

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOCHEMICKÝCH VĚD

VYUŽITÍ DECHOVÝCH TESTŮ  
V DIAGNOSTICE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Bc. Petra Slavíková

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Zdislava Vaníčková

Hradec Králové, 2024

## **Poděkování**

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce, prof. Ing. Barboře Szotákové, Ph.D., za odborné vedení mé práce a dále konzultantce MUDr. Zdislavě Vaničkové za odborné připomínky k této práci. Děkuji též mé rodině za podporu během celého studia.

## **Prohlášení**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne 15. 4. 2024

Podpis: Petra Slavíková

# OBSAH

ÚVOD.....	5
TEORETICKÁ ČÁST .....	6
1 Historie dechových testů .....	6
2 Dechové testy měřící koncentraci vodíku (H <sub>2</sub> ).....	7
2.1 Princip dechových testů s vodíkem (H <sub>2</sub> ) .....	8
2.2 Analyzátory vodíku a metanu .....	8
2.3 Příprava pacienta před testováním .....	9
2.4 Provedení testu a jeho vyhodnocení .....	9
3 Dechové testy s izotopem uhlíku <sup>13</sup> C.....	11
3.1 Princip dechových testů s izotopem uhlíku <sup>13</sup> C.....	11
3.2 Analyzátory izotopů uhlíku v dechu.....	13
3.3 Používané substráty.....	13
3.4 Příprava pacienta před testováním .....	14
3.5 Provedení testu a jeho vyhodnocení .....	15
4 Dechové testy s oxidem dusnatým (NO).....	16
4.1 Princip měření NO .....	16
4.2 Analyzátory FeNO .....	17
4.3 Provedení testu a jeho vyhodnocení .....	17
5 Klinická aplikace dechových testů.....	18
5.1 Malabsorpce sacharidů se zaměřením na laktózovou intoleranci .....	19
5.1.1 Laktózová intolerance.....	19
5.2 Syndrom bakteriálního přerůstání (SIBO).....	21
5.3 Detekce <i>Helicobacter pylori</i> .....	25
5.4 Diagnostika astmatu .....	27
5.5 Další možnosti využití dechových testů.....	30
ZÁVĚR .....	32
POUŽITÁ LITERATURA .....	33

# ÚVOD

Historie analýzy vydechovaného vzduchu sahá až do dob Hippokrata, kdy byl zápach z dechu pacienta využíván k diagnostice některých onemocnění (Kocna, 2021).

V současné době jsou dechové testy neinvazivní diagnostická metoda, která je založena na měření koncentrace  $H_2$  (vodíku) nebo izotopu uhlíku  $^{13}C$  ve vydechovaném vzduchu. Ve zdravotnictví se využívají především v gastroenterologii a hepatologii. Oba druhy měření jsou v současné době bez použití radioaktivních izotopů a bezpečné pro aplikaci u všech pacientů, včetně dětí i žen v těhotenství (Kocna, 2006). Nejčastěji využívané jsou testy pro detekci *Helicobacter pylori* v žaludku, laktózovou nebo fruktózovou malabsorpci či bakteriální přerůstání v tenkém střevě (SIBO). Další sledovanou látkou ve vydechovaném vzduchu může být i oxid dusnatý (NO), jehož stanovení se využívá v diagnostice a terapii astmatu (Kocna, 2021).

Cílem této práce je vytvořit rešeršní přehled (od historie po současnost) výše jmenovaných typů dechových testů používaných v diagnostice onemocnění. Druhá část bakalářské práce pak bude zaměřena na vybraná konkrétní onemocnění, při jejichž diagnostice se dechové testy nejčastěji využívají.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 *Historie dechových testů*

Detekce látek v dechu má dlouhou historii, která sahá až do starověku. Již od dob Hippokrata lékaři věděli, že lidský dech může poskytnout vodítko k diagnóze. Sladký pach acetonu souvisel s diabetem, rybí zápach značil onemocnění jater, zápach podobný moči doprovázel selhávání ledvin (Phillips, 1992).

Dále pokročilo testování dechu až s Antoine Laurent Lavoisierem, který byl považován za zakladatele moderní chemie a zároveň byl také průkopníkem v dechových testech. V roce 1784 on a Pierre Simon Laplace, francouzský matematik a fyzik, analyzovali dech morčete. Zjistili, že zvíře spotřebovalo  $O_2$  (kyslík) a vydechlo  $CO_2$  (Phillips, 1992). Jednalo se tedy o první analýzu  $CO_2$  ve vydechovaném vzduchu. Lavoisier a Laplace vynalezli systém, který umožňoval akumulovat a analyzovat složky dechu. Vydechovaný vzduch probublával přes chemický roztok, který reagoval s  $CO_2$  ve vydechovaném vzduchu za vzniku viditelné sraženiny (Pham a Beauchamp, 2021).

Na rozdíl od  $CO_2$  je většina ostatních těkavých sloučenin v dechu přítomna v mnohem nižších koncentracích (ppm = parts per million až ppt = parts per trillion) a na jejich detekci se muselo počkat až do poloviny 19. století, kdy byly zavedeny kolorimetrické testy (změna barvy roztoku na základě reakce analytu s chemickým činidlem). Jedním z prvních, kdo využíval kolorimetrickou analýzu, byl německý lékař A. Nebelthau. Ten analyzoval dech pacientů trpících diabetes mellitus, kdy při neléčeném stavu tohoto onemocnění se hladina glukózy v krvi nadměrně zvyšuje a v důsledku toho tělo vytváří velké množství acetonu jako hlavního metabolitu. Když Nebelthau probublával dech pacienta přes alkalický roztok jódu, tak při přítomnosti acetonu vznikl žlutý roztok jodoformu. Barevná změna tedy ukázala, že se plícemi vylučovalo neobvyklé množství acetonu (Phillips, 1992).

V roce 1874 britský lékař Francis E. Anstie použil kolorimetrickou analýzu ke studiu osudu alkoholu v lidském těle. Jeho aparatura zachycovala vydechovaný vzduch, který probublával přes roztok kyseliny chromové, která se v přítomnosti etylalkoholu změnila z červenohnědé na zelenou. Ve svých experimentech prokázal, že množství alkoholu vylučované dechem a jinými cestami zdaleka nedosahuje zkonsumovaného množství. Většina alkoholu tedy musela být metabolizována (Phillips, 1992). Ve 30.–50. letech

20. století se objevily první pomalé a ručně ovládané přístroje na měření alkoholu v dechu (Pham a Beauchamp, 2021).

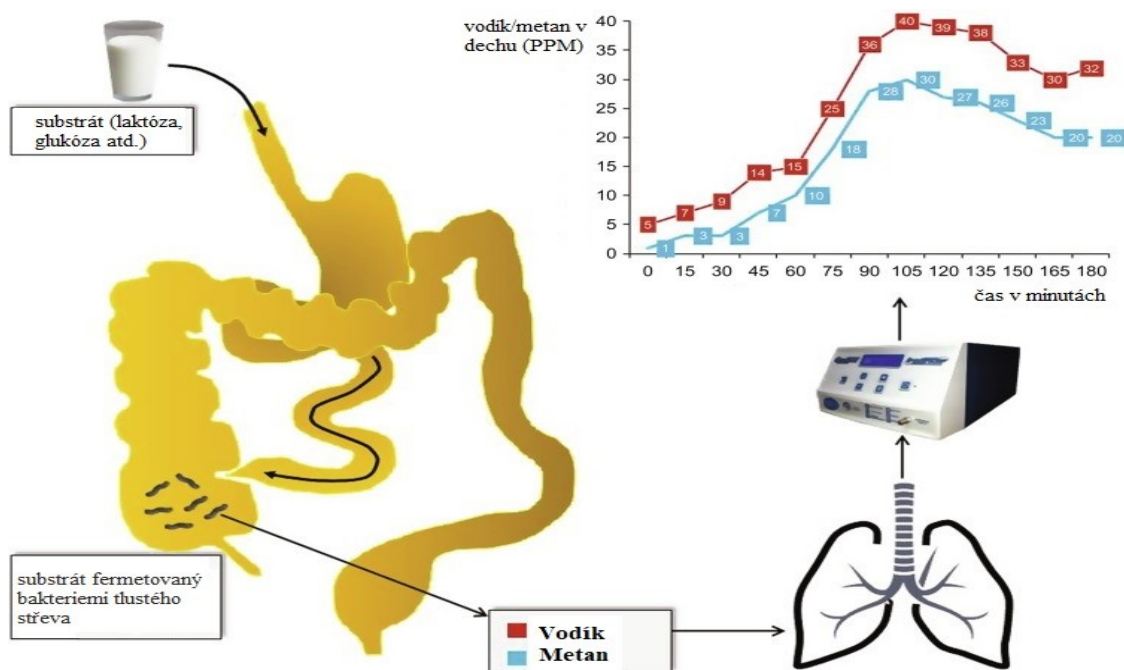
V roce 1920 Charles Dodds jako první navrhl použití analýzy dechu k diagnóze gastrointestinálního onemocnění. Při svých pokusech zjistil, že parciální tlak  $\text{CO}_2$  v dechu po jídle vzroste a dále zjistil, že naměřené hodnoty tohoto parciálního tlaku jsou odlišné u zdravých osob a osob s poruchami trávení. Kvůli technické složitosti se však tato metoda nedostala do gastroenterologické rutiny a situace se nezměnila, dokud nedošlo k objevení radioizotopů pro tyto účely. Díky nim bylo možné začlenit izotop uhlíku  $^{14}\text{C}$  do různých organických sloučenin a měřit v dechu  $^{14}\text{CO}_2$ , který je výsledkem jejich metabolismu (Thaysen, 1977). Kromě  $^{14}\text{CO}_2$  se v laboratorní diagnostice v 70. letech objevuje analýza  $\text{H}_2$  a  $^{13}\text{CO}_2$ . Izotop uhlíku  $^{14}\text{C}$  má dlouhý poločas rozpadu ( $T_{1/2} = 5730$  let), a proto byl v klinické praxi postupně nahrazen substráty se stabilním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$ , který se spolu s  $\text{H}_2$  využívá i dnes (Kocna, 2021).

## **2 Dechové testy měřící koncentraci vodíku ( $\text{H}_2$ )**

Dechové testy s měřením koncentrace  $\text{H}_2$  se do praxe dostávají již v 70. letech 20. století (Kocna, 2006). V současné době jsou široce používány ke zkoumání patofyziologie funkčních gastrointestinálních poruch. Nejčastějšími poruchami, které jsou těmito testy detekovány jsou SIBO (small intestinal bacterial overgrowth = bakteriální přerůstání v tenkém střevě) a malabsorpce sacharidů (Rana a Malik, 2014). Pro diagnostiku SIBO je nejčastějším substrátem glukóza či laktulóza, zatímco laktózový, fruktózový či sacharózový vodíkový dechový test se používá pro detekci poruchy vstřebávání těchto sacharidů (malabsorpce sacharidů) (Siddiqui a kol., 2016). Laktulózový vodíkový dechový test se také široce používá k stanovení času orocékální pasáže. Tyto metody jsou neinvazivní a levné. Pacienti s příznaky bolesti břicha, nadýmání, plynatosti a změněným pohybem střev (průjem a zácpa) nebo s lékařskou diagnózou syndromu dráždivého tračníku či celiakie mohou mít nediodagnostikovanou malabsorpci sacharidů nebo SIBO. Vodíkové dechové testy jsou specifické, citlivé a lze je použít k potvrzení nebo vyloučení diagnózy malabsorpce sacharidů nebo SIBO (Rana a Malik, 2014).

