Význam dechových testů k hodnocení jaterních funkcí u pacientů s chronickým onemocněním ledvin

Nikola Mejzlíková¹, Karolína Krátká¹, Miluše Vejvodová¹,
Pavla Libicharová¹, Nikola Uzlová¹, Jana Vránová², Ivan Rychlík¹

¹I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

²Ústav lékařské biofyziky a lékařské informatiky 3. LF UK Praha

Dechové testy k hodnocení jaterních metabolických funkcí představují neinvazivní diagnostickou metodu s vysokou senzitivitou a specificitou. Problematika poškození jater u nemocných s těžší renální insuficiencí není dostatečně prostudovaná, i když může mít významné klinické následky. V následujícím článku jsou popsány principy dechových testů, zkušenosti s dechovými testy u pacientů s chronickou renální insuficiencí i výsledky naší pilotní studie s dechovým testem s methacetinem u pacientů s chronickým onemocněním ledvin a v pravidelném peritoneálně dialyzačním léčení.

Klíčová slova: dechový test s 13C-methacetinem, hepatorenální vztahy, chronické onemocnění ledvin, metabolické jaterní funkce.

Importance of breath tests for the evaluation liver function in patients with chronic kidney disease

Breath tests for the evaluation liver metabolic function are a non-invasive diagnostic method with high sensitivity and specificity. Up today, the issue of liver damage in patients with chronic kidney disease has not been investigated sufficiently, although it might have significant clinical consequences. The following article describes the principles of breath tests, experiences with breath tests in patients with chronic kidney disease (CKD) and the results of our pilot study with methacetin breath tests in patients with CKD and in regular peritoneal dialysis treatment.

Key words: 13C-methacetin breath test, chronic kidney disease, kidney-liver organ cross talk, metabolic liver function.

Úvod

Počet pacientů s chronickým onemocněním ledvin celosvětově narůstá. Při poklesu renálních funkcí dochází v organismu k výrazným celkovým metabolickým změnám, které ovlivňují funkci i dalších orgánů a systémů. Zatímco hepatorenální syndrom je dobře definovaná jednotka, tak opačné propojení mezi orgány je prozkoumané málo. Řada pacientů s chronickým onemocněním ledvin (chronic kidney disease – CKD) má jistě různé typy hepatopatií, na které se u těchto nemocných běžně nepomýšlí nebo nejsou v popředí pozornosti, i když to může přinášet závažné klinické důsledky.

Jak se vyšetřují jaterní funkce

Jaterní funkce jsou velmi komplexní a odehrává se v nich velká část energetického a intermediárního metabolismu. Běžná biochemická

vyšetření (aminotransferázy, bilirubin, alkalická fosfatáza, gamaglutamyl-transferáza) a markery syntetické funkce jater (albumin, protrombinový čas) nejsou dostatečně senzitivní k hodnocení všech komplexních dějů, jež se v hepatocytech odehrávají. V současné době není k dispozici žádný test, který by odrážel celkové jaterní funkce a byl by měřítkem jaterního selhání. V hepatologii je tedy velká snaha nalézt metodu, která by přesněji kvantifikovala jaterní funkce. V minulosti bylo zavedeno několik kvantitativních testů s použitím různých substrátů pro přesné měření jaterní funkce, ale narážely na problém opakovaných odběrů krve, nízkou specificitu sledovaných parametrů i riziko alergických reakcí při použití klasických chromoexkrečních testů. Tyto problémy byly vyřešeny při použití dechových testů využívající substráty značené neradioaktivními izotopy uhlíku a hodnotící kinetiku látek a jejich exkreci ve vydechovaném vzduchu.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Nikola Mejzlíková, mejzlikova.nikola@gmail.com

I. interní klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

Cit. zkr.: Vnitř Lék 2020; 66(2): e38–e40:

Článek přijat redakcí: 31. 10. 2018

Článek přijat k publikaci: 15. 11. 2019

Graf 1. Výsledky dechových testů u jednotlivých skupin pacientů podle tíže CKD

CKD – chronic kidney disease, PD – peritoneální dialýza, Cum 40, 60, 120 – kumulativní množství vyprodukovaného $^{13}\text{CO}_2$ v 40., 60. a 120. min dechového testu

Dechové testy

Dechové testy patří mezi neinvazivní metody, představující vyšetření rychlé, jednoduché, snadno proveditelné v ambulantních podmínkách a také vykazující vysokou senzitivitu a specifitu. Principem dechových testů je perorální podání značeného substrátu izotopem uhlíku (^{13}C), jeho následná metabolizace a detekce poměru značeného a neznačeného oxidu uhličitýho ($^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$) ve vydechovaném vzduchu. Neradioaktivní stabilní izotop uhlíku ^{13}C je netoxický a běžně se vyskytuje v přírodě. Oxid uhličitý, jako konečný produkt většiny metabolických pochodů, je rychle vstřebán, dostává se do systémové cirkulace a tím i do plic, kde je vylučován ve vydechovaném vzduchu, ve kterém je následně stanoven. Vydechovaný CO_2 je v tomto případě měřítkem rychlosti a efektivity metabolismu, resp. kapacity orgánových funkcí. Jeho detekce může být provedena hmotnostní spektrometrií, infračervenou spektroskopií nebo pomocí systému LARA (Laser Assisted Ratio Analyzer), který je založen na optogalvanických vlastnostech laserového paprsku.

Existuje mnoho substrátů pro dechové testy, které hodnotí různé jaterní funkce (1). K hodnocení mikrosomálních jaterních funkcí se využívá aminopyrin, fenacetin, kofein, erytromycin a methacetin. Testy s fenylalaninem a galaktózu hodnotí enzymatické aktivity cytosolu, methionin a kyselina ketoisokaproová se používají při hodnocení funkce mitochondrií.

Nevýhoda dechových testů představuje hlavně značná počáteční investice na nákup přístroje a také nutná spolupráce nemocného.

U nás je nejrozšířenější dechový test s použitím methacetinu. Jak bylo zmíněno výše, tento test kvantifikuje demetylační a oxidační funkce hepatocytů a je tedy používán k přesnému měření mikrosomálních jaterních funkcí (2). ^{13}C -methacetin je podáván perorálně, po požití se vstřebává z trávicího traktu do krve a odtud se dostává portální žilou do jater. V endoplazmatickém retikulu hepatocytu dochází za účasti monooxygenázového systému cytochromu p450 k demetylaci a oxidaci a tvorbě acetaminofenu a $^{13}\text{CO}_2$. Ten je vydechován, pacientovi se odebírá finální část výdechu v určitých intervalech do speciálních sáčků a množství vydechovaného $^{13}\text{CO}_2$, resp. poměru $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$ je měřeno pomocí infračervené spektroskopie. Dechový test s methacetinem nemá

Tab. 1 Výsledky dechových testů u jednotlivých skupin pacientů podle tíže CKD

Skupina	Počet pac.	Cum40 (%)	Cum60 (%)	Cum120 (%)
CKD 3	8	13,66	19,87	32,40
CKD 4	8	15,48	21,63	33,22
CKD 5	5	14,94	21,02	32,72
PD	3	11,36	16,16	26,30
Kontroly	7	14,24	19,45	29,88

CKD – chronic kidney disease, PD – peritoneální dialýza

kontraindikace, poskytuje informaci o stupni funkčního poškození jater v celé škále jaterního onemocnění a lze ho použít i v graviditě či u dětí.

Zkušenosti s dechovými testy u pacientů s chronickým onemocněním ledvin

Propojení mezi renální insuficiencí a sníženým jaterním metabolismem bylo pozorováno již u zvířecích modelů. V těchto experimentálních modelech renálního selhání bylo prokázáno snížení jaterní funkce i proteinová exprese enzymů cytochromu p450 (3–5).

