

## Funkční dechové testy – neinvazivní diagnostika v gastroenterologii

Kocna P.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. Lékařské fakulty Karlovy University a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha

### SOUHRN

Neinvazivní metody s analýzou vydechaného vzduchu nabízejí v klinické biochemii velmi široká uplatnění, která nejsou v současné době dostatečně využívána. V NLM Pubmed databázi je zařazeno více než 8500 publikací a pro metody se stabilním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  je popsáno více než 40  $^{13}\text{C}$ -značených substrátů. V naší klinické praxi jsou indikovány vodíkové dechové testy, v případě  $^{13}\text{C}$ -uhlíku nabízejí naše laboratoře detekci *Helicobacter pylori* s  $^{13}\text{C}$ -močovinou a test exokrinního pankreatu s  $^{13}\text{C}$ -mixed triglyceridy. Výjimečně jsou používány testy s  $^{13}\text{C}$ -oktanoátem nebo  $^{13}\text{C}$ -methioninem. V žádné laboratoři není nabízen  $^{13}\text{C}$ -glukózový test pro screening prediabetu, diabetu 2. typu a inzulínové rezistence. Analýza těkavých organických látek (VOC) je zatím předmětem výzkumných projektů. S rozvojem nových technologií, analýzy hmotnostní spektrometrií se selektivními, specifickými senzory na bázi nanočipů lze snad v blízké budoucnosti očekávat vyšší využití neinvazivních dechových testů.

**Klíčová slova:** Dechové testy, analýza vodíku a metanu, detekce izotopu  $^{13}\text{C}$ , malabsorbce, syndrom bakteriálního přerůstání, exokrinní funkce pankreatu, detekce *Helicobacter pylori*, jaterní funkce, rychlost evakuace žaludku, screening diabetu, analýza těkavých organických látek.

### SUMMARY

#### Kocna P. Functional breath tests - non-invasive diagnostics in gastroenterology

Non-invasive methods with the analysis of exhaled air offer a very wide application in clinical biochemistry, which are currently not sufficiently used. More than 8,500 publications are listed in the NLM Pubmed database, and more than 40  $^{13}\text{C}$ -labeled substrates are described for stable  $^{13}\text{C}$  carbon isotope methods. In our clinical practice, hydrogen breath tests are indicated, in the case of  $^{13}\text{C}$ -carbon, our laboratories offer the detection of *Helicobacter pylori* with  $^{13}\text{C}$ -urea and the exocrine pancreas test with  $^{13}\text{C}$ -mixed triglycerides. Exceptionally, tests with  $^{13}\text{C}$ -octanoate or  $^{13}\text{C}$ -methionine are used. No laboratory offers a  $^{13}\text{C}$ -glucose test for screening for prediabetes, type 2 diabetes and insulin resistance. The analysis of volatile organic compounds (VOC) is currently the subject of research projects. With the development of new technologies, mass spectrometry analysis with selective, specific nanochip-based sensors, higher use of non-invasive breath tests can be expected in the near future.

**Keywords:** Breath tests, hydrogen and methane analysis,  $^{13}\text{C}$  isotope detection, malabsorption, bacterial overgrowth syndrome, pancreatic exocrine function, detection of *Helicobacter pylori*, liver function, gastric evacuation rate, diabetes screening, analysis of volatile organic compounds.

## Úvod

Klinický význam analýzy vydechaného vzduchu je znám již od doby Hippokrata. Starověcí lékaři věděli, že zápach dechu pacienta je spojen s některými onemocněními - sladká vůně acetonu je známkou diabetické ketoacidózy, zápach rybiny souvisí s onemocněním jater a zápach podobný moči souvisí se selháním ledvin [1]. Nejstarší publikovanou analýzou je kvantitativní stanovení alkoholu v dechu v roce 1927 [2] a první "Breath-analyser" byl vyvinut ve státu Indiana v roce 1954 profesorem Borkensteinem [3]. Dechové analyzátoři na průkaz alkoholu v dechu pro osobní i profesionální použití produkují desítky výrobců a variabilita detekce alkoholu je předmětem soudního lékařství [4]. Ketoacidóza v dechu prokázaná alkoholometrem detekovala nepoznaný diabetes u námořníka při rutinní, vstupní kontrole [5].

V laboratorní diagnostice se v 70. letech objevuje analýza vodíku ( $\text{H}_2$ ) a oxidu uhličitýho ( $\text{CO}_2$ ) s izotopy

uhlíku  $^{13}\text{C}$  a  $^{14}\text{C}$  [6]. Nárůst koncentrace  $\text{H}_2$  v dechu v řádech 10 ppm po podávání pečených fazolí stanovoval plynovou chromatografií Nielsen v roce 1961 [7] a Schwabe v roce 1962 publikovali měření absorpce tuků značených radioaktivním uhlíkem  $^{14}\text{C}$  [8]. Dechové testy s radioizotopem  $^{14}\text{C}$  nelze používat v klinické praxi vzhledem k poločas rozpadu 5 730 let a jednotlivé metody byly postupně nahrazeny substráty se stabilním izotopem  $^{13}\text{C}$ . V 90. letech došlo k výraznému rozšíření  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$  dechových testů v klinické praxi po zveřejnění metody detekce *Helicobacter pylori*  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$  značenou močovinou [9,10]. Dalším markerem ve vydechaném vzduchu je oxid dusnatý (NO), popsáný také v 90. letech. Vydechaná frakce NO - FeNO (Fractional exhaled nitric oxide) je v přímém vztahu k eosinofilnímu zánětu dýchacích cest a klinicky se používá v diagnostice a terapii astmatu [11,12]. Detekce NO je popsána také v gastroenterologii jako biomarker v diferenciální diagnostice peptického vředu žaludku a neulcerózní dyspepsie [13].

Vydechaný vzduch obsahuje více než 1000 těkavých organických látek (VOC - Volatile Organic Compounds) v koncentracích ppm (parts per million;  $10^{-6}$ ) - ppt (parts per trillion;  $10^{-12}$ ) [14]. Studie jsou v posledních letech zaměřeny na separaci VOC plynovou chromatografií. Identifikace VOC je řešena např. hmotnostní spektrometrií s protonovou ionizací - PTR-MS (Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry) nebo hmotnostní spektrometrií v proudové trubici s vybranými ionty - SIFT-MS (Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry) [15]. Technologie nanočipů (nanoarray) - molekulárně modifikovaných nanočástic řešená umělou inteligencí umožnila identifikovat jedinečný ‚dýchací otisk‘ pro 17 různých onemocnění - rakoviny plic, tlustého střeva, hlavy a krku, vaječniku, močového měchýře, prostaty, ledvin, žaludku, Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu, syndrom dráždivého tračníku, parkinsonismus, roztroušenou sklerózu, plicní arteriální hypertenzi, preeklampsii a chronické onemocnění ledvin [16]. Analýza VOC plynovou chromatografií se SIFT-MS může pomoci v diferenciální diagnóze syndromu dráždivého tračníku a idiopatických střevních zánětů (IBS/IBD) nebo při monitorování Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy [17,18]. Toto sdělení je zaměřeno především na funkční dechové testy v gastroenterologii s analýzou vodíku, metanu a  $^{13}\text{C}$ - $\text{CO}_2$  ve vydechaném vzduchu.