## 2.1 Princip dechových testů s vodíkem (H<sub>2</sub>)

Běžně jsou sacharidy absorbovány ze stravy v tenkém střevě, ale pokud tomu tak v případě gastrointestinálních poruch není, putují trávicím traktem do tlustého střeva, kde je střevní bakterie fermentují a vzniká plynný H<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> (metan) (ten vyrábějí bakterie z H<sub>2</sub> a CO<sub>2</sub>). Část plynného H<sub>2</sub> produkovaného bakteriemi je odstraněna z těla jako flatulence anebo slouží při vytváření jiných molekul, jako jsou sulfidy, acetát a mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Většina plynného H<sub>2</sub> je ale absorbována přes endotel tlustého střeva do krevního oběhu a následně krevním oběhem transportována do plic a z plic uvolněna dýcháním. Množství H<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> vydechané z plic lze snadno změřit odebráním vzorku vydechaného vzduchu a změřením pomocí dechového přístroje (Viz Obr. 1) (Rana a Malik, 2014).



**Obrázek 1** - Princip stanovení H<sub>2</sub> v dechu pomocí dechových testů (podle Ghoshal a Ghoshal, 2020)

## 2.2 Analyzátořy vodíku a metanu

Koncentrace H<sub>2</sub> ve vydechaném vzduchu je stanovována metodou plynové chromatografie nebo pomocí ručních bateriových analyzátořů (H<sub>2</sub> – monitorů)



s elektrochemickým senzorem. Přenosné H<sub>2</sub> detektory poskytují srovnatelné výsledky s laboratorním analyzátozem (Kocna, 2006).

Některé laboratorní analyzátory stanovují vedle H<sub>2</sub> i koncentraci CH<sub>4</sub>. Stanovení koncentrace H<sub>2</sub> ve vydechovaném vzduchu totiž může být přítomností CH<sub>4</sub> ovlivněno. Je-li současně hodnocen i CH<sub>4</sub>, pak pozitivitou může být zvýšení koncentrace H<sub>2</sub> + 2xCH<sub>4</sub>, protože molekula CH<sub>4</sub> vzniká ze dvou molekul H<sub>2</sub>. Mnoho studií tak zdůrazňuje nutnost vyhodnocovat H<sub>2</sub> i CH<sub>4</sub> současně (Kocna, 2021). Metanogenní flóra, nebo kyselé pH tlustého střeva mohou přispívat k nízké akumulaci H<sub>2</sub> v tlustém střevě, což vede k falešně negativním výsledkům testů až u 20 % H<sub>2</sub> dechových testů. Z toho vyplývá, že měření H<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> současně, může zlepšit přesnost a citlivost H<sub>2</sub> dechových testů (Hammer a kol., 2022).

Třetím analytem, který stanovují laboratorní analyzátory je O<sub>2</sub> nebo CO<sub>2</sub>, jejichž koncentrace slouží k minimalizaci chyb způsobených vzorkováním (Kocna, 2021).

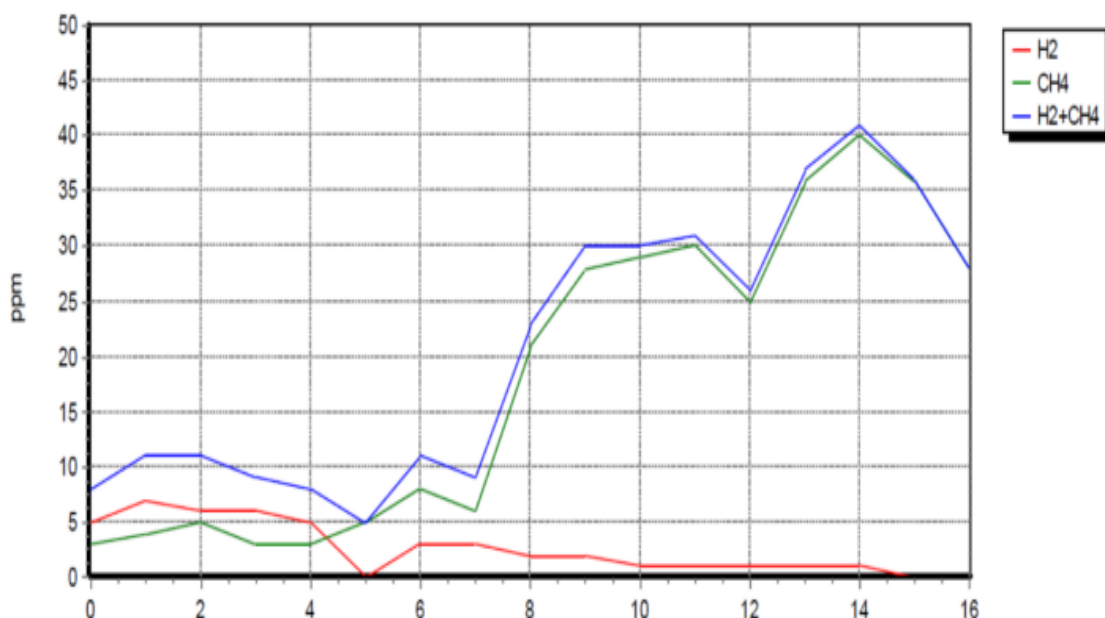
### **2.3 Příprava pacienta před testováním**

Většina autorů doporučuje provádět test ráno, po vyčistění úst a dodržet stav nalačno přes noc (cca 12 hodin před testem). Po dobu 24 hodin před testem se nedoporučuje kouření a cvičení, a dále se 24 hodin před testem doporučuje nejíst žádné pomalu stravitelné potraviny, konzumovat stravu s nízkým obsahem vlákniny a neužívat žádné doplňky vlákniny a laxativa (Hammer a kol., 2022). Vzhledem k tomu, že antibiotika mění složení a metabolismus střevních bakterií a tím i produkci H<sub>2</sub>, by pacienti neměli užívat antibiotika po dobu 4 týdnů před testem (Rana a Malik, 2014).

### **2.4 Provedení testu a jeho vyhodnocení**

V den testu se ještě před podáním substrátu (laktóza, glukóza atd.) odebírá jeden srovnávací vzorek vydechovaného vzduchu. Poté pacient dostane substrát v podobě nápoje nebo jídla a následně jsou v pravidelných intervalech odebírány vzorky vydechovaného vzduchu, které jsou analyzovány pomocí měřících přístrojů. Délka testu a intervaly mezi jednotlivými odběry závisí na typu substrátu (např. délka laktózového dechového testu je 4 hodiny) (Prokopcová a kol., 2008).

Výstupem z dechového testu je graf závislosti koncentrace vydechaného H<sub>2</sub>, popřípadě i CH<sub>4</sub> na čase spolu s tabulkou udávající jednotlivé hodnoty v časech odběru (Obr. 2 a 3). Kritériem positivity vodíkových testů je většinou zvýšení koncentrace proti výchozí hodnotě o 10-20 ppm (Kocna, 2006).



**Obrázek 2** – Graf závislosti koncentrace vydechaného H<sub>2</sub> (červeně), CH<sub>4</sub> (zeleně) a H<sub>2</sub>+CH<sub>4</sub> (modře) (Pluhařová, 2021)

Sugar used: Lactose dose: 20unit: g

#	ΔTime (min)	H2 (ppm)	CH4 (ppm)	CO2 (%)	Corr	H2 Corr	CH4 Corr	Time	Comments
0	1	5	3	5.64		5	3	08:21	
1	21	7	4	5.62		7	4	08:42	LAKTOZA podaná v 8,20 h
2	16	6	5	5.83		6	5	08:58	
3	15	6	3	5.6		6	3	09:13	
4	15	5	3	5.99		5	3	09:28	
5	15	0	5	5.66		0	5	09:43	
6	15	3	8	5.7		3	8	09:58	
7	15	3	6	5.19		3	6	10:13	
8	15	2	21	5.88		2	20	10:28	
9	14	2	28	5.6		2	28	10:42	
10	15	1	29	5.21		1	31	10:57	
11	15	1	30	5.89		1	28	11:12	
12	14	1	25	5.28		1	26	11:26	
13	15	1	36	5.44		1	36	11:41	
14	15	1	40	5.79		1	38	11:56	
15	15	0	36	5.26		0	38	12:11	
16	15	0	28	5.67		0	27	12:26	

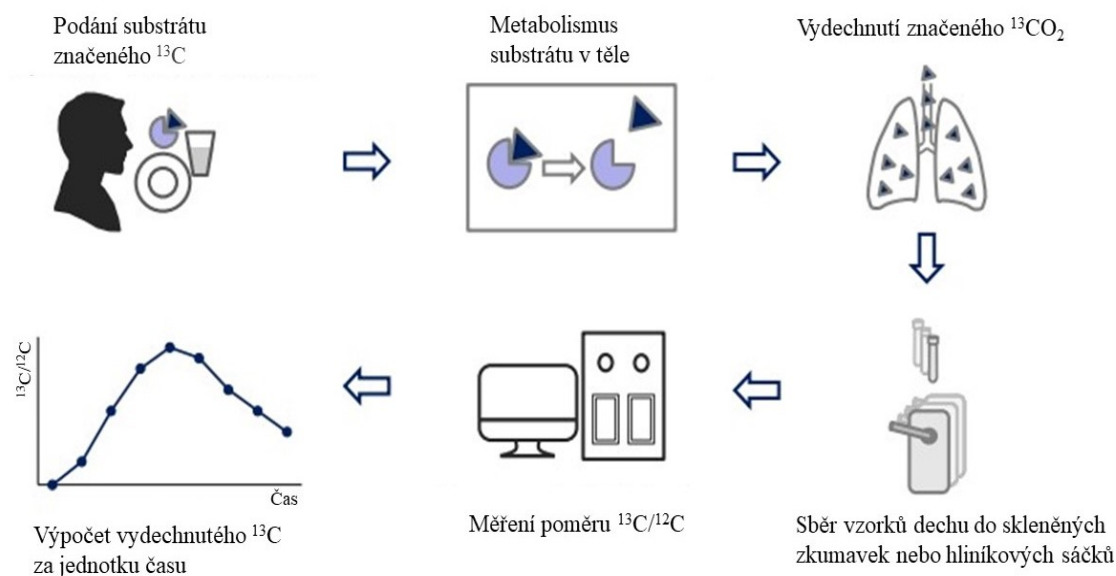
**Obrázek 3** – Tabulka naměřených hodnot (Pluhařová, 2021)

### **3 Dechové testy s izotopem uhlíku $^{13}\text{C}$**

Dechovým testům se stabilním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  předcházely dechové testy využívající radioaktivní izotop uhlíku  $^{14}\text{C}$ . Ten byl vyvinut pro testování exokrinní funkce slinivky břišní či funkce jater. S rostoucím povědomím o radiačním riziku byl však izotop uhlíku  $^{14}\text{C}$  v těchto dechových testech nahrazen stabilním, neradioaktivním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$ . To bylo a je výhodné především pro studie u dětí a těhotných žen a pro opakované studie u dospělých. Dechové testy s izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  pak byly postupem času upraveny a využity i pro další klinické indikace jako stanovení rychlosti evakuace žaludku nebo orocékálního tranzitního času, SIBO, malabsorpce sacharidů, nebo detekce bakterie *Helicobacter pylori* (Braden a kol., 2007). Na rozdíl od dechových testů s  $\text{H}_2$  je oblast využití dechových testů s izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  širší díky rozmanitosti dostupných substrátů. Volba substrátu určuje konkrétní použití příslušného dechového testu (Pham a Beauchamp, 2021).

