



# Breath-

u

## Introduktion

Den humane gastro-intestinal-kanal (G-I-kanal) er lang og utilgængelig. Anatomiske, histologiske og biokemiske undersøgelser kan foretages på vævsprøver, men fysiologiske og patofysiologiske undersøgelser er svære at foretage. Dette afspejles f.eks. i den debat, der for få år siden foregik i internationale tidsskrifter blandt eksperter inden for området, vedrørende tyndtarmens maksimale glukoseabsorptionskapacitet, om denne var af størrelsesordenen 400 g/døgn, eller 11 kg/døgn (1-3).

Et gennembrud i den videre forskning i G-I-kanalens fysiologi og patofysiologi blev opnået, da det for 25 år siden (4) blev beskrevet, hvorledes breath-tests (pustepøver) kunne anvendes i denne forskning.

Under normale omstændigheder er der kun et begrænset antal bakterier i tyndtarmen, hvorimod colon huser en rig bakterieflora. Colons bakterieflora udnytter de næringssubstrater, især kulhydrater, der undslipper absorption i tyndtarmen, til fermentation.

Når kulhydrater fermenteres i den humane colon dannes forskellige fermentationsprodukter:  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO_2$ , kortkædede fede syrer (SCFAs) (Figur 1). Den eneste kilde til  $H_2$  (og  $CH_4$ ) i den humane organisme er bakteriel fermentation, og dette udnyttes i pustepøverne.

## Breath-tests (Pustepøver)

Princippet i  $H_2$  og  $CH_4$  pustepøver er som følger: efter 12 timers faste møder patienten (eller forsøgspersonen) i laboratoriet, får serveret et prøvemåltid, og efterfølgende analyseres ekspirationsluften for indhold af  $H_2$  (og  $CH_4$ ) med regelmæssige intervaller, hvert 15. eller 30. minut i 4-12 timer. Slutekspirationsluft opnås ved at blæse gennem et T-rør, forbundet til en 20 ml lufttæt plastiksprøjte (5). Der er udviklet følsomme apparater til analyse af  $H_2$ - og  $CH_4$ -indhold i ekspirationsluften f.eks. DP Microlyzer (Quintron instruments Co. Inc., Milwaukee, Wisconsin). Forekomst af

$H_2$  (og  $CH_4$ ) måles i ppm. En stigning på mindst 5 ppm (6) i to eller flere på hinanden følgende prøver anses for positiv, d.v.s. signalerer, at der er en pågående fermentation i colon.

## Resultater

### Laktosemalabsorption.

Breath tests blev først anvendt til at påvise laktosemalabsorption. Laktose er et disakkarid, der for at kunne absorberes i tyndtarmen, må nedbrydes af enzymet laktase til de to monosakkarider glukose og galaktose. Laktosemalabsorption skyldes manglende eller nedsat funktion af enzymet laktase. I den voksne danske befolkning har 3-5% nedsat laktase-aktivitet, men blandt indvandrere forekommer laktasemangel langt hyppigere. Indtagelse af mælkeprodukter kan hos disse patienter medføre forskellige gastro-intestinale symptomer, der svinder på en kost fri for mælk og mælkeproduk-

-tests:

# Nye ikke-stressende undersøgelsesmetoder i gastroenterologien

ter. Laktose-malabsorption kan påvises enten via en laktose-belastning, hvor en manglende stigning i blodglukose signalerer manglende absorption, eller via en laktose-breath test. En stigning i ekspiratorisk  $H_2$  1-2 timer efter indtagelse af 25 g laktose signalerer pågående fermentation i colon, og altså manglende eller nedsat absorption af laktose i tyndtarmen. Laktose-breath testen har både en højere specificitet og sensitivitet end laktose-belastnings testen, og den er for patienten mindre ubehagelig (ingen blodprøver).