Zatímco experimentálních studií se zvířaty existuje mnoho, pouze několik prací bylo dosud provedeno s pacienty in vivo. Ve studii z roku 2003 (6) autoři pomocí dechového testu s erytromycinem prokázali sníženou aktivitu jaterního cytochromu p450 3A4 (CYP3A4) u pacientů s chronickým renálním selháním v pravidelném hemodialyzačním léčení v porovnání se zdravými osobami – hodnoty dechového testu byly sníženy o 28 %. Autoři se také vyjadřují, že je možné další snížení aktivity cytochromu CYP3A4 u pacientů, kteří nejsou adekvátně dialyzováni.

O 3 roky později jiná práce (7) hodnotila efekt hemodialýzy na aktivitu CYP3A4 in vivo také pomocí dechového testu s erytromycinem – 12 pacientů podstoupilo dechový test před a po hemodialýze. Bylo zjištěno, že aktivita CYP3A4 se po HD zvýšila o 27 % v porovnání před hemodialýzou. Hemodialýza podle těchto výsledků tedy krátkodobě zlepšuje změněnou aktivitu jaterního cytochromu CYP3A4 u uremie, ale nezajistí dlouhodobé zlepšení.

Podobné výsledky publikoval o 2 roky později Michaud et al (8) ve své studii in vitro – hepatocyty od potkanů inkubovali se sérem paci-

entů před a po hemodialýze. Také prokázali, že hemodialyzační léčba pouze dočasně zlepšuje uremii, ale inhibiční efekt séra získaném před dialýzou přetrvává i navzdory chronické hemodialyzační léčbě. V další práci stejní autoři publikovali, že inhibiční efekt séra mizí po normalizaci renálních funkcí po úspěšné transplantaci ledviny (9).

Další studie využívající dechový test s erytromycinem u 18 pacientů (12 nemocných s chronickou glomerulonefritidou a 6 nemocných s ne-glomerulárním renálním onemocněním) pochází z roku 2014 (10). Nebyl prokázán žádný statistický rozdíl v aktivitě CYP3A4 ani u jedné skupiny pacientů s chronickým renálním onemocněním. Je nutno však doplnit, že ve skupině pacientů s chronickou glomerulonefritidou byli zařazeni pacienti užívající kortikoidy nebo jinou imunosupresivní terapii, která mohla mít vliv na aktivitu cytochromu p450 a tím i vést ke zkreslení výsledků.

Důležitým rozdílem u dechových testů prováděných s použitím erytromycinu je nutnost jeho podání intravenózně, na rozdíl od perorálně aplikovaného methacetinu.

Hlavní hypotéza vysvětlující snížení aktivity cytochromu p450 je přítomnost endogenních inhibitorů v krvi, které se hromadí v krvi při renální insuficienci (5, 9). V jedné práci výše zmíněného autora Michauda (9) se pokusili o identifikaci těchto mediátorů v uremickém séru. Provedli jeho frakcionaci a zjistili, že inhibiční efekt séra se vztahuje k proteinům s molekulární hmotností mezi 10–15 kDa, což by mohly být prozánětlivé cytokiny a parathormon (PTH). V další navazující studii z roku 2006 (11) demonstrovali, že právě PTH je hlavní mediátor zapojený do down-regulace jaterního cytochromu p450 u experimentálního zvířecího modelu s CKD. Paratyreoidektomie u animálních modelů s CKD pak vedla k vymizení inhibičního účinku – jejich sérum nevykazovalo na cytochrom p450 žádný vliv.

Pilotní studie

Teoreticky je možné předpokládat, že při selhávání funkce ledvin játra do jisté míry přebírají jejich funkci ve smyslu metabolismu a exkrece látek běžně vylučovaných močí. Na druhou stranu endogenní intoxikace, kterou chronická renální insuficience představuje, může mít na aktivitu cytochromu P450 i inhibiční účinky.