#### **3.1 Princip dechových testů s izotopem uhlíku $^{13}\text{C}$**

Společným základem těchto dechových testů je použití substrátů značených izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$ , které podléhají metabolismu (podle typu substrátu) a produkují  $^{13}\text{CO}_2$  jako metabolit, který je následně detekovatelný ve vydechaném vzduchu (Obr. 4) (Pham a Beauchamp, 2021). Uhlík má tři přirozeně se vyskytující izotopy, z nichž izotopy  $^{12}\text{C}$  a  $^{13}\text{C}$  jsou stabilní, tj. nepodléhají radioaktivnímu rozpadu. Izotop uhlíku  $^{13}\text{C}$  se přirozeně vyskytuje v přibližně 1,11 % všech atomů uhlíku (Braden a kol., 2007). Tato hodnota vychází z mezinárodně uznávaného standardu PDB, kterým byl původně uhličitán vápenatý ze schránek křídových belemnitů rodu *Belemnitella americana* z geologické formace Pee Dee (PDB) v Jižní Karolíně v USA (Keller a kol., 2021).



**Obrázek 4** – Princip dechových testů s izotopem  $^{13}\text{C}$ , po směru šipek – podání značeného substrátu, metabolismus substrátu, vydechnutí  $^{13}\text{CO}_2$ , sběr vzorků dechu, měření poměru  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  a výpočet vydechnutého izotopu  $^{13}\text{C}$  za jednotku času (podle Keller a kol., 2021)

Po podání substrátu, který je obohacen o definované množství izotopu uhlíku  $^{13}\text{C}$ , jsou odebírány vzorky vydechovaného vzduchu a je měřena změna poměru izotopů uhlíku  $^{12}\text{C}$  a  $^{13}\text{C}$  v celkově vydechovaném  $\text{CO}_2$ . Množství stabilního izotopu  $^{13}\text{C}$  se vyjadřuje hodnotou  $\delta^{13}\text{C}$ , což je poměr  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (Kocna, 2021).

Důležitým ukazatelem testů je hodnota DOB (Delta Over Baseline), což je změna poměru  $\delta^{13}\text{C}$  v definovaném čase, vyjádřená v tisícinách jednotky (promile; ‰) (Kocna, 2006). Funkční testy se dále mohou vyhodnocovat pomocí kumulativního výdeje – cPDR (Cumulative Percent Dose Recovery) nebo parametrů vyjadřujících kinetiku exkrece – PET (Peak Excretion Time). Pro výpočet cPDR se nejčastěji používá produkce  $\text{CO}_2$  vztahená na povrch těla (BSA – Body Surface Area) s koeficientem  $300 \text{ mmol CO}_2/\text{hod}/\text{m}^2$ , který ale nezohledňuje věk a pohlaví. Může se ale použít i výpočetní vztah BMR (Basal Metabolic Rate), který naopak bere v potaz věk a pohlaví pacienta. Tím se vypočítá množství izotopu  $^{13}\text{C}$  objevující se v dechu za jednotku času (Kocna, 2021, Braden a kol., 2007).

Dechový test s izotopem  $^{13}\text{C}$  je semikvantitativním diagnostickým nástrojem, protože značné množství substrátu je zadrženo v uhlíkové zásobě těla. Je nutné si uvědomit, že na výsledky dechových testů budou mít vliv také faktory ovlivňující endogenní

produkci nebo vylučování CO<sub>2</sub>, jako je příjem potravy, fyzická aktivita, respirační onemocnění, dysfunkce štítné žlázy a horečka (Braden a kol., 2007).

### 3.2 Analyzátory izotopů uhlíku v dechu

V současnosti nejpřesnější a nejefektivnější metodou stanovení izotopů uhlíku v dechu je IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry), což je poměrová hmotnostní spektrometrie, která měří poměr izotopů uhlíku ve vydechovaném CO<sub>2</sub> (Kocna, 2006). V hmotnostním spektrometru se izotopy dělí v magnetickém poli podle poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) a dopadají na trojitou Faradayovu klec počítající částice s relativní molekulovou hmotností 44 (<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>), 45 (<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>) a 46 (<sup>12</sup>C<sup>16/18</sup>O<sub>2</sub>). Pro analýzu stačí několik mikrolitrů vzorku vzduchu, které jsou sbírány do 5-10 ml zkumavek. Nevýhodou je ale vysoká cena vybavení a provozní náročnost (Keller a kol., 2021).

Nejrozšířenější metodou a druhým typem analyzátoru jsou NDIRS analyzátory (Nondispersive Isotope-selective Infrared Spectroscopy), neboli detekce v infračerveném spektru (Keller a kol., 2021). Kromě nižších nákladů jsou NDIRS analyzátory jednodušší, menší, snadněji se s nimi manipuluje a lze je využít na místě např. v ambulantních zařízeních. Nižší analytická citlivost NDIRS analyzátorů vyžaduje větší objem vzorku vzduchu (10–100 ml), který se odebírá do sáčků z hliníkové fólie (Braden a kol., 2007).

Dalšími variantami používanými nebo testovanými na měření poměru <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C jsou například technologie MCS (Molecular Correlation Spectroscopy) s kontinuálním měřením nosní sondou, analyzátor LARA (Laser Assisted Ratio Analysis) založený na optogalvanickém měření vlastností laserového paprsku nebo TDLAS (Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy) (Kocna, 2023). Principem TDLAS je absorpční spektroskopie využívající jedinou izolovanou rotačně-vibrační absorpční čáru sledovaného prvku. Nejdůležitější součástí systému TDLAS je laditelný diodový laser (TDL) (Wall, 2006).

### 3.3 Používané substráty

Dechové testy s izotopem <sup>13</sup>C mají širokou škálu značených substrátů a tím pádem i široké využití. Nejznámější a nejčastější je využití izotopem <sup>13</sup>C značené močoviny

k detekci ureázy při infekci *Helicobacter pylori*. Pro testy funkce exokrinního pankreatu se využívá  $^{13}\text{C}$ -triolein,  $^{13}\text{C}$ -tripalmitin,  $^{13}\text{C}$ -trioktanoin,  $^{13}\text{C}$ -hiolein,  $^{13}\text{C}$ -cholesteryl oktanoát,  $^{13}\text{C}$ -škrob. Nejrozšířenějším dechovým testem je v tomto případě ale  $^{13}\text{C}$ -MTG-BT ( $^{13}\text{C}$ -Mixed Triglyceride Breath Test) s  $^{13}\text{C}$  značenými smíšenými triacylglyceroly. Pro funkční testy pro stanovení rychlosti evakuace žaludku se jako substrát podává  $^{13}\text{C}$ -oktanoát pro pevnou stravu,  $^{13}\text{C}$ -acetát pro tekutou stravu. Pro hodnocení jaterních funkcí se nejčastěji používá  $^{13}\text{C}$ -methacetin, dále pak  $^{13}\text{C}$ -aminopyrin,  $^{13}\text{C}$ -erythromycin,  $^{13}\text{C}$ -kofein,  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -ketoisokaprolová kyselina,  $^{13}\text{C}$ -methionin,  $^{13}\text{C}$ -fenylalanin,  $^{13}\text{C}$ -galaktóza nebo  $^{13}\text{C}$ -oktanoát (Braden a kol., 2007). Další využití se shoduje s  $\text{H}_2$  dechovými testy, a to stanovení malabsorpce sacharidů a stanovení SIBO. Pro stanovení malabsorpce sacharidů se v  $^{13}\text{C}$  dechových testech využívá jako substrát například  $^{13}\text{C}$ -laktóza,  $^{13}\text{C}$ -fruktóza,  $^{13}\text{C}$ -galaktóza či  $^{13}\text{C}$ -sacharóza. K diagnostice SIBO se využívá  $^{13}\text{C}$ -xylóza nebo  $^{13}\text{C}$ -glykocholát (Siddiqui a kol., 2016).

I tak jsou  $^{13}\text{C}$  dechové testy zatím spíše málo využívané a jejich klinická aplikace má ještě daleko širší využití. V klinických studiích je popsán například  $^{13}\text{C}$ - $\text{CaCO}_3$  pro stanovení acidity žaludku, 1- $^{13}\text{C}$ -propionát pro detekci nedostatečnosti vitamínu  $\text{B}_{12}$ ,  $^{13}\text{C}$ -hydrogenuhlíčan umožňující vyhodnocovat energetickou bilanci či L-DOPA- $^{13}\text{C}$  dechový test pro měření aktivity L-DOPA dekarboxylázy pro individualizaci terapie parkinsonismu (Kocna, 2021). Optimalizovat farmakoterapii u nádorových onemocnění by mělo být možné s aplikací  $^{13}\text{C}$ -dextromethorphanu a  $^{13}\text{C}$ -uracilu. Změna poměru  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  by zas mohla být využívána pro predikci infekce v intenzivní medicíně (Kocna, 2023).

### 3.4 Příprava pacienta před testováním

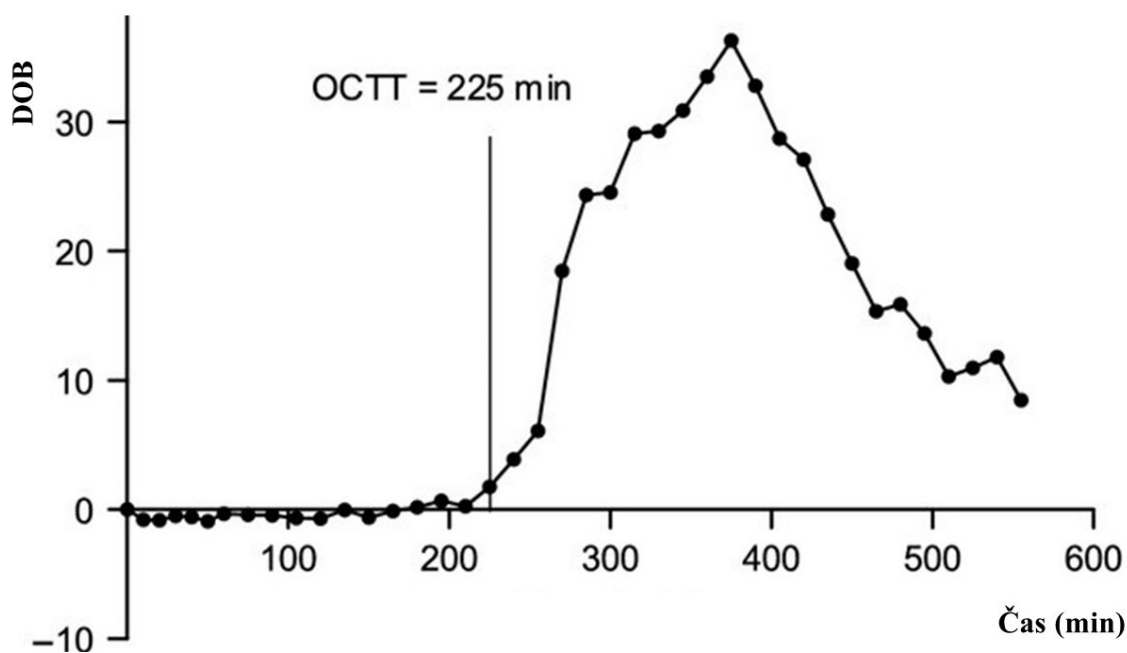
Výsledky testů mohou být ovlivněny mnoha kroky před testováním. Proto je nutné, aby byly postupy pro jednotlivá vyšetření validovány v reprezentativním vzorku populace a aby se následně tyto validované postupy při testování dodržovaly. Před testováním je třeba se vyhnout konzumaci rostlin jako je kukuřice, ananas, brokolice a cukrová třtina aspoň 48 hodin před testováním (někdy je doporučováno až 72 hodin). Je to proto, že existují tři typy fotosyntézy podle fixace  $\text{CO}_2$ , běžně označované jako cesty  $\text{C}_3$  (Calvinův cyklus),  $\text{C}_4$  (Hatch-Slackův cyklus) a CAM (metabolismus kyselin

u tučnolistých rostlin). Většina rostlin konzumovaných v evropské stravě provádí fotosyntézu C3, kdežto výše zmiňované rostliny využívají fotosyntézu C4, což vede k vyššímu obsahu izotopu uhlíku  $^{13}\text{C}$  a jejich konzumace před dechovým testem zvyšuje bazální výdech izotopu  $^{13}\text{C}$ . Také léky mohou ovlivnit výsledky testu v závislosti na konkrétním testu a je potřeba je před testováním vysadit. Například u testu se značenou močovinou k detekci *Helicobacter pylori* se musí vysadit inhibitory protonové pumpy. Jindy se ale dechové testy přímo využívají k sledování účinků léku a je naopak žádoucí, aby je pacient užíval bez přerušování. Stejně tak fyzická aktivita má vliv na výsledky  $^{13}\text{C}$  dechových testů a je žádoucí, aby se pacienti během testů vyhýbali fyzické aktivitě (Keller a kol., 2021).