## Fruktosemalabsorption.

Udover laktose har det vist sig, at også fruktose kan give gastro-intestinale symptomer. Pusteprover til påvisning af fruktoseintolerans har været intensivt udforsket i vort laboratorium (7). Fruktose er et monosakkarid, og ny forskning, bl.a. baseret på pusteprover, har vist at den normale humane tyndtarm har begrænset kapacitet for absorption af fruktose. Fruktoseabsorption faciliteres ved samtidig tilstedeværelse i tyndtarmen af glukose, og heldigvis forekommer de to monosakkarider hyppigt sammen i

fødemidler. Indtag af så lidt som 5-10 g fruktose på en gang kan overskride tyndtarmens absorptive kapacitet hos i øvrigt raske mennesker og bidrage til gastro-intestinale symptomer.

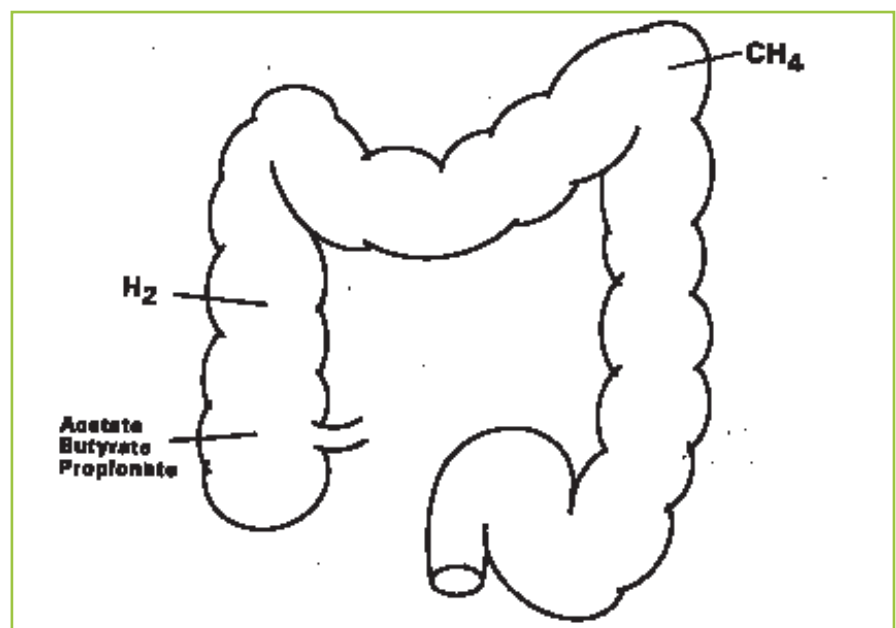
Det er et problem, man bør være opmærksom på, i relation til industriel fremstilling af fødevarer, idet fruktose er et hyppigt benyttet sødemiddel.

## Kostfibre:

Frem til 1970-erne vidste vi naturligvis, at den humane colon husede en

enorm bakterieflora, men forskningsmæssigt beskæftigede vi os mest med de patogene tarmbakterier. Burkitt's epidemiologiske studier vedrørende forekomst af forskellige colon-sygdommes relation til kosten (8), bragte colons bakterieflora i fokus. Colon har en enorm bakterieflora, og der er en høj daglig omsætning i bakteriemassen. For en oversigt over colonindhold, se figur 2. Colons bakterieflora er vigtig for

1) at opretholde det rette økologiske miljø,



Figur 1: Den normale humane colon med illustration af, hvor de vigtigste fermentationsprodukter dannes.

- 2) for ernæring af colon-mucosa
- 3) for dannelse og absorption af K-vitamin
- 4) kan under særlige omstændigheder bidrage til ernæringen

Desuden kan colons bakterieflora have betydning for udvikling af colon cancer og colitis ulcerosa.

