

文章编号: 1001-098X(2002)05-0196-04

^{13}C 呼气试验的方法学及在胃肠病临床的应用

严惟力, 蒋义斌

摘要: ^{13}C 呼气试验因其具有安全和非侵害性等特点已被广泛应用于营养学、药物代谢和胃肠疾病诊断等研究。应用不同的标记物, 除进行幽门螺杆菌感染检测外, 还可在胃排空、胰腺外分泌功能、小肠细菌衍生、肝脏功能等检测中发挥重要作用。

关键词: 呼气试验; 底物; 丰度; 幽门螺杆菌; 胃排空

中图分类号: R817.4 **文献标识码:** A

Methodology and application of ^{13}C breath test in gastroenterological practice

YAN Wei-li, JIANG Yi-bin

(Department of Nuclear Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Abstract: ^{13}C breath test has been widely used in research of nutrition, pharmacology and gastroenterology for its properties such as safety, noninvasion and so on. This review describes the principle, methodology of ^{13}C breath test and its application in detection to *Helicobacter pylori* infection in stomach and small bowel bacterial overgrowth, measurement of gastric emptying, pancreatic exocrine function and liver function with various substrates.

Key words: breath test; substrate; enrichment; *Helicobacter pylori*; gastric emptying

^{13}C 呼气试验的原理是将经过稳定核素 ^{13}C 标记的底物引入机体(主要方式为口服), 利用同位素比值质谱仪检测底物的最终代谢产物 $^{13}\text{CO}_2$ 的变化来研究机体内代谢反应和生理过程。近十年来, ^{13}C 呼气试验已被广泛应用于营养学、药物代谢学以及胃肠疾病诊断研究^[1], 这不仅是由于 ^{13}C 呼气试验的安全性和非侵害性, 而且得益于 ^{13}C -尿素呼气试验检测HP(幽门螺杆菌)所获得的成功^[2]。

1 方法学

1.1 ^{13}C 标记底物

呼气试验所用的 ^{13}C 标记底物既可以人工合成,

也可以从动植物中提取。自然界所有含碳的物质中都含一定数量的 ^{13}C , ^{13}C 的天然相对丰度为1.1%左右。通常, 人呼出 CO_2 中 ^{13}C 的天然本底为1.08%~1.09%, 可因摄入的食物构成而略有不同。目前, 可以人工合成的 ^{13}C 标记物有千余种, 临床研究中常用的有几十种, 其中研究最多的有 ^{13}C -尿素、 ^{13}C -氨基比林、 ^{13}C -甘油三酯、 ^{13}C -辛酸等。

1.2 测量和运算

^{13}C 没有放射性, 可以被多种仪器探测, 这些仪器包括质谱仪 (mass spectrometer)、核磁共振谱仪 (nuclear magnetic resonance spectrometer, NMRS)、红外线谱仪 (non-dispersive infrared spectrometer, NDRIS) 以及激光谱仪 (laser assisted ratio analyser, LARA)等。测量气体中 ^{13}C 的丰度最传统精确的仪器是气体同位素比值质谱仪 (isotope ratio mass spectrometer, IRMS)。红外线谱仪和激光谱仪由于价格相对较低也被广泛应用, 但它们的灵敏度不及IRMS。呼气试验时, 呼出气体中 ^{13}C 的丰度决定于给予剂量、标记底物中 ^{13}C 的丰度以及经过代谢的 $^{13}\text{CO}_2$ 的产量, 其中给予剂量影响最大。 $^{13}\text{CO}_2$ 呼气分

收稿日期: 2002-05-15

作者简介: ①严惟力 (1967-), 男, 复旦大学附属华山医院核医学科 (上海, 200040) 影像医学与核医学专业博士研究生, 主要从事稳定性核素的临床应用和基础研究。

