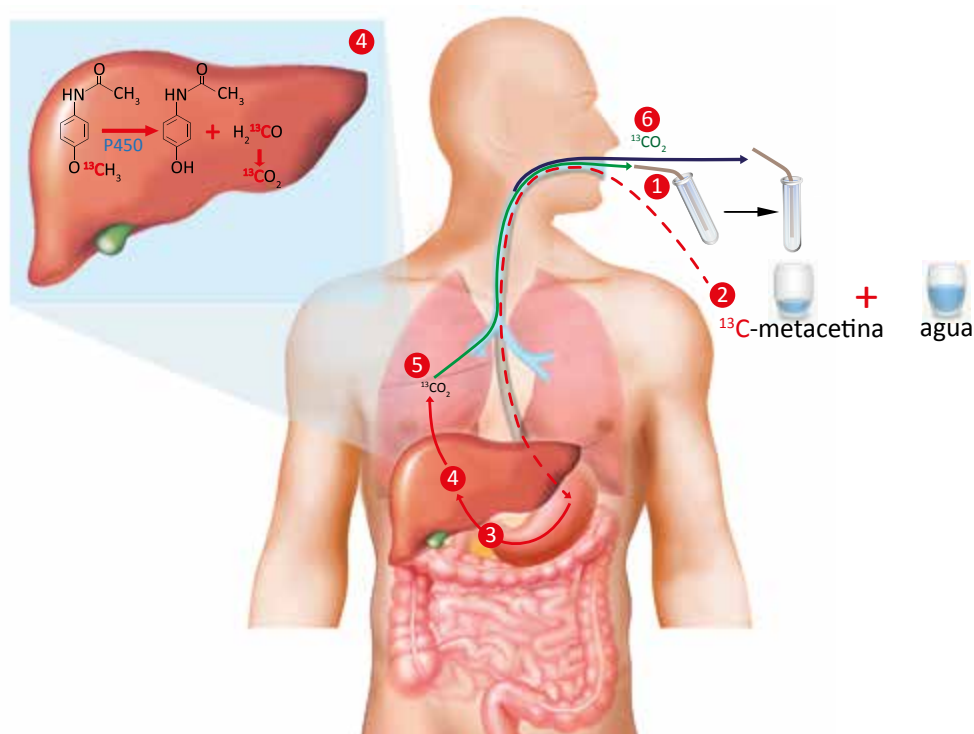


**Figura 4.** Modelo de espectrómetro de masas de relación isotópica tipo Sercom®, en donde se identifican, a la derecha el espectrofotómetro y a la izquierda la bandeja de muestreo automático. Cortesía del Laboratorio Clínico Hematológico S.A. Medellín, Colombia.

dad oral y dar mayor volumen para que el sustrato se disuelva mejor en la cavidad gástrica. La  $^{13}\text{C}$ -metacetina se absorbe rápidamente en el duodeno y por vía sanguínea llega al hígado en donde se produce la reacción bioquímica antes citada. Como se ha expresado, como resultado de esta interacción bioquímica entre el sustrato y el citocromo P450 se produce acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ , que es eliminado a través de los procesos biológicos de la respiración, siendo posible detectarlo rápidamente en muestras de aliento con la ayuda de un espectrómetro de masas de relación isotópica, un instrumento de alta tecnología, como el que se muestra en la [figura 4](#), previamente citada. En el caso de la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada o simplificada, muy similar a lo que se hace en la prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -urea, sólo se toman dos mediciones: una primera, denominada basal, antes de ingerir la  $^{13}\text{C}$ -metacetina y una segunda a los 15 minutos después de haber ingerido los 75 mg de  $^{13}\text{C}$ -metacetina [69]. Con estos dos puntos se establece el resultado de la prueba, que será analizado más adelante.

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

La interpretación y su aplicación clínica dependen del tipo de prueba (estándar y optimizada) y de las indicaciones por las cuales se solicita. En el caso de la prueba estándar el informe y la interpretación se fundamentan en gráficas derivadas de la cantidad de  $^{13}\text{CO}_2$  obtenido en los diferentes tiempos de la prueba, en tanto que en la forma optimizada se obtiene como un resultado cuantitativo, muy similar a cualquier otra prueba de laboratorio, expresado en deltas de  $^{13}\text{CO}_2$ , como se presentará con mayor detalle en los siguientes subtítulos.



**Figura 5.** Prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada. 1. Toma de muestra basal (T0); 2. Ingestión de 75 mg de  $^{13}\text{C}$ -metacetina disuelta en 10 mL de agua, seguida de la ingesta de 150 mL de agua; 3. Absorción de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina a nivel del duodeno; 4. Metabolismo hepático por el citocromo P450 de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina, que da como resultado final acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ ; 5. El  $^{13}\text{CO}_2$  del pulmón sale vía respiratoria; 6. Toma de segunda muestra (T2) a los 15 minutos posmetacetina.

## Prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina estándar

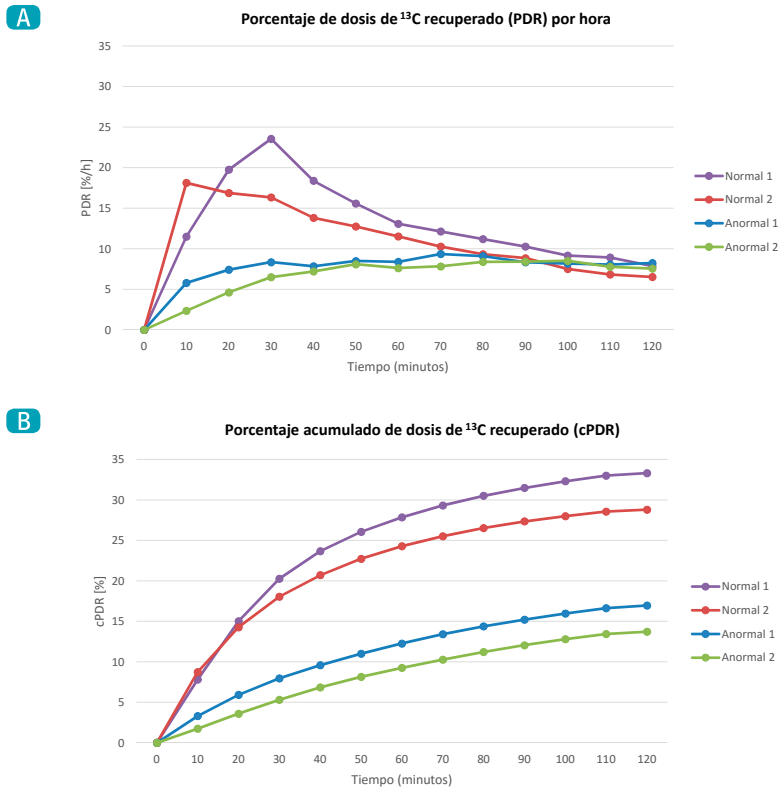
Los resultados de la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina estándar obtenidos en el dispositivo son expresados de dos maneras: como el porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  recuperado (PDR; del inglés, *Percentage Dose Recovery*) y como el porcentaje de  $^{13}\text{C}$  recuperado acumulado (cPDR; del inglés, *cumulative PDR*) a cada uno de los tiempos medidos (10 a 120 minutos) después de la ingestión de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina. El porcentaje de la dosis de  $^{13}\text{C}$  recuperado (PDR) se refiere a la tasa a la cual la  $^{13}\text{C}$ -metacetina es metabolizada, derivado del cambio en la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , y se expresa en porcentaje por hora (%/h). Por su parte, el porcentaje de dosis de  $^{13}\text{C}$  acumulado (CPDR) describe la cantidad total de sustrato metabolizado, acumulado en un tiempo determinado y se expresa en porcentaje (%) [73].

En la [figura 6](#) se muestran las curvas del metabolismo de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina en individuos normales con alteraciones de la función hepática.

## Prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada

Esta prueba, se denomina optimizada para indicar que se ha reducido la cantidad de muestras, de 12 a 2, y el tiempo, de dos horas a 15 minutos, sin pérdida del desempeño analítico de la prueba. La prueba de aliento  $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada, muy similar a la prueba de aliento





**Figura 6.** Curvas del metabolismo de la metacetina marcada con  $^{13}\text{C}$ . Después de ser administrada, la  $^{13}\text{C}$ -metacetina se absorbe rápidamente y es metabolizada por los hepatocitos normales en acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ . **A.** El porcentaje de la dosis de  $^{13}\text{C}$  recuperado (PDR) 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 (cPDR) describe la cantidad total de sustrato metabolizado, acumulado en el tiempo y se expresa en porcentaje. En los individuos normales se observa un aumento en el metabolismo de la  $^{13}\text{C}$ -metacetina (línea púrpura y línea roja), en tanto que en los individuos con alteraciones hepáticas, se observa poco o ningún metabolismo (línea verde y azul).

$^{13}\text{C}$ -urea, en el caso de la infección por *Helicobacter pylori*, calcula el delta del  $^{13}\text{CO}_2$  ( $\delta^{13}\text{CO}_2$ ), expresado en milésimos (‰), que resulta de la relación  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  basal y 15 minutos después de ingerir la carga de  $^{13}\text{C}$ -metacetina. De acuerdo con Schneider y colaboradores el punto de corte que determina la presencia de cirrosis, con una sensibilidad del 92,6% y una especificidad del 94,1% en comparación con la histología, como el estándar de referencia, es de 14,6‰  $\delta^{13}\text{CO}_2$ , [69]. En la práctica, la prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina optimizada, basal y 15 minutos posmetacetina marcada con  $^{13}\text{C}$ , podría ser utilizada como una prueba tamiz para determinar el estatus de la funcionabilidad hepática, dejando la forma estándar de la prueba para la clasificación y el manejo de los pacientes con hepatopatía conocida [15].