## Analýza vodíku a metanu ve vydechaném vzduchu

Vodíkové dechové testy se do klinické praxe dostávají v 70. letech [7]. Anaerobní hydrolýzou sacharidů dochází v tlustém střevu k produkci plynů - vodíku a oxidu uhličitého. Vodík je substrátem pro další bakteriální metabolismus acetogenními, metanogenními a sulfát redukujícími bakteriemi produkujícími metan a sirovodík [19]. Střevní plyny jsou absorbovány do cévního řečiště a uvolněny plicemi během dýchání. Stanovení koncentrace vodíku ve vydechaném vzduchu může být ovlivněno přítomností především metanogenních bakterií a mnoho studií zdůrazňuje nutnost vyhodnocovat vodík i metan současně. Procento populace produkující metan (metanoproducenti) se zvyšuje s věkem, u novorozenců a malých dětí je téměř nulové, u dospělé populace v Evropě je mezi 30-50 %, v Africe 80 % [20,21]. Klinické aplikace zahrnují především diagnostiku malabsorpce, bakteriálního přerůstání v tenkém střevu - SIBO (Small Intestinal Bacterial Overgrowth) a stanovení střevní motility - OCTT (Orocecal Transit Time) [22].

Jednoduchými analyzátoři pouze vodíku jsou přenosné, ruční bateriové detektory s elektrochemickým senzorem, které produkuje řada výrobců - HydroCheck (Neomed Medizintechnik), Lactofan  $\text{H}_2$ - (FAN), Gastrolyzer (Bedfont Scientific),  $\text{H}_2$ -Check (MD Diagnostics) nebo Micro  $\text{H}_2$  (MicroMedicals). Pro osobní použití - Home test - např. při kontrole dodržování FODMAP (Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyols) diety slouží  $\text{H}_2$  detektor AIRE (FoodMarble Digestive Health). Přenosné  $\text{H}_2$  detektory poskytují srovnatelné výsledky s laboratorním analyzátořem Quintron [23,24].

Laboratorní analyzátoři stanovují kromě vodíku

i koncentraci metanu. Kritériem positivity vodíkových testů je většinou zvýšení koncentrace proti výchozí hodnotě o 10-20 ppm. Je-li současně hodnocen i metan, pak pozitivitou může být zvýšení koncentrace  $\text{H}_2+2\text{CH}_4$ , protože molekula metanu vzniká ze dvou molekul vodíku. Třetím analytem, který stanovují laboratorní analyzátoři je kyslík (GastroCH4ECK; Bedfont) nebo oxid uhličitý (BreathTracker a MicroLyzer, Quintron; Lactotest 202 Xtend, MEC - Medical Electronic Construction). Koncentrace  $\text{O}_2$  nebo  $\text{CO}_2$  slouží pro výpočet korekčního faktoru k minimalizaci chyb způsobených vzorkováním - kontaminací alveolárního vzduchu nadechaným vzduchem [25]. Rozdíl naměřené a korigované hodnoty vodíku jsme ověřili experimentálně. Naměřené hodnoty  $\text{H}_2$  (8, 15 a 17 ppm) ve vzorcích dechu při rychlém nádechu, se zadržením dechu a forsírovaným výdechem jsme korigovali koncentrací  $\text{CO}_2$  (2,72; 5,07 a 5,70 %) na skutečnou hodnotu  $\text{H}_2$  - 16 ppm. Novinkou je detekce čtvrtého plynu  $\text{H}_2\text{S}$  pro zvýšení spolehlivosti detekce SIBO. Test „Trio-Smart™“ nabízí laboratoř PacificDX v Kalifornii na unikátním, patentovaném analyzátoři 4-Gas Breath Test Machine [26]. Senzory pro detekci  $\text{H}_2\text{S}$  jsou konstruovány na bázi nanovláken s oxidem zinečnatým [27].

**Table 1.** Diagnostic accuracy (sensitivity and specificity) of various hydrogen breath tests available for clinical use [22].

Breath test	Clinical indication	Sensitivity [%]	Specificity [%]
Glucose hydrogen breath test	SIBO	62	83
Lactulose hydrogen breath test	SIBO	31	86
Fructose hydrogen breath test	Malabsorption	98	86
Lactose hydrogen breath test	Malabsorption	80	100

**Table 2.** Diagnostic accuracy (sensitivity and specificity) of various  $^{13}\text{C}$  breath tests available for clinical use [22].

Breath test	Clinical indication	Sensitivity [%]	Specificity [%]
$^{13}\text{C}$ -glycocholate breath test	SIBO	76	35
$^{13}\text{C}$ -xylose breath test	SIBO	89	30
$^{13}\text{C}$ -lactose breath test	Malabsorption	84	96
$^{13}\text{C}$ -urea breath test	H-pylori infection	96	93
$^{13}\text{C}$ -aminopyrine breath test	Liver function	86	68
$^{13}\text{C}$ -methacetin breath test	Liver function	93	94
$^{13}\text{C}$ -phenacetin breath test	Liver function	98	60
$^{13}\text{C}$ -mixed triglycerides breath test	Pancreatic function	89	81
$^{13}\text{C}$ -octanoic acid breath test	Gastric emptying	67	80

## Klinické aplikace vodíkových dechových testů

### Laktózová intolerance, malabsorpce

Disacharid laktóza (glukosyl- $\beta$ (1-4) galaktóza) je štěpen v tenkém střevu laktázou (laktáza-phlorizin hydro-láza,  $\beta$ -D-galaktosidáza, EC 3.2.23) na glukózu a galaktózu. Při laktózové nedostatečnosti není laktáza dostatečně vstřebávána a je metabolizována anaerobními bakteriemi v tlustém střevu s produkcí vodíku, případně metanu nebo i sirovodíku. Primární deficit laktázy (laktázová non-perzistence) je geneticky determinovaným procesem vázaným na polymorfismus C/T-13910, k sekundární hypolaktázii/malabsorbci dochází při poškození kartáčového lemu tenkého střeva. Při provedení funkčního dechového testu je podáván substrát - laktóza v dávce 25 nebo 50 g a vzorky vydechaného vzduchu jsou odebírány 4 hodiny po 15 - 30 minutách [28]. Pozitivitou testu je zvýšení koncentrace vodíku o 10-20 ppm proti bazální hodnotě, případně vzestup ve třech následujících vzorcích, spolehlivějším hodnocením, při kombinaci s metanem, je vzestup  $H_2+2xCH_4$  o 15 až 17ppm [29]. Dechový test vykazuje senzitivitu 77,5 % a specifitu 97,6 % [30], falešnou pozitivitu ovlivňuje SIBO a falešně negativní může být, není-li současně hodnocen metan.