### 3.5 Provedení testu a jeho vyhodnocení

Provedení testu je velmi podobné jako u  $\text{H}_2$  dechových testů. Nejdříve se odebere vzorek vydechaného vzduchu před podáním substrátu, poté se podá substrát (v roztoku, v pevné stravě) a provádí se měření v určitých časových intervalech po určitou dobu – vše záleží na konkrétním druhu substrátu a měření. Vzorky se podle typu analyzátoru odebírají do 5–10 ml zkumavek nebo do sáčků z hliníkové fólie (Keller a kol., 2021).

Vyhodnocení opět záleží na konkrétním typu testu. U  $^{13}\text{C}$  testů s močovinou k detekci infekce *Helicobacter pylori*, nebo u testů stanovení orocékálního tranzitního času se stanovuje hodnota DOB. Naopak u  $^{13}\text{C}$  dechových testů se směsí triacylglycerolů se vyhodnocuje cPDR. Výstupem jsou pak opět grafy závislosti měřené hodnoty na čase (Obr. 5). K tomu může být tabulka udávající jednotlivé hodnoty (Kocna, 2021).



**Obrázek 5** - Závislost DOB na čase při stanovení orocékálního tranzitního času (podle Chaddock a kol., 2014)

## 4 *Dechové testy s oxidem dusnatým (NO)*

Přímá měření NO (oxid dusnatý) v biologických tkáních jsou obtížně proveditelná, protože plyn rychle reaguje např. s hemoglobinem nebo jinými proteiny obsahujícími  $\text{Fe}^{2+}$ . Na rozdíl od situace ve většině biologických tkání je NO v plynné fázi poměrně stabilní i při nízkých koncentracích. NO tedy může být vylučován dýchacími cestami a je detekovaný ve vydechovaném vzduchu jako tzv. FeNO neboli vydechovaná frakce NO. Tato hodnota má klinický význam především v diagnostice a léčbě astmatu (Lundberg a kol., 1996).

### 4.1 Princip měření NO

NO je v těle fyziologicky přítomen a podílí se na širokém spektru biologických funkcí, včetně regulace průtoku krve, funkce krevních destiček, neurotransmise, imunity a zánětu. Má také důležitou funkci v průduškách a plicním řečišti, kde se podílí na bronchodilataci a vazodilataci. V roce 1993 pak bylo prokázáno, že hodnota vydechované frakce NO (FeNO = fraction exhaled nitric oxide) je vyšší u pacientů s bronchiálním astmatem. U astmatu jsou hladiny FeNO zvýšené v důsledku aktivace



indukovatelné NO syntázy (iNOS) zánětlivými cytokiny v epitelálních buňkách dýchacích cest a zdá se, že hladina FeNO se zvyšuje úměrně závažnosti zánětu stěny průdušek. FeNO se měří z jednoho výdechu, obvykle pomocí online technik. Výdech proti přetlaku vylučuje možnost kontaminace z nosního NO (nNO), který může ovlivnit hodnotu FeNO. Mezi další faktory ovlivňující hodnoty FeNO patří rychlost výdechu a věk, pohlaví, výška jedince, kuřácké návyky, alergie a užívané protizánětlivé léky (Ulrik a kol., 2021).

Dnes je FeNO pravděpodobně nejpoužívanějším biomarkerem v klinické praxi pro hodnocení zánětu dýchacích cest. FeNO může usnadnit identifikaci pacientů s astmatem a má potenciál identifikovat ty astmatické pacienty, kteří budou dobře reagovat na protizánětlivou léčbu inhalačními kortikosteroidy (Ulrik a kol., 2021).

## **4.2 Analyzátory FeNO**

Analyzátory FeNO mohou fungovat na principu chemiluminiscence nebo elektrochemické detekce. Zatímco chemiluminiscenční analyzátory jsou velmi citlivé a výsledky vyšetření jsou vysoce reprodukovatelné, u elektrochemických analyzátorů je citlivost detekce nižší a opakovatelnost i přesnost výsledků horší. Výhodou je však výrazně nižší cena elektrochemických analyzátorů (Rybníkář a kol., 2015). Elektrochemické analyzátory mají senzory, které převádějí koncentraci plynu ve vydechovaném dechu na elektrické signály a obvykle poskytují výsledky přibližně do minuty (Skwarło, 2010).

## **4.3 Provedení testu a jeho vyhodnocení**

Pacient si dá na nos kolíček a po předchozím nádechu vydechuje do přístroje. Důležité je udržet trvalý proud vydechovaného vzduchu (50 ml/s) potřebný ke změření koncentrace NO ve vydechovaném objemu. K tomu slouží animace na displeji přístroje (Obr. 6) – obrázek obláčku nebo holčičky s balónkem, který se pacient snaží udržet mezi dvěma ryskami. Poté se na displeji objeví naměřená hodnota FeNO (Skwarło, 2010). Fyziologické hodnoty FeNO u dětí jsou 5–15 ppb, u dospělých do 20 ppb. Vyšší hodnoty jsou suspektní na zánět dýchacích cest (Rybníkář a kol., 2015).



**Obrázek 6** - Přístroj měřící FeNO (Skwarło, 2010)

## **5 Klinická aplikace dechových testů**

Klinická aplikace H<sub>2</sub> dechových testů má tři hlavní využití. Prvním je stanovení malabsorpce sacharidů jako je laktóza nebo fruktóza. Druhým stavem, kdy se používá toto vyšetření je stanovení času orocékální pasáže (OCTT) a posledním významným využitím dechových testů s H<sub>2</sub> je stanovení SIBO (Hammer a kol., 2022).

U klinické aplikace <sup>13</sup>C dechových testů je potencionální využití daleko rozsáhlejší, díky široké škále substrátů. Mezi nejčastější využití patří detekce *Helicobacter pylori*, test exokrinní funkce pankreatu, stanovení rychlosti evakuace žaludku a testy jaterních funkcí. Shodně s H<sub>2</sub> dechovými testy lze i tyto využít k diagnostice SIBO a k průkazu intolerance laktózy (Kocna, 2006). Poměrně nové jsou také klinické studie využívající <sup>13</sup>C-glukózu ke screeningu prediabetu, diabetu 2. typu, inzulínové rezistence a metabolického syndromu, kde by tyto testy mohly nahradit orální glukózový toleranční test (Kocna, 2021).

Klinická aplikace dechových testů NO se zaměřuje především na diagnostiku a sledování průběhu astmatu (Ulrik a kol., 2021).

## **5.1 Malabsorpce sacharidů se zaměřením na laktózovou intoleranci**

Hlavní funkcí gastrointestinálního traktu je trávení a vstřebávání živin přijímaných ve stravě. K malabsorpci obecně dochází, když jsou tyto trávicí a vstřebávací funkce narušeny, obvykle v důsledku získaného onemocnění nebo chirurgického zákroku. Malabsorpce může být generalizovaná, postihující mnoho typů živin, nebo může být omezena na jednu konkrétní živinu (Nolan a kol., 2012). Mezi obecné příznaky malabsorpce se řadí průjem, bolest břicha, nadýmání, plynatost a velmi často i hubnutí a podvýživa. Další příznaky pak souvisí s tím, které konkrétní živiny jsou v nedostatku (Pluhařová, 2021).

Sacharidy se vstřebávají pouze ve formě monosacharidů (např. glukóza, fruktóza, galaktóza), které vznikají v tenkém střevě štěpením oligosacharidů a polysacharidů. Významnou součástí stravy jsou disacharidy (laktóza, sacharóza) a polysacharidy (škrob, glykogen, celulóza). Jejich štěpení (kromě celulózy, kterou lidský organismus štěpit neumí a jako součást vlákniny napomáhá trávení) pobíhá za pomoci hydrolytických enzymů – glykosidáz. Nejrychleji se z monosacharidů vstřebává galaktóza a glukóza, kdežto fruktóza se ve srovnání s nimi vstřebává zhruba poloviční rychlostí (Boušová a Dršata, 2018).

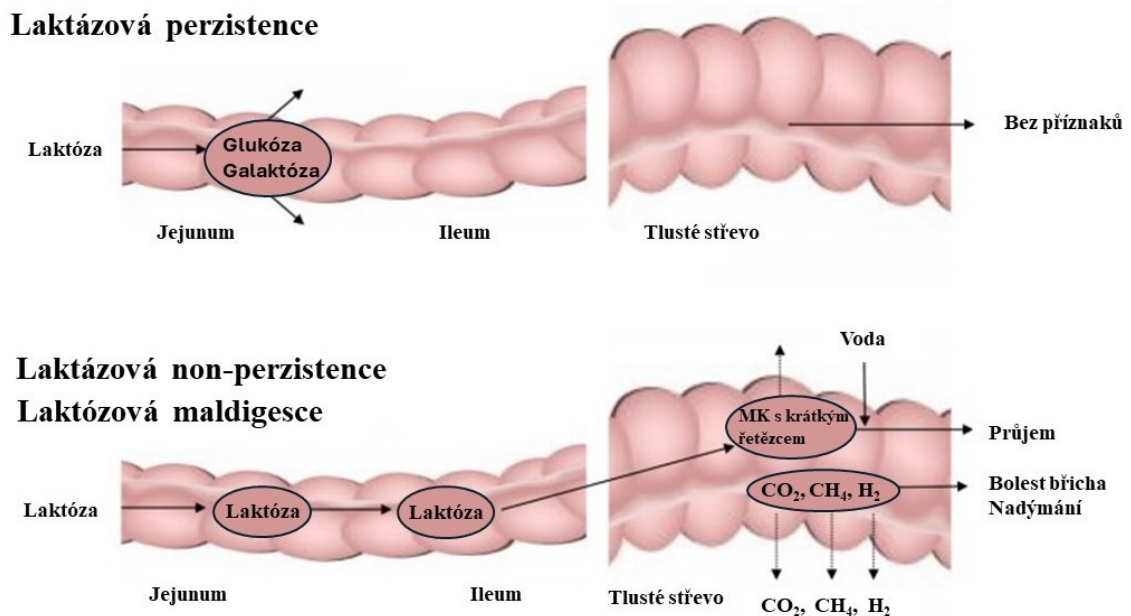
Poruchy trávení sacharidů jsou důsledkem nedostatečného nebo chybějícího enzymatického štěpení – to je způsobeno onemocněním orgánů, které tyto enzymy produkují (pankreas, střevní sliznice), či uzávěrem pankreatického vývodu (vytvořený enzym se nedostane do střeva). Další, ale méně častou příčinou jsou vrozené defekty jednotlivých enzymů. Do této kategorie patří právě například intolerance laktózy, způsobená deficitem enzymu laktázy (Boušová a Dršata, 2018).

### **5.1.1 Laktózová intolerance**

Mléko je důležitým zdrojem vápníku (100 mg/100 g mléka, 800 mg/100 g tvrdého sýru), kvalitních bílkovin (především kaseinu), dobře stravitelných tuků a sacharidů (především mléčného cukru laktózy). Je také nezanedbatelným zdrojem vitaminů B, C, A, E (Lukáš a Hoch, 2018).

