

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

**Katedra obecné zootechniky a etologie
Centrum pro výzkum a chování psů**



Pes jako biodetektor lidských onemocnění

Bakalářská práce

Autor práce: Hana Sedláková

Vedoucí práce: Ing. Ludvík Pinc, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Pes jako biodetektor lidských onemocnění" jsem vypracovala samostatně pod vedením Ing. Ludvíka Pince, Ph.D. a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2017

Hana Sedláková

Poděkování

Děkuji vedoucímu práce Ing. Pincovi, Ph.D., za poskytnuté materiály pro sestavení literární rešerše k této práci a za jeho odborné vedení. Dále bych chtěla poděkovat své dceři Natálii Sedlákové za pomoc s překladem odborných publikací. Děkuji také svojí rodině za podporu a pochopení v době psaní bakalářské práce.

Pes jako biodetektor lidských onemocnění

Souhrn

Pes provází člověka dlouhá tisíciletí, ale až v posledních letech začíná být oceňován také pro svou schopnost detekce určitých onemocnění. Patologické procesy v lidském těle mohou způsobit uvolňování neobvyklých látek či jejich abnormálního množství, což je pes schopen vycítit. Pes patří mezi makrosmatické živočichy a stavba celého jeho čichového ústrojí je efektivně přizpůsobena k maximálnímu vnímání pachů. K látkám spojovaným s určitými onemocněními lze řadit například alkany, methylované alkany, aromatické sloučeniny a deriváty benzenu, merkaptany a alkalické sloučeniny. Současné diagnostické metody nejsou v některých případech tak schopné detekovat jako psi nebo dokonce dosud neexistují. Díky výzkumu se psy se však daří detekční technologie zlepšovat či vyvíjet – jedná se například o zařízení zvané „elektrický nos“, které stejně jako pes detekuje odoranty.

Studie detekce lidských onemocnění psy se dosud zaměřovaly především na rakovinu, hypoglykemii a epilepsii. Schopnost detekce rakoviny psy je vysoká, ovšem je nutno připustit, že výsledky studií mohly být zkresleny pachy spojenými s nemocí, například zanícením, infekcí a nekrózou.

Dobrych výsledků dosahovali psi i při upozorňování na hypoglykemii, což je vážná, život ohrožující komplikace například při terapii inzulínem. Při detekci se pes řídí nejen pachem, ale postupně se naučí sledovat změny chování a další jemná vodítka, jako například třes.

Studie detekce epilepsie prokázaly schopnosti psů předvídat nadcházející epileptické záchvaty s vysokou přesností. Odhalily však také problémy, které mohou provázet život necvičeného psa v domácnosti s epileptikem – zvíře může být agresivní, úzkostlivé a neustálý stres dále vede k jeho dalším zdravotním problémům.

Ojedinelá studie také potvrdila, že je pes schopen vycítit pacienty infikované bakterií *Clostridium difficile*, která způsobuje nakažlivé průjemové onemocnění. Nebylo ovšem zjištěno, zda pes reaguje na samotnou bakterii, její toxiny nebo jiné produkty. Detekce s pomocí psů je v tomto případě mnohonásobně rychlejší než za použití standardních metod, a tak je možné rychle zabránit dalšímu šíření této nákazy.

Klíčová slova: onemocnění, detekce, psi, olfakce, diagnostika

Canine as a Biodetector of Human Health

Summary

The dog has been a man's companion for thousands of years, but it is only in recent years that he has been appreciated for his ability to detect certain diseases. Pathological processes in the human body can release unusual chemical substances or their unusual amount, which the dog can smell. It is a microsmatic species and its olfactory system is built to effectively perceive odorants. Examples of chemical substances associated with certain diseases are alkanes, methylated alkanes, aromatic compounds and benzene derivatives, mercaptans and alkaline compounds. Diagnostic methods that are currently in use are not as effective as dogs or, in some cases, they do not exist at all. However, as a result of research using dogs, detection technologies are successfully being improved and developed – for example a device called the “electric nose,” which is able to detect odorants like a dog.

Studies of canine detection of human diseases have so far been focused on cancer, hypoglycaemia and epilepsy. The dog's ability to detect cancer was proven to be high, but the possibility that the studies' results may have been influenced by the presence of other smells connected to inflammation, infection or necrosis, must be considered.

Good results have also been achieved with canine detection of hypoglycaemia – a serious, life-threatening complication of insulin therapy. Dogs react not only to smell, but also to changes in behaviour and other clues (such as tremor) that they learn to recognize.

Studies dealing with canine detection of epilepsy proved the dog's ability to predict epileptic attacks with high accuracy. On the other hand, they have also revealed the complications that may arise from having an untrained dog in a household with an epileptic patient – it may start being aggressive and anxious and the continuous stress leads to further health problems.

One study has also proved that dogs are able to detect *Clostridium difficile* infection, which is the cause of infectious diarrhea. It has not been determined, though, whether the dog reacts to the bacteria itself, toxins produced by it or another one of its products. In this case, canine detection is much quicker than standard methods, which makes it possible to prevent further spreading of the disease.

Keywords: diseases, detection, dogs, olfaction, diagnostics

OBSAH

1. Úvod.....	1
2. Cíl práce.....	2
3. Literární rešerše	3
3.1. Diagnostika onemocnění.....	3
3.2. Olfakce	4
3.2.1. Makrosmatismus a mikrosmatismus	4
3.2.2. Anatomie a fyziologie čichového ústrojí psa	5
3.3. Rakovina	9
3.3.1. Diagnostika rakoviny	9
3.3.2. Studie o schopnosti psů detekovat rakovinu	11
3.4. Hypoglykemie	15
3.4.1. Detekce hypoglykemie.....	15
3.4.2. Detekce hypoglykemie psy	16
3.5. Epilepsie.....	20
3.5.1. Detekce epilepsie	20
3.5.2. Výzkum detekce epileptických záchvatů psy.....	21
3.6. <i>Clostridium difficile</i>	23
3.6.1. Detekce bakterie <i>clostridium difficile</i>	23
4. Závěr	27
5. Seznam literatury	28

1. ÚVOD

Domestikace psa je proces, který započal pravděpodobně před více než 15 000 lety ve Východní Asii (Savolainen et al.). Pes se během této doby stal důležitým lidským společníkem a po jeho boku našel různá využití, zejména pro svůj velmi citlivý čich. Mezi ně patří například asistence při lovu, shánění stád, hlídání obydlí, vyhledávání různých substancí (drog, travin, pašovaného zboží), identifikace osob na základě jejich individuálního pachu, vyhledávání obětí přírodních katastrof či zoorehabilitace.

V poslední době se prozkoumává také možnost použití psů jako bioindikátorů různých onemocnění. Psi jsou například schopni předvídat epileptické záchvaty až 45 minut před jejich propuknutím (Brown et Strong, 2001), upozorňovat na hypoglykémii u pacientů s inzulínovou terapií (Hardin et al. 2015), a dokonce rozeznávat brzká stádia různých typů rakoviny ze vzorků moči, dechu a tkáně (Pickel 2004; McCulloch 2006; Ehmann 2012; Amundsen 2013; Elliker 2014; Willis 2014; Urbanová 2015). Mohli by tak představovat účinnou, neinvazivní, levnou a dostupnou metodu k prevenci různých zdravotních komplikací a brzké diagnostice onemocnění. Včasné odhalení počátku nemoci či ataky má vliv na její průběh, a také efektivitu léčby. Použití psů k diagnostice nemocí by tak mohlo mít významný efekt na zlepšení zdravotního stavu pacientů. (de Castro et Fernández-Peralbo, 2012).

2. CÍL PRÁCE

Cílem práce je shromáždit dostupnou literaturu o využití psů jako kontrolovaných biodetekčních systémů lidských onemocnění a tuto literaturu zpracovat do přehledné rešerše.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. DIAGNOSTIKA ONEMOCNĚNÍ

Jedním z hlavních předpokladů pro úspěšné vyléčení pacienta je včasné odhalení nemoci. Dosud známé diagnostické postupy však nejsou v mnoha případech dostatečně efektivní, a dokonce vystavují pacienty dalším zdravotním rizikům (Moser et McCulloch, 2010).

V poslední době se pozornost vědců obrátila na schopnosti psů odhalovat u lidí různá onemocnění, donedávna zaznamenanou pouze v pár případech. Pes by jako biodetektor mohl představovat novou efektivní, neinvazivní metodu vyšetření a inspirovat vývoj dalších technologií. Ve většině případů detekce lidských onemocnění psy se předpokládá, že se řídí pachovou signaturou. Není však vyloučeno, že psi vnímají i jiné markery, například změny chování (Hardin et al., 2015).

3.2. OLFAKCE

Olfakce, tedy čich, patří mezi nejdůležitější smysly psa. Slouží zejména ke stopování kořisti, odhalení predátorů a sociální komunikaci. Lidé tuto psí vlastnost využili k vyhledávání osob, lidských ostatků, různých látek, drog, výbušnin a pašovaného zboží. Novou roli by však pes mohl nalézt i v medicíně jako biodetektor lidských onemocnění.