## La prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina en el contexto clínico

La prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -metacetina, muy similar a las otras pruebas de aliento descritas con los otros sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  utilizadas en hepatología, tiene un amplio campo de

aplicación como se resume en la [tabla 2](#), modificada a partir de una excelente revisión sobre la utilización de las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  [15].

**Tabla 2. Situaciones clínicas en las cuales las pruebas de aliento con sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$  pueden ser de utilidad clínica [15].**

**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

Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como la  $^{13}\text{C}$ -metacetina, tienen aplicación prácticamente en todas las etapas de las enfermedades del hígado: a) en el seguimiento y pronóstico de la enfermedad hepática fulminante para predecir la evolución y sobre todo para determinar la necesidad y el momento de un trasplante hepático [15], b) en el seguimiento del paciente con enfermedad hepática, donde es útil como herramienta para seguir paso a paso su evolución y la necesidad de un trasplante hepático, como medida indirecta del grado de fibrosis hepática, para el seguimiento de las hepatitis virales, en particular las hepatitis por el virus B [93, 112, 139] y el virus C [64, 68, 71, 80, 100, 104, 105, 117], para el seguimiento de los pacientes con hígado graso de origen alcohólico [126] o no alcohólico [113, 140, 141] y para evaluar la reserva hepática en pacientes con hepatopatías colestásicas [79, 134], c) para evaluar los tratamientos en los pacientes con enfermedades del hígado [15], para evaluar la reserva hepática antes de hepatectomía o de un trasplante hepático [61], en los pacientes sometidos a quimioterapia y quimioembolizaciones [15], como una indicación muy importante para el seguimiento a corto, mediano y largo plazo de los pacientes sometidos a trasplante hepático [61], ya que es la prueba más sensible para determinar el éxito o el rechazo del procedimiento [124, 142] y d) lo que en el futuro será una realidad, para el estudio de la función hepática en población aparentemente «normal» o con pruebas clásicas de función hepática dentro de los límites de referencia [15].

## 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  $^{13}\text{CO}_2$ , los cuales pudieran alterar la producción de  $\text{CO}_2$ , como puede suceder en el caso de los pacientes con insuficiencia hepática, que en este caso es lo que se está buscando, o con alteraciones pulmonares. 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. No obstante, a pesar de tener un alto costo puede ser utilizado para una misma región o país debido a la facilidad de tomar las muestras en cualquier parte y remitirlas a un laboratorio central [15], como se podría hacer 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 aminopirina, una de las más estudiada, puede dar agranulocitosis, sobre todo en pacientes en donde el aclaramiento del sustrato es lento [143], como puede suceder en los pacientes con afectación hepática. La  $^{13}\text{C}$ -metacetina se metaboliza rápidamente en acetaminofén y  $^{13}\text{CO}_2$ , pero el gran inconveniente de este sustrato es su alto valor en el mercado de los insumos médicos y que la prueba requiere de 75 mg por paciente para su realización.

## Ventajas y desventajas de la prueba de aliento $^{13}\text{C}$ -metacetina

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 [144, 145] y, en consecuencia, no representa riesgo para el paciente ni para el operador ni para el medio ambiente, debido a que utiliza un isótopo natural, no radiactivo [15, 145-148]. Las pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como la  $^{13}\text{C}$ -metacetina [56, 58, 62, 65], la  $^{13}\text{C}$ -cafeína [112], la  $^{13}\text{C}$ -fenilalanina [58, 65, 90, 91, 93, 149], la  $^{13}\text{C}$ -aminopirina [100, 150-153] y la  $^{13}\text{C}$ -galactosa [120], entre otros sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , se han evaluado frente a la puntuación de Child-Pugh y han demostrado tener una estrecha correlación para predecir la presencia de cirrosis y la mortalidad debida a esta.

## Conclusiones

Más que una conclusión, es dejar una reflexión: así como hoy se solicita al laboratorio clínico las pruebas de función hepática como la alanina aminotransferasa (ALT), también denominada

transaminasa glutámico pirúvica o TGP o STGP, la aspartato aminotransferasa (AST), también denominada transaminasa glutámico oxaloacética o TGO o SGOT, la fosfatasa alcalina, la gammaglutamil traspeptidasa (GGT), la 5-nucleotidasa, la deshidrogenasa láctica, la albúmina sérica, las globulinas séricas, el tiempo de protrombina, el colesterol total y el proteinograma (electroforesis de proteínas en suero) [3, 4], entre otras, en el futuro más próximo que lejano, al laboratorio clínico moderno se le podrán solicitar pruebas de función hepática para evaluar los componentes de acuerdo con la función mitocondrial [123, 125-130, 132, 138, 140, 141, 154-156], la función microsomal [52, 68, 73, 74, 92, 95, 108, 126, 157] y la función citosólica del hígado [92], con la incorporación de diferentes sustratos marcados con  $^{13}\text{C}$ , como ya se podría hacer en el momento de acuerdo con la literatura médica previamente referenciada. Al incorporar a la práctica médica pruebas no invasivas de alto desempeño analítico, como las pruebas de aliento, además de utilizar pruebas costo-eficientes, es hacer medicina centrada en el paciente, como claramente lo recomienda la Organización Mundial de la Salud [158], en donde es inminentemente la optimización y la racionalización [159] en un mundo de inequidad y recursos limitados [160].