Schopnost trávit laktózu je zásadní v kojeneckém věku, protože mateřské mléko je často jedinou složkou stravy. Dále ale aktivita laktázy (enzym štěpící laktózu na galaktózu a

glukózu) s věkem fyziologicky klesá. To se označuje jako laktázová non-perzistence. Naopak laktázová perzistence je stav, kdy je laktáza produkována i v pozdějším věku jedince (Obr. 7) (Bajerová, 2018). Tito jedinci jsou nositeli genetické mutace. Celosvětově se genetická mutace vyskytuje u cca 32 % lidí, a to zejména v Evropě, nejvíce pak ve Skandinávii a ve Velké Británii (82–96 %). Směrem k jihu Evropy laktázová perzistence klesá. Obyvatelé jihovýchodní Asie, Austrálie a Indiáni tuto genetickou mutaci nenesou téměř vůbec (Pluhařová, 2021).



**Obrázek 7** - Laktázová perzistence vs. laktázová non-perzistence (podle Misselwitz a kol., 2019)

Laktózová intolerance je definována jako nesnášenlivost mléčného cukru (disacharidu laktózy), který není v tenkém střevě štěpen enzymem laktázou na monosacharidy glukózu a galaktózu (Lukáš a Hoch, 2018). Laktáza (beta-D-galaktosidáza, EC 3.2.1.108) je enzym, který se nachází v kartáčovém lemu zralých enterocytů tenkého střeva a je tvořen v enterocytu jako pre-pro-enzym. Ten je postupně upraven do aktivní formy enzymu a následně ukotven na membráně enterocytu (Bajerová, 2018). Primární deficit laktázy (laktázová non-perzistence) je geneticky podmíněný stav, k sekundární hypolaktázii/malabsorpci dochází při poškození kartáčového lemu tenkého střeva (Kocna, 2021). Pokud je tedy jakýkoliv deficit laktázy, nerozštěpená laktóza postupuje dál do tlustého střeva. Osmotický tlak zvyšuje zadržení vody v lumen

střeva a následně je laktóza fermentována střevními bakteriemi za vzniku plynů ( $H_2$ ,  $CH_4$  a  $CO_2$ ) a mastných kyselin s krátkým řetězcem. Pacienti trpí nadýmáním, flatulencí, průjmy, zrychleným průchodem tráveniny gastrointestinálním traktem, bývá slyšitelná peristaltika (Catanzaro a kol., 2021).

Závažnost příznaků je subjektivní a závisí na několika faktorech, např. koncentrace laktázy ve střevní sliznici, střevní mikroflóra, množství požitá laktózy, gastrointestinální motilita a individuální citlivost ve vnímání symptomů. V současnosti je celosvětově prevalence potvrzených případů intolerance laktózy asi 57 %, ale toto číslo se zásadně mění v závislosti na kontinentu, a dokonce i jeho konkrétní části. V Evropě je prevalence asi 28 %, ale ve skutečnosti se pohybuje mezi 2 % ve Skandinávii a 70 % v jižní Itálii. Tato čísla korespondují s údaji o laktázové perzistenci v populaci (Catanzaro a kol., 2021).

Laktózový vodíkový dechový test je v diagnostice laktózové intolerance zlatým standardem. Měří se při něm vylučování  $H_2$  ve vydechovaném vzduchu po orálním podání standardní dávky laktózy. V klinické praxi může být optimální střední dávka laktózy 20–25 g (Catanzaro a kol., 2021). Některé zdroje uvádí 2 g laktózy na kg tělesné váhy (max. 50g) (Bajerová, 2018). První měření se provede ještě před podáním roztoku laktózy, následně jsou vzorky vydechovaného vzduchu odebírány 4 hodiny po 15–30 minutách. Pozitivitou testu je zvýšení koncentrace vodíku o 10–20 ppm proti bazální hodnotě (Kocna, 2021). U některých jedinců metanogenní bakterie ve střevní mikroflóře přeměňují  $H_2$  na  $CH_4$ , což může vést k falešně negativním výsledkům. Proto se jako spolehlivější ukazuje měření současně s  $CH_4$  (Catanzaro a kol., 2021). Dechový test vykazuje senzitivitu 77,5 % a specificitu 97,6 % (Kocna, 2021). Mezi další možné diagnostické metody patří genetické testy (pouze pro primární laktózovou intoleranci), stanovení pH stolice, histochemické vyšetření střevní sliznice odebrané biopsií a laktózový toleranční test (Bajerová, 2018).

## **5.2 Syndrom bakteriálního přerůstání (SIBO)**

Syndrom bakteriálního přerůstání v tenkém střevě (SIBO = Small Intestinal Bacterial Overgrowth) je celá skupina chorobných stavů charakteristická zvýšeným počtem a/nebo abnormálními druhy bakterií v tenkém střevě. Podle diagnostiky aspirátu z proximálního jejunu se za diagnostický počet pro SIBO považuje nález více

než  $10^5$  mikroorganismů/ml. Normální nález by měl být do  $10^4$  mikroorganismů/ml u zdravého dospělého jedince (Bureš a kol., 2009). Kvalitativní mikrobiologické složení aspirátu je též důležité. Většina studií ukazuje na převládající roli gramnegativních anaerobních bakterií tlustého střeva v rozvoji SIBO (Hammer a kol., 2022).

Rovnováha mezi bakteriální flórou a hostitelem je udržována mnoha faktory. Nejdůležitějšími kontrolními mechanismy jsou sekrece žaludeční kyseliny, anatomická celistvost trávicího traktu, peristaltická aktivita trávicího traktu, IgA sekreční imunoglobuliny a v menší míře i sliny, žluč a pankreatická šťáva. Selhání těchto mechanismů může být zodpovědné za rozvoj SIBO (Hammer a kol., 2022).

Vznik SIBO je spojen s mnoha rizikovými faktory a poruchami jako například achlorhydrie, dlouhodobé užívání inhibitorů protonové pumpy, fibromyalgie, Crohnova choroba, celiakie, akutní divertikulitida tračníku, anatomické abnormality (např. píštěle nebo slepé kličky), chronická pankreatitida, cystická fibróza či sklerodermie. Obecně se dá říci, že jde o stavy spojené s narušením ochranných protibakteriálních mechanismů v žaludku a tenkém střevě (Bureš a kol., 2009).

Klinický obraz nemoci je velmi variabilní. SIBO může probíhat asymptomaticky, nebo jsou přítomny nespecifické příznaky jako plynatost, flatulence, břišní diskomfort, průjemy a bolesti břicha. Ve vážnějších případech se SIBO může projevovat jako závažná malabsorpce s nedostatkem živin (anémie, nedostatek vitamínů a železa, steatorea, hubnutí) (Bureš a kol., 2009).

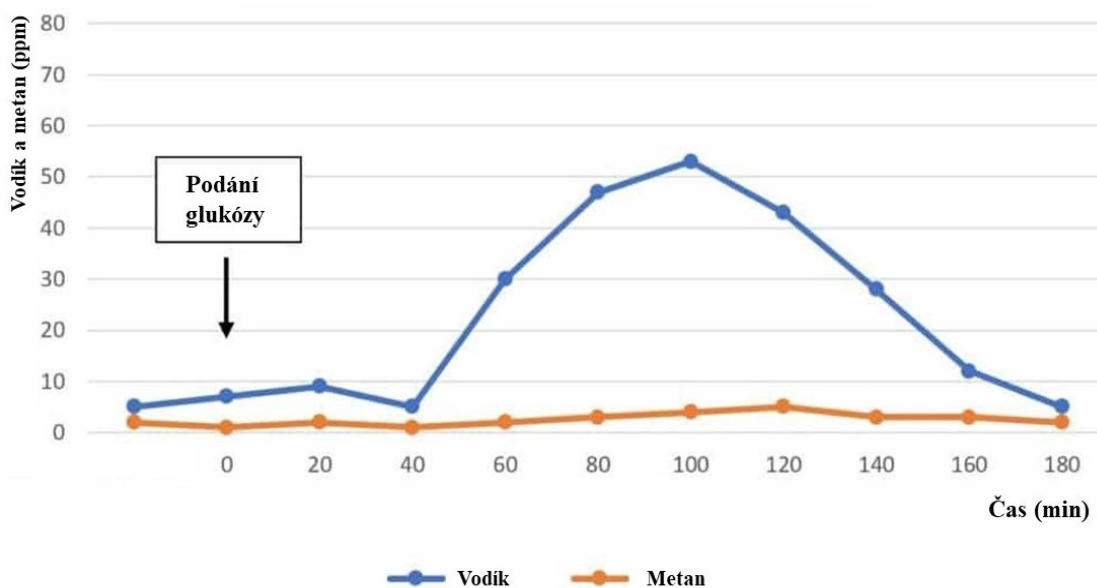
Dlouhou dobu byla za zlatý standard v diagnostice SIBO považována kultivace aspirátu z jejunu. Tato metoda je však invazivní, a navíc rozložení bakteriálního přerůstání v tenkém střevě nemusí být rovnoměrné, takže ho jednorázové vyšetření nemusí zachytit a může tak dojít k falešně negativním výsledkům (Hammer a kol., 2022). Na rozdíl od kultivace aspirátu poskytují dechové testy dostupnou, bezpečnou, levnou a neinvazivní alternativu pro diagnostiku SIBO (Rana a Malik, 2014).

Dechové testy s  $H_2$  se k detekci SIBO používají již dlouho a fungují na základě principu, kdy zvýšení  $H_2$  ve vydechaném vzduchu indikuje interakci mezi podaným sacharidovým substrátem a bakteriemi v tenkém střevě. Substráty používané u  $H_2$  dechových testů k detekci SIBO jsou glukóza a laktulóza. Glukóza se rychle vstřebává v duodenu a jejunu, což může omezit citlivost testu a vykázat falešně negativní

výsledky, pokud bakterie okupují pouze spodní části tenkého střeva, kam se požitá glukóza nedostane. Falešně pozitivní výsledky se naopak vyskytují u pacientů s relativně rychlým OCTT (orocékální tranzitní čas), u kterých se glukóza může dostat do tlustého střeva. Laktulóza není za normálních okolností absorbována tenkým střevem, takže dechový test s použitím tohoto substrátu odhalí kontakt s bakteriemi jak v tenkém střevě (při SIBO), tak v tlustém střevě. Celkově je specifická u obou substrátů podobná (80–85%), ale glukóza má vyšší senzitivitu (62% vs. 52%) a diagnostickou přesnost (72% vs. 55%) než laktulóza. U obou substrátů lze diagnostickou přesnost dechového testování na SIBO výrazně zlepšit kombinací této techniky s nezávislým hodnocením OCTT (např. scintigrafie), který může výsledky zpřesňovat (Hammer a kol., 2022).