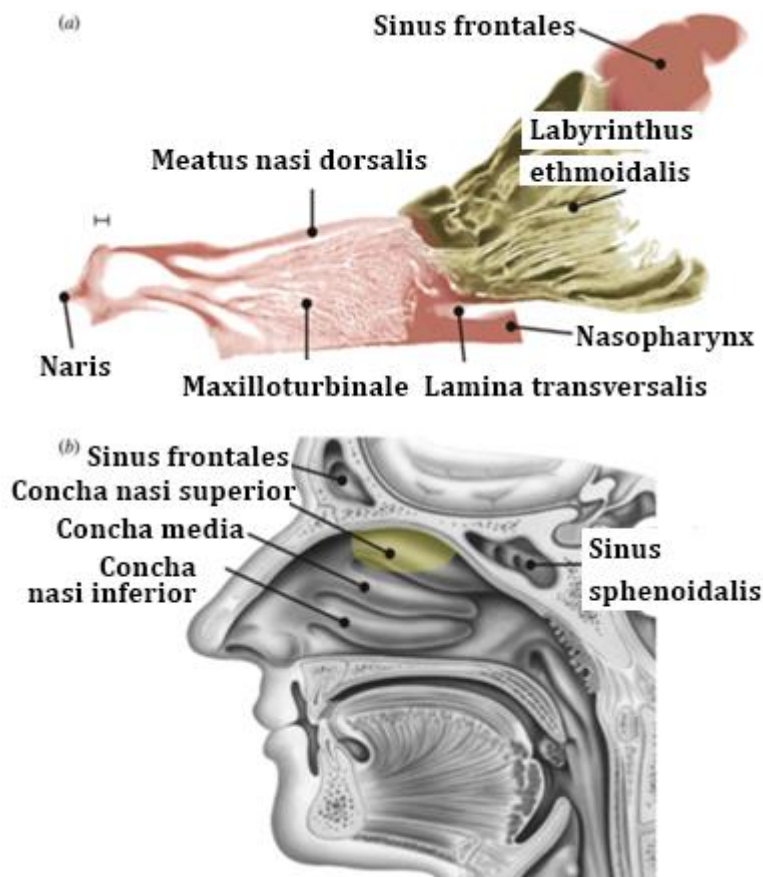
Psi mají velmi vyvinutý čichový kyj (*bulbus olfactorius*), čichovou korovou oblast mozku a citlivost jejich čichu je zhruba 10 000 – 100 000krát větší než čichu lidského (Walker et al., 2003, 2006). Tento rozdíl je způsoben více faktory. Mezi ně patří množství čichových buněk, jejichž je více v řádech milionů (Lindsay, 2005), hustota nervů (Quignon et al., 2003), velikost čichového ústrojí (Smith et al. 2004; Pihlstrom et al., 2005) a celková anatomická stavba nosní dutiny (Negus et Straatsma, 1960).

3.2.1. MAKROSMATISMUS A MIKROSMATISMUS

Živočichy můžeme dle složitosti jejich čichového aparátu dělit na makrosmatické a mikrosmatické. Makrosmaté mají složitější stavbu smyslových čichových orgánů (Negus et Straatsma, 1960). To ovšem neznamená, že by musela mít všechna mikrosmatická zvířata vždy méně citlivý čich (Laska et al., 2000).

U makrosmatů přechází čichová sliznice v jakýsi „čichový výklenek“, který se nachází v zadní části nosní dutiny a je oddělen od hlavní dráhy proudění vzduchu. Výklenek obsahuje ethmoturbinálie, což jsou výrůstky řesetné ploténky, jež mají podobu „kostěných svítek“ a jsou pokryté čichovým epitelem (Craven et al., 2007). Čichový výklenek u mikrosmatických primátů (včetně lidí) chybí (Smith et al., 2004, 2007).

Obrázek 1: Srovnání stavby čichového ústrojí a) makrosmata (Craven et al., 2010) a b) mikrosmata (Hornung, 2006).



3.2.2. ANATOMIE A FYZIOLOGIE ČICHOVÉHO ÚSTROJÍ PSA

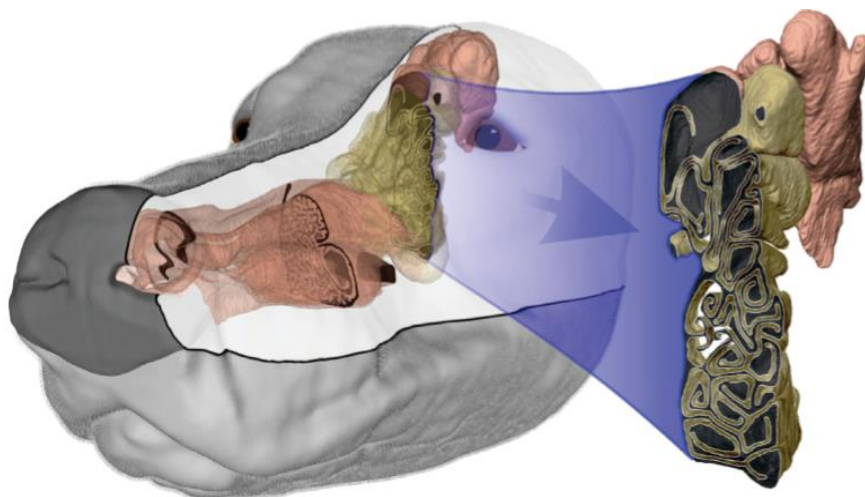
Stavba dutiny nosní psa je velmi dobře organizována pro efektivní přenos odorantů. Odoranty jsou unikátním způsobem proudění vzduchu přeneseny na senzorickeou část nosu. Respirační a čichové proudy vzduchu jsou odděleny a nosním ústrojím putují odlišnými cestami. (Craven et al., 2010).

Nozdry (*nares*) se záhyby zajišťují, že se do nosu dostane dostatek molekul odorantů. Ty putují do nosní dutiny (*cavum nasi*), která je rozdělena nosní přepážkou (*septum nasi*) na dvě bilaterálně souměrné dýchací cesty. Ty můžeme dále rozdělit na tři základní oddíly: předsíň dutiny nosní (*vestibulum nasi*), respirační oddíl (*regio respiratoria*) a čichový oddíl (*regio olfaktorica*). Respirační oblast se skládá z dorsální a ventrální nosní skořepy (Craven et al., 2007).

Oddíly vestibulární a respirační jsou odpovědné za regulaci teploty, zvlhčování a filtraci vdechnutého vzduchu (Craven et al., 2007). Tyto funkce zastává především ventrální skořepa respiračního oddílu, neboli maxilloturbinalia (Negus, 1958). Ta se složitě větví, díky čemuž vzniká velká plocha pro převod tepla, vlhka a odorantů (Craven et al., 2007).

V čichovém oddíle se nalézají výrůstky řesetné ploténky (*lamina cribrosa*) – čichové skořepky (*ethmoturbinálie*) (Craven et al., 2007). Jsou to jemné kostěné svitky, které tvoří čichové bludiště (*labyrinthus ethmoidalis*) a zvětšují plochu k přenosu odorantů (obrázek č. 2) (König et Bragulla, 2007). *Ethmoturbinálie* se dělí na *ectoturbinálie* a *endoturbinálie*. V každé ze dvou částí zadní nosní dutiny jsou čtyři endoturbinálie a šest ectoturbinálí (König et Bragulla, 2007).

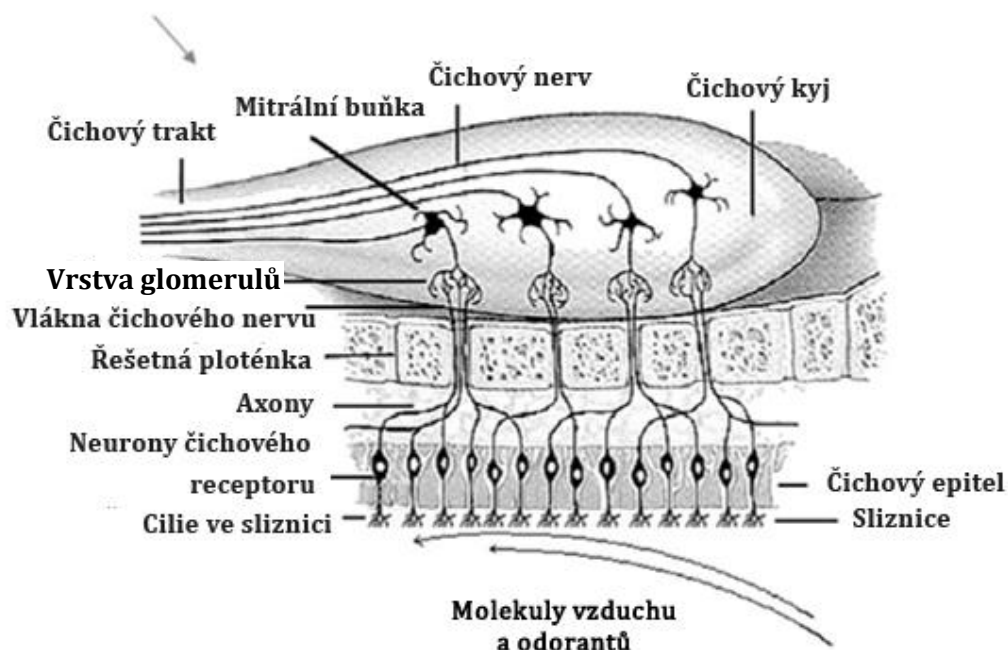
Obrázek 2: Trojrozměrný model levé dýchací cesty psa, rekonstruovaný z dat získaných magnetickou rezonancí (Craven et al., 2010)



Zadní část nosní dutiny je vystlána čichovým epitelem, do kterého jsou zasazeny čichové receptory (Buck et Axel, 1991). Povrch tohoto typu epitelu je větší u makrosmatických zvířat než u mikrosmatů (Buszewski et al., 2012). Epitel je chráněn hlenem, v němž se rozpouštějí molekuly odorantů (Buszewski et al., 2012). Molekuly se poté váží na proteinové receptory uložené v plazmatické membráně cílií (Pernollet et al., 2006). Způsob, jakým spolu molekuly odorantů a receptory reagují, čeká na detailnější objasnění (Zarzo, 2007). Cílie vede vzruch do dendritu neuronů v epitelu a signál se následně šíří axony neuronů do čichového kyje (Malnic et al., 1999). Axony tvoří v čichovém kyji společně s mitrálními buňkami glomeruly, přes které se informace šíří do čichového centra v mozku. V mozku se aktivují specifické oblasti pro každý jednotlivý pach (Buszewski et al., 2012).

Čichový epitel a čichový kyj tvoří hlavní čichový systém (Taniguchi et al., 2011).

Obrázek 3: Znázornění čichového ústrojí psa (Buszewski et al., 2012)



3.2.2.1. DALŠÍ ČICHOVÉ SYSTÉMY PSA

K dalším čichovým systémům psa řadíme orgán vomeronasální, čili Jacobsonův (Yilmaz et al., 2008; Taniguchi et al., 2011), orgán Maserův, neboli septální (Farbman, 1992; Taniguchi et al., 2011), a Gruenbergerovo ganglium (Taniguchi et al., 2011).