## Bibliografía

1. Johnson PJ. Role of the standard 'liver function tests' in current clinical practice. *Ann Clin Biochem* 1989;26 ( Pt 6):463-471.
2. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2589-2600.
3. Fernández-Daza E, Fernández JE, Moreno-Mejía I, Moreno-Mejía M. Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. *Medicina & Laboratorio* 2008;14:533-546.
4. Smith JO, Sterling RK. Systematic review: non-invasive methods of fibrosis analysis in chronic hepatitis C. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2009;30:557-576.
5. Pais R, Lupsor M, Poanta L, Silaghi A, Rusu ML, Badea R, et al. Liver biopsy versus noninvasive methods -fibroscan and fibrotest in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease: a review of the literature. *Rom J Intern Med* 2009;47:331-340.
6. Tygstrup N. Assessment of liver function: principles and practice. *J Gastroenterol Hepatol* 1990;5:468-482.
7. Gisbert JP, Pajares JM. Review article:  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:1001-1017.
8. 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.
9. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut* 2012;61:646-664.
10. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea para *Helicobacter pylori*. Utilidad clínica e indicaciones. *Medicina & Laboratorio* 1998;8:607-626.
11. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín* 1999;12:25-37.
12. Campuzano-Maya G. Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: ¿serología, prueba de aliento con  $^{13}\text{C}$ -urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal? *Medicina & Laboratorio* 2007;13:211-231.
13. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento optimizada con urea marcada con carbono 13 para la detección de *Helicobacter pylori* (PAU-13C Hp<sup>®</sup>). *Medicina & Laboratorio* 2012;18:137-160.
14. Laboratorio Clínico Hematológico. Portafolio de Servicios. Medellín, Colombia, 2015. <http://lch.co/portafolio-de-pruebas/>. Consultado en agosto 2015.
15. Ilan Y. Review article: the assessment of liver function using breath tests. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1293-1302.
16. Campuzano-Maya G. Pruebas de aliento basadas en sustratos marcados con carbono 13. *Medicina & Laboratorio* 2011;17:39-79.
17. Luck J. Gastric urease. *Biochem J* 1924;18:1227-1231.
18. Komberg HL, Davis RE, Wood DR. The activity and function of gastric urease in the cat. *Biochem J* 1954;56:363-372.
19. Warren J, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1273-1275.
20. Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1990;265:9464-9469.

21. Marshall BJ. The discovery that *Helicobacter pylori*, a spiral bacterium, caused peptic ulcer disease. In: *Helicobacter pioneers: firsthand accounts from the scientists who discovered helicobacters, 1892-1982*, edited by Marshall BJ. Melbourne, Australia: Blackwell Science Asia, 2002, p. 165-202.
22. 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.
23. Campuzano-Maya G. Resolución No. 30189. Por la cual se otorga una patente de invención: «Kit para prueba de aliento que detecta ureasa producida por *Helicobacter pylori*». Bogotá, Colombia 15 de mayo de 2012., edited by República de Colombia, Superintendencia de Industria y Comercio.
24. Hiele M, Ghooys Y, Rutgeerts P, Vantrappen G. Starch digestion in normal subjects and patients with pancreatic disease, using a <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test. *Gastroenterology* 1989;96:503-509.
25. Herzog DC, Delvin EE, Albert C, Marcotte JE, Pelletier VA, Seidman EG. <sup>13</sup>C-labeled mixed triglyceride breath test (<sup>13</sup>C MTG-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 <sup>13</sup>C-labeled mixed triglyceride breath test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery. *Surgery* 2009;145:168-175.
27. Hirono S, Murakami Y, Tani M, Kawai M, Okada K, Uemura K, et al. Identification of risk factors for pancreatic exocrine insufficiency after pancreaticoduodenectomy using a <sup>13</sup>C-labeled mixed triglyceride breath test. *World J Surg* 2015;39:516-525.
28. Ghooys 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.
29. Hauser B, De Schepper J, Cavelliers 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.
30. Hauser B, De Schepper J, Cavelliers V, Salvatore S, Salvatoni A, Vandenplas Y. Variability of the <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids in healthy children. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:1315-1319.
31. 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.
32. Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK, Delente J, Heubi JE. The <sup>13</sup>C-xylose breath test for the diagnosis of small bowel bacterial overgrowth in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;25:153-158.
33. Hiele M, Ghooys Y, Rutgeerts P, Vantrappen G, Carhon H, Eggermont E. <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test using naturally <sup>13</sup>C-enriched lactose for detection of lactase deficiency in patients with gastrointestinal symptoms. *J Lab Clin Med* 1988;112:193-200.
34. 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 <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> breath test. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:35-40.
35. Vonk RJ, Stellaard F, Priebe MG, Koetse HA, Hagedoorn RE, De Bruijn S, et al. The <sup>13</sup>C/2H-glucose test for determination of small intestinal lactase activity. *Eur J Clin Invest* 2001;31:226-233.
36. Ritchie BK, Brewster DR, Davidson GP, Tran CD, McNeil Y, Hawkes JS, et al. <sup>13</sup>C-sucrose breath test: novel use of a noninvasive biomarker of environmental gut health. *Pediatrics* 2009;124:620-626.
37. 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.
38. Lewanczuk RZ, Paty BW, Toth EL. Comparison of the <sup>13</sup>C-glucose breath test to the hyperinsulinemic-euglycemic clamp when determining insulin resistance. *Diabetes Care* 2004;27:441-447.
39. 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. *Nutr J* 2010;9:25.
40. Klein PD. <sup>13</sup>C breath tests: visions and realities. *J Nutr* 2001;131:1637S-1642S.
41. Ghooys Y, Geypens B, Rutgeerts P. Stable isotopes and <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath tests for investigating gastrointestinal functions. *Food Nutr Bull* 2002;23:166-168.
42. Cao W, Duan Y. Breath analysis: potential for clinical diagnosis and exposure assessment. *Clinical chemistry* 2006;52:800-811.
43. Jassal MS, Nedeltchev 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.
44. Maiga M, Abaza A, Bishai WR. Current tuberculosis diagnostic tools & role of urease breath test. *Indian J Med Res* 2012;135:731-736.
45. Beste DJ, Noh K, Niedenuhr S, Mendum TA, Hawkins ND, Ward JL, et al. <sup>13</sup>C-flux spectral analysis of host-pathogen metabolism reveals a mixed diet for intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. *Chem Biol* 2013;20:1012-1021.
46. Clemens DL, Lee BY, Horwitz MA. Purification, characterization, and genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* urease, a potentially critical determinant of host-pathogen interaction. *J Bacteriol* 1995;177:5644-5652.
47. Lin W, Mathys V, Ang EL, Koh VH, Martinez Gomez JM, Ang ML, et al. Urease activity represents an alternative pathway for *Mycobacterium tuberculosis* nitrogen