### Fruktózová intolerance, malabsorpce

Fruktóza (ovocný cukr) je šesti uhlíkový monosacharid (hexóza), který vzniká hydrolýzou sacharózy a v tenkém střevu je absorbován přes GLUT5 receptory na enterocytech. Vzácným onemocněním je hereditární intolerance fruktózy, při které chybí enzym fruktóza-1-fosfátaldoláza (fruktoaldoláza B). Fruktózová nedostatečnost/malabsorpce je prokázána u třetiny pacientů s IBS pomocí dechového testu [31]. Test je prováděn podobně jako u laktózy, testovacím substrátem je fruktóza v dávce 25 - 50 g, hodnocen je opět vzestup koncentrace vodíku nebo metanu. Průkaz malabsorbce je klinicky významný pro terapii IBS, dietní režim např. formou FODMAPs [32]. Senzitivita a specifita průkazu fruktózové malabsorbce je 98 % a 86 % [22].

### Detekce bakteriálního přerůstání v tenkém střevu (SIBO)

Nadměrný růst bakterií v tenkém střevě (SIBO) je onemocněním charakterizovaným zvýšenou koncentrací bakterií v tenkém střevě. U zdravých jedinců se v tenkém střevě nachází méně než  $10^3$  organismů/ml, většinou grampozitivních bakterií. Zlatým standardem pro diagnostiku SIBO je většinou uváděna kvantitativní kultivace aspirátu z tenkého střeva [33]. Pro diagnostiku SIBO lze použít dechové testy s podáním 50-80 g glukózy - GBT (Glucose Breath Test) nebo 10 g laktulózy - LBT (Lactulose Breath Test). Pozitivitou testu je zvýšení koncentrace vodíku nad 10-20 ppm resp. metanu nad 10-15 ppm. Nejnovější meta-analýza vykazuje vyšší senzitivitu GBT - 54,5 % oproti LBT - 42,0 % [34]

a GBT je preferován v diagnostice SIBO, časný vzestup  $H_2$  je při testu s laktulózou častěji indikátorem zrychlené pasáže než SIBO [35]. Spolehlivost dechového testu lze zvýšit měřením koncentrace třetího markeru  $H_2S$  [36].

### Stanovení času orocékální pasáže

Změny střevní motility často souvisí s funkčními onemocněními gastrointestinálního traktu. Dechový test s podáním 10 g laktulózy umožňuje stanovení motility gastrointestinálního traktu, orocékální transit time - OCCT (Oro Caecal Transit Time; SBTT - Small Bowel Transit Time). Zvýšení hodnoty koncentrace  $H_2$  a/nebo  $CH_4$  o 10 ppm s následným zvýšením v nejméně dalších dvou odběrech určuje čas OCTT, který se u zdravých osob pohybuje v rozmezí 40 - 170 minut pro tekutiny a 190 a 230 minut pro pevnou stravu [37]. Optimálním substrátem pro stanovení OCTT je inulin, přírodní polysacharid s vyšším stupněm polymerace než laktulóza, který je osmoticky méně aktivní [38]. Přesnější stanovení SBTT zahrnující čas žaludeční eliminace umožňuje kombinace vodíkového dechového testu s  $^{13}C$ -acetátem [39].

### Zkušenosti gastroenterologické laboratoře ÚLBLD

Přenosný  $H_2$  analyzátor - Micro  $H_2$  (MicroMedicals) jsme v laboratoři používali pouze pro výuku a diplomové práce. Rutinní klinické měření provádíme od roku 2013 na laboratorním analyzátoru Lactotest 202 Xtend (MEC - Medical Electronic Construction) se třemi senzory - elektrochemickým pro  $H_2$  a NDIRS pro  $CO_2$  a  $CH_4$ . Nejčastější indikací je podezření na SIBO - 77,9 % testů z 1130, pozitivitu se vzestupem  $H_2/CH_4$  po podání 75 g glukózy jsme prokázali v 50 %. Podezření na laktózovou/fruktózovou malabsorbci bylo ve 22,2 % testů, pozitivní výsledek po podání 20 g laktózy/25 g fruktózy jsme prokázali v 57,8 %. Většina nemocných přicházela se syndromem IBS u kterých lze očekávat vyšší bazální hodnoty  $H_2$  a  $CH_4$ . V našem souboru byla basální hodnota  $H_2 > 10$  ppm u 26,4 % osob, hodnota  $CH_4 > 10$  ppm byla u 57,4 %. Metanogenní bakterie jsme prokázali u 82,7 % testovaných osob.

### Analýza izotopu uhlíku $^{13}C$ ve vydechaném vzduchu

Stabilní izotop uhlíku  $^{13}C$  jako marker publikoval v roce 1973 Lacroix [40]. Pro funkční dechové testy se perorálně podávají substráty obohacené o stabilní izotop uhlíku  $^{13}C$ , které jsou definovány tak, aby limitujícím faktorem testované funkce byla právě tvorba  $^{13}CO_2$ , jehož koncentrace je stanovována ve vydechaném vzduchu. Množství stabilního izotopu uhlíku  $^{13}C$  se vyjadřuje hodnotou  $\delta^{13}C$ , vyjadřující vztah poměru  $^{13}C/^{12}C$  k mezinárodně uznávanému standardu V-PDB (Vienna-Pee Dee Belemnite). Standardem PDB je koncentrace izotopu  $^{13}C$  s hodnotou 1,11237 % stanovená v uhličitanu vápenatém ze schránek křídových belem-

nitů rodu *Belemnitella americana* z geologické formace Pee Dee v Jižní Karolíně.  $^{13}\text{C}$ -značené substráty se připravují synteticky, použít lze i přirozené látky obohacené o izotop uhlíku  $^{13}\text{C}$ . Fotosyntézou vzniká  $\text{CO}_2$  v rostlinách typu C3 tříuhlíkatý meziproduct v Calvin-Bensovově trase s hodnotou  $\delta^{13}\text{C}$   $-33$  až  $-24\%$ , v C4 rostlinách vzniká čtyřuhlíkatý meziproduct v Hatch-Slackově trase s  $\delta^{13}\text{C}$   $-16$  až  $-10\%$ , a C4 rostliny mohou být zdrojem pro  $^{13}\text{C}$  obohacené substráty.