Vomeronasální orgán je struktura tubulárního tvaru, která se nachází ve sliznici po obou stranách nosní přepážky (Bhatnagar et Smith, 2003; Yilmaz et al., 2008). Konkrétněji je umístěn vespod v její přední části (Yilmaz et al., 2008; Salazar et al., 2012). U labradorského retrievra je dlouhý zhruba 2,5 centimetru (Yilmaz et al., 2008). Vomeronasální orgán je zezadu uzavřený a vepředu ústí do řezákového kanálu (Adams et Wiekamp, 1984). Zvířata pomáhají přivést stimuly k tomuto orgánu pomocí jazyka (například při olizování moči) či cvakáním zuby (Døving et Trotier, 1998).

Čichová funkce vomeronasálního orgánu u savců není stále zcela jasná (Salazar et al., 2012), jisté ovšem je, že hraje roli v sociálním chování (Yilmaz et al., 2008) a ovlivňuje chování reprodukční (Adams et Wiekamp, 1984). Pomocí vomeronasálního orgánu získávají zvířata informace o fyziologickém stavu jedinců stejného druhu (Døving et Trotier, 1998) a vnímají feromony (Adams et Wiekamp, 1984; Wysocki et al., 1991; Johnston, 1998).

Většina studií o tomto orgánu se však zaměřovala na myši a další hlodavce (Boehm, 2006). Informace zprostředkovaná vomeronasálním orgánem u hlodavců například vyvolá

agresivní chování mezi samci (Salazar et al., 2012) a jeho poškození vede k poruchám rozmnožování (Powers et Winans, 1975). Stimulace vomeronasálního orgánu totiž vyvolává uvolňování důležitých reprodukčních hormonů (Fernandez-Fewell et Meredith, 1995).

Septální orgán je tvořen malou oblastí senzorického epitelu v zadní části nosní přepážky, a to po obou jejích stranách (Giannetti et al., 1995; Taniguchi et al., 2011). Jeho funkce není plně objasněna (Taniguchi et al., 2011).

Ve přední části nosu je bilaterálně umístěno Gruenebergovo ganglium, jež je nervově spojeno s čichovým kyjem (Fleischer et Breer, 2010; Taniguchi et al., 2011). Jeho buňky nemají přímý kontakt s nosní dutinou (Fleischer et Breer, 2010). Účel Gruenebergova ganglia stále není znám, krom čichové funkce se ovšem spekuluje i o jeho citlivosti na teplotní vjemy (Taniguchi et al., 2011).

V následujících kapitolách je popsáno, jak lze vyvinutou olfakci psa využít k diagnostice lidských onemocnění, konkrétně rakoviny, hypoglykemie, epilepsie a infekci bakterií *Clostridium difficile*. Představeno bude vždy několik vybraných studií, jejich výsledky a následná diskuze o tom, co z nich lze vyvodit.

3.3. RAKOVINA

V současnosti patří mezi dvě nejčastější příčiny úmrtí kardiovaskulární potíže a rakovina. Rakovina je soubor onemocnění, která se vyznačují neřízeným růstem abnormálních buněk (Waugh a Grant, 2014). Může být způsobena například karcinogeny, UV zářením nebo onkologickými viry (Buszewski et al., 2012). Označujeme ji také jako maligní tumor. Maligní buňky mají rapidní růst a metastázuji do okolní tkáně. Benigní tumory nejsou rakovinné a jejich buňky rostou pomaleji (Waugh a Grant, 2014).

Jelikož se projevuje málo symptomy a v brzkých stádiích je téměř vždy bez projevů, většinou je diagnostikována až v pokročilém stádiu (de Castro a Fernández-Peralbo, 2012). Muži nejčastěji trpí rakovinou plic, prostaty a konečníku, ženy rakovinou prsu, plic a konečníku (Buszewski et al., 2012).

3.3.1. DIAGNOSTIKA RAKOVINY

Včasná diagnóza redukuje negativní důsledky léčby a zlepšuje prognózu pacienta (de Castro et Fernández-Peralbo, 2012). Každá screeningová metoda má však v současnosti limitovanou diagnostickou specifitu (Blanchon et al., 2007; Bach et al., 2007).

Ideální diagnostická metoda by měla být spolehlivá, co nejméně invazivní, finančně dostupná a nebolestivá. Tyto faktory také ovlivňují pacienty při rozhodování o tom, zda podstoupí preventivní vyšetření (Urbanová et al., 2015). Některé ze současných onkologických testů však tyto podmínky nesplňují a dokonce představují pro pacienty zdravotní riziko (Moser et McCulloch, 2010).

Používané diagnostické metody zahrnují ultrazvuk, výpočetní tomografii, magnetickou rezonanci a pozitronovou emisní tomografii. Vyšetření ultrazvukem je nevhodné pro odhalování malých nádorů, jelikož má nízké rozlišení. Výpočetní tomografie, magnetická rezonance a pozitronová emisní tomografie jsou přesné, mají ale nevýhody v podobě vysokých nákladů a rizika zbytečných biopsií benigních lézí (Jett, 2005). Výpočetní tomografie navíc vystavuje pacienta radiaci, takže opakovaným využíváním této metody se zvyšuje nebezpečí vzniku rakoviny (Martin et Semelka, 2006). Jiné testy často vykazují falešné pozitivní výsledky. Například mamografie detektuje i nerakovinné léze a vede tak k dalším vyšetřením a psychickým problémům (Aro et al., 2000). Tato metoda navíc může být neúčinná u žen s hutnou prsní tkání (Buist et al., 2004).

V současnosti probíhá výzkum nových biomarkerů (identifikačních znaků) rakoviny a jejich identifikace analytickými chemickými metodami. K diagnóze je potencionálně možné využít těkavé organické látky – chemické sloučeniny, jež jsou většinou produkty buněčného katabolismu (Bjartell, 2011). Změny v maligních buňkách při rozvoji tumoru způsobují nestandardní metabolické procesy vedoucí ke vzniku těchto organických látek (Bajaj, 2009). Ty jsou následně vylučovány například v moči, potu či v plynném skupenství v dechu. Dle hypotézy Balseiro a Correia (2006) mohou být tyto těkavé organické látky také produkty antigenů podmiňujících tělesný zápach. Expres těchto antigenů je totiž silně spojena s rakovinou.

Pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií byly u pacientů s rakovinou plic a prsu identifikovány například alkany, methylované alkany, aromatické sloučeniny a deriváty benzenu (Gordon et al., 1985; O'Neill et al., 1988; Preti et al., 1988; Phillips, 1991; Phillips et Greenberg, 1991; Phillips et al., 1999; Phillips et al., 2003). Jejich relativní koncentrace v dechu je odlišná u zdravých lidí a u pacientů s rakovinou plic (Gordon et al., 1985; Phillips et al., 1999) a prsu (Phillips et al., 2003). V dalších studiích, využívajících stejné analytické metody, byl spojen obsah určitých chemických sloučenin v dechu i s jistými neonkologickými onemocněními. Například byla odhalena souvislost cirhózy jater s merkaptany a alifatickými sloučeninami (Kaji et al., 1978) nebo souvislost uremie s dimethylaminem a trimethylaminem (Simenhoff et al., 1977). Ovšem při screeningu rakoviny plic se mnoho biomarkerů uvažovaných jednotlivě neosvědčilo a dosud není známá kombinace standardních testů s dostatečnou specificitou a sensitivitou (Kennedy et Hirsch, 2004).

Jelikož mají některé těkavé organické látky specifický zápach, je možné k vyšetření rakoviny využít i psů (Willis et al., 2004). První zaznamenaný případ, který prokazuje tuto možnost, byl zveřejněn roku 1989. Williams a Pembroke v dopise pro *The Lancet* popisují zkušenost pacientky s maligním melanomem kůže na noze, na který ji její pes opakovaně upozorňoval. Schopnost psů detekovat různé typy rakoviny podle vzorků moči, vydechnutého vzduchu nebo tkáně byla později ověřena mnoha studiemi, což je podrobněji zmíněno v následující kapitole. McCulloch et al. (2012) upozorňují na limity standardních detekčních technologií při vyšetření rakoviny plic a srovnávají jejich sensitivitu a specificitu se cvičenými psy. Žádná z těchto metod tak vysokých hodnot jako psi nedosáhla. Dle Ehmann et al. (2012) jsou dokonce běžné technologie při testování těkavých organických látek nespolehlivé.

V otázce zavedení psů do běžné onkologické praxe se však vědci neshodují. Podle McCullocha et al. (2012) by mohli být psi využiti jako předběžný neinvazivní diagnostický nástroj nebo doplňovat tradiční technologie a snížit tak falešné pozitivní a negativní nálezy. Navíc by mohli ovlivnit povědomí veřejnosti a přimět některé lidi se symptomy k včasnějšímu vyhledání lékaře. Naopak Hortvath et al. (2008) nevěří, že by bylo možné psy v klinické praxi použít, jelikož může být jejich přesnost ovlivněna různými faktory během jejich práce. Ze zavádění těchto experimentálních metod do diagnostiky rakoviny mají lékaři strach. Argumentem pro uplatnění psů jsou případy, kdy s jistotou odhalili rakovinu dříve než tradiční metody diagnózy. Například moč pacienta s negativními výsledky cystoskopie a ultrasonografie byla vycvičenými psy konstantně označována za pozitivní vzorek. Po zopakování tradičních testů byl odhalen nález rakoviny ledvin (Cole, 2004). Obdobně psi upozorňovali na pacienta v remisi, který měl negativní magnetickou rezonanci i rok po experimentu, avšak po dalších 8 měsících mu byla diagnostikována recidiva (McCulloch et al., 2006).

Při experimentech s detekcí rakoviny psy bylo dosaženo vyšší sensitivity a specificity při užití vzorků dechu než při užití vzorků moči. Díky raným úspěchům při těchto studiích se potvrdila domněnka, že by chemická analýza vydechnutého vzduchu mohla být validní metodou pro detekci rakoviny (Moser et McCulloch, 2010). Psy by tak mohla nahradit zařízení s názvem „elektronické nosy.“ Účinnost této technologie byla potvrzena v několika studiích (Di Natale et al., 2003; Machado et al., 2005; Dragonieri et al., 2009), avšak má své nevýhody. Mezi ně patří dlouhá doba analýzy, vysoké riziko rušení signálu, nutnost držení hladovky a zdržení se kouření před odběrem vzorků (D'Amico et al., 2010).