②蒋义斌 (1953-), 男, 复旦大学附属华山医院消化内科 (上海, 200040) 副教授, 主要从事慢性肝病的临床研究。

审校者: ①复旦大学附属华山医院核医学科 林祥通

②复旦大学附属华山医院消化内科 孙大裕

析时,由于呼气中 ^{13}C 丰度变化非常小,常采用 $^{13}\text{CO}_2$ 超量“ δ ”值来表示,计算公式为:

$$\delta = [({}^{13}\text{CO}_2/{}^{12}\text{CO}_2)_{\text{样品}} / ({}^{13}\text{CO}_2/{}^{12}\text{CO}_2)_{\text{标准品}} - 1] \times 1000 \text{‰}$$

$$\Delta\delta = \delta - \delta_{\text{本底}}$$

$\Delta\delta$ 即高于本底的 δ 值DAB (delta above baseline)或DOB(delta over baseline),再根据单位时间的 CO_2 产量得到单位时间 ^{13}C 剂量回收率PDR (percentage dose recovered)和累计PDR (cumulative percent dose recovered),单位时间 ^{13}C PDR和累计PDR通常被用于反映代谢的基本情况。

1.3 影响呼气试验的因素

(1) ^{13}C 的本底。由于食物中 ^{13}C 丰度的差异,所以呼气试验前保持一贯的饮食习惯非常重要。只要饮食中的 ^{13}C 丰度保持相对稳定,呼气中的 $^{13}\text{CO}_2$ 基线水平亦随之可保持稳定,即使平时进高 ^{13}C 含量的饮食,对呼气试验结果影响也不大。但是,如果呼气试验前一天饮食中 ^{13}C 含量较以往高,会导致 $\Delta\delta$ 降低且不稳定^[4]。

(2)试验餐的选择。试验餐的组成如能量、密度、脂肪量等,都将影响胃排空,为了能准确反映生理状况,试验餐最好与平时饮食习惯一致。

(3) ^{13}C 标记底物及标记位置的选择。应根据试验目的来选择 ^{13}C 试验底物及标记位置,必须使需要研究的环节成为底物体内代谢的限速步骤。

(4)气样采集的标准化和一致化。呼气试验时必须保证气样采集、测量的一致性和稳定性,减小系统误差。

(5)胃肠道的状况。消化道的生理、病理状况会影响试验结果,胃肠道内的细菌衍生会导致试验底物被细菌酶代谢,从而干扰正常的代谢过程;小肠转运时间的缩短会使正常在小肠吸收的试验底物被结肠中的细菌所代谢。

(6)标记底物及其代谢中间产物的储存和转化。例如,当摄入葡萄糖超过代谢需求时,其代谢物将转变为糖原储存起来,这将影响呼气试验的结果。

(7)代谢水平。代谢率是 CO_2 产生的重要因素,体力活动会影响代谢率和人体内 CO_2 池大小,呼气试验时计算PDR要用到 CO_2 产量,所以呼气试验时必须严格控制体力活动,维持人体代谢率的稳定。

(8)底物代谢涉及的不同器官和组织。非感兴趣器官和组织的底物代谢会干扰对感兴趣器官和组织的观察结果。

2 呼气试验临床应用

随着稳定同位素标记技术的发展以及测量技术的完善和普及,许多 ^{13}C 呼气试验已进入临床试验阶段,得到了广泛应用。

2.1 HP感染检测

HP被认为是导致人类胃部慢性感染最常见的原因之一,并与许多胃肠道疾病有关。目前, ^{13}C -尿素呼气试验被公认为胃部HP感染诊断的金标准。HP是一种能产生脲酶的微生物,在 ^{13}C -尿素呼气试验时,如果胃部存在HP感染,它产生的脲酶能将 ^{13}C -尿素分解生成 $^{13}\text{CO}_2$,并被吸收入血进入 CO_2 池,然后从肺中排除。

许多研究者将 ^{13}C -尿素呼气试验法的灵敏度和特异性与其他HP检测方法进行对比,发现前者均高于95%,在儿童甚至有探测灵敏度接近100%的报道,这个结果高于血清学检查,因为它甚至能发现局限于胃隐窝内的HP感染。作为一种非侵害性的检查方法, ^{13}C -尿素呼气试验可被用于HP治疗效果评估,治疗后4~6周, ^{13}C -尿素呼气试验对HP检测灵敏度、特异性分别为95%和96%,如果在家中自行进行 ^{13}C -尿素呼气试验采样,其灵敏度、特异性也能达到95%^[1,4]。 ^{13}C -尿素呼气试验采样时间通常为服药后30 min,但也有50 min甚至更长的报道^[5]。 ^{13}C -尿素呼气试验已经用于HP流行病学研究并逐渐成为对特殊群体筛查的有效手段^[6]。