Nejpřesnější metodou stanovení poměru  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  ve vydechaném vzduchu je poměrová hmotnostní spektrometrie (IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometry) s trojicí selektivních detektorů vyhodnocující částice s hmotností 44 ( $^{12}\text{CO}_2$ ), 45 ( $^{13}\text{CO}_2$ ) a 46 ( $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}_2$ ). Druhým přístupem je detekce v infračerveném spektru (NDIRS, Nondispersive Infrared Spectroscopy) využívající rozdílná absorpční maxima v oblasti 4350 nm IR spektra, s měřením na optoakustickém detektoru Lehrer&Luftova typu, který byl patentován v roce 1938 [41,42]. NDIRS analyzátory jsou řádově levnější, nevyžadují speciální obsluhu a jako POCT (Point Of Care Testing), jsou vhodné pro ambulance odborného lékaře. Třetí variantou je technologie Molecular Correlation Spectroscopy s kontinuálním měřením nosní sondou. Posledním typem je analyzátor LARA (Laser Assisted Ratio Analysis) založený na optogalvanickém měření dvou selektivních laserů při 11,17 a 10,61  $\mu\text{m}$  [43]. V posledních letech jsou testovány moderní technologie laserové absorpce, Hollow Waveguides (HWGs) - Capillary absorption spectroscopy (CAS), Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (TDLAS) nebo Cavity Ring-Down spectroscopy [44,45].

Analytickým ukazatelem  $^{13}\text{C}$ -dechových testů je změna poměru  $\delta^{13}\text{C}$  vztažená na výchozí hodnotu - DOB (Delta Over Baseline), funkční testy vyhodnocujeme kumulativním výdejem - cPDR (Cumulative Percent Dose Recovery) nebo parametry vyjadřujícími kinetiku exkrece - PET (Peak Excretion Time). Pro výpočet kumulativního výdeje se nejčastěji používá produkce  $\text{CO}_2$  vztažená na povrch těla (BSA - Body Surface Area) s koeficientem 300  $\text{mmol CO}_2/\text{hod}/\text{m}^2$ . Přesnější výpočet, který používáme a doporučujeme, zohledňuje také věk a pohlaví nemocného a je vztažen na bazální metabolismus - BMR (Basal Metabolic Rate) [42,46].

## Klinické aplikace dechových testů se stabilním izotopem uhlíku $^{13}\text{C}$

### Detekce přítomnosti *Helicobacter pylori* v žaludku

Dechový test s podáním  $^{13}\text{C}$ -značené močoviny ( $^{13}\text{C}$ -UBT; Urea Breath Test) zvýšil v 90. letech klinický zájem o  $^{13}\text{C}$ -dechové testy [9]. Metoda je založena na enzymatické hydrolyze  $^{13}\text{C}$ -močoviny ureázou, která je povrchovým proteinem *Helicobacter pylori*. Test porovnává hodnotu DOB  $\delta^{13}\text{C}$  za 10-60 minut po podání 10 až 100 mg značené močoviny. Metoda není jednoznačně standardizována, záleží na formě podání substrátu, typu detekce poměru  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  i kriteriích positivity 3 až 5 % [47]. Rychlou variantou (5 minut) je podání 25 mg  $^{13}\text{C}$ -močoviny endoskopicky ( $^{13}\text{C}$ -EUBT) sprejo-

vým katétrem PW-6P-1 (Olympus) [48].  $^{13}\text{C}$ -močovina je jediným  $^{13}\text{C}$ -značeným substrátem, který je považován za léčivo a pro klinické použití je Evropskou agenturou pro léčivé přípravky (EMA), na národní úrovni Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL), vyžadována registrace. V Evropě jsou registrovány pouze tři produkty - *Helicobacter Test* INFAL, *Pylobactell* Torbet Laboratories a *Pylori-Chek* Alimenterics. Diskutován je také nápoj pro aplikaci  $^{13}\text{C}$ -močoviny zahrnující pomerančový džus, kyselinu citrónovou nebo kombinaci v nápoji Reflex (kyselina citrónová, jablečná a vinná) umožňující provádět  $^{13}\text{C}$ -UBT bez vysazení terapie PPI (Proton Pump Inhibitors) [49]. Dechový test  $^{13}\text{C}$ -UBT je považován za zlatý standard detekce *Helicobacter pylori* - doporučení Maastricht V (European *Helicobacter* and Microbiota Study Group) [50]. Senzitivita a specifita detekce *Helicobacter pylori* v žaludku je 96 % a 93 % [22].

### $^{13}\text{C}$ -dechové funkční testy exokrinního pankreatu

Neinvasivní funkční diagnostika exokrinního pankreatu a stanovení exokrinní pankreatické nedostatečnosti - PEI (Pancreatic Exocrine Insufficiency) je stále otevřeným tématem a během posledních 50 let bylo testováno široké spektrum technologií [51]. Substrátem pro dechové testy se stabilním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  to může být pro aktivitu lipázy  $^{13}\text{C}$ -triolein,  $^{13}\text{C}$ -tripalmitin,  $^{13}\text{C}$ -trioktanoin nebo  $^{13}\text{C}$ -hiolein, pro esterázu  $^{13}\text{C}$ -cholesteryl oktanoát, pro aktivitu amylázy  $^{13}\text{C}$ -škrob [52]. Aktivitu pankreatických peptidáz lze testovat  $^{13}\text{C}$ -leucin značeným vaječným bílkem, nebo  $^{13}\text{C}$ -dipeptidem (Benzoyl-L-Tyrosyl-[1- $^{13}\text{C}$ ]-Alanin) nahrazující dříve používaný funkční test BzTyrPABA nebo náš český ALTAB - AcTyrPABA [53].

Nejrozšířenějším testem je  $^{13}\text{C}$ -MTG-BT ( $^{13}\text{C}$ -Mixed Triglyceride Breath Test), který je zahrnut v doporučení evropské pracovní skupiny pro chronickou pankreatitidu HaPanEU (Harmonizing Diagnosis and Treatment of Chronic Pancreatitis across Europe) [54].  $^{13}\text{C}$ -MTG (1,3-distearyl, 2 [karboxyl- $^{13}\text{C}$ ] oktanoyl glycerol) je triglyceridem se stearátem v poloze 1 a 3, které jsou štěpeny pankreatickou lipázou a  $^{13}\text{C}$ -oktanoátem v poloze 2, který je metabolizován jaterní  $\beta$ -oxidací a  $^{13}\text{CO}_2$  je detekován ve vydechaném vzduchu. Dechový test  $^{13}\text{C}$ -MTG není jednoznačně standardizován a výsledky se liší v závislosti na množství podaného substrátu (100-300 mg; 4-15 mg/kg váhy), složení testovacího pokrmu (pšeničné pečivo/toast, 15-30 g másla/margarinu, čokoládový nápoj/krém/Nutella) a normální hodnoty kumulativního výdeje (cPDR) jsou 20-30 % - podle přepočtu na BSA/BMR. V našem uspořádání podáváme 100 g bezlepkového chleba s 250 mg substrátu ve 20 g margarinu, a pro výdej používáme přepočet na BMR [42,51]. Senzitivita a specifita průkazu exokrinní pankreatické nedostatečnosti je 89 % a 81 % [22].