3.3.2. STUDIE O SCHOPNOSTI PSŮ DETEKOVAT RAKOVINU

V souvislosti s fenoménem schopnosti psů detekovat rakovinu je známo více než 500 studií (Moser et McCulloch, 2010), v této práci je jich vybráno 7, které ji testovaly. Studie se věnují rakovině plic (McCulloch et al., 2006; Ehmann et al., 2012; Amundsen et al., 2013), prsu (McCulloch et al., 2006), močového měchýře (Willis et al., 2014), prostaty (Elliker et al., 2014; Urbanová et al., 2015) a melanomu kůže (Pickel et al., 2004). Jejich přehled je obsažen v tabulce 1.

K testování bylo použito vzorků dechu, moči a tkáně. Při použití vzorků moči bylo dosaženo obecně horších výsledků. Moser et McCulloch (2010) se domnívají, že faktorem je zde skutečnost, že vzorky moči se používaly vždy zmrazené, ale možným vysvětlením by bylo rovněž to, že biomarkerů rakoviny je přítomno více v dechu než v moči.

Vzorků dechu bylo použito ve studiích McCulloch et al. (2006), Ehmann et al. (2012) a Amundsen et al. (2013) při výzkumu schopnosti psů detekovat rakovinu plic. McCulloch et al. (2006) dosáhli velmi dobrých výsledků – celkové senzitivity i specificity 99 %. U rakoviny prsu byla úspěšnost o něco nižší – senzitivita 88 % a specificita 98 %. Výsledky však mohou být nadhodnoceny z důvodu použití zcela zdravé kontrolní skupiny. Navíc psi mohli reagovat nejen přímo na rakovinu, ale i na další pachy s ní spojené, například pachy způsobené zanícením, infekcí nebo nekrózou (Moser et McCulloch, 2010). Data ukázala, že schopnost rozeznat vzorky není závislá na rase psů ani na stádiu rakoviny – ve všech 4 stádiích byla specificita i senzitivita velmi podobná, což by psy kvalifikovalo jako vhodné detektory i pro počáteční stadia rakoviny.

Ve studii Ehmann et al. (2012) lze rozpoznat větší snahu o odstranění vedlejších faktorů, které by mohly ovlivnit výsledky (např. tabákový kouř, pach jídla, většina léků). Mezi 112 léčiv, která dobrovolníci užívali, autoři studie našli 9 možných matoucích faktorů: metoclopramid, enoxaparin, dihydrokodein, triotropiumbromide, clopidogrel, ezetmib, marcumar, verapamil a metoprolol. Každý vzorek byl použit jen jednou, aby se zabránilo tomu, že si psi zapamatují pachy jednotlivých vzorků. Kontrolní skupinu tvořili pacienti s obstruktivní plicní nemocí, čímž pokus potvrdil, že pach spojený s rakovinou je nezávislý na chronické obstruktivní plicní nemoci. Psi se v průběhu testů zřejmě stále učili, neboť se jejich výsledky postupně zlepšovaly. Autoři tedy doporučují při dalších experimentech psi cvičit po delší dobu. Stejně jako u studie McCulloch et al. (2006) psi byli schopni identifikovat i brzká stadia rakoviny a přesnost identifikace nebyla vyšší pro pozdější stadia. Bylo dosaženo o něco horších výsledků než v předchozí studii – senzitivita 71 %, specificita 93 %.

Amundsen et al. (2013) použili k testování jak vzorky dechu, tak vzorky moči. U obou typů vzorků bylo dosaženo senzitivity i specificity 99 % při rozlišování pacientů s rakovinou od zdravých jedinců. Při rozlišování benigních a maligních diagnóz ze vzorků dechu však byly tyto hodnoty podstatně nižší – senzitivita 56–76 %, specificita 8,3–33,3 %. Výsledky jsou statisticky signifikantní, ale nedostatečné pro použití v klinické praxi. Studie dokázala, že psi mohou rozeznat pacienty s rakovinou od zdravých pacientů, ale hůře rozeznávají benigní a maligní onemocnění.

Se vzorky moči pracovali Willis et al. (2004), Elliker et al. (2014) a Urbanová et al. (2015). Willis et al. (2004) se zaměřili na schopnost psů detekovat rakovinu močového měchýře. Při experimentu byli jako kontrolní skupina použiti zdraví jedinci a pacienti s urologickým onemocněním, přičemž se úspěšně dařilo přiřadit cílové vzorky ke kontrolním

vzorkům se stejným urologickým onemocněním, ale méně úspěšná byla snaha o věkové sjednocení cílového a kontrolního vzorku. Zaznamenány a brány v potaz byly i údaje o podávaných lécích, menstruačním cyklu, příslušnosti k etniku, dietách, konzumaci alkoholu, kuřáctví a vystavení chemikáliím. Bylo prokázáno, že psi rozeznávali vzorky pacientů s rakovinou močového měchýře nezávisle na dalších chemických aspektech moči (například na základě přítomnosti krve). Při trénování psů se suchými vzorky bylo dosaženo výrazně menší úspěšnosti než se vzorky tekutými – během sušicího procesu pravděpodobně došlo ke ztrátám některých těkavých organických látek ve vzorku. V experimentu bylo dosaženo celkové úspěšnosti 41 % (v porovnání s úspěšností náhodného výběru 14 %), což je statisticky signifikantní, ale nedostatečné pro použití v klinické praxi. Cole (2004) si u této studie povšiml zajímavých výsledků u konkrétních pacientů. Moč jednoho ze zdravých dobrovolníků byla opakovaně označována za cílový vzorek, přestože měl pacient negativní cytoskopii i ultrasonografií. Po ukončení studie byl tedy znovu otestován a byla u něj diagnostikována rakovina ledvin.

Studie zaměřené na detekci rakoviny prostaty uskutečnili Urbanová et al. (2015) a Elliker et al. (2014). Urbanová et al. (2015) použili jako kontrolní skupinu stejně jako Willis et al. (2004) zdravé jedince a pacienty s urologickým onemocněním. Dosáhli ale ve srovnání s Willis et al. (2004) podstatně lepších výsledků – senzitivity 93,5 % a specificity 91,6 %. K experimentu byl použit pouze jeden pes (sedmiměsíční fena německého ovčáka), je tedy možné, že výsledky jsou ovlivněny jeho plemennou příslušností.

Elliker et al. (2014) jako kontrolní skupinu použili muže s benigní hyperplazií prostaty a 10 zcela zdravých jedinců. K experimentu byli použiti dva psi, pes A dosáhl sensitivity 13 % a specificity 71 %, pes B dosáhl sensitivity 25 % a specificity 75 %. V závěrečném testu, kdy byly použity zcela nové vzorky, ale neměli psi úspěšnost vyšší než úspěšnost náhodného výběru. Z toho vyplývá, že psi označovali vzorky podle jiných pachových vodítek, pravděpodobně si během tréninku zapamatovali zápach každé individuální moči a nezobecnili si pach rakoviny prostaty. To výsledky studie činí nespolehlivými. V průběhu několikaměsíčního výcviku se měly provádět kontrolní testy, zda si psi nezapamatoávají individuální pach každého vzorku. Dle Siniscalchiho et al. (2011) by bylo možné tento jev vyzorovat podle preferované nozdry, jakou pes využívá při očichávání vzorku. Když psi zkoumají nový stimul, zprvu upřednostňují pravou nozdu, u opakovaného stimulu naopak levou.

Pickel et al. (2004) zkoumali detekci melanomu kůže a tkání. K experimentu byly použity vzorky tkání z histopatologických vyšetření, které byly umístěny na těla sedmi

dobrovolníků. Psi dostali za úkol na těle pacientů vyhledat patologickou tkáň. Poté psi prověřovali pacienty s melanomem kůže. Bylo dosaženo celkové úspěšnosti 75–85,7 %. Studie se nezabývala tím, zda je pes schopen rozeznat melanom od dalších 2 typů rakoviny kůže. Bylo použito poměrně malé množství typů melanomů a testovaných pacientů. V případech, kdy pes identifikoval rakovinu kůže a melanomy, nemuselo jít o reakci psa přímo na toto onemocnění. Psi totiž běžně lížou léze, včetně zánětů a boláků.

Studie o schopnosti psů detekovat rakovinu, které byly představeny v této práci, shrnuje tabulka 1. Při studiích bylo dosaženo celkově dobrých výsledků, obzvláště ty, které zkoumaly detekci rakoviny plic ze vzorků dechu. Výsledky ovšem mohou být mírně nadhodnoceny, jelikož mohly být ovlivněny různými vedlejšími faktory, které nebyly ve studiích zohledněny. Ve studii Elliker et al. (2014) se psi naučili rozpoznávat pach jednotlivých vzorků, takže výsledky studie nejsou příliš relevantní. Celkově však tyto studie představují argument pro použití psů jako diagnostického nástroje.

Tabulka 1: Studie o schopnosti psů detekovat rakovinu

	Typ rakovinného onemocnění	Typ vzorku	Kontrolní skupina	Pacienti/kontrolní skupina	Počet psů	Výsledky
Pickel et al. (2004)	melanom kůže	tkáň	zdravá tkáň	7/89	2	úspěšnost 75–85,7 %
Willis et al. (2004)	rakovina močového měchýře	moč	s urologickým onemocněním, zdraví	9/54	6	úspěšnost 41 % (u náhodného výběru: 14 %)
Ehmann et al. (2012)	rakovina plic	dech	s obstrukční plicní nemocí, zdraví	60/160	4	specifická 93 %, senzitivita 71 %
Amundsen et al. (2013)	rakovina plic	moč a dech	zdraví	93/20	3	specifická 99 %, senzitivita 99 %
Elliker et al. (2014)	rakovina prostaty	moč	benigní hyperplazie prostaty, zdraví	50/67	2	pes A: specifická 71 %, senzitivita 13 % pes B: specifická: 75 %, senzitivita: 25 %
Urbanová et al. (2015)	rakovina prostaty	moč	s urologickým onemocněním	45/25	1	specifická 91,6 %, senzitivita 93,5 %
McCulloch et al. (2006)	rakovina plic	dech	zdraví	55/83	5	specifická 99 %, senzitivita 99 %
rakovina prsu	31/83			specifická 98 %, senzitivita 88 %		

3.4. HYPOGLYKEMIE

Hypoglykemie je jedna z komplikací spojených s diabetem, která může ohrozit život. Jedná se o nejčastější vedlejší efekt terapie insulinem. Obvykle se začíná projevovat, jakmile hladina glukózy v krvi klesne pod hodnotu 3,6 mmol/l (O'Connor et al. 2008). Nedostatek glukózy v nervových tkáních má pak za následek změny chování, a někdy dokonce kóma. S hypoglykemickými epizodami se také pojí riziko neurologických a kardiovaskulárních problémů (Briscoe et Davis, 2006). Mezi fyziologické projevy hypoglykemie patří chvění, pocení a zrychlení srdečního rytmu (Wells et al., 2008), ovšem mnoho pacientů dlouhodobě trpících diabetem postupně ztratí tyto symptomy, které mohou pacienta varovat (O'Connor et al., 2008). Nerozpoznání příznaků bylo zaznamenáno u 25 % pacientů s diabetem I. typu. Mizení symptomů tedy zvyšuje riziko vážných hypoglykemických epizod u pacientů, kteří dlouhodobě trpí tímto typem diabetu. Noční hypoglykemické epizody představují další riziko, které může ohrozit život pacienta (Chen et al., 2000).