Det kan måles, at raske normalpersoner har en omsætning af bakteriemasse på ca. 20-25 g/døgn. Under steady state omstændigheder betyder det, at colon må tilføres ca. 50-70 g næringssubstrat/døgn, det drejer sig overvejende om kulhydrater. Grunden til at kostfibre har været i fokus gennem de seneste 30 år er, at vi har anset tyndtarmen for et organ, som effektivt absorberede alle absorberbare fødeelementer før de nåede colon. Det efterlod kostfibre som den vigtigste ernæringskilde for colons bakterieflora. 50-70 g kulhydrater er meget taget i betragtning, at en normal dansk kost kun indeholder højst 200-250 g kulhydrat/dag. Det er også meget i forhold til, at en normal dansk kost kun indeholder omkring 17-20 g kostfibre/dag. Selv de seneste års massive kampagner for et øget kostfiberindtag har ikke ændret på dette.

Ved hjælp af pusteprov har vi i vort laboratorium påvist (9,10), se figur 3:

- 1) At kostfibre kun fermenteres langsomt og ufuldstændigt, at hvedekliid er et dårligere fermentationssubstrat end f.eks. havrekliid.
- 2) Til gengæld malabsorberes ikke helt ubetydelige mængder af i øvrigt let fordøjelige kulhydrater som f.eks. hvedebrød, og de udgør formentlig et langt vigtigere næringssubstrat for colons bakterieflora end diverse kostfibre.
- 3) Måltiders kaloriefordeling på fedt og kulhydrater influerer på den fraktion af kulhydraterne, som undslipper absorption i tyndtarmen.
- 4) At fermentation af kulhydrater i colon kan yde et vigtigt bidrag til den samlede ernæring i ekstreme situationer, f.eks. hos korttarmspatienter med intakt colon.

Vi har således konkluderet, at livsstilssygdomme, der påvirkes af kosten, ikke så meget er forårsaget af mangel på kostfibre, men i langt højere grad

Længde	ca. 150 cm
Volumen	ca. 540 ml
Daglig tilførsel	ca. 21
Vægt af colon-indhold	ca. 300 g
Bakteriemasse	ca. 50 g
Tab af bakteriemasse/dag	ca. 20-25 g
Transit tid	ca. 70 timer
Gn. snitlig fæcesmængde	ca. 150 g/dag

Figur 2: Fysiske karakteristika for colons øko-system.

af mangel på kulhydrater. Dette er en ny indsigt, opnået på basis af bl.a. pusteprov, idet man som anført tidligere har anset, at alle absorberbare fødeelementer er blevet effektivt fordøjet og absorberet fra tyndtarmen.

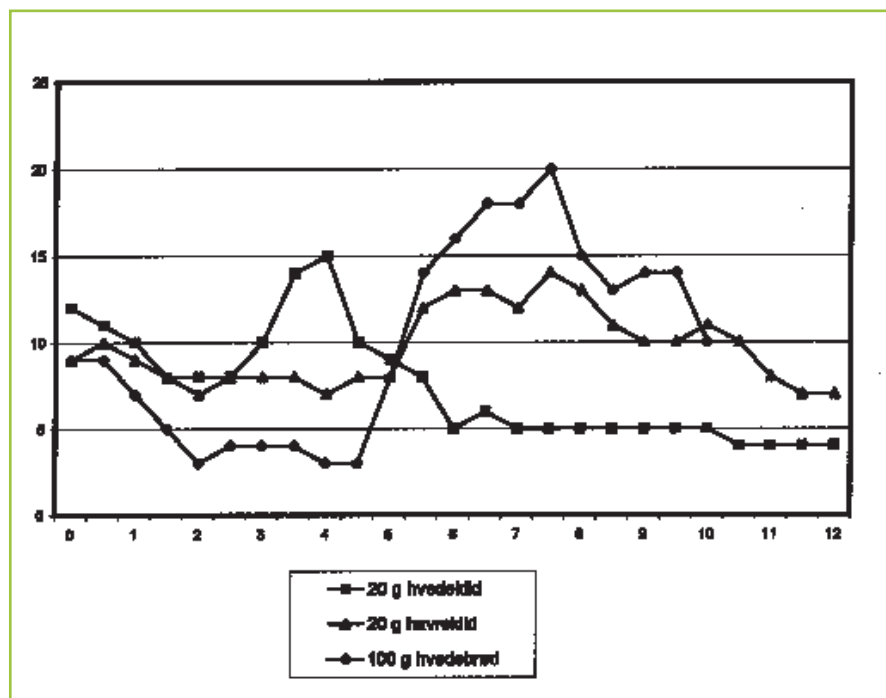
#### Diskussion:

Komplekse kulhydrater, der er nødvendige for colons mikromiljø, når

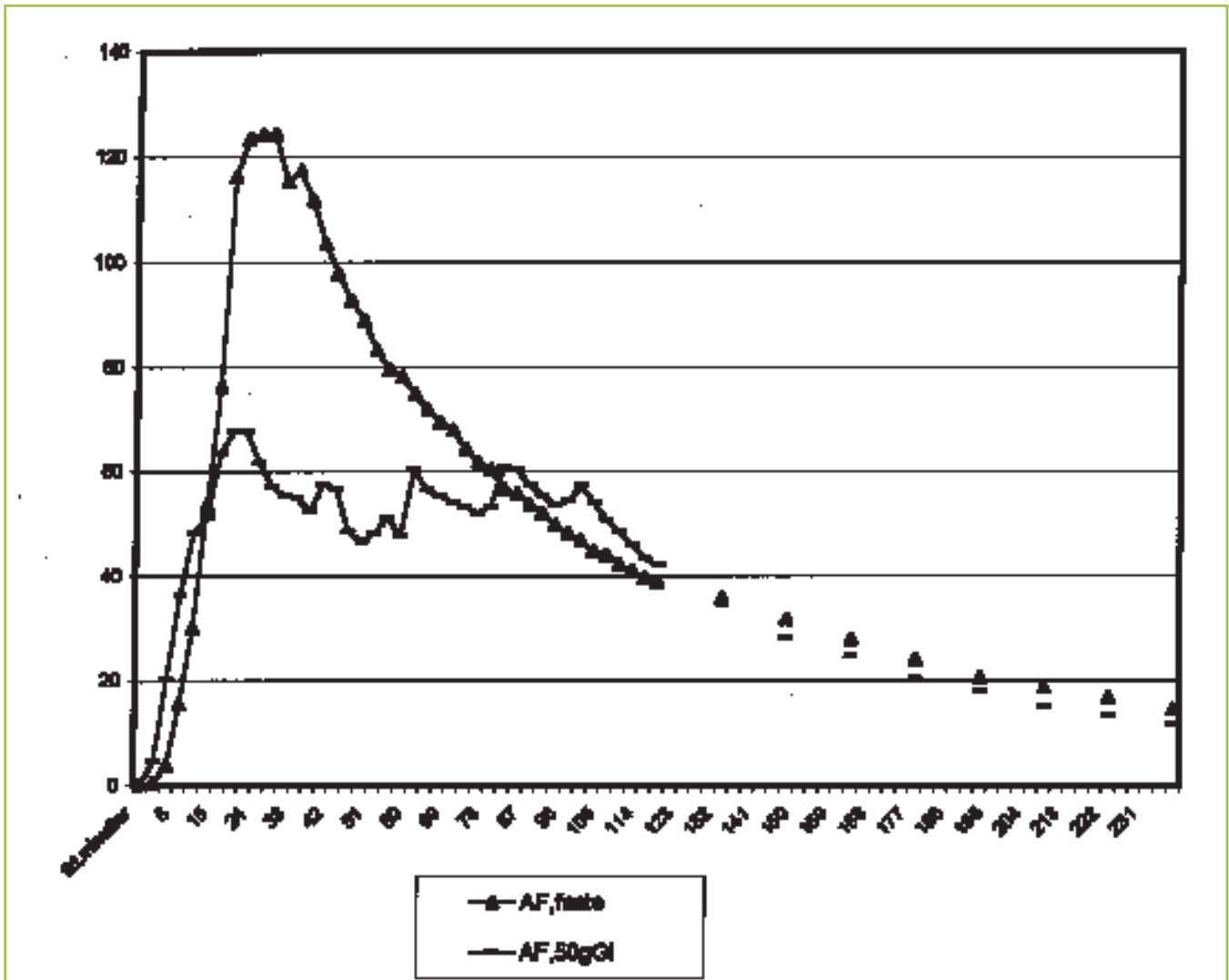
colon i betydelige mængder. Insufficente mængder kan medføre forskellige lidelser. Modsat kan oligosakkarider, der undslipper absorption i tyndtarmen og bliver fermenteret i colon, provokere gastro-intestinale symptomer. Det skyldes dels, at oligosakkarider også har en osmotisk effekt i tyndtarmen og øger tarmmotiliteten, dels at de fermenteres langt hurtigere i colon end komplekse kulhydrater, hvorved gas-udviklingen øges akut.