### $^{13}\text{C}$ -dechové testy jaterních funkcí

$^{13}\text{C}$ -dechové testy představují neinvasivní diagnostickou metodu s vysokou senzitivitou a specificitou pro dynamické posouzení patofyziologických metabolických

kých procesů a mohou pomoci v diagnostice onemocnění jater - steatóza, nealkoholická steato-hepatitida, fibróza, cirhóza, hepatocelulární karcinom, toxické účinky léčiv a alkoholu. Mikrozomální procesy lze hodnotit  $^{13}\text{C}$ -aminopyrinem,  $^{13}\text{C}$ -methacetinem,  $^{13}\text{C}$ -erythromycinem nebo  $^{13}\text{C}$ -caffeinem. Pro hodnocení mitochondriálních procesů je vhodná  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -ketoisokapronová kyselina nebo  $^{13}\text{C}$ -methionin. Substrátem pro cytosolické procesy je  $^{13}\text{C}$ -fenylalanin,  $^{13}\text{C}$ -galaktóza nebo  $^{13}\text{C}$ -oktanoát [55].

Nejčastěji je používán dechový test s  $^{13}\text{C}$ -metacetinem ( $^{13}\text{C}$ -MET) včetně České republiky [56]. Provedení testu má několik variant,  $^{13}\text{C}$ -metacetinu se podává 75 mg nebo 2 mg/kg váhy, hodnotí se kumulativní výdej za hodinu  $\text{cPDR} \leq 20 \text{ \%}/\text{h}$  na NDIRS analyzátoch. Nejnovější studie  $^{13}\text{C}$ -MET jsou vyhodnocovány kontinuální analýzou na BreathID během 60 minut. Sedmiletá prospektivní studie na souboru 132 nemocných s chronickou hepatitidou prokázala srovnatelný efekt dechového testu s jaterní biopsií [57]. Kontinuální analýzu dechu lze hodnotit také na analyzátoru FLIP (Fast Liver Investigation Package; Humedics),  $^{13}\text{C}$ -metacetin se podává intravenózně, doba testu je zkrácena na 25 minut a vyhodnocením je LiMax (Maximal Liver Function Capacity) s cut-off hodnotou 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  [58].  $^{13}\text{C}$ -metacetinový LiMax test byl aplikován také peroperačně u 10 nemocných při resekci jater [59].

### **$^{13}\text{C}$ -dechové testy pro stanovení rychlosti evakuace žaludku**

Referenční metodou pro stanovení rychlosti evakuace žaludku je scintigrafie, akceptovatelnou alternativou jsou  $^{13}\text{C}$ -dechové testy -  $^{13}\text{C}$ -GEBT (Gastric Emptying Breath Tests) s podáním  $^{13}\text{C}$ -oktanoátu pro pevnou stravu,  $^{13}\text{C}$ -acetátu pro tekutou stravu nebo  $^{13}\text{C}$ -Spirulina platensis [22,60]. V naší klinické praxi je nejčastěji používán test  $^{13}\text{C}$ -OABT (Octanoic Acid Breath Test) podrobně popsáný Burešem [61], který signifikantně koreluje se scintigrafií [62]. Kyselina oktanová (kyselina kaprylová) je po vyprázdnění žaludku rychle absorbována a transportována do jater, metabolizována  $\beta$ -oxidací v hepatocytech a  $^{13}\text{CO}_2$  je vydechován. Testovací snídaně obsahuje sázené vejce s 3 g oleje, 40 g toustového chleba s 10 g másla a 100 mg sodné soli  $^{13}\text{C}$ -oktanové kyseliny. Vzorky vydechovaného vzduchu se odebírají čtyři hodiny a výsledkem testu je poločas evakuace žaludku  $T_{50}$ , pro pevnou stravu je normální rozmezí 33-85 minut. Dechový test s  $^{13}\text{C}$ -acetátem umožňuje v kombinaci s vodíkovým testem přesněji stanovit čas pro střevní motilitu - SBTT [39].

### **Dechové testy s $^{13}\text{C}$ -glukózou**

Nejnovější klinické studie  $^{13}\text{C}$ -dechových testů se věnují  $^{13}\text{C}$ -glukóze a jsou zaměřeny na screening prediabetu, diabetu 2. typu (T2DM), inzulínové rezistence a metabolického syndromu [63].  $^{13}\text{C}$ -glukózový dechový test - GBT (Glucose Breath Test) může v některých situacích nahradit orální glukózový toleranční test (OGTT) a v případě inzulínové rezistence je citlivější než

index HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance) [64]. Po perorálním podání 100 mg  $^{13}\text{C}$ -značené glukózy jsou 2-3 hodiny odebrány vzorky dechu po 20-30 minutách. Výsledkem testu je hodnota  $C_{120}$  vyjadřující rychlost vylučování  $^{13}\text{C}$  (mmol/h) vztažená k BSA ve 120. minutě.  $^{13}\text{C}$ -GBT vykazuje pro detekci prediabetu oproti kontrolní skupině senzitivitu 100 % a specifitu 94,4 % při cut-off DOB 28,81 % [65]. Glukóza může být označena uhlíkem  $^{13}\text{C}$  v několika pozicích šestičlenného kruhu a pro dechové testy lze specifikovat tři varianty [ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ], [ $2\text{-}^{13}\text{C}$ ] a [ $3\text{-}^{13}\text{C}$ ] glukózy umožňující detailně monitorovat její metabolismus [66].

$^{13}\text{C}$ -dechové testy nejsou zatím dostatečně využívány a lze očekávat jejich rozšíření s rozvojem nových diagnostických postupů založených na hmotnostní spektrometrii a specifických senzorech. V tomto přehledu jsem uvedl pouze pět klinických aplikací. V oblasti gastroenterologie je popsána  $^{13}\text{C}$ -xylóza pro střevní malabsorpci nebo diagnostiku SIBO,  $^{13}\text{C}$ -kalcium karbonát pro stanovení acidity žaludku při stimulaci penta-gastrinem,  $1\text{-}^{13}\text{C}$ -propionát pro detekci nedostatečnosti vitamínu  $\text{B}_{12}$ , H-Gly-Pro- $(^{13}\text{C}_3\text{-Ala})\text{-OH}$  pro stanovení aktivity DPP4 při terapii diabetu 2. typu,  $^{13}\text{C}$ -glykocholát pro detekci SIBO a malabsorpci žlučových kyselin nebo rektálně podávaný [ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ]-butyrát k ověření aktivity ulcerózní kolitidy. Dalšími aplikacemi je metabolismus lipidů testovaný  $^{13}\text{C}$ -oleátem,  $^{13}\text{C}$ -elaidátem a  $^{13}\text{C}$ -linolenátem. [ $2\text{-}^{13}\text{C}$ ]-uracil lze použít pro ověření aktivity dihydropyrimidin dehydrogenázy (DPD) při terapii 5-fluorouracilem a  $^{13}\text{C}$ -dextromethorphan pro fenotypizaci CYP2D6. Dechový test s  $^{13}\text{C}$ -bikarbonátem umožňuje vyhodnocovat energetickou bilanci a koreluje s klasickou kalorimetrií. Zajímavou aplikací je detekce polymorfismu alkohol dehydrogenázy (ADH)  $^{13}\text{C}$ -etanolovým dechovým testem po podání 100  $\mu\text{l}$   $^{13}\text{C}$ -etanolu ve 100 ml piva. Z neurologických aplikací uvádím např. L-DO-PA- $^{13}\text{C}$  dechový test pro měření L-DOPA dekarboxylázy (AADC) pro individualizaci terapie parkinsonismu, nebo L-[ $1\text{-}^{13}\text{C}$ ]-tryptofan pro hodnocení metabolismu tryptofan-kynureninu (KYN) při depresivních chorobách.