- metabolism. *Infect Immun* 2012;80:2771-2779.
48. Braden B, Lembcke B, Kuker W, Caspary WF. <sup>13</sup>C-breath tests: current state of the art and future directions. *Dig Liver Dis* 2007;39:795-805.
  49. Pizzoferrato M, Del Zompo F, Mangiola F, Lopetuso LR, Petito V, Cammarota G, et al. Specific <sup>13</sup>C functional pathways as diagnostic targets in gastroenterology breath-tests: tricks for a correct interpretation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17 Suppl 2:45-50.
  50. Furuta T, Baba S, Takashima M, Futami H, Arai H, Kajimura M, et al. Effect of *Helicobacter pylori* infection on gastric juice pH. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:357-363.
  51. Krumbiegel P, Gunther K, Faust H, Mobius G, Hirschberg K, Schneider G. Nuclear medicine liver function tests for pregnant women and children. I. Breath tests with <sup>14</sup>C-methacetin and <sup>13</sup>C-methacetin. *Eur J Nucl Med* 1985;10:129-133.
  52. 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.
  53. 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.
  54. 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.
  55. 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.
  56. 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.
  57. Adamek RJ, Goetze O, Boedeker C, Pfaffenbach B, Luybaerts A, Geypens B. <sup>13</sup>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.
  58. Lara Baruque S, Razquin M, Jimenez I, Vazquez A, Gisbert JP, Pajares JM. <sup>13</sup>C-phenylalanine and <sup>13</sup>C-methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease. *Dig Liver Dis* 2000;32:226-232.
  59. 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.
  60. 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.
  61. Petrolati A, Festi D, De Berardinis G, Colaiocco-Ferrante L, Di Paolo D, Tisone G, et al. <sup>13</sup>C-methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:785-790.
  62. 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.
  63. Candelli M, Armuzzi A, Nista EC, Fini L, Gasbarrini G, Gasbarrini A. <sup>13</sup>C-methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:243.
  64. 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.
  65. Festi D, Capodicasa S, Sandri L, Colaiocco-Ferrante L, Staniscia T, Vitacolonna E, et al. Measurement of hepatic functional mass by means of <sup>13</sup>C-methacetin and <sup>13</sup>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.
  66. 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.
  67. 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.
  68. Goetze O, Selzner N, Fruehauf H, Fried M, Gerlach T, Mullaht 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.
  69. 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.
  70. 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.
  71. 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.
  72. 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.
  73. Lalazar G, Pappo O, Hershovici 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.
74. 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.
  75. 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.
  76. Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhutter 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.
  77. Kasicka-Jonderko A, Jonderko K, Budniok M, Krusiec-Swidergo B, Blonska-Fajrowska B. Comparison of two dosage regimens of the substrate for the <sup>13</sup>C-methacetin breath test. *Isotopes Environ Health Stud* 2013;49:109-121.
  78. Kochel-Jankowska A, Hartleb M, Jonderko K, Kaminska M, Kasicka-Jonderko A. <sup>13</sup>C-methacetin breath test correlates with clinical indices of liver disease severity in patients with primary biliary cirrhosis. *J Physiol Pharmacol* 2013;64:27-33.
  79. Shteyer E, Lalazar G, Hemed N, Pappo O, Granot E, Yerushalmi B, et al. Continuous <sup>13</sup>C-methacetin breath test differentiates biliary atresia from other causes of neonatal cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;56:60-65.
  80. Fierbinteanu-Braticevici C, Papacocea R, Tribus L, Cristian B. The role of <sup>13</sup>C-methacetin breath test for non invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Indian J Med Res* 2014;140:123-129.
  81. Ishii T, Takatori K, Iida K, Higuchi T, Ohshima A, Naruse H, et al. Optimum conditions for the <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1998;46:1330-1332.
  82. Ishii Y, Asai S, Kohno T, Suzuki S, Ishii M, Hosoi I, et al. <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> peak value of L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test reflects hepatopathy. *J Surg Res* 1999;86:130-135.
  83. Ishii Y, Asai S, Kohno T, Suzuki S, Ishii M, Hosoi I, et al. <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> peak value of L-[1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test reflects hepatopathy. *J Surg Res* 1999;86:130-135.
  84. Tugtekin I, Radermacher P, Wachter U, Barth E, Weidenbach H, Adler G, et al. Comparison between the oral and intravenous L-1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test for the assessment of liver function. *Isotopes Environ Health Stud* 1999;35:147-156.
  85. Tugtekin I, Radermacher P, Wachter U, Barth E, Weidenbach H, Adler G, et al. Comparison between the oral and intravenous L-[1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath test for the assessment of liver function. *Isotopes Environ Health Stud* 1999;35:147-156.
  86. Ishii T, Furube M, Hirano S, Takatori K, Iida K, Kajiwara M. Evaluation of <sup>13</sup>C-phenylalanine and <sup>13</sup>C-tyrosine breath tests for the measurement of hepatocyte functional capacity in patients with liver cirrhosis. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2001;49:1507-1511.
  87. Kobayashi T, Kubota K, Imamura H, Hasegawa K, Inoue Y, Takayama T, et al. Hepatic phenylalanine metabolism measured by the <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test. *Eur J Clin Invest* 2001;31:356-361.
  88. 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.
  89. 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.
  90. 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.
  91. 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.
  92. Wutzke KD, Wigger M. Effect of alcohol consumption on the liver detoxication capacity as measured by <sup>13</sup>C-aminopyrine and L-[1-<sup>13</sup>C-phenylalanine breath tests. *Isotopes Environ Health Stud* 2009;45:185-191.
  93. 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.
  94. Teraishi T, Ozeki Y, Hori H, Sasayama D, Chiba S, Yamamoto N, et al. <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test detects altered phenylalanine kinetics in schizophrenia patients. *Transl Psychiatry* 2012;2:e119.
  95. Sakamoto A, Kakui S, Kawamura I, Shu S, Tokumoto N. [Quantitative assessment of hepatic microsomal function by breath test using <sup>13</sup>C-aminopyrine]. *Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 1983;80:2603.
  96. Mion F, Geloën A, Rousseau M, Brazier JL, Minaire Y. Mechanism of carbon tetrachloride autoprotection: an in vivo study based on <sup>13</sup>C-aminopyrine and <sup>13</sup>C-galactose breath tests. *Life Sci* 1994;54:2093-2098.
  97. Opekin AR, Jr., Klein PD, Graham DY. <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test detects altered liver metabolism caused by low-dose oral contraceptives. *Dig Dis Sci* 1995;40:2417-2422.
  98. Mana F, Georges B, Reynaert H, Ham HR, Urbain D. Evaluation of the <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test using non-dispersive infrared spectrometry. *Acta Gastroenterol Belg* 2000;63:328-330.
  99. Caubet MS, Laplante A, Caille J, Brazier JL. <sup>13</sup>C-aminopyrine and <sup>13</sup>C-caffeine breath test: influence of gender, cigarette smoking and oral contraceptives intake. *Iso-*