Diabetici často musí nějakým způsobem omezit a přizpůsobit svůj životní styl, aby snížili riziko hypoglykemie, což negativně ovlivňuje kvalitu jejich života a psychickou pohodu. Někteří pacienti dokonce manipulují se svými dávkami inzulínu (Leiter et al., 2005).

3.4.1. DETEKCE HYPOGLYKEMIE

Dle Wells et al. (2008) bylo vyvinuto několik prostředků k včasné detekci hypoglykemie, které ovšem zatím nejsou vhodné k použití v běžném životě. Tato studie také předvídá možnost vývoje neinvazivního elektronického senzoru inspirovaného způsobem, jakým hypoglykemii detekují psi.

Fakt, že psi jsou schopni přesně rozeznat vzorky dechu hypoglykemiků, a tedy detekovat hypoglykemii pouze podle pachu, demonstrovala studie Hardin et al. (2015). Tuto skutečnost podporuje také fakt, že psi určeni k asistenci diabetikům jsou cvičeni především pomocí pachových vzorků a na vodítka spojená s chováním pacienta se naučí reagovat až po zařazení do domácnosti (Rooney et al., 2003). Mezi tato vodítka patří změna v pachu potu, svalový třes a změny v chování (Chen et al., 2000).

Množství pacientů trpících diabetem, kteří se spoléhají, že je na přicházející hypoglykemii upozorní cvičení psi, stále vzrůstá (Gonder-Frederick et al., 2013).

3.4.2. DETEKCE HYPOGLYKEMIE PSY

První zaznamenanou reakcí psa na hypoglykémii u nediabetika byl případ, kdy fena king charles španěla upozornila ženu, že její manžel je v bezvědomí. Fena štěkala, opakovaně běhala z koupelny a do koupelny a celkově se chovala poněkud zvláštně. Tomuto 72letému muži byla poté v nemocnici naměřena nízká koncentrace glukózy – pouze 0,3 mmol/l. O 6 měsíců později se fena opět chovala zvláštně a rozrušeně. V této době trpěl muž nevolností, nechutenstvím a zvracením. Jeho glykemie měla hodnotu 0,6 mmol/l (O'Connor et al., 2008).

Práce Chen et al. (2000) prokazuje přínos psů pro nemocné. Popisuje tři případy, ve kterých pes identifikoval hypoglykémii u svého majitele a dal to najevo změnou chování. Psi ve všech případech jasně reagovali na hypoglykémii ještě před tím, než o ní věděli majitelé. Reakce probíhala u konkrétních psů různým způsobem.

Prvním případem byla 66letá žena s diabetem 2. typu. Již dva roky trpěla hypoglykemickými epizodami, hypoglykemie nastupovala nejčastěji večer a v noci a doprovázelo ji pocení, ochablost a podrážděnost. Její 9letá fena křížence se před těmito epizodami pravidelně chovala neobvykle: vyběhla z místnosti a schovala se pod židli na chodbě. Z této skrýše vylezla až poté, co pacientka srovnala svou hladinu cukru. Fena se tímto způsobem začala chovat vždy ještě před tím, než si její majitelka povšimla příznaků.

Další případ zaznamenaný v této práci se týká 47leté ženy s diabetem 2. typu. Hypoglykemické epizody zažívala až dvakrát týdně. Projevovaly se pocením, nevolností a někdy zmateností, přicházely obvykle dopoledne, někdy i v noci. Její 7letá fena křížence se (stejně jako fena v prvním případě) během hypoglykemických záchvatů své majitelky chovala neobvykle – odmítala pamlsky a několikrát zabránila majitelce opustit dům, dokud nesnědla něco sladkého. V případě, že nastala hypoglykemická epizoda v noci, vzbudila fena ženu šťoucháním a šla spát až poté, co se její stav vrátil do normálu. Jak již bylo zmíněno, pokud se hypoglykemie dostaví v noci, může tím vážně ohrozit pacientův život, a proto byl v tomto případě zásah feny velmi prospěšný.

V posledním případě, je v práci zmínka, jde o 34letou ženu s diabetem 1. typu a hypoglykemickými epizodami dvakrát za týden. Hypoglykemické epizody doprovázelo pocení a závratě. Její 3letý zlatý retrívr během nich vždy působil velmi znepokojeně, přecházel sem a tam a pokládal pacientce hlavu na klín, v noci štěkal, škrábal na dveře a uklidnil se až poté, co jeho majitelka vyrovnala svou hladinu glukózy v krvi, která obvykle v těchto případech dosahovala hodnot 1,6 až 1,9 mmol/l.

Tabulka 2: Případy reakce psů na hypoglykémii

	Pohlaví	Věk	Typ diabetu	Naměřená hladina glukózy (mol/l)	Opakovaná reakce psa	Typ reakce
Connor et al. (2008)	muž	72	nediabetik	0,3; 0,6	ano (dvakrát)	štěkání, běhání
Chen et al. (2000)	žena	66	diabetes 2. typu	1,5	ano (během 2 let)	schování se pod židli
	žena	47	diabetes 2. typu	2	ano (během 1 roku)	odmítání pamlsku, bránění majitelce opustit dům
	žena	34	diabetes 1. typu	1,6; 1,9	ano	pokládání hlavy na klín, štěkání, škrábání na dveře

Zajímavý je případ opakované detekce hypoglykémie u pacienta s diabetem 1. typu během řízení, který popsal Tauveron et al. (2006). Pacient měl časté hypoglykemické epizody, když jel svým vozem před obědem z práce domů. Jeho pes obvykle ležel na sedadle spolujezdce. Když zaregistroval zdravotní potíže svého majitele, náhle si sedl, zíral a štěkal, dokud muž nezastavil, nezkontroloval si glykémii a nesnědl nějaký cukr. Měření pokaždé ukázalo nízkou hladinu glykémie, přestože si toho pacient předtím nebyl vědom a nezpozoroval na sobě žádné příznaky. Pes na hypoglykémii upozorňoval také v domácnosti. Existující hypotéza, že pes reaguje na nastávající změny v pachu spojené s pocením, na třes a na změny chování, na tento konkrétní případ příliš nesedí, jelikož tyto příznaky na pacientovi téměř nebyly patrné.

Chování psa při reakci na hypoglykémii je tedy různé. Může jít o štěkání, vrčení, rozrušení, přitulení se, olizování, kousání. Stocks (2002) vypracoval dotazník, ve kterém se tázal diabetiků, zda někdy zaznamenali reakci psa na jejich hypoglykemickou epizodu. Kladně odpovědělo 67,9 % respondentů. Nebyly odhaleny žádné souvislosti schopnosti rozpoznat hypoglykémii s plemenem či pohlavím psa.

Také Wells et al. (2008) provedla výzkum formou dotazníku. Odpovědělo na něj celkem 212 pacientů s diabetem 1. typu. Většina z nich měla symptomy hypoglykémie několikrát za týden, patřila mezi ně špatná koncentrace, třes, bolesti hlavy, problémy s dýcháním, a dokonce záchvaty. 61,1 % respondentů uvedlo, že jejich pes alespoň jednou na hypoglykémii reagoval. V dotazníku nebyl prokázán významný vliv pohlaví psa, věku, čistokrevnosti nebo délky vlastnictví na schopnost rozpoznat hypoglykémii. Významná část psů reagovala na hypoglykémii opakovaně, a to na většinu hypoglykemických epizod, ve 22

případech dokonce reagovali pokaždé. Zhruba třetina psů reagovala dokonce ještě před tím, než na sobě majitelé sami zaznamenali symptomy. Přesný způsob reakcí se u různých psů liší, obecně však jejich chování vždy směřovalo k upoutání pozornosti. V případě této studie a jejich výsledků je nutno přihlídnout k tomu, že odpovídali dobrovolníci. Je totiž větší pravděpodobnost, že se do výzkumu dobrovolně zapojí lidé, kteří mají zkušenost s reakcemi psů na hypoglykémii, než lidé, kteří nikdy na svém psovi takovéto chování nepozorovali. Přestože do studie bylo zapojeno velké množství lidí, tento fakt snižuje objektivitu jejich výsledků.

Tabulka 3: Zaznamenané reakce psů na hypoglykemické epizody

Chování	Počet psů s touto reakcí
zíráni na pacienta	57
šouchání a otírání se	56
následování pacienta	54
rozrušené chování – pobíhání, poskakování	53
kňučení	45
skákání	42
olizování obličeje	38
štěkání	34
olizování rukou	30
probuzení pacienta ze spánku	28
snaha upoutat pozornost někoho jiného	15
sednutí přímo před pacienta	14
třes	10
útěk do jiné místnosti	7
vytí	6
škrábání na dveře (pacient v jiné místnosti než pes)	5
těžké dýchání	3
kousání do obličeje (pacient v diabetickém kómatu)	1

Další studii formou dotazníku provedl Gonder-Frederick et al. (2013). Respondenty bylo 36 majitelů psů, z toho 23 rodičů nemocných dětí a 13 dospělých diabetiků. Základní otázka zněla: Jak často během posledního měsíce nastala hypoglykémie bez upozornění psa? 36,1 % respondentů odpovědělo, že ani jednou, 27,8 % méně než jednou za týden a 36,1 % více než jednou za týden. Psi v 91,7 % případů upozorňovali na hladinu glukózy v rámci 3,3–3,9 mmol/l. Většina dotázaných nahlásila významný pokles frekvence těžkých a středních hypoglykemických epizod od doby, co si pořídili asistenčního psa. Další pozitivní výsledky představují některé psychosociologické faktory – pokles strachu z hypoglykémie a z hyperglykémie, zlepšení kvality života a možnost zapojit se do fyzických aktivit.