### **Zkušenosti gastroenterologické laboratoře ÚLBLD**

Dechové testy se stabilním izotopem uhlíku  $^{13}\text{C}$  jsme v letech 2000-2006 vyhodnocovali na NDIRS analyzátoru Isomax 4000 (Isodiagnostika, Edmonton), nyní používáme NDIRS analyzátor HeliFAN plus (FAN - Fischer Analysen Instrumente, Leipzig) a provedeno máme 1850 testů. Nejčastějším klinickým požadavkem je průkaz *Helicobacter pylori* metodou  $^{13}\text{C}$ -UBT. Podáváme 75 mg  $^{13}\text{C}$ -močoviny (INFAL test) a pozitivitou je zvýšení DOB za 30 minut o 5 %. V našem souboru 1354 testů bylo pozitivních 282 (20,8%) a u 29 nemocných (2,1 %) byla hodnota nejednoznačná s  $\delta^{13}\text{C}$  mezi 3 - 4 %, kdy test doporučujeme opakovat. Průkaz *Helicobacter pylori* stanovujeme také detekcí antigenu Hp ve stolici (HpSA) metodou ELISA a z provedených 1338 testů bylo 156 pozitivních (11,7%), HpSA metodu indikují především pediatri. Druhou klinickou aplikací je test exokrinního pankreatu metodou  $^{13}\text{C}$ -MTG. Test

provádíme vlastní modifikací [51] s 250 mg  $^{13}\text{C}$ -MTG. Výsledek funkčního testu vyjadřujeme ve vztahu k BMR a kritériem positivity je kumulativní výdej (cPDR) za šest hod > 30 %. Prokázali jsme signifikantní zvýšení hodnot cPDR průměrně o 28,3 % (11-26 %) při výpočtu pomocí BMR místo BSA [42]. Pro vyhodnocení pankreatické nedostatečnosti doporučujeme při testu  $^{13}\text{C}$ -MTG stanovit rovněž pankreatickou elastázu ve stolici (FE-1). V souboru 385 osob jsme shodný výsledek prokázali u 319 (82,9 %), pankreatickou nedostatečnost jsme testem  $^{13}\text{C}$ -MTG prokázali u 41 nemocných (10,3 %), devět z nich mělo normální hodnotu FE-1 nad 200  $\mu\text{g/g}$  stolice. S dalších aplikací jsme zkoušeli detekci SIBO po podání 100 mg  $^{13}\text{C}$ -xylózy. Pozitivní výsledek s maximální hodnotou DOB nad 10 ‰ jsme našli pouze u šesti osob z 96 testů a v současné době provádíme při podezření na SIBO vodíkový dechový test.

## Seznam použitých zkratk

$^{13}\text{C}$ -EUBT	$^{13}\text{C}$ -Endoscopic Urea Breath Test
$^{13}\text{C}$ -GEBT	$^{13}\text{C}$ -Gastric Emptying Breath Tests
$^{13}\text{C}$ -GBT	$^{13}\text{C}$ -Glucose Breath Test
$^{13}\text{C}$ -MTG-BT	$^{13}\text{C}$ -Mixed Triglyceride Breath Test
$^{13}\text{C}$ -OABT	$^{13}\text{C}$ -Octanoic Acid Breath Test
$^{13}\text{C}$ -UBT	$^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test
Ac-Tyr-PABA	4-N-acetyl-L-tyrosyl-aminobenzoová kyselina
BMR	Basal Metabolic Rate
BSA	Body Surface Area
BT-PABA	4-N-benzoyl-L-tyrosyl-aminobenzoová kyselina
CAS	Capillary absorption spectroscopy
cPDR	Cumulative Percent Dose Recovered
DOB	Delta Over Baseline
EMA	European Medicines Agency
FeNO	Fractional exhaled nitric oxide
FODMAP	Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyols
HaPanEU	Harmonizing Diagnosis and Treatment of Chronic Pancreatitis across Europe
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IBS	Irritable Bowel Syndrome
IRMS	Isotope Ratio Mass Spectrometry
LARA	Laser Assisted Ratio Analysis
LiMAx	Maximal Liver Function Capacity
LBT	Lactulose Breath Test
NDIRS	NonDispersive InfraRed Spectrometry
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
PEI	Pancreatic Exocrine Insufficiency
PERT	Pancreatic Enzyme Replacement Therapy
PET	Peak Excretion Time
POCT	Point-of-care Testing
PPI	Proton Pump Inhibitors
PTR-MS	Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry
SBTT	Small Bowel Transit Time

SIBO	Small Intestinal Bacterial Overgrowth
SIFT-MS	Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
TDLAS	Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy
VOC	Volatile Organic Compounds
V-PDB	Vienna-Pee Dee Belemnite

## Literatura

- Berger, D.** A brief history of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory. Part 1-Ancient times through the 19th century. *MLO Med. Lab. Obs.*, 1999, 31(7), s. 28-30.
- Bogen, E.** The diagnosis of drunkenness - a quantitative study of acute alcoholic intoxication. *Cal. West Med.*, 1927, 26(6), s. 778-783.
- Lucas, D. L.** Professor Robert F. Borkenstein - Appreciation of His Life and Work. *Forensic Sci. Rev.*, 2000, 12(1-2), s. 1-21.
- Jones, A. W., Cowan, J. M.** Reflections on variability in the blood-breath ratio of ethanol and its importance when evidential breath-alcohol instruments are used in law enforcement. *Forensic Sci. Res.*, 2020, 5(4), s. 300-308.
- Reinhart, J.** Early Detection of Diabetic Ketoacidosis by Breathalyzer in a Sailor Reporting for Duty. *Mil. Med.*, 2019, 184(11-12), e951-e952.
- Newman, A.** Breath-analysis tests in gastroenterology. *Gut*, 1974, 15(4), s. 308-323.
- Nielsen, J. P.** Trace constituents in breath as related to flatulence. *Proceedings of the Fifth Annual Dry Bean Research Conference*, 1961, s. 49
- Schwabe, A. D., Cozzetto, F. J., Bennett, L. R., Mellinkoff, S. M.** Estimation of fat absorption by monitoring of expired radioactive carbon dioxide after feeding a radioactive fat. *Gastroenterology*, 1962, 42, s. 285-291.
- Graham, D. Y., Klein, P. D., Evans, D. J. et al.** *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. *Lancet*, 1987, 1(8543), s. 1174-1177.
- Marshall, B. J., Surveyor, I.** Carbon-14 urea breath test for the diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. *J Nucl. Med.*, 1988, 29(1), s. 11-16.
- Alving, K., Weitzberg, E., Lundberg, J. M.** Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir. J.*, 1993, 6(9), s. 1368-1370.
- Ulrik, C. S., Lange, P., Hilberg, O.** Fractional exhaled nitric oxide as a determinant for the clinical course of asthma: a systematic review. *Eur. Clin. Respir. J.*, 2021, 8(1), e1891725.
- Som, S., Dutta Banik, G., Maity, A. et al.** Exhaled nitric oxide as a potential marker for detecting non-ulcer dyspepsia and peptic ulcer disease. *J Breath Res.*, 2018, 12(2), e026005.
- Caom, W., Duan, Y.** Current status of methods and techniques for breath analysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2007, 37, s. 3-13.
- Das, S., Pal, N.** Non-Invasive Monitoring of Human Health by Exhaled Breath Analysis: A Comprehensive Review. *J. Electrochem. Soc.*, 2020, 167(3), e037562.
- Nakhleh, M. K., Amal, H., Jeries, R. et al.** Diagnosis and Classification of 17 Diseases from 1404 Subjects via Pattern Analysis of Exhaled Molecules. *ACS Nano*, 2017, 11(1), s. 112-125.