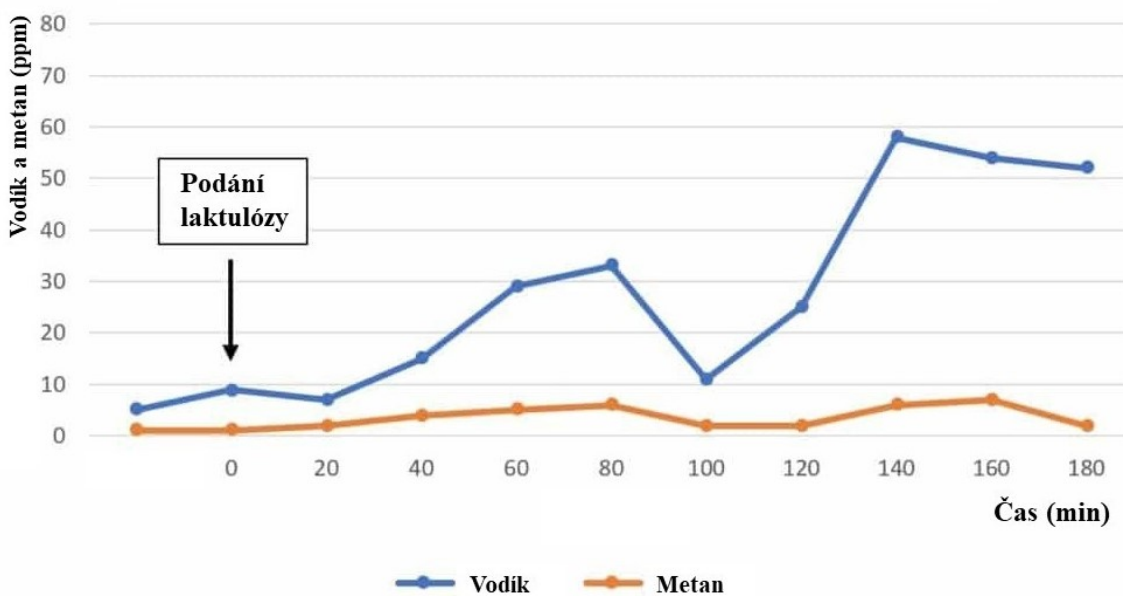
U testů s glukózou i laktulózou je SIBO potvrzeno, pokud dojde k zvýšení hladiny  $H_2$  v dechu předtím, než testovaný substrát vstoupí do tlustého střeva. U glukózy má výsledný pozitivní graf obvykle jediný „časný“ vrchol koncentrace  $H_2$  (Obr. 8). Nejčastěji používaná hodnota pro pozitivitu testu je zvýšení hodnot o 10–12 ppm (Hammer a kol., 2022). Při testu s laktulózou se mohou objevit dva vrcholy – první, časný při kontaktu laktulózy s bakteriemi v tenkém střevě, druhý po dosažení tlustého střeva, nebo jde o jeden vrchol s časným vzestupem a plateau fází (Obr. 9 a 10). Kvůli přesnosti a správnosti testů je také důležité stanovovat vždy  $H_2$  a  $CH_4$  současně. Ve vydechaném vzduchu totiž může být jen  $H_2$ ,  $H_2$  a  $CH_4$  zároveň nebo pouze  $CH_4$  (Bureš a kol., 2009).

### Glukózový dechový test – pozitivní na SIBO



Obrázek 8 - H<sub>2</sub> dechový test s glukózou pozitivní na SIBO (podle Adams, 2019)

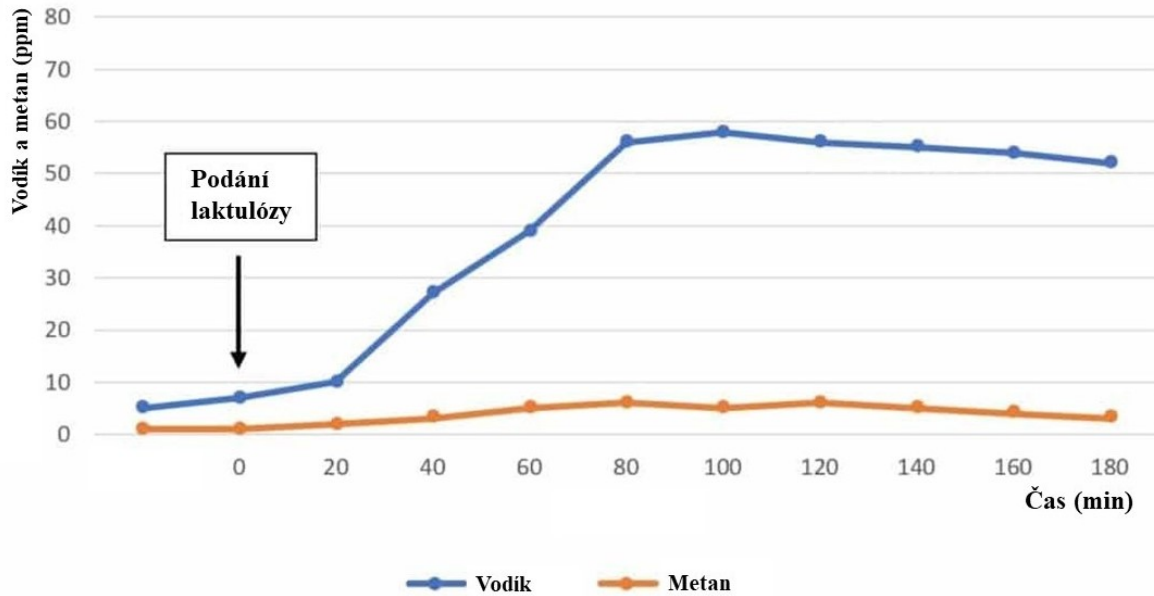
### Laktulózový dechový test – pozitivní na SIBO – dva vrcholy



Obrázek 9 - H<sub>2</sub> dechový test s laktulózou pozitivní na SIBO – dva vrcholy (podle Adams, 2019)



### Laktulózový dechový test – pozitivní na SIBO – jeden vrchol



**Obrázek 10** - H<sub>2</sub> dechový test s laktulózou pozitivní na SIBO – jeden vrchol (podle Adams, 2019)

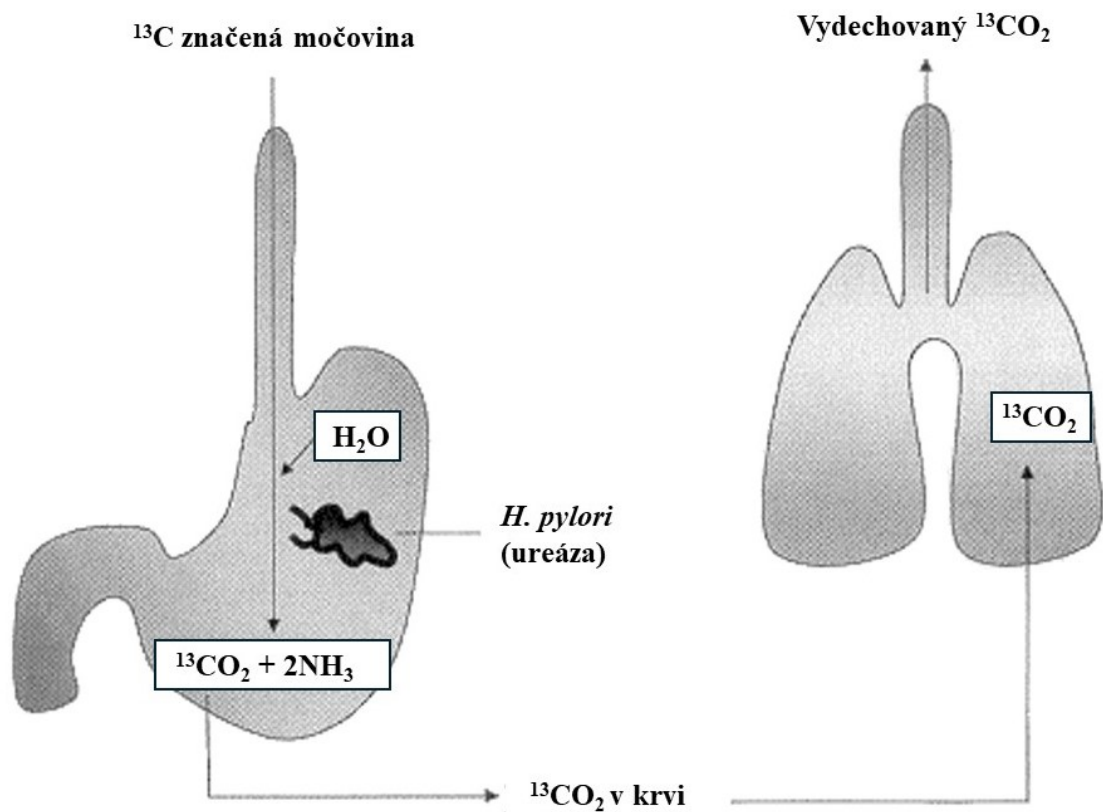
SIBO lze stanovit i pomocí <sup>13</sup>C dechových testů, kde je jako substrát používána <sup>13</sup>C-xylóza, která je metabolizovaná bakteriemi v tenkém a tlustém střevu. Dávka podané xylózy se pohybuje od 10 mg do 10 g (podle uspořádání testu). Při samotném testování pacient nejprve odevdá vzorek vydechaného vzduchu před vypitím značeného substrátu, vypije roztok s <sup>13</sup>C-xylózou a následujících 6 hodin je odebrán každých 60 minut jeden vzorek vydechaného vzduchu. Hodnotí se maximum dosaženého poměru <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, časový posun maxima a celkové množství metabolizované xylózy (Prokopcová a kol., 2008).

### 5.3 Detekce *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* je spirální, mikroaerofilní, gram-negativní bakterie, která kolonizuje žaludeční sliznici. Postihuje více než 50 % populace na celém světě. Infekce *Helicobacter pylori* je spojena s mnoha nenádorovými (peptický vřed, nevředová dyspepsie, chronická gastritida) i nádorovými (adenokarcinom žaludku, žaludeční lymfom) stavy gastrointestinálního traktu. Kvůli tomu je *Helicobacter pylori* podle Světové zdravotnické organizace (WHO) od roku 1994 klasifikován jako karcinogen

1. třídy. Kromě patologických stavů spojených s gastrointestinálním traktem je infekce *Helicobacter pylori* spojována i s hematologickými poruchami, jako je anémie z nedostatku železa a imunitní trombocytopenická purpura u dospělých. Přesné patogenní mechanismy ale nejsou jasné (Sankararaman a Moosavi, 2022).

Dechový test s močovinou značenou izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$ -UBT,  $^{13}\text{C}$  urea breath test) je dnes považován za zlatý standard průkazu infekce způsobené *Helicobacter pylori*. Princip testu je založen na detekci  $^{13}\text{CO}_2$  v dechu, který vzniká štěpením močoviny enzymem ureázou. Ureáza je v žaludku přítomna pouze při infekci *Helicobacter pylori* – je jejím produktem, a štěpí značenou močovinu na  $^{13}\text{CO}_2$  a  $\text{NH}_3$ .  $^{13}\text{CO}_2$  je pak absorbován přes vrstvu hlenu v žaludku a transportován krevním řečištěm do plic a vyloučen dechem (Obr 11). Tam může být detekován (Pham a Beauchamp, 2021). Ureázový dechový test je užitečný jak pro prvotní diagnostiku přítomnosti *Helicobacter pylori*, tak i pro hodnocení stavu po léčbě (Sankararaman a Moosavi, 2022).



**Obrázek 11** - Princip  $^{13}\text{C}$  dechového testu s močovinou k detekci *Helicobacter pylori* (podle Fallone a kol., 2000)

Před testováním by pacienti měli vysadit antibiotika a sloučeniny bismutu po dobu nejméně 4 týdnů před testováním a inhibitory protonové pumpy po dobu alespoň 2 týdnů (Pham a Beauchamp, 2021). Užívání antacid je povoleno a nezdá se, že by narušovalo výsledky testu (Sankararaman a Moosavi, 2022).

Jeden z doporučených postupů provedení testu je následující: Pacientovi se nalačno odeberou 2–3 vzorky vydechovaného vzduchu do zkumavky, následně pacient vypije 200 ml roztoku kyseliny citronové nebo přírodního pomerančového džusu a po 5–10 minutách je mu podáno 100 mg močoviny značené izotopem  $^{13}\text{C}$  (dětem je podáváno poloviční množství). Po 30 minutách se pacientovi odeberou 2–3 vzorky vydechovaného vzduchu do zkumavek stejným způsobem jako na začátku testu. Existuje ale řada obměn v provedení testu, které se liší především v množství substrátu (50–100 mg), v podání roztoku kyseliny citronové nebo přírodního pomerančového džusu a v časovém intervalu odběru vzorků vydechovaného vzduchu (Kocna, 2006).