- topes Environ Health Stud 2002;38:71-77.
100. 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.
  101. Chiamonte D, Steiner JM, Broussard JD, Baer K, Gumminger S, Moeller EM, et al. Use of a <sup>13</sup>C-aminopyrine blood test: first clinical impressions. *Can J Vet Res* 2003;67:183-188.
  102. 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.
  103. Giannini EG, Malfatti F, Botta F, Polegato S, Testa E, Fumagalli A, et al. Influence of 1-week *Helicobacter pylori* eradication therapy with rabeprazole, clarithromycin, and metronidazole on <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test. *Dig Dis Sci* 2005;50:1207-1213.
  104. 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.
  105. Rocco A, de Nucci G, Valente G, Compare D, D'Arienzo A, Cimino L, et al. <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test accurately predicts long-term outcome of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2012;56:782-787.
  106. Caviglia GP, Ciancio A, Rosso C, Abate ML, Olivero A, Pellicano R, et al. Non-invasive methods for the assessment of hepatic fibrosis: transient elastography, hyaluronic acid, <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test and cytokeratin 18 fragment. *Ann Hepatol* 2013;13:91-97.
  107. Giannini EG, Savarino V. Relationship between <sup>13</sup>C-aminopyrine breath test and the MELD score and its long-term prognostic use in patients with cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2013;58:3024-3028.
  108. Pijs KE, de Vries H, Nikkessen S, Bast A, Wodzig WK, Koek GH. Critical appraisal of <sup>13</sup>C breath tests for microsomal liver function: aminopyrine revisited. *Liver Int* 2014;34:487-494.
  109. Pons G, Blais JC, Rey E, Plissonnier M, Richard MO, Carrier O, et al. Maturation of caffeine N-demethylation in infancy: a study using the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test. *Pediatr Res* 1988;23:632-636.
  110. Levitsky LL, Schoeller DA, Lambert GH, Edidin DV. Effect of growth hormone therapy in growth hormone-deficient children on cytochrome P-450-dependent 3-N-demethylation of caffeine as measured by the caffeine <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath test. *Dev Pharmacol Ther* 1989;12:90-95.
  111. Rost KL, Brosicke H, Brockmoller J, Scheffler M, Helge H, Roots I. Increase of cytochrome P450A2 activity by omeprazole: evidence by the <sup>13</sup>C-[N-3-methyl]-caffeine breath test in poor and extensive metabolizers of S-phenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1992;52:170-180.
  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. 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.
  114. Oshikoya KA, Smith K, Sammons H, Choonara I. Decreased metabolism of <sup>13</sup>C-caffeine via hepatic CYP1A2 in marasmus and kwashiorkor based on breath test. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2015;26:105-113.
  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. Kurumaya K, Kajiwara M, Abei T, Hirano S, Kokubun N. Synthesis of <sup>13</sup>C-phenacetin and its application to the breath test for the diagnosis of liver disease. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1988;36:2679-2681.
  117. 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.
  118. Suzuki S, Ishii Y, Asai S, Kohno T, Mazaki T, Takahashi Y, et al. <sup>1-13</sup>C-galactose breath test for quantitative measurement of liver function in a short period. *Digestion* 2000;62:194-199.
  119. Suzuki S, Ishii Y, Asai S, Kohno T, Mazaki T, Takahashi Y, et al. <sup>1-13</sup>C breath test of galactose and fructose for quantitative liver function. *J Surg Res* 2001;96:90-95.
  120. 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.
  121. Silva S, Wyse CA, Goodfellow MR, Yam PS, Preston T, Papanoulitis K, et al. Assessment of liver function in dogs using the <sup>13</sup>C-galactose breath test. *Vet J* 2010;185:152-156.
  122. Kempinski R, Neubauer K, Wieczorek S, Dudkowiak R, Jasinska M, Poniewierka E. <sup>13</sup>C-methacetin breath testing in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Clin Exp Med* 2016;25:77-81.
  123. Armuzzi A, Marcocchia S, Zocco MA, De Lorenzo A, Grieco A, Tondi P, et al. Non-Invasive assessment of human hepatic mitochondrial function through the <sup>13</sup>C-methionine breath test. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:650-653.
  124. Ishii Y, Asai S, Kohno T, Takahashi Y, Nagata T, Suzuki S, et al. Evaluation of liver regeneration using the L-<sup>1-13</sup>C-methionine breath test. *J Surg Res* 2001;95:195-199.
  125. Spahr L, Negro F, Rubbia-Brandt L, Marinescu O, Goodman K, Jordan M, et al. Acute valproate-associated microvesicular steatosis: could the <sup>13</sup>C-methionine breath test be useful to assess liver mitochondrial func-