Tabulka 4: Shrnutí základních výsledků dotazníků

Dotazník	Otázka	Výsledky
Stocks (2002)	Zaznamenali jste někdy reakci psa na hypoklygemickou epizodu?	67,9 % – ano
Wells et al. (2008)	Zaznamenali jste někdy reakci psa na hypoklygemickou epizodu?	61,1 % – ano
	Jak často reaguje pes na hypoglykemické epizody?	16,2 % – pokaždé
		36 % – většinou
		23,5 % – pouze občas
	24,3 % – málokdy	
Gonder-Frederick et al. (2013)	Jak často nastala hypoglykemie bez upozornění psa během posledního měsíce?	36,1 % – ani jednou
		27,8 % – méně než jednou za týden
		36,1 % více než jednou za týden

Zkušenosti s rozeznáváním hypoglykemických epizod pomocí psů přivedli Hardin et al. (2015) k tomu, aby provedli studii, která testuje, zda psi mohou být vycvičeni pomocí vzorků potu a dechu k úspěšné detekci hypoglykemie. Během výcviku byly 6 psům ve věku 9–18 měsíců předkládány vzorky potu a dechu pacientů s diabetem 1. typu a následně byli odměňováni za úspěšné rozpoznání hypoglykemických vzorků. Celková senzitivita 50–87,5 %, které psi dosáhli, je statisticky signifikantní a vyšší než senzitivita náhodného výběru. Čtyři nejlepší psi určovali vzorky s 87,5% senzitivitou a 97,9% specificitou, celkově nejhorší pes dosáhl 50% senzitivity a 89,6% specificity. Tyto rozdíly v úspěšnosti při detekci vzorků byly způsobeny lišící se pokročilostí ve výcviku a dalšími rozdíly v individuálních charakteristikách. Tento pokus prokázal, že psi jsou schopni podle pachu identifikovat látky specifické pro hypoglykémii a mohou být vycvičeni na to, aby upozornili na jejich přítomnost.

Z výsledků studií a odpovědí respondentů v dotaznících vyplývá, že asistenční pes pomáhá pacientům s diabetem kontrolovat jejich hladinu glykemie a tím zvýšit jejich duševní zdraví a kvalitu života. V některých případech může pomoci předejít závažným hypoglykemickým epizodám u pacientů, kteří již nevykazují jasně rozpoznatelné symptomy.

3.5. EPILEPSIE

3.5.1. DETEKCE EPILEPSIE

Kvůli epilepsii je běžný život pacientů velmi limitován a jeho kvalita je snížena (Kirton et al., 2008). Nepředvídatelné záchvaty mohou vyústit ve vážná zranění a stigma spojené s touto nemocí může vést k různým psychickým potížím, jako je úzkost a frustrace (Strong et al., 1999). Stav úzkosti zvyšují množství záchvatů a deprese. Pacienti omezují svůj kontakt s vnějším světem, což vede k izolaci a snižování sebevědomí (Strong et Brown 2000).

U psů, kteří žijí v rodinách s člověkem postiženým epilepsií, byl zaznamenán spontánní rozvoj schopnosti upozorňovat na záchvaty (Kirton et al., 2008). Správně vycvičený asistenční pes je schopen rozeznat blížící se záchvat 15 až 45 minut před samotnou událostí (Brown et Strong, 2001), pravděpodobně podle mírných změn chování, ale zvažují se také vodítka čichová či sluchová (Dalziel et al., 2003).

Kromě očividných výhod, které plynou z vlastnictví asistenčního psa, jako je možnost včasného podání léků, přivolání pomoci nebo uvedení do bezpečné pozice, došlo u 45 % pacientů ze studie Kirton et al. (2008) také ke snížení množství záchvatů i jejich intenzity. Tento jev byl popsán i v jiných studiích a je pravděpodobně výsledkem snížení stresu, který byl díky přítomnosti psa nahrazen pocitem bezpečí. Asistenční pes má vliv také na sebevědomí, vnímání sebe sama a pocit sebekontroly (Brown et Strong, 2001). Nevýhodu představují výdaje spojené s vlastnictvím domácího zvířete a nutná změna životního stylu (Kirton et al., 2008).

Chování pacienta spojené se záchvatem může však u psů vézt k defenzivní nebo ofenzivní reakci. Opakované epizody pak vedou k vzrůstu úzkosti a stresu. Dlouhodobý stres může mít za následky vředy, poruchy imunity, změny váhy a chování (Strong et al.,)

Správně vycvičeným asistenčním psům nezpůsobují záchvaty pacienta žádné zdravotní následky. Toho se dosahuje asociací odměny se záchvatem během tréninku (Brown et Strong, 2001).

3.5.2. VÝZKUM DETEKCE EPILEPTICKÝCH ZÁCHVATŮ PSY

Specifické techniky tréninku zavedli Strong et al. (1999). Během 6 měsíců vycvičili 6 psů. Nejprve pomocí Pavlovových asociativních technik zajistil, aby si pes spojil záchvat s pozitivním podnětem. Poté následoval individuální trénink. Všechny psy se podařilo vycvičit k detekci a označování hrozících záchvatů. Žádný nevykazoval bojácné chování. Všichni upozorňovali na přicházející záchvat 10–45 minut před jeho nástupem, každý ze psů ve svém specifickém čase, který se po ukončení tréninku neměnil.

Tabulka 5: Upozorňování jednotlivých psů na záchvat

Plemeno	Věk	Pohlaví	Chování při upozorňování na záchvat	Čas před záchvatem (minuty)
labrador	8 měsíců	fena	štěkání	15
jack russel teriér	5 let	pes	skákání, podávání packy	20
border colie	2 roky	pes	štěkání	10
border colie	3 roky	pes	štěkání	45
malý knírač	2 roky	pes	lehnoutí si	15
kříženec	1,5 roku	fena	štěkání, skákání	10

U každého z pacientů se snížila frekvence záchvatů. Předvídatelnost záchvatů jim umožnila vykonávání běžných aktivit s větším sebevědomím a zvýšená aktivita následně mohla frekvenci záchvatů dále snižovat. Ze studie vyplývá, že speciálně vycvičení psi mohou posloužit jako spolehlivé varování před záchvatem, zlepšit psychologický stav pacienta a jeho kvalitu života (Strong et al., 2002).

Pes se špatným výcvikem nebo pes, kterému výcvik zcela chybí, je nespolehlivý, a dokonce může dojít k poškození jeho zdraví (Strong et Brown, 2000). Ortiz a Liporace (2005) pozorovali 2 pacienty s epilepsií a jejich asistenční psy schopné předvídat epileptický záchvat. Pes jednoho z pacientů upozornil jen na 1 z 8 případů. V obou případech bylo předvídaní záchvatů chabé, u druhého psa dokonce matoucí. První pes byl užitečný v tom, že upozorňoval rodinu na již probíhající záchvat. U druhého pacienta pes ovšem dokonce přispíval ke zvýšení frekvence neepileptických záchvatů falešným upozorňováním.

Úspěšnost asistenčních psů závisí z velké míry na informovanosti psovoda a jeho reakci na jejich práci. Během pozorování mohli psi být ovlivněni prostředím; výzkum se odehrál na oddělení pro pacienty s epilepsií, a psi tedy mohli být rozptylováni pacienty, kteří měli záchvaty ve vedlejších místnostech.

Strong a Brown (2000) provedli výzkum formou dotazníku. Respondenty bylo 20 vlastníků speciálně cvičených asistenčních psů, z nichž 8 již dříve vlastnilo psa bez výcviku. Každý z asistenčních psů měl na epileptické záchvaty požadovanou reakci, zatímco všichni necvičení psi reagovali negativně.

Nežádoucí chování u psů bez specializovaného výcviku se projevovalo jako útěk, agrese vůči postiženému či kolemjdoucím, vydávání úzkostných zvuků a další. Nejsou ojedinělé ani případy, kdy se pes po traumatickém zážitku, kdy byl svědkem epileptického záchvatu, začal chovat k nemocnému či podobným osobám agresivně. Také jsou zaznamenané nehody, kdy se například vyděšený pes při pokusu o útěk uškrtil na vodítku (Strong et Brown 2000)

Správný výcvik je tedy nutný. Provádí se socializací, při které je neodmyslitelná těsná spolupráce s pacientem a trenérem (Brown a Strong, 2001). Žádoucí reakce na záchvat je usměrňována intenzivním odměňováním. Výcvik by měl probíhat takto: nejprve se musí pes s pacientem seznámit, poté probíhá společná socializace pod dohledem a nakonec se přejde k výcviku psa na rozpoznání a očekávání záchvatů (Strong et al., 2002).

3.6. *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

3.6.1. DETEKCE BAKTERIE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Příkladem nakažlivého onemocnění, jehož detekce pomocí psího čichu byla zkoumána, je infekce bakterií *Clostridium difficile*. Toxiny této bakterie způsobují střevní onemocnění, jež se projevuje mírnými průjmy až pseudomembranózní kolitidou (tj. zánětlivé zvředovatění střevní sliznice spojené s horečkou a vodnatými průjmy) či toxickým megakolonem (tj. rozšíření tlustého střeva) (Bomers et al., 2012).

Včasná identifikace onemocnění je důležitá, protože je pak možné zabránit šíření této infekce, která je častá především v nemocničních zařízeních. K diagnostice je používáno několik testů, které ovšem trvají dlouho, mají nízkou specifitu a senzitivitu nebo jsou drahé. (Bomers et al., 2012).

Podle studií Burdette a Bernsteina (2007) a Johansena et al. (2002) má průjem spojený s touto bakterií charakteristický zápach. Podle čichu jsou jej schopni identifikovat i zdravotníci se senzitivitou 55–82 % a specifitou 77–83 %.