2.2 胃排空的测量

^{13}C -辛酸(^{13}C -octanoate)和 ^{13}C -醋酸(^{13}C -acetate)的呼气试验能分别测量脂相和水相的胃排空。 ^{13}C -辛酸和 ^{13}C -醋酸在胃中通过而不进行消化吸收,在小肠非常容易被吸收,并且不需要酶的参与,吸收后 ^{13}C -辛酸、 ^{13}C -醋酸的最终代谢产生 $^{13}\text{CO}_2$ 。

运用半排时间、滞留时间及排空系数比较 ^{13}C -辛酸呼气试验与核素闪烁成像法的测量结果,发现两者之间存在很好的相关性^[7,8]。 ^{13}C -辛酸呼气试验还经常被用于研究各种疾病状况下的胃排空以及药物对胃排空的影响^[9,10]。

研究表明, ^{13}C -醋酸呼气试验能精确反映水相的胃排空,并与闪烁成像法的测量结果相关^[11,12]。

2.3 胰腺外分泌功能的测定

胰淀粉酶、胰脂酶、糜蛋白酶是胰腺分泌的消化酶,它们在食物消化吸收过程中起着非常重要的

作用,其活性高低代表着胰腺的外分泌功能。 ^{13}C 标记的淀粉和脂类呼气试验常被用以定量评估慢性胰腺炎和胆囊纤维化时胰腺外分泌功能的损害,它较之十二指肠插管检查安全、无痛苦,对影像学诊断是一项很好的补充。

2.3.1 ^{13}C -甘油三酯呼气试验

甘油三酯被胰脂肪酶水解生成脂肪酸和甘油酯,它是脂肪吸收的限速步骤。吸收后的脂肪酸最后氧化生成 CO_2 。呼气试验所用 ^{13}C -甘油三酯有 ^{13}C -MTG(^{13}C -混合甘油三酯)即1,3-二硬脂酸-2-(1- ^{13}C)-辛酸甘油酯、 ^{13}C -三油酸甘油酯、 ^{13}C -三辛酸甘油酯等。其中, ^{13}C -MTG呼气试验较其他甘油三酯优势突出,研究最多。 ^{13}C -MTG的1,3位碳上的硬脂酸分子被脂酶水解后,2位碳上带有 ^{13}C -辛酸的甘油酯被吸收,最后氧化生成 $^{13}\text{CO}_2$ 。胰腺外分泌功能降低将导致 $^{13}\text{CO}_2$ 回收量降低。将 ^{13}C -MTG呼气试验结果与插管法(金标准,此法为侵害性方法)相比,其对胰脂酶活性改变的检测灵敏度、特异性分别为89%和81%^[1]。 ^{13}C -MTG呼气试验已经应用于早期胰腺病变、胆囊纤维化和脂肪泻的检测^[13,14]。

2.3.2 ^{13}C -淀粉呼气试验

淀粉通过胰淀粉酶的作用水解为葡萄糖是淀粉吸收的限速步骤,吸收的葡萄糖大部分直接被氧化,多余部分转变为糖原储存起来。用从玉米中提取的 ^{13}C -淀粉作为底物进行呼气试验受到广泛重视。有文献报道, ^{13}C -淀粉呼气试验时胰淀粉酶分泌量与 ^{13}C PDR之间存在很好的相关性。然而, ^{13}C -淀粉呼气试验结果所受影响较多,有时它与其他胰腺功能参数存在差异^[1,15]。