- tion? *Dig Dis Sci* 2001;46:2758-2761.
126. Spahr L, Negro F, Leandro G, Marinescu O, Goodman KJ, Rubbia-Brandt L, et al. Impaired hepatic mitochondrial oxidation using the <sup>13</sup>C-methionine breath test in patients with macrovesicular steatosis and patients with cirrhosis. *Med Sci Monit* 2003;9:CR6-11.
  127. Milazzo L, Riva A, Sangaletti O, Piazza M, Antinori S, Moroni M. <sup>13</sup>C-Methionine breath test detects liver mitochondrial impairment in HIV-infected patients with antiretroviral drug-related hyperlactatemia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35:429-432.
  128. Banasch M, Goetze O, Hollborn I, Hochdorfer B, Bulut K, Schlottmann R, et al. <sup>13</sup>C-methionine breath test detects distinct hepatic mitochondrial dysfunction in HIV-infected patients with normal serum lactate. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:149-154.
  129. Milazzo L, 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.
  130. Milazzo L, Menzaghi B, Massetto B, Sangaletti O, Riva A. <sup>13</sup>C-methionine breath test detects drug-related hepatic mitochondrial dysfunction in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41:252-253; author reply 253-254.
  131. Banasch M, Knyhala K, Kollar S, Serova K, Potthoff A, Schlottmann R, et al. Disease- and treatment-related predictors of hepatic mitochondrial dysfunction in chronic HIV infection assessed by non-invasive <sup>13</sup>C-methionine breath test diagnostic. *Eur J Med Res* 2008;13:401-408.
  132. Candelli M, Miele L, Armuzzi A, Nista EC, Pignataro G, Fini L, et al. <sup>13</sup>C-methionine breath tests for mitochondrial liver function assessment. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008;12:245-249.
  133. Sternfeld T, Lorenz A, Schmid M, Schlamp A, Demmelmair H, Koletzko B, et al. <sup>13</sup>C-Methionine breath test as a marker for hepatic mitochondrial function in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25:1243-1248.
  134. Duro D, Fitzgibbons S, Valim C, Yang CF, Zurakowski D, Dolan M, et al. <sup>13</sup>C-Methionine breath test to assess intestinal failure-associated liver disease. *Pediatr Res* 2010;68:349-354.
  135. Maldonado-Hernandez J, Prina-Ojeda LV, Montalvo-Velarde I, Del Prado-Manriquez M, de Lourdes Barbosa-Cortes M, Repetto-Madrid M. Validity and reliability of the <sup>13</sup>C-methionine breath test for the detection of moderate hyperhomocysteinemia in Mexican adults. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:687-692.
  136. Sabour S. Validity and reliability of the <sup>13</sup>C-methionine breath test for the detection of moderate hyperhomocysteinemia in Mexican adults; statistical issues in validity and reliability analysis. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:e295-296.
  137. Korkmaz H, Unler GK, Gokturk HS, Schmidt WE, Kebapcilar L. Noninvasive estimation of disease activity and liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease using anthropometric and biochemical characteristics, including insulin, insulin resistance, and <sup>13</sup>C-methionine breath test. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27:1137-1143.
  138. 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.
  139. Park GJ, Katelaris PH, Jones DB, Seow F, Lin BP, Le Couteur DG, et al. The C-caffeine breath test distinguishes significant fibrosis in chronic hepatitis B and reflects response to lamivudine therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:395-403.
  140. Miele L, Grieco A, Armuzzi A, Candelli M, Forgione A, Gasbarrini A, et al. Hepatic mitochondrial beta-oxidation in patients with nonalcoholic steatohepatitis assessed by <sup>13</sup>C-octanoate breath test. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2335-2336.
  141. Mawatari H, Inamori M, Fujita K, Yoneda M, Iida H, Endo H, et al. The continuous real-time <sup>13</sup>C-octanoate breath test for patients with nonalcoholic steatohepatitis using the BreathID system. *Hepatogastroenterology* 2009;56:1436-1438.
  142. 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.
  143. Uetrecht 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.
  144. 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.
  145. Nista EC, Fini L, 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.
  146. 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.
  147. 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.
  148. 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.
  149. Kobayashi T, Imamura H, Takayama T, Makuuchi M. The role of preoperative phenylalanine breath test in hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2003;50:1124-1127.
  150. Mion F, Queneau PE, Rousseau M, Brazier JL, Paliard P, Minaire Y. Aminopyrine breath test: development of a <sup>13</sup>C-breath test for quantitative assessment of liver function in humans. *Hepatogastroenterology* 1995;42:931-