17. **Van Malderen, K., De Winter, B. Y., De Man, J. G. et al.** Volatiles in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *EBioMedicine*, 2020, 54, e102725.
18. **Dryahina, K., Smith, D., Bortlík, M. et al.** Pentane and other volatile organic compounds, including carboxylic acids, in the exhaled breath of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Breath. Res.*, 2018, 12(1), e016002.
19. **Christl, S. U., Murgatroyd, P. R., Gibson, G. R., Cummings, J. H.** Production, metabolism, and excretion of hydrogen in the large intestine. *Gastroenterology*, 1992, 102(4 Pt 1), s. 1269-1277.
20. **Ghoshal, U. C.** How to interpret hydrogen breath tests. *J Neurogastroenterol. Motil.*, 2011, 17(3), s. 312-317.
21. **Hammer, K., Hasanagic, H., Memaran, N. et al.** Relevance of Methane and Carbon Dioxide Evaluation in Breath Tests for Carbohydrate Malabsorption in a Paediatric Cohort. *J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2021, 72(3), e71-e77.
22. **Siddiqui, I., Ahmed, S., Abid, S.** Update on diagnostic value of breath test in gastrointestinal and liver diseases. *World J Gastrointest. Pathophysiol.*, 2016, 7(3), s. 256-265.
23. **Peuhkuri, K., Poussa, T., Korpela, R.** Comparison of a portable breath hydrogen analyser (Micro H2) with a Quintron MicroLyzer in measuring lactose maldigestion, and the evaluation of a Micro H2 for diagnosing hypolactasia. *Scand. J Clin. Lab. Invest.*, 1998, 58(3), s. 217-224.
24. **Shrestha, A., Prodhan, U. K., Mitchell, S. M. et al.** Validity of a Portable Breath Analyser (AIRE) for the Assessment of Lactose Malabsorption. *Nutrients*, 2019, 11(7), e1636.
25. **Gottlieb, K., Le, C., Wachter, V. et al.** Selection of a cut-off for high- and low-methane producers using a spot-methane breath test: results from a large north American dataset of hydrogen, methane and carbon dioxide measurements in breath. *Gastroenterol. Rep. (Oxf.)*, 2017, 5(3), s. 193-199.
26. **Singer-Englar, T., Rezaie, A., Gupta, K. et al.** Validation of a 4-Gas Device for Breath Testing in the Determination of Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Gastroenterology*, 2018, 154(6), s. 281.
27. **Kaiser, A., Torres Ceja, E., Liu, Y. et al.** H<sub>2</sub>S sensing for breath analysis with Au functionalized ZnO nanowires. *Nanotechnology*, 2021, 32(20), e205505.
28. **Robles, L., Priefer, R.** Lactose Intolerance: What Your Breath Can Tell You. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(6), e412.
29. **Peron, G., Dall'Acqua, S., Sorrenti, V. et al.** Retrospective analysis of a lactose breath test in a gastrointestinal symptomatic population of Northeast Italy: use of (H<sub>2</sub>+2CH<sub>4</sub>) versus H<sub>2</sub> threshold. *Clin. Exp. Gastroenterol.*, 2018, 11, s. 243-248.
30. **Usai-Satta, P., Scarpa, M., Oppia, F., Cabras, F.** Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management? *World J Gastrointest. Pharmacol. Ther.*, 2012, 3(3), s. 29-33.
31. **Amieva-Balmori, M., Coss-Adame, E., Rao, N. S. et al.** Diagnostic Utility of Carbohydrate Breath Tests for SIBO, Fructose, and Lactose Intolerance. *Dig. Dis. Sci.*, 2020, 65(5), s. 1405-1413.
32. **Wilder-Smith, C. H., Olesen, S. S., Materna, A., Drewes, A. M.** Predictors of response to a low-FODMAP diet in patients with functional gastrointestinal disorders and lactose or fructose intolerance. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2017, 45(8), s. 1094-1106.
33. **Achufusi, T. G. O., Sharma, A., Zamora, E. A., Manocha, D.** Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Comprehensive Review of Diagnosis, Prevention, and Treatment Methods. *Cureus*, 2020, 12(6), e8860.
34. **Losurdo, G., Leandro, G., Ierardi, E. et al.** Breath Tests for the Non-invasive Diagnosis of Small Intestinal Bacterial Overgrowth: A Systematic Review With Meta-analysis. *J Neurogastroenterol. Motil.*, 2020, 26(1), s. 16-28.
35. **Vernia, P., Cesarini, M., de Carolis, A., Vernia, F.** Early hydrogen excretion peaks during breath tests. Small intestinal bacterial overgrowth or accelerated transit? *Dig. Liver Dis.*, 2021, 53(4), 442-444.
36. **Birg, A., Hu, S., Lin, H. C.** Reevaluating our understanding of lactulose breath tests by incorporating hydrogen sulfide measurements. *JGH Open*, 2019, 3(3), s. 228-233.
37. **Scarpellini, E., Abenavoli, L., Balsano, C. et al.** Breath tests for the assessment of the orocecal transit time. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2013, 17 Suppl 2, s. 39-44.
38. **Altomare, D. F., Bonfrate, L., Krawczyk, M. et al.** The inulin hydrogen breath test predicts the quality of colonic preparation. *Surg. Endosc.*, 2014, 28(5), s. 1579-1587.
39. **Bertram, F., Andresen, V., Layer, P., Keller, J.** Simultaneous non-invasive measurement of liquid gastric emptying and small bowel transit by combined <sup>13</sup>C-acetate and H<sub>2</sub>-lactulose breath test. *J Breath. Res.*, 2014, 8(4), e046007.
40. **Lacroix, M., Mosora, F., Pontus, M. et al.** Glucose naturally labeled with carbon-13: use for metabolic studies in man. *Science*, 1973, 181(4098), s. 445-446.
41. **Lucero, D. P.** An analytical model of the pneumatic nondispersive infrared detector. *J. Phys. E. Sci. Instrum.*, 1973, 6(3), s. 281-286.
42. **Chleboun, J., Kocna, P.** Isotope Selective Nondispersive Infrared Spectrometry Can Compete with Isotope Ratio Mass Spectrometry in Cumulative <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> Breath Tests: Assessment of Accuracy. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, 13(2), s. 92-97.
43. **Savarino, V., Landi, F., Dulbecco, P. et al.** Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) Versus Laser-Assisted Ratio Analyzer (LARA). *Dig. Dis. Sci.*, 2000, 45, s. 2168-2174.
44. **Robinson, I., Butcher, H. L., Macleod, N. A., Weidmann, D.** Hollow waveguide integrated laser spectrometer for <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub> analysis. *Opt. Express*, 2019, 27(24), s. 35670-35688.
45. **O'Brien, D. M., Niles, K. R., Black, J., Schoeller, D. A.** The Breath Carbon Isotope Ratio Reflects Short-term Added-Sugar Intake in a Dose-Response, Crossover Feeding Study of 12 Healthy Adults. *J Nutr.*, 2021, 151(3), s. 628-635.
46. **Bauer, J., Reeves, M. M., Capra, S.** The agreement between measured and predicted resting energy expenditure in patients with pancreatic cancer: a pilot study. *JOP*, 2004, 5(1), s. 32-40.
47. **Coelho, L. G. V., Trindade, O. R., Leão, L. A. et al.** Prospective study for validation of a single protocol for the <sup>13</sup>C-urea breath test using two different devices in the diagnosis of H. pylori infection. *Arq Gastroenterol.*, 2019, 56(2), s. 197-201.
48. **Isomoto, H., Inoue, K., Shikuwa, S. et al.** Five minute endoscopic urea breath test with 25 mg of (13)C-urea in the management of Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol. Hepatol.*, 2002, 14(10), s.1093-1100.
49. **Tepeš, B., Malfertheiner, P., Labenz, J., Aygen, S.** Modified Helicobacter test using a new test meal and a <sup>13</sup>C-urea breath test in Helicobacter pylori positive and