2.3.3 ^{13}C -蛋白质呼气试验

有多位学者利用 ^{13}C 标记的氨基酸研究蛋白质在体内的合成和分解。由于蛋白质合成技术的限制,目前利用动物合成的标记蛋白质进行呼气试验成为一种很好的选择,最常见的形式为用L-(1- ^{13}C)-亮氨酸标记的牛奶和卵蛋白质。胰腺分泌的糜蛋白酶能将蛋白质分解为氨基酸和多肽,这是蛋白质吸收的限速步骤。大部分分解出来的氨基酸和多肽将最终氧化生成 $^{13}\text{CO}_2$ 。有研究显示,十二指肠的糜蛋白酶量与卵白蛋白质(egg-white protein)呼气试验结果呈很好的相关性^[16],但是,该结果也受到胃酸降低等因素的影响^[17]。

2.4 小肠细菌衍生的检测

由于健康人小肠内存在抑制细菌过度生长的机制,所以正常情况下小肠内细菌数量很少。一旦这些机制遭到破坏,如回-盲瓣切除手术导致的肠道阻塞和解剖学改变等,就会导致细菌衍生并伴随着出现腹痛和消化不良等临床症状。

^{13}C 呼气试验的原理也是利用试验底物不能在小肠中代谢吸收但可以被大多数肠道细菌代谢。不过,如果肠道转运时间缩短,将会导致底物大量出现在结肠,从而被结肠部位的细菌代谢,产生假阳性。有文献报道^[2], ^{13}C -木糖和 ^{13}C -甘氨酸呼气试验检测小肠细菌衍生的灵敏度高于金标准(即小肠插管细菌培养检查,此法为侵害性方法),认为它们可能为小肠细菌衍生诊断和疗效跟踪的有效手段。

2.5 肝脏功能测定

肝脏是人体最重要的代谢器官之一,它担负着解毒、营养物代谢、蛋白质合成、胆汁分泌等重要生化功能。临床生化指标有时不能特异地反映肝脏功能损伤情况^[18]。

口服药物或代谢物在肝脏酶的作用下降解是它们在体内代谢的限速步骤。不同的药物被肝细胞中不同位置的不同酶系降解,由此设计的呼气试验可以检测不同酶系的功能,定量反映肝脏的代谢能力和肝脏损伤情况。 ^{13}C -半乳糖呼气试验、 ^{13}C -苯丙氨酸呼气试验能定量反映肝细胞质的功能; ^{13}C -氨基比林呼气试验、 ^{13}C -非那西汀呼气试验、 ^{13}C -美沙西汀呼气试验、 ^{13}C -咖啡因呼气试验、 ^{13}C -红霉素呼气试验、 ^{13}C -亚硝基甲胺呼气试验均被用以分析肝细胞微粒体功能; ^{13}C -酮异戊酸呼气试验能检测肝细胞线粒体功能^[1,19-21]。

3 结语

^{13}C 呼气试验是一种安全、方便、灵敏、准确定量、非侵害的功能检测方法,已经应用于胃肠道和代谢功能研究。国外在临床应用方面做了上述诸方面的探索研究,国内除HP外,其他应用领域尚未引起普遍重视,而且试剂基本以进口为主。随着各种特异标记底物的取得和商品化销售以及质谱仪的普及,呼气试验的应用范围必将进一步扩大。

参考文献:

- [1] Meer K, Roef MJ, Kulik W, et al. In vivo research with stable isotopes in biochemistry, nutrition and clinical