938.

151. 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.
152. 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.
153. 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.
154. Parra D, Gonzalez A, Garcia-Villarreal L, Martinez JA. Methodological characterization of the 2-keto 1-<sup>13</sup>C-iso-caproate breath test to measure in vivo human mitochondrial function: application in alcoholic liver disease assessment. *Alcohol Clin Exp Res* 2003;27:1293-1298.
155. 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 <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. *J Diabetes Complications* 2006;20:295-301.
156. Candelli M, Armuzzi A, Miele L, Nista EC, Pignataro G, Zileri Dal Verme L, et al. Gender affects <sup>13</sup>C-ketoisocaproic acid breath test. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2007;11:401-406.
157. Oliveira AC, Reber M, Lanzoni V, Ferraz ML, Parise ER. Teste respiratorio da <sup>13</sup>C-metacetina na doenca hepatica cronica pelo virus C. *Arq Gastroenterol* 2006;43:41-44.
158. Eisenberg JM. The Agency for Healthcare Research and Quality: new challenges, new opportunities. *Health services research* 2000;35:xi-xvi.
159. Plebani M, Lippi G. Improving diagnosis and reducing diagnostic errors: the next frontier of laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1117-1118.
160. Lippi G, Plebani M. Improving accuracy of diagnostic studies in a world with limited resources: a road ahead. *Ann Transl Med* 2016;4:43.



Cuba hoy  
Germán Campuzano-Maya