Bomers et al. (2012) provedli pokus s dvouletým biglem. V první části pes rozpoznával mezi vzorky stolice negativní a pozitivní, v druhé části rozpoznával v nemocnici přímo na lůžkové části zdravé a nakažené pacienty. V první části pes správně identifikoval všech 50 pozitivních a 47 negativních vzorků, z nichž na zbývajících 3 reagoval nejednoznačně. Bylo tedy dosaženo senzitivity 100 % a specifity 94 %, pokud budeme neprůkazné označení považovat za pozitivní, a 100 % specifity i senzitivity, pokud je budeme považovat za negativní. V druhé části bylo z celkových 300 pacientů nejednoznačně identifikováno 7 a 3 byli identifikováni chybně. Pokud budeme neprůkazné identifikace považovat za pozitivní, bylo dosaženo specifity 97 % a senzitivity 93 %, pokud je budeme považovat za negativní, bylo dosaženo specifity 98 % a senzitivity 83 %

Špatné identifikace při závěrečném testu v nemocnici lze vysvětlit rušivými vlivy, pes nebyl připraven na toto prostředí. Nebylo zjištěno, na jaký pach pes vlastně reaguje – zda na samotnou bakterii, toxiny či jiné produkty. Také není jasné, jak by pes označil raná stadia infekce a přenašeče bakterie bez příznaků. V této studii byl použit pouze jeden pes. Vysoké procento úspěšnosti bylo dosažené i přes to, že pes nebyl vycvičen pro nemocniční zařízení. Jeho předchozí výcvik probíhal pouze profesionálním cvičitelem, na principu odměn k rozpoznání bakterie ve stolici.

Výhodou této metody detekce je, že k ní stačí pouze několik minut, jde tedy o velmi efektivní metodu. Ovšem pro práci v nemocnici musí mít pes dodatečný výcvik a dokázat

rozlišit starší pachy v prostoru nemocnice. Problémem je, že pes může sám být infikován a nákazu dál přenášet (Bomers et al., 2012).

Tabulka 6: Výsledky studie Bomers et al. (2012)

		část 1	část 2
poměr pozitivní/negativní		50/50	30/270
správná identifikace		50/47	25/265
chybná identifikace		0/0	2/1
neprůkazná identifikace		0/3	3/4
specifická	neprůkazné jako negativní	100 %	98 %
	neprůkazné jako pozitivní	94 %	97 %
senzitivita	neprůkazné jako negativní	100 %	83 %
	neprůkazné jako pozitivní	100 %	93 %

Tabulka 7: Srovnání studií popsaných v této práci

Rok vydání	Autor	Zdravotní problém	Typ práce	Počet psů	Počet pacientů, vzorků či respondentů	Výsledky, poznámky
1989	Williams et Pembroke	rakovina: maligní melanom kůže	popis případu	1	1	první zaznamenaný případ, kdy pes upozornil na rakovinné onemocnění
1999	Strong et al.	epilepsie	experiment	6	neuveđen	upozornění 10–45 minut před příchodem záchvatu
2000	Chen et al.	hypoglykemie	popis případu	3	3	upozornění neobvyklým chováním
2000	Strong et Brown	epilepsie	dotazník	neuveđen	20	upozornění ve všech případech
2002	Stocks	hypoglykemie	dotazník	neuveđen	neuveđen	zaznamenaná reakce v 67,9 % případů
2004	Pickel et al.	rakovina: melanom kůže	experiment	2	96 (7/89)*	úspěšnost 75–85,7 %
2004	Willis et al.	rakovina močového mechýře	experiment	6	63 (9/54)*	úspěšnost pouze 41%, nedostatečné pro klinickou praxi
2005	Ortiz et Liporace	epilepsie	pozorování	2	2	předvídaní záchvatů matoucí a chabé
2006	McCulloch et al.	rakovina plic rakovina prsu	experiment	5	138 (55/83)* 114 (31/83)*	sensitivita 99%, specificita 99% sensitivita 88%, specificita 98%
2006	Tauveron et al.	hypoglykemie	popis případu	1	1	u pacienta bez příznaků pes včas upozornil
2008	O'Connor et al.	hypoglykemie	popis případu	1	1	první zaznamenaný případ upozornění u nediatetika
2008	Wells et al.	hypoglykemie	dotazník	neuveđen	212	neprokázán významný vliv pohlaví, věku a plemene psa
2012	Bomers et al.	infekce bakterií <i>Clostridium difficile</i>	experiment	1	1. část 100 2. část 300	vysoké procento úspěšnosti

Rok vydání	Autor	Zdravotní problém	Typ práce	Počet psů	Počet pacientů, vzorků či respondentů	Výsledky, poznámky
2012	Ehmann et al.	rakovina plic	experiment	4	220 (60/160)*	snaha zpřesnit výsledky odstraněním matoucích vlivů a identifikace léčiv ovlivňujících přesnost psů
2013	Amundsen et al.	rakovina plic	experiment	3	113 (93/20)*	špatné rozeznání maligních a benigních nádorů
2013	Gonder-Frederick et al.	hypoglykemie	dotazník	neuveđen	36	91,7 % psů upozorňovalo, ve výsledku významný pokles hypoglykemických epizod
2014	Elliker et al.	rakovina prostaty	experiment	2	11 (1/10)*	nepolehlivá studie, psi si zapamatovali individuální pachy
2015	Hardin et al.	hypoglykemie	experiment	6	neuveđen	psi prokázali schopnost učit se označit specifické látky
2015	Urbanová et al.	rakovina prostaty	experiment	1	70 (45/25)*	vysoká úspěšnost, pravděpodobně díky plemenu německý ovčák

* celkový počet subjektů (nemocní/kontrolní skupina)

4. ZÁVĚR

Náplní této práce bylo shromáždit a zpracovat dostupnou literaturu o využití psů jako kontrolovaných biodetekčních systémů lidských onemocnění. Této literatury je v současné době dostupné velké množství, z toho důvodu byl výběr omezen na rakovinu, hypoglykemii, epilepsii a infekci bakterií *clostridium difficile*.

U rakoviny byl výběr zúžen na studie, kde bylo k testování použito vzorků dechu, moči a tkáně.

Rozdíl mezi studiiemi byl patrně ovlivněn typem práce. U experimentu mohly být předem ovlivněny rušivé vlivy i vlivy prostředí. Pozorování probíhala v přirozených podmínkách, které nejvíce odpovídali reálnému prostředí. U dotazníku je hodnocení subjektivní dle všímavosti, ale i znalosti chování psů. Studie mohou být ovlivněny malým počtem vhodných psů, typem práce i stupněm vycvičenosti psa.

Spolehlivost psího čichu nikdo nezpochybnil, statistické výsledky jsou průkazné. Výcvik v rukou zkušeného psovoda s kvalitním psem, může posloužit jako předstupeň dalších vyšetření.

Nejdůležitější poznatek tkví v tom, že žádný výzkum neobjasnil, na co přesně pes reaguje, jaká látka, sloučenina či kombinace sloučenin je pro něho to hlavní, co označuje. Pokud by se znal biomarker, posunul by se i vývoj elektronických zařízení, která by i vědecká lékařská veřejnost byla ochotná přijmout.

Z prací týkajících se hypoglykemie a epilepsie jasně vyplývá, že správně vycvičený pes může zvýšit kvalitu života, v některých případech ho i zachránit.

V případě detekce infekce bakterií *clostridium difficile* byla zjištěna vysoká citlivost psího čichu identifikovat správný vzorek. Nabízí se využití psů jako preventivních nástrojů v nemocničních zařízeních.

5. SEZNAM LITERATURY

- Adams, D. R., Wiekamp, M. D. 1984. The canine vomeronasal organ. *Journal of anatomy*. 138 (4). 771-787.
- Amundsen, T., Sundstrøm, S., Buvik, T., Gederaas, O, A., Haaverstad, R. 2013. Can dogs smell lung cancer? First study using exhaled breath and urine screening in unselected patients with suspected lung cancer. *Acta Oncologica*. 53 (3). 307-315.
- Aro, A. R., Pilvikki Absetz, S., Van Elderen, T. M., Van Der Ploeg, E., Van der Kamp, L. J. Th. 2000. False-positive findings in mammography screening induces short-term distress — breast cancer-specific concern prevails longer. *European Journal of Cancer*. 36 (9). 1089-1097.
- Bach, P. B., Silvestri, G. A., Hanger, M., Jett, G.A. 2007. Screening for Lung Cancer. *Chest*. 132 (3). 69S-77S.
- Bajaj, A., Miranda, O. R., Kim, I. B., Phillips, R. L., Jerry, D. J., Bunz, U. H. F., Rotello, V. M. 2009. Detection and differentiation of normal, cancerous, and metastatic cells using nanoparticle-polymer sensor arrays. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106 (27). 10912-10916.
- Balseiro, S. C., Correia, H. R. 2006. Is olfactory detection of human cancer by dogs based on major histocompatibility complex-dependent odour components? – A possible cure and a precocious diagnosis of cancer. *Medical Hypotheses*. 66 (2). 270-272.
- Bhatnagar, K. P., Smith, T. D. 2003. The human vomeronasal organ. V. An interpretation of its discovery by Ruysch, Jacobson, or Kölliker, with an English translation of Kölliker (1877). *The Anatomical Record Part B: The New Anatomist*. 270B (1). 4-15.
- Bjartell, A. S. 2011. Dogs Sniffing Urine: A Future Diagnostic Tool or a Way to Identify New Prostate Cancer Markers? *European Urology*. 59 (2). 202-203.
- Blanchon, T., Bréchet, J. M., Grenier, P. A., Ferretti G. R., Lemarié E., Milleron B., Chagué D., Laurent F., Martinet Y., Beigelman-Aubry C., Blanchon F., Revel M. P., Friard S., Rémy-Jardin M., Vasile M., Santelmo N., Lecalier A., Lefébure P., Moro-Sibilot D., Breton J. L., Carette M. F., Brambilla C., Fournel F., Kieffer A., Fria G., Flahault A. 2007. Baseline results of the Depiscan study: A French randomized pilot trial of lung cancer screening comparing low dose CT scan (LDCT) and chest X-ray (CXR). *Lung Cancer*. 58 (1). 50-58.
- Boehm, U. 2006. The vomeronasal system in mice: From the nose to the hypothalamus- and back! *Seminars in Cell*. 17 (4). 471-479.