Nejčastěji se před testem podává kyselina citronová. Může se použít také přírodní pomerančový džus. Obojí slouží k oddálení vyprazdňování žaludku a snížení duodenálního pH, což zase snižuje motilitu antra žaludku (Sankararaman a Moosavi, 2022). Mezi nové testovací roztoky patří nápoj Refex, který obsahuje směs tří organických kyselin – kyselinu citrónovou, kyselinu jablečnou a kyselinu vinnou. Ten by měl být podáván u pacientů užívajících inhibitory protonové pumpy, které by se nemusely před testováním vysazovat (Tepeš a kol., 2017).

Pro hodnocení testu je stanoveno kritérium změny poměru  $\delta^{13}\text{C}$  mezi vzorkem v čase  $T_{30}$  oproti vzorku v čase  $T_0$  odebíraným před podáním substrátu - DOB. Tato hodnota by při pozitivním výsledku měla být vyšší než 5 ‰ (Prokopcová a kol., 2008). Senzitivita detekce *Helicobacter pylori* v žaludku je 96 % a specificita 93% (Kocna, 2021).

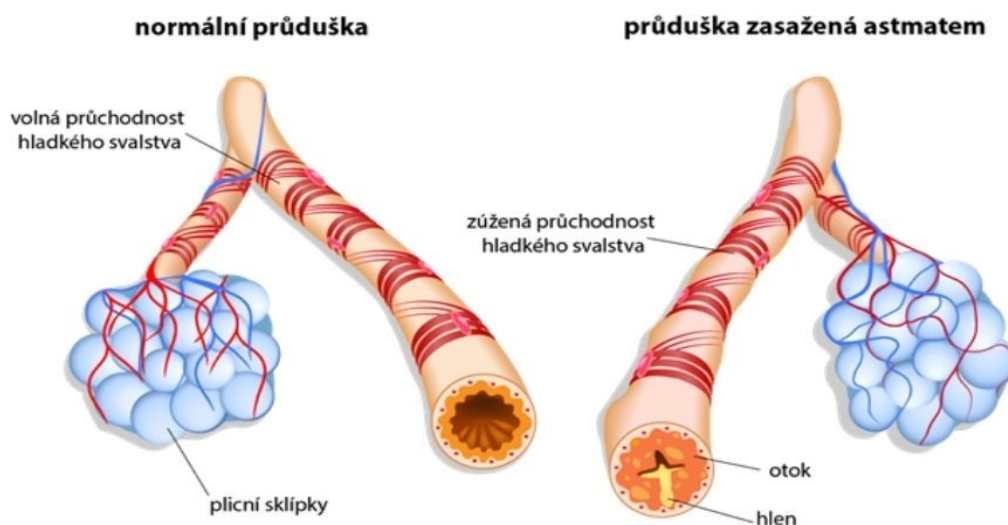
## 5.4 Diagnostika astmatu

Astma, celým názvem astma bronchiale neboli průduškové astma je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest charakterizované zvýšenou imunitní odpovědí především průdušnice a průdušek na různé stimuly (alergeny, infekce, chemické látky, plísně). Tyto stimuly pak způsobují spasmy (stažení hladké svaloviny bronchů) (Mačák a

Mačáková, 2004). Dominujícím příznakem astmatického záchvatu je intenzivní a různě vnímaná dušnost, především výdechová. Nemocní si stěžují na dechové obtíže, hvízdavý dech, dráždivý kašel, rýmu delšího trvání. Astma je ve svých projevech extrémně variabilní, mohou se střídát symptomatická období s asymptomatickými (Žák a kol., 2012). Někdy spasmy určitou dobu přetrvávají, dochází k tzv. status asthmaticus. Pacienti mohou při tomto stavu zemřít na respirační selhání (Mačák a Mačáková, 2004).

Rizikové faktory vzniku astmatu lze rozdělit na faktory hostitele a faktory prostředí. Mezi faktory hostitele patří genetická dispozice, atopie, hyperreaktivita dýchacích cest, pohlaví a rasa/etnikum. Mezi faktory prostředí pak inhalované alergenů (domácí roztoči, zvířecí alergenů, pylů, plísňů), chemické substance (léky, potravinová aditiva), tabákový kouř, znečištěné prostředí, respirační infekce, parazitární infekce, socioekonomický stav, výživa a léky, obezita, námaha a stres (Mačák a Mačáková, 2004).

Bronchospasmus je komplexní děj, na němž se podílejí buněčné, humorální a nervové mechanismy a můžeme ho rozdělit na časnou a pozdní fázi. Časná fáze nastupuje do 30 minut a je způsobena mediátory ze žírných buněk (histamin, leukotrieny, C4, D4, E4), které navodí zvýšenou sekreci hlenu a kontrakci hladkých svalů. Pozdní fáze nastupuje po 4–6 hodinách již jako slizniční zánět s poškozením bronchiálního epitelu a je výsledkem uvolnění mediátorů z neutrofilů a bazofilů. Je zde přítomen edém sliznice, zmnožení sekrečních žlázek a hypertrofie bronchiální svaloviny (Obr. 12) (Žák a kol., 2012).



**Obrázek 12** - Rozdíl mezi zdravou průduškou vlevo a průduškou zasaženou astmatem vpravo (Zbranková, 2020)

Zlatým standardem v diagnostice astmatu je spirometrické vyšetření (hodnoty FEV1 (usilovně vydechnutý objem za první sekundu), FEV1/FVC (usilovně vydechnutý objem za první sekundu/usilovná vitální kapacita), PEF (vrcholový výdechový průtok)). K zjištění reverzibility u obstrukce, která je typická pro astma, se provádí bronchodilatační test. Alergologické vyšetření pomocí kožních (prick) testů standardizovanými alergeny objasní podíl alergie u astmatu (Krčmová a Novosad, 2010).

Přínosným vyšetřením k detekci a kvantifikaci slizničního eozinofilního zánětu dolních cest dýchacích je vyšetření oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu – tzv. FeNO. NO v orálně vydechovaném vzduchu pochází hlavně z respiračního epitelu a jeho zvýšené hodnoty u astmatiků signalizují eozinofilní typ zánětu v bronchiální sliznici. Současně doporučené mezní hodnoty podle NICE (National Institute for Health and Care Excellence UK) z roku 2017 jsou >40 ppb pro dospělé a >35 ppb pro děti (Čáp, 2023).

Vysoké hladiny FeNO naměřené v době diagnózy astmatu mohou odrážet probíhající zánět dýchacích cest a indikovat horší prognózu s dlouhodobým poškozením plicních funkcí a zvýšeným rizikem exacerbací (Ulrik a kol., 2021). Vyšetření FeNO u léčených

pacientů je významným nástrojem v monitorování eosinofilního zánětu s vazbou na protizánětlivou léčbu inhalačními kortikosteroidy (Krčmová a Novosad, 2010).

## 5.5 Další možnosti využití dechových testů

OCTT neboli orocékální tranzitní čas lze definovat jako dobu, za kterou jídlo projde od jícnu, přes žaludek a tenké střevo do tlustého střeva. To nám ukazuje, jak efektivně jsou živiny absorbovány z potravy. K měření se používá H<sub>2</sub> dechový test a jako substrát nevstřebatelné sacharidy jako laktulóza nebo inulin, které projdou beze změny tenkým střevem do tlustého a tam jsou fermentovány bakteriemi tlustého střeva (Hammer a kol., 2022). Čas vzestupu hodnot koncentrace H<sub>2</sub> nebo CH<sub>4</sub> v dechu o 10 ppm udává OCTT. U zdravých osob se OCTT pohybuje v rozmezí 40–170 minut pro tekutiny a 190 až 230 minut pro pevnou stravu (Kocna, 2021). Krátká doba průchodu může být způsobena zánětem způsobeným střevní infekcí, potravinovými alergiemi nebo absencí zdravé střevní flóry. Dlouhá doba průchodu je obvykle způsobena konzumací příliš velkého množství rafinovaných a zpracovaných potravin, dehydratací nebo nedostatkem vlákniny (Rana a Malik, 2014).

Dechové funkční testy exokrinní funkce pankreatu jsou založeny na podání substrátů značených stabilním izotopem uhlíku <sup>13</sup>C. Jejich přínosnost spočívá v diagnostice chronické pankreatitidy a cystické fibrózy, stanovení stupně postižení pankreatu, sledování nemocných s chronickou pankreatitidou a monitorování účinnosti substituční terapie pankreatickými enzymy (Prokopcová a kol., 2008). Cílem testu je stanovit aktivitu pankreatických enzymů – lipázy, amylázy a proteázy. Podle enzymu, který potřebujeme určit, se vybírá i vhodný <sup>13</sup>C značený substrát (Keller a kol., 2021). Nejrozšířenějším testem je <sup>13</sup>C-MTG (<sup>13</sup>C-Mixed Triglyceride) dechový test. Substrátem pro tento test je smíšený triacylglycerol s <sup>13</sup>C značeným oktanoátem v poloze 2 a stearátem v poloze 1 a 3. Pankreatickou lipázou je triacylglycerol rozštěpen a <sup>13</sup>C-oktanoát je dále oxidován v játrech. Ve vydechaném vzduchu je pak stanoveno množství <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> (Kocna, 2021).

<sup>13</sup>C dechové testy jaterních funkcí jsou neinvazivní diagnostickou metodou, která slouží k posouzení patofyziologických metabolických procesů v játrech a mohou pomoci v diagnostice onemocnění jater jako je steatóza, nealkoholická steatohepatitida, fibróza, cirhóza, hepatocelulární karcinom, toxické účinky léčiv a alkoholu (Kocna, 2021).

Testy umožňují prozkoumat cytosolické, mitochondriální a mikrosomální funkce jater spojené s jejich různými onemocněními (Pham a Beauchamp, 2021). Pro použití byly testovány různé substráty, přičemž nejčastěji je používán dechový test s  $^{13}\text{C}$ -metacetinem, který se používá pro hodnocení mikrosomálních procesů. Ke stejným účelům lze použít například i  $^{13}\text{C}$ -aminopyrin,  $^{13}\text{C}$ -erythromycin nebo  $^{13}\text{C}$ -kofein. Pro hodnocení mitochondriálních procesů je vhodná  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -ketoisokapronová kyselina nebo  $^{13}\text{C}$ -methionin a pro cytosolické procesy se používá  $^{13}\text{C}$ -fenylalanin,  $^{13}\text{C}$ -galaktóza nebo  $^{13}\text{C}$ -oktanoát. Substráty je možné používat i v kombinaci – například kombinace  $^{13}\text{C}$ -galaktózy a  $^{13}\text{C}$ -aminopyrinu slouží k funkčnímu posouzení jaterní cirhózy (Kocna, 2006).

K neinvazivnímu testování rychlosti evakuace žaludku se využívá dechový test s  $^{13}\text{C}$ -oktanovou kyselinou. Ta se nevstřebává v žaludku, ale až v duodenální sliznici odkud je transportována do jater. Zde je metabolickou aktivitou produkován  $^{13}\text{CO}_2$ , který je pak stanovován ve vydechaném vzduchu (Kocna, 2006). Vzorky vydechaného vzduchu se odebírají po dobu 4 hodin a výsledkem testu je poločas evakuace žaludku. Tento dechový test lze využít v diagnostice funkčních dyspepsií, refluxních onemocnění i pro indikaci použití některých moderních léků. Referenční metodou pro stanovení rychlosti evakuace žaludku je scintigrafie, která (na rozdíl od dechového testu s  $^{13}\text{C}$  – oktanovou kyselinou) určuje množství testačního pokrmu, které v žaludku zůstává (Kocna, 2023).