LITERATURA

1. Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, et al. Review article: breath testing for human liver function assessment. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1977–1996.
2. Matsumoto K, Suehiro M, Iio M, et al. ¹³C/methacetin breath test for evaluation of liver damage. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 344–348.
3. Leblond F, Giroux L, Villeneuve JP, et al. Decreased in vivo metabolism of drugs in chronic renal failure. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1317–1320.
4. Leblond F, Guévin C, Demers C, et al. Downregulation of hepatic cytochrome p450 in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 236–232.
5. Guévin C, Michaud J, Naud J, et al. Down-regulation of hepatic cytochrome p450 in chronic renal failure: role of uremic mediators. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 1039–1046.
6. Dowling TC, Briglia AE, Fink JC, et al. Characterization of hepatic cytochrome p450A activity in patients with end-stage renal disease. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 427–434.

Do pilotní studie byli zařazeni pacienti s pokročilým stupněm CKD ve stadiu G3a-5 (dle eGFR – estimated glomerular filtration rate, hodnocené podle formule CKD-EPI), a také pacienti v pravidelném peritoneálně dialyzačním léčení (PD). Pacienti neměli anamnesticky žádné onemocnění jater nebo žlučových cest, vyřazeni byli diabetici a pacienti užívající imunosupresivní medikaci či enzymatické induk-tory. Pacienti v kontrolní skupině měli navíc normální renální funkci. Dechovým testem byla hodnocena celková kapacita metabolických jaterních funkcí vyjádřená kumulativním množstvím vyprodukovaného $^{13}\text{CO}_2$ v 40., 60. a 120. min dechového testu.

Vyšetřeno bylo celkem 31 pacientů, jejichž průměrný věk činil 50,9 let (18–75 let), mužů bylo 61 %. Celková kapacita metabolických jaterních funkcí je zobrazena v tab. 1 a v grafu 1. Z výsledků vyplývá, že pacienti s CKD mají obecně vyšší hodnoty dechových testů oproti kontrolám, nejvyšší rozdíl byl zjištěn u skupiny CKD 4. Tento nálezy by podporoval stimulaci jaterního cytochromu P450 u těchto pacientů. Pacienti léčení PD mají naopak nižší hodnotu dechového testu vůči kontrolám. Vysvětlení není jasné, může jít o chybu malých čísel. Je jisté potřeba doplnění dalších dat k objasnění této problematiky, včetně pacientů v pravidelném HD léčení.

Závěr

Změny v aktivitě cytochromu p450 mohou vést u pacientů s chronickým onemocněním ledvin (CKD) k významným klinickým následkům, jako je např. akumulace léčiv, přemrštěné farmakologické odpovědi, toxicitu a také přináší zvýšený výskyt nežádoucích účinků léčiv. Navíc pacienti s pokročilými stadii CKD běžně užívají i 10–15 různých léků denně a jsou tak ještě více náchylní k lékovým interakcím a nežádoucím účinkům. Je tedy nepochybně potřeba uspořádání dalších studií k objasnění vlivu CKD na jaterní funkce, které mohou přinést poznatky využitelné při dávkování léčiv u těchto pacientů. Použití dechových testů s využitím neradioaktivních izotopů uhlíku představuje jistě jednu z perspektivních metod ke kvantifikaci jaterních funkcí u pacientů s CKD.

7. Nolin TD, Appiah K, Kendrick SA, et al. Hemodialysis acutely improves hepatic CYP3A4 metabolic activity. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2363–2367.
8. Michaud J, Nolin TD, Naud J et al. Effect of hemodialysis on hepatic cytochrome P450 functional expression. *J Pharmacol Sci* 2008; 108: 157–163.
9. Michaud J, Dubé P, Naud J, et al. Effects of serum from patients with chronic renal failure on rat hepatic cytochrome P450. *Br J Pharmacol* 2005; 144: 1067–1077.
10. Joy MS, Frye RF, Nolin TD, et al. In vivo alterations in drug metabolism and transport pathways in patients with chronic kidney diseases. *Pharmacotherapy* 2014; 34: 114–122.
11. Michaud J, Naud J, Chouinard J, et al. Role of parathyroid hormone in the downregulation of liver cytochrome P450 in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3041–3048.