#### Bakteriel overvækst i tyndtarmen:

Tyndtarmen indeholder normalt kun et beskedent antal bakterier. En række lidelser disponerer for en øget vækst af bakterier her. Det kan dreje sig om diabetisk gastroparese, alkoholisme, neuropati af anden grund, divertikler, achlorhydri. Glukose absorberes normalt fuldstændigt i tyndtarmen, så efter en per oral glucosebelastning ses normalt ingen stigning i ekspiratorisk  $H_2$ . Ved mistanke om bakteriel overvækst kan udføres en glukosepusteprobe. Signifikant stigning i ekspiratorisk  $H_2$  efter indtagelse af 50 g glucose signalerer bakteriel overvækst i tyndtarmen. Fejlkilder er f.eks. korttarmssyndrom, hurtig ventrikeltømmning



Figur 3:  $H_2$ -stigning efter indtagelse af hhv. 20 g hvedekliid, 20 g havrekliid og 100 g hvedebrød. Illustrerer hvorledes stigningen er markant højere efter hvedebrød end efter de to kostfibre, og signalerer således, at langt mere fermentationssubstrat når colon efter brødet end efter fibre.



Figur 4: Stigning i  $^{13}\text{C}$ -mærket  $\text{CO}_2$  efter indtagelse af vand+  $^{13}\text{C}$ -mærket acetat (AF, faste) og efter vand+glukose+ $^{13}\text{C}$ -mærket acetat (AF, 50 g G). Bemærk, at tilstedeværelse af glukose i ventriklen har en klart forsinkende effekt på ventrikeltømmingen.

ing (operation på ventriklen), enteritis med afledt hurtig transit gennem tyndtarmen.

#### Tyndtarmstransit:

Breath-tests kan også anvendes til at vurdere tyndtarmstransit. Princippet er, at der indgives en ikke-absorberbar, men let fermenterbar markør, f.eks. lactulose.  $\text{H}_2$ -stigning i ekspirationsluften følges med 15 minutters intervaller, og tiden fra indgift til den første signifikante stigning i  $\text{H}_2$  anses for transittiden. Denne metode er ikke direkte sammenlignelig med f.eks. scintigrafiske bestemmelser af middeltransittider, men den er langt enklere, mindre krævende, og den kan give pålidelige informationer om

f.eks. effekten af farmakologisk intervention, sammenligning af forskellige patientgrupper, eller effekt af forskellige fødeelementer.

#### Nye pustep prøver:

I de senere år er der udviklet forskellige markører, der kan anvendes til andre pustep prøver. Det drejer sig om  $^{14}\text{C}$ -mærkede teststoffer eller  $^{13}\text{C}$ -mærkede teststoffer.

Princippet er, at  $^{14}\text{C}$ -mærkede specifikke teststoffer indgives per oralt. Efter metabolisme kan måles en stigning i  $^{14}\text{C}$ -mærket  $\text{CO}_2$  i ekspirationsluften.