- negative dyspepsia patients on proton pump inhibitors. *World J Gastroenterol.*, 2017, 23(32), s. 5954-5961.
50. **Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A. et al.** Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*, 2017, 66(1), s. 6-30.
  51. **Kocna, P.** Laboratorní diagnostika exokrinní funkce pankreatu. *Klin. Biochem. Metab.*, 2020, 28(49)/4, s. 150-160
  52. **Braden, B.** <sup>13</sup>C breath tests for the assessment of exocrine pancreatic function. *Pancreas*, 2010, 39(7), s. 955-959.
  53. **Ishii, Y., Kohno, T., Ito, A. et al.** Evaluation of pancreatic exocrine secretion using <sup>13</sup>C-dipeptide (benzoyl-L-tyrosyl-[1-(<sup>13</sup>C)]alanine) breath test: focusing on pancreatoduodenectomy cases. *Pancreas*, 2007, 35(4), s. 313-319.
  54. **Löhr, J. M., Dominguez-Munoz, E., Rosendahl, J. et al.** United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis (HaPanEU). *United Eur. Gastroenterol. J.*, 2017, 5(2), s. 153-199.
  55. **Bonfrate, L., Grattagliano, I., Palasciano, G., Portincasa, P.** Dynamic carbon 13 breath tests for the study of liver function and gastric emptying. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2015, 3(1), s. 12-21
  56. **Mejzlíková, N., Krátká, K., Vejvodová, M. et al.** Importance of breath tests for the evaluation liver function in patients with chronic kidney disease. *Vnitř. Lek.*, 2020, 66(3) s. 50-52.
  57. **Goetze, O., Breuer, M., Geier, A. et al.** The <sup>13</sup>C-methactin breath test is non-inferior to liver biopsy in predicting liver-related death and transplantation: A 7-year prospective follow-up study in 132 patients with chronic hepatitis C infection. *GastroHep*, 2020, 2(6), s. 344-350.
  58. **Rubin, T. M., Heyne, K., Luchterhand, A. et al.** Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous <sup>13</sup>C-methacetin breath tests. *J Breath Res.*, 2017, 12(1), e016005.
  59. **Makridis, G., Oldhafer, K. J.** First intraoperative measurement of liver functional capacity during liver surgery using the <sup>13</sup>C-methacetin breath test: early results of a pilot study. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.*, 2020, 27(5), s. 280-281.
  60. **Keller, J., Bassotti, G., Clarke, J. et al.** Advances in the diagnosis and classification of gastric and intestinal motility disorders. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2018, 15(5), s. 291-308.
  61. **Bureš, J., Kopáčová, M., Voříšek, V. et al.** Stanovení rychlosti evakuace žaludku pomocí dechového testu s <sup>13</sup>C-oktanovou kyselinou. *Čas. Lék. Česk.*, 2005, 144 (Suppl 3), s. 18-22.
  62. **Bluck, L. J., Coward, W. A.** Measurement of gastric emptying by the <sup>13</sup>C-octanoate breath test-rationalization with scintigraphy. *Physiol. Meas.*, 2006, 27(3), s. 279-289.
  63. **Maldonado-Hernández, J., Martínez-Basila, A., Rendón-Macías, M. E. et al.** Accuracy of the <sup>13</sup>C-glucose breath test to identify insulin resistance in non-diabetic adults. *Acta Diabetol.*, 2019, 56(8), s. 923-929.
  64. **Ezaki, H., Matsuura, T., Ayaori, M. et al.** The fasting <sup>13</sup>C-glucose breath test is a more sensitive evaluation method for diagnosing hepatic insulin resistance as a cardiovascular risk factor than HOMA-IR. *Clin. Chim. Acta*, 2020, 500, s. 20-27.
  65. **Ghosh, C., Maity, A., Banik, G. D. et al.** Non-invasive <sup>13</sup>C-glucose breath test using residual gas analyzer-mass spectrometry: a novel tool for screening individuals with pre-diabetes and type 2 diabetes. *J Breath. Res.*, 2014, 8(3), e036001.
  66. **Takemoto, I., Kawagoe, N., Kijima, S. et al.** <sup>13</sup>C-glucose breath tests: a non-invasive method for detecting early clinical manifestations of exogenous glucose metabolism in type 2 diabetic patients. *Acta Diabetol.*, 2019, 56(4), s. 449-456.

Autor prohlašuje, že není ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 13. 5. 2021

Adresa pro korespondenci  
MUDr. Petr Kocna CSc.  
Laboratoř gastroenterologie  
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF  
UK a VFN Praha  
Na Bojišti 3  
121 08 Praha 2  
email: kocna@lf1.cuni.cz