- medicine: an overview [J]. *Isotopes Environ Health Stud*, 1999, 35(1-2): 19-37.
- [2] Klein PD. ^{13}C breath tests: visions and realities[J]. *J Nutr*, 2001, 131(5): 1637S-1642S.
- [3] Slater C, Preston T, Lawrence T, et al. Stable isotopes and the international system of units [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2001, 15: 1270-1273.
- [4] Kato C, Yamaguchi T, Yusa K, et al. ^{13}C -urea breath test[J]. *Nippon Rinsho*, 2001, 59(2):267-271.
- [5] Braden B, Caspary WF. Detection of *Helicobacter pylori* infection: when to perform which test? [J]. *Ann Med*, 2001, 33(2): 91-97.
- [6] Brenner H, Bode G, Adler G, et al. Alcohol as a gastric disinfectant? The complex relationship between alcohol consumption and current *Helicobacter pylori* infection[J]. *Epidemiology*, 2001, 12(2): 209-214.
- [7] Choi MG, Camilleri M, Burton DD, et al. [^{13}C]octanoic acid breath test for gastric emptying of solids: accuracy, reproducibility, and comparison with scintigraphy[J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): 1155-1162.
- [8] Chey WD, Shapiro B, Zawadski A, et al. Gastric emptying characteristics of a novel ^{13}C -octanoate-labeled muffin meal [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2001, 32(5): 374-376.
- [9] Lee JS, Camilleri M, Zinsmeister AR, et al. Toward office-based measurement of gastric emptying in symptomatic diabetics using ^{13}C -octanoic acid breath test [J]. *Am J Gastroenterol*, 2000, 95(10): 2751-2761.
- [10] Kulik W, van Weissenbruch MM, Menelik N, et al. Improved use of the ^{13}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]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 750(1): 147-153.
- [11] Gonzalez A, Mugueta C, Parra D, et al. Characterisation with stable isotopes of the presence of a lag phase in the gastric emptying of liquids[J]. *Eur J Nutr*, 2000, 39(5): 224-228.
- [12] Gatti C, di Abriola FF, Dall'Oglio L, et al. Is the ^{13}C -acetate breath test a valid procedure to analyse gastric emptying in children? [J]. *J Pediatr Surg*, 2000, 35(1): 62-65.
- [13] Perri F, Pastore M, Festa V, et al. Intra-duodenal lipase activity in celiac disease assessed by means of ^{13}C mixed-triglyceride breath test [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998, 7(4): 407-410.
- [14] Wutzke KD, Radke M, Breuel K, et al. Triglyceride oxidation in cystic fibrosis: a comparison between different ^{13}C -labeled tracer substances[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1999, 29(2): 148-154.
- [15] Evenepoel P, Hiele M, Geypens B, et al. ^{13}C -egg white breath test: a non-invasive test of pancreatic trypsin activity in the small intestine[J]. *Gut*, 2000, 46(1): 52-57.
- [16] Evenepoel P, Hiele M, Geypens B, et al. Egg protein assimilation in pancreatic disease studied with a ^{13}C - egg white breath test[J]. *Gastroenterology*, 1996; 110(suppl): A800.
- [17] Evenepoel P, Hiele M, Geypens B, et al. Gastric digestion plays a substantial role in normal protein assimilation [J]. *Gastroenterology*, 1996, 110(suppl): A800.
- [18] Korones DN, Brown MR, Palis J. liver function tests are not always tests of liver function [J]. *Am J Hematol*, 2001, 66: 46-48.
- [19] Chiou WL, Jeong HY, Wu TC, et al. Use of the erythromycin breath test for in vivo assessments of cytochrome P4503A activity and dosage individualization[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2001, 70(4): 395-399.
- [20] Rivory LP, Slaviero KA, Hoskins JM, et al. The erythromycin breath test for the prediction of drug clearance[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2001; 40(3): 151-158.
- [21] Becker M. ^{13}C breath test for measurement of liver function [J]. *Gut*, 1998, 43 (suppl): s25-s27.

·文摘·

058 在静脉尿路造影中用剂量面积之积和入射体表剂量测量估算有效剂量的差异

Yakoumakis E 等对 25 例静脉尿路造影病人用 Vacutec DAP 测量仪测量 DAP(剂量面积之积), 用皮肤监测仪测量 ESD(入射体表剂量), 比较了用 DAP 计算的有效剂量 E_{DAP} 和用 ESD 计算的有效剂量 E_{ESD} 之间的差异。

检测结果: 平均 E_{DAP} (0.3 mSv) 比 E_{ESD} (1.9 mSv) 高 38%, 而且此差异归因于 X 射线野大于胶片盒尺寸所致, 提示每次 X 射线照射时应使照射野的边缘落在胶片的四边上; 多数病例测得的 ESD 比计算的 ESD 稍小, 这可能是由于皮肤监测仪校正过程的系统误差或高估了反散射系数所致; 用 DAP 估算 E 比用 ESD 估算 E 更适用, 因为 DAP 对照射野大小的设置更敏感。作者指出, 在没有合适的剂量仪时, 也可以用每次照射的记录资料计算的 ESD 推算 E 。