#### Helicobacter pylori breath test:

Den mest benyttede test er Helico-

bacter pylori (H.pylori) pustep prøven. H-pylori pustep prøven kan anvendes enten til at diagnosticere patienter med symptomer på akut gastritis eller ulcus, forårsaget af en H. pylori infektion og den kan anvendes til kontrol af, om eradikationsbehandling har virket.

Testen bygger på, at H.pylori er urease-producerende.

Sammen med et test måltid af passende pH og kalorieindhold indgives 100 mg  $^{14}\text{C}$ -mærket urea.

Helt simpelt kan man nøjes med en 0-prøve af ekspirationsluften og en prøve taget 1/2-1 time efter indtagelse af  $^{14}\text{C}$ -mærket urea. En højere sensitivitet kan opnås ved at følge stigningen i  $^{14}\text{C}$ -mærket  $\text{CO}_2$  i ekspira-

tionsluften i to timer. Også den simple udgave af testen har en specificitet og sensitivitet, der nærmer sig 90% (11).

Testen kan gennemføres med <sup>14</sup>C-mærket urea. Dette kræver af udstyr en Beta-tæller og passende beskyttelse af personale og patient mod indånding af scintillationsvæske. Princippet er, at patienten via en gum-mislange puster ud gennem scintillationsvæsken, der er tilsat en farveindikator, denne skifter farve, når en bestemt mængde CO<sub>2</sub> er opløst i væsken.

Testen kan også gennemføres med <sup>13</sup>C-mærket urea. <sup>13</sup>C er en tung isotop, og altså ikke radioaktiv som <sup>14</sup>C. <sup>13</sup>C kan også anvendes til børn, gravide og andre udsatte grupper. <sup>13</sup>C-analyse krævede tidligere adgang til et kostbart massespektrometer. I de senere år er der udviklet langt billigere og simple apparatur til analyse f.eks. InfraRød ISotop analysator (IRIS), Fischer Analysen Instrumente GmbH.

Undersøgelsen kræver kun en 0-prøve og en 1-times prøve af ekspirationsluften, der opsamles i en lufttæt pose. Undersøgelsen kan i princippet foretages hvor som helst og poserne sendes til et laboratorium med passende udstyr.

#### Andre nye pusteprov:

Ud over <sup>13</sup>C-mærket urea er der også fremstillet en række andre markører, der kan anvendes til forskellige funktionsundersøgelser af gastro-intestinal-kanalen. Det drejer sig om <sup>13</sup>C-mærket acetat, octanoat, glucose, laktose, triglycerid.

<sup>13</sup>C mærket acetat og octanoat kan benyttes til vurdering af ventrikeltømningen. Acetat forlader ventriklen sammen med den flydende fase af et måltid, det absorberes hurtigt, metaboliseres og processen kan følges ved at måle forekomst af <sup>13</sup>C-mærket CO<sub>2</sub> i ekspirationsluften. Figur 4 illustrerer resultater opnået i vort laboratorium med denne teknik. Den viser, at ventrikeltømning af den flydende fase af et måltid afhænger af bestanddelene af det flydende måltid. I dette tilfælde er det tømningen af rent vand sammenlignet med tømningen af vand tilsat glucose.

Octanoat forlader ventriklen sammen med den solide fase af et måltid, forløbet kan følges på samme måde

som for acetat (12-15). Fordelen ved at anvende disse isotoper frem for scintigrafiske undersøgelser af ventrikeltømningen er først og fremmest, at isotoperne ikke er radioaktive, hvilket indebærer at man kan undersøge de samme mennesker flere gange uden strålerisiko.

Ulempen er, at man ikke opnår et direkte billede af ventrikeltømningen, men derimod den samlede proces: ventrikeltømning, absorption, metabolisme, genfinding i ekspirationsluften. Der pågår analyser i adskillige laboratorier, inklusive vort eget for at skille disse processer fra hinanden (16) med henblik på at forbedre analysen.