## ZÁVĚR

Historie vyšetření dechu začala již ve starověku, kdy se vědělo, že různý pach z dechu může poskytnout vodítko k určení onemocnění. Diagnostika dechu se postupně vyvíjela přes kolorimetrické testy až k dechovým testům s H<sub>2</sub>, izotopem uhlíku <sup>13</sup>C nebo FeNO testům, jak je známe dnes. Nezpochybnitelným benefitem těchto testů je, že jsou neinvazivní a pro pacienta nebolestivé či jinak nepříjemné. Pro některá onemocnění (např. laktózová intolerance či detekce *Helicobacter pylori*) jsou dechové testy v dnešní době brány jako zlatý standard při diagnostice onemocnění.

Dechové testy měřící koncentraci H<sub>2</sub> ve vydechaném vzduchu se objevují v praxi v druhé polovině 20. století a v dnešní době jsou využívány pro diagnostiku malabsorpce sacharidů, SIBO a stanovení OCTT. V případě těchto testů se většinou kromě H<sub>2</sub> stanovuje ještě CH<sub>4</sub>, a to proto, že u některých jedinců bakterie v tlustém střevě neprodukují primárně H<sub>2</sub> ale právě CH<sub>4</sub>. Měření obou těchto plynů současně může zlepšit přesnost a citlivost testů a je možno se tím vyhnout falešně negativním výsledkům u pacienta.

Dechové testy s izotopem uhlíku <sup>13</sup>C používají substráty, které jsou tímto izotopem značené, podléhají metabolismu a následně jsou detekovatelné v dechu v podobě <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. Ve výsledku se sleduje změna poměru <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C v definovaném čase, která se označuje DOB. Klinická aplikace těchto testů je podstatně širší díky široké škále substrátů a má díky tomu i daleko větší potenciál do budoucna. V současné době se testy nejvíce využívají k detekci *Helicobacter pylori* v žaludku, k testu exokrinní funkce pankreatu, k stanovení rychlosti evakuace žaludku nebo k testům jaterních funkcí. Klinické studie ovšem testují využití těchto testů například i pro screening prediabetu a inzulínové rezistence, pro stanovení acidity žaludku, pro detekci nedostatečnosti vitamínu B<sub>12</sub>, pro optimalizaci farmakoterapie u nádorových onemocnění nebo pro individualizaci terapie parkinsonismu. Samotná změna poměru <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C by mohla být v budoucnu využívána k predikci infekce v intenzivní medicíně.

Posledním typem testů, který je zmiňovaný v této práci, je dechový test měřící FeNO neboli vydechanou frakci oxidu dusnatého. Tento test má své uplatnění především při diagnostice a léčbě astmatu.



## POUŽITÁ LEITERATURA

ADAMS A. What Is the Best SIBO Test?. Online. In: Functional nutrition answers, 18. 04. 2019, Dostupné z: <https://www.functionalnutritionanswers.com/best-sibo-test/> [cit. 14. 2. 2024]

BAJEROVÁ, K. Laktózová intolerance – praktický přístup. *Pediatric pro praxi*, 2018, 19(3), p. 139-141

BOUŠOVÁ I., DRŠATA J. Poruchy trávení, vstřebávání a metabolismu sacharidů; mukopolysacharidosy. 2018, dostupné z: [https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/1081434/mod\\_resource/content/1/10\\_Poruchy%20tr%C3%A1ven%C3%AD%2C%20vst%C5%99eb%C3%A1v%C3%A1n%C3%AD%20a%20metabolismu%20sacharid%C5%AF.pdf](https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/1081434/mod_resource/content/1/10_Poruchy%20tr%C3%A1ven%C3%AD%2C%20vst%C5%99eb%C3%A1v%C3%A1n%C3%AD%20a%20metabolismu%20sacharid%C5%AF.pdf)

BRADEN B., LEMBCKE B., KUKER W., CASPARY W. F. 13C-breath tests: Current state of the art and future directions. *Digestive and Liver Disease*, 2007, 39(9), s. 795-805, doi:10.1016/j.dld.2007.06.012

BUREŠ J., CYRANY J., KOHOUTOVÁ D., FÖRSTL M., VOŘÍŠEK V., KVĚTINA J., LESNÁ J., REJCHRT S., KOPÁČOVÁ M. Syndrom bakteriálního přerůstání. *Folia Gastroenterologica et Hepatologica*, 2009, 7(2), s. 61–72

CATANZARO R., SCIUTO M., MAROTTA F. Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Nutrition Research*, 2021, 89, s. 23-34, doi:10.1016/j.nutres.2021.02.003

ČÁP P. FENO a potenciál jeho využití u astmatu. *Vnitřní Lékařství*, 2023, 69(6), s. 373-379, doi:10.36290/vnl.2023.073

FALLONE C.A., VELDHUYZEN VAN ZANTEN S. J. O., CHIBA N. The urea breath test for *Helicobacter pylori* infection: taking the wind out of the sails of endoscopy. *Canadian Medical Association Journal*, 2000, 162(3), s. 371-372

GHOSHAL U. C., GHOSHAL U. Investigations for dietary carbohydrate malabsorption and gut microbiota. *Clinical and Basic Neurogastroenterology and Motility*, 2020, s. 359-370, doi:10.1016/B978-0-12-813037-7.00025-X

HAMMER H. F., FOX M. R., KELLER J., SALVATORE S., BASILISC G. et al. European guideline on indications, performance, and clinical impact of hydrogen and methane breath tests in adult and pediatric patients: European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition, European Society of Neurogastroenterology and Motility, and European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition consensus. *United European Gastroenterology Journal*, 2022, 10(1), s. 15-40, doi:10.1002/ueg2.12133

CHADDOCK G., LAM, C., HOAD C. L., COSTIGAN C., COX E. F. et al. Novel MRI tests of orocecal transit time and whole gut transit time: studies in normal subjects. *Neurogastroenterology & Motility*, 2014, 26(2), s. 205–214, doi:10.1111/nmo.12249

KELLER J., HAMMER H. F., AFOLABI P. R., BENNINGA M., BORRELLI O., DOMINGUEZ-MUNOZ E., DUMITRASCU D., GOETZE O., HAAS S. L., HAUSER B., POHL D., SALVATORE S., SONYI M., THAPAR N., VERBEKE K., FOX M. R. European guideline on indications, performance and clinical impact of <sup>13</sup>C-breath tests in adult and pediatric patients: An EAGEN, ESNM, and ESPGHAN consensus, supported by EPC. *United European Gastroenterology Journal*, 2021, 9, s. 598–625, doi:10.1002/ueg2.12099

KOCNA P. Dechové testy – moderní, neinvazivní diagnostika. *Interní Medicína pro praxi*, 2006, 8(7 a 8), s. 336–341

KOCNA P. Funkční dechové testy – neinvazivní diagnostika v gastroenterologii. *Klinická Biochemie a Metabolismus*, 2021, 29(50), s. 124–131

KOCNA P. MiniEncyklopedie laboratorních metod v gastroenterologii GastroLab. Online. Poslední aktualizace 18. 08. 2023, Dostupné z: <https://www1.lf1.cuni.cz/~kocna/glab/glency1.htm> [cit. 05. 02. 2024]

KRČMOVÁ I., NOVOSAD J. Bronchiální astma – praktické aspekty, *Interní Medicína pro praxi*. 2010, 12(4), s. 196–199

LUKÁŠ K., HOCH J. ed. Nemoci střev. *Praha: Grada Publishing*, 2018, ISBN 978-80-271-0353-9

LUNDBERG J. O., WEITZBERG E., LUNDBERG J. M., ALVING K. Nitric oxide in exhaled air. *European Respiratory Journal*, 1996, 9(12), s. 2671–2680, doi:10.1183/09031936.96.09122671

MAČÁK J., MAČÁKOVÁ J. Patologie. Praha: Grada, 2004, s. 185–186, ISBN: 80-247-0785-3

MASSEY B.T., WALD A. Small Intestinal Bacterial Overgrowth Syndrome: A Guide for the Appropriate Use of Breath Testing. *Digestive Diseases and Sciences*, 2021, 66, s. 338–347, doi:10.1007/s10620-020-06623-6

MISSELWITZ B., BUTTER M., VERBEKE K., FOX M. R. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut*. 2019, 68(11), s. 2080–2091, doi:10.1136/gutjnl-2019-318404

NOLAN J. D., JOHNSTON I. M., WALTERS J. R. F. Physiology of malabsorption. *Surgery (Oxford)*, 2012, 30(6), s. 268–274, doi:10.1016/j.mpsur.2012.02.013

PHAM Y. L., BEAUCHAMP J. Breath Biomarkers in Diagnostic Applications. *Molecules*. 2021, 26(18), doi:10.3390/molecules26185514

PHILLIPS M. Breath tests in medicine. *Scientific American*, 1992, 267(1), s. 74-79, doi:10.1038/scientificamerican0792-74

PLUHAŘOVÁ A. Laboratorní funkční diagnostika malabsorpčních syndromů se zaměřením na laktózovou intoleranci. *Diplomová práce*, 2021, vedoucí Kocna Petr. Praha: Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu 1. LF UK a VFN, 92 stran

PROKOPCOVÁ, I., DUJSÍKOVÁ H., MIŠEJKOVÁ M., PROKEŠOVÁ J. Přínos dechových testů v gastroenterologii. *Medicina pro praxi*, 2008, 5(9), s. 308-309

RANA S.V., MALIK A. Hydrogen breath tests in gastrointestinal diseases. *Indian Journal in Clinical Biochemistry*, 2014, 29(4), s. 398-405, doi:10.1007/s12291-014-0426-4

RYBNIKÁR T., ČELAKOVSKÝ P., KALFĚŘT D. Vydechovaný oxid dusnatý jako bioindikátor zánětu horních dýchacích cest. *Otorinolaryngologie a Foniatrie*, 2015, 64(1), s. 50-54

SANKARARAMAN S, MOOSAVI L. Urea Breath Test. Online. In: StatPearls, poslední aktualizace: 08. 08. 2022, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542286/> [cit. 15. 02. 2024]

SIDDIQUI I., AHMED S., ABID S. Update on diagnostic value of breath test in gastrointestinal and liver diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 2016, 7(3), s. 256-265, doi:10.4291/wjgp.v7.i3.256

SKWARŁO T. Vyšetření FeNO. Online. In: Plicní ambulance, 2010, dostupné z: <https://www.plicni-skwarlo.cz/uzitecne-informace/vysetreni-feno/> [cit. 10. 2. 2024]

TEPEŠ B., MALFERTHEINER P., LABENZ J., AYGEN S. Modified Helicobacter test using a new test meal and a 13C-urea breath test in Helicobacter pylori positive and negative dyspepsia patients on proton pump inhibitors. *World Journal of Gastroenterology*, 2017, 23(32), s. 5954-5961, doi:10.3748/wjg.v23.i32.5954

THAYSEN E. H. 13 - Diagnostic Value of the 14C-Cholyglycine Breath Test. *Clinics in Gastroenterology*, 1977, 6(1), s. 227-245, doi:10.1016/S0300-5089(21)00395-3.

ULRIK C. S., LANGE P., HILBERG O. Fractional exhaled nitric oxide as a determinant for the clinical course of asthma: a systematic review. *European Clinical Respiratory Journal*, 2021, 8(1), doi:10.1080/20018525.2021.1891725

WALL K. J. A Review of Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (TDLAS). *Centre for Atmospheric Chemistry, York University, Toronto, Ontario, Canada*, 2006, doi:10.13140/RG.2.2.19384.65280

ZBRANKOVÁ M. Jak udržet astma pod kontrolou. Online. In: Florence – odborný časopis pro nelékařské zdravotnické pracovníky, 08. 12. 2020, Dostupné z: <https://www.florence.cz/odborne-clanky/florence-plus/jak-udrzet-astma-pod-kontrolou/> [cit. 18. 02. 2024]

ŽÁK A., PETRÁŠEK J. ET AL. *Základy vnitřního lékařství*. Praha: Galén, 2012, s. 215–218, ISBN: 978-80-7262-851-3