Triglycerider kan anvendes til pancreas-funktionsundersøgelser og kan formentlig erstatte måltidsstimulationstesten og undersøgelse af fedtudskillelse med fæces.

#### Referencer

- 1) Crane RK. *The physiology of the intestinal absorption of sugars.* In *Physiological effects of Food Carbohydrates.* A James, J Hodges (eds). Washington DC, American Chemical Society, 1975, pp 1-19.
- 2) Diamond J. *Evolutionary design of the intestinal nutrient absorption: enough but not too much.* *News Phys Sci.*, 1991; 6: 92-96.
- 3) Pappenheimer JR. *On the coupling of membrane digestion with intestinal absorption of sugars and amino acids.* *Am J Physiol.*, 1993; 28: G409-G417.
- 4) Metz G, Gassuli MA, Leeds AR, Blendis LM, Jenkins DJA. *A simple method of measuring breath hydrogen in carbohydrate malabsorption by end-expiratory sampling.* *Clin Sci Mol Med.*, 1976; 50: 237-40.
- 5) Rumessen JJ, Hamberg O, Gudmand-Høyer E. *Interval sampling of end-expiratory hydrogen (H<sub>2</sub>) concentration to quantitate carbohydrate malabsorption by means of lactulose standards.* *Gut*, 1990; 31: 37-41.
- 6) Strocchi A, Corazza G, Ellis CJ, Gasbarri G, Levitt MD. *Detection of malabsorption of low doses of carbohydrate: accuracy of various breath H<sub>2</sub> criteria.* *Gastroenterol* 1993; 105: 1404-10.
- 7) Rumessen JJ, Gudmand-Høyer E. *Functional bowel disease: malabsorption and abdominal distress after ingestion of fructose, sorbitol, and fructose-sorbitol mixtures.* *Gastroenterol.*, 1988; 95: 694-700.
- 8) Burkitt DP. *Related disease-related cause?.* *Lancet*, 1969; ii: 1229-31.
- 9) Olesen M, Gudmand-Høyer E. *Maldigestion and colonic fermentation of wheat bread in humans and the influence of dietary fat.* *Am J Clin Nutr.*, 1997; 66: 62-66.
- 10) Olesen M, Gudmand-Høyer E, Holst JJ, Jørgensen S. *Importance of colonic bacterial fermentation in short bowel patients.* *Dig Dis Sci.*, 1999; 44: 1914-23.
- 11) Grabam DY, Go MF, Evans DJ. *Review article: urease, gastric ammonium/ammonia and Helicobacter pylori- the past, the present and recommendations for future research.* *Aliment Pharmacol Ther.*, 1992; 6: 659-69.
- 12) Ghoos YF, Maes BD, Geypens BJ, Mys G, Hiele MI, Rutgeerts PJ, Vantrappen G. *Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labeled octanoic acid breath test.* *Gastroenterol.*, 1993; 104: 1640-47.
- 13) Maes BD, Ghoos YF, Geypens BJ, Hiele MI, Rutgeerts PJ. *Influence of octreotide on the gastric emptying of solids and liquids in normal healthy subjects.* *Aliment Pharmacol Ther.*, 1995; 9: 11-18.
- 14) Braden B, Adams S, Duan LP, Orth KH, Maul FD, Lembecke B, Hor G, Caspary WF. *The (13C) acetate breath test accurately reflects gastric emptying of liquid and semisolid test meals.* *Gastroenterol.*, 1995; 108: 1048-55.
- 15) Maes BD, Geypens BJ, Ghoos YF, Hiele MI, Rutgeerts PJ. *13C-Octanoic acid breath test for gastric emptying rate of solids.* *Gastroenterol.*, 1998; 114: 856-59.
- 16) Olesen M, Halstein-Ratlow NH, Gudmand-Høyer E. *A proposal for a new interpretation of the 13C-acetate breath test for gastric emptying of fluids.* *In Manus.*