- Bomers, M., van Agtmael, M., Luik, H., van Veen, M., Vandenbroucke-Grauls, C., Smulders, Y. 2012. Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: proof of principle study. *BMJ*. 345 (dec13 8). e7396-e7396.
- Briscoe, V. J., Davis, S. N. 2006. Hypoglycemia in type 1 and type 2 diabetes: physiology, pathophysiology, and management. *Clinical Diabetes*. 24 (3). 115.
- Brown, S., Strong, V. 2001. The use of seizure-alert dogs. *Seizure*. 10 (1). 39-41.
- Buck, L., Axel, R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors. *Cell*. 65 (1). 175-187.
- Buist, D. S. M., Porter, P. L., Lehman, ., Taplin, S. H., White, E. 2004. Factors Contributing to Mammography Failure in Women Aged 40-49 Years. *Journal of the National Cancer Institute*. 96 (19). 1432-1440.
- Buszewski, B., Rudnicka, J., Ligor, T., Walczak, M., Jezierski, T., Amann, A. 2012. Analytical and unconventional methods of cancer detection using odor. *Trends in Analytical Chemistry*. 38. 1-12.
- Burdette, S. D., Bernstein J. M. 2007. Does the nose know? The odiferous diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*. 44 (8). 1142.
- Chen, M., Daly, M., Williams, N., Williams, S., Williams, C., Williams, G. 2000. Non-invasive detection of hypoglycaemia using a novel, fully biocompatible and patient friendly alarm system. *BMJ*. 321 (7276). 1565-1566.
- Cole, T. J. 2004. Teaching dogs new tricks. *BMJ*. 329 (7468). 715.
- Craven, B. A., Neuberger, T., Paterson, E. G., Webb, A.G., Josephson, E. M., Morrison, E. E., Settles, G. S. 2007. Reconstruction and Morphometric Analysis of the Nasal Airway of the Dog (*Canis familiaris*) and Implications Regarding Olfactory Airflow. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*. 290 (11). 1325-1340.
- Craven, B. A., Paterson, E. G., Settles, A. G. S. 2010. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. *Journal of the Royal Society Interface*. 7 (47). 933-943.
- D'amico, A., Pennazza, G., Santonico, M., Martinelli, E., Roscioni, C., Galluccio, G., Paolesse, R., Di Natale, C., 2009. An investigation on electronic nose diagnosis of lung cancer. *Lung Cancer*. 68 (2). 170-176.
- Dalziel, D., Uthman, B., Mcgorray, S., Reep, R. 2003. Seizure-alert dogs: a review and preliminary study. *Seizure*. 12 (2). 115-120.
- de Castro, M. D. L., Fernández-Peralbo, M. A. 2012. Analytical methods based on exhaled breath for early detection of lung cancer. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 38. 13-20.

- Di Natale, C., Macagnano, A., Martinelli, E., Paolesse, R., D'arcangelo, G., Roscioni, C., Finazzi-Agrò, A., D'amico, A. 2003. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosensors and Bioelectronics* . 18 (10), 1209-1218.
- Døving, K. B., Trotier, D. 1998. Structure and function of the vomeronasal organ. *Journal of Experimental Biology*. 201 (21). 2913-2925.
- Ehmann, R., Boedeker, E., Friedrich, U., Sagert, J., Dippon, J., Friedel, G., Walles, T. 2012. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *European Respiratory Journal*. 39 (3). 669-676.
- Elliker, K. R., Sommerville, B. A., Broom, D. M., Neal, D. E., Armstrong, S., Williams, H.C. 2014. Key considerations for the experimental training and evaluation of cancer odour detection dogs: lessons learnt from a double-blind, controlled trial of prostate cancer detection. *BMC Urology*. 14 (1). 22.
- Farbman, A. I. 1992. *Cell biology of olfaction*. Cambridge University Press. New York. p. 282. ISBN: 978-052-1364-386.
- Fernandez-Fewell, G. D., Meredith, M. 1995. Facilitation of mating behavior in male hamsters by LHRH and AcLHRH⁵⁻¹⁰: Interaction with the vomeronasal system. *Physiology & behavior*. 57(2). 213-221.
- Fleischer J., Breer H. 2010. The Grueneberg ganglion: a novel sensory system in the nose. *Histology and Histopathology*. 25 (7). 909-915.
- Giannetti, N., Saucier, D., Astic, L. 1995. Analysis of the possible alerting function of the septal organ in rats: A lesional and behavioral study. *Physiology*. 58 (5). 837-845.
- Gonder-Frederick, L., Rice, P., Warren, D., Vajda, K., Shepard, J. 2013. Diabetic Alert Dogs: A Preliminary Survey of Current Users. *Diabetes Care*. 36 (4). e47-e47.
- Gordon, S. M., Szidon, J. P., Krotoszynski, B. K., Gibbons, R. D., O'neill, H. J. 1985. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clinical Chemistry*. 31 (8). 1.
- Hardin, D. S., Anderson, W., Cattet, J. 2015. Dogs Can Be Successfully Trained to Alert to Hypoglycemia Samples from Patients with Type 1 Diabetes. *Diabetes Therapy*. 6 (4). 509-517.
- Hardin, D. S., Cattet, J., Anderson, W., Skrivanek, Z. 2013. Can Diabetes Alert Dogs Truly Detect Hypoglycemia? *Diabetes*. A104-A104.
- Jett, J. R. 2005. Limitations of Screening for Lung Cancer with Low-Dose Spiral Computed Tomography. *Clinical Cancer Research*. 11 (13). 4988-4992.

- Johansen, A., Vasishta, S., Edison, P., Hosein, I. 2002. Clostridium difficile associated diarrhoea: how good are nurses at identifying the disease? *Age and Ageing*. 31 (6). 31.
- Johnston, R. E. 1998. Pheromones, the Vomeronasal System, and Communication: From Hormonal Responses to Individual Recognition. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 855 (1). 333-348.
- Kaji, H., Hisamura, M., Saito, N., Murao, M. 1978. Evaluation of volatile sulfur-compounds in expired alveolar gas in patients with liver-cirrhosis. *Clinica Chimica Acta*. 85 (3). 279-284.
- Kennedy, T., Hirsch, F. 2004. Using molecular markers in sputum for the early detection of lung cancer: A review. *Lung Cancer*. 45. 21-27.
- Kirton, A., Winter, A., Wirrell, E., Snead, O. C. 2008. Seizure response dogs: Evaluation of a formal training program. *Epilepsy & Behavior*. 13 (3). 499-504.
- König, H. E., Bragulla, H. 2007. *Veterinary anatomy of domestic mammals textbook and colour atlas*. Schattauer. Stuttgart. p. 768. ISBN: 978-379-4524-853.
- Laska, M., Seibt, A., Weber, A. 2000. 'Microsmatic' Primates Revisited: Olfactory Sensitivity in the Squirrel Monkey. *Chem Senses*. 25 (1). 47-53.
- Leiter, L. A., Yale, J. F., Chiasson, J. L., Harris, S., Kleinstiver, P., & Sauriol, L. 2005. Assessment of the impact of fear of hypoglycemic episodes on glycemic and hypoglycemia management. *Canadian Journal of Diabetes*. 29 (3), 186-192.
- Lindsay, S. R. 2005. *Handbook of applied dog behavior and training*. Iowa State University Press. Ames. p. 410. ISBN: 978-0813807546.
- Machado, R.F., Laskowski, D., Deffenderfer, O., et al. 2005. Detection of Lung Cancer by Sensor Array Analyses of Exhaled Breath. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 171 (11), 1286-1291.
- Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., Buck, L. B. 1999. Combinatorial Receptor Codes for Odors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*. 96 (5). 713-723.
- Martin, D. R., Semelka, R. C. 2006. Health effects of ionising radiation from diagnostic CT. *The Lancet*. 367 (9524). 1712-1714.
- McCulloch, M., Jezierski, T., Broffman, M., Hubbard, A., Turner, K., Janecki, T. 2006. Diagnostic Accuracy of Canine Scent Detection in Early- and Late-Stage Lung and Breast Cancers. *Integrative Cancer Therapies*. 5 (1). 30-39.
- McCulloch, M., Turner, K., Broffman, M. 2012. Lung cancer detection by canine scent: will there be a lab in the lab? *European Respiratory Journal*. 39 (3). 511-512.

- Moser, E., McCulloch, M. 2010. Canine scent detection of human cancers: A review of methods and accuracy. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. 5 (3). 145-152.
- Negus, V. 1958. *Comparative Anatomy and Physiology of Nose and Paranasal Sinuses*. Churchill Livingstone. Edinburgh. 418 s. ISBN: 978-0443003745.
- Negus, V., Straatsma, C. R. 1960. The Comparative Anatomy and Physiology of the Nose and Paranasal Sinuses. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 25 (3). 379.
- O'Connor, M. B., O'Connor, C., Walsh, C. H. 2008. A dog's detection of low blood sugar: A case report. *Irish Journal of Medical Science*. 177 (2). 155-157.
- O'Neill, H. J., Gordon, S. M., O'Neill, S. M., Gibbons, R. D., Szidon, J. P. 1988. A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer. *Clinical Chemistry*. 34 (8). 1613-1618.
- Ortiz R., Liporace J. 2005. "Seizure-alert dogs": Observations from an inpatient video/EEG unit. *Epilepsy & Behavior*. 6 (4). 620-622.
- Pernollet, J. C., Sanz, G., Briand, L. 2006. Les récepteurs des molécules odorantes et le codage olfactif: A molecular basis for odor recognition. *Comptes Rendus Biologies*. 329 (9). 679-690.
- Phillips, M., Cataneo, R., Ditkoff, B., Fisher, P., Greenberg, J., Gunawardena, R., Kwon, C., Rahbari-Oskoui, F., Wong, C. 2003. Volatile Markers of Breast Cancer in the Breath. *Breast Journal*. 9 (4). 345-345.
- Phillips, M., Gleeson, K., Hughes, J., Greenberg, J., Cataneo, R., Baker, L., McVay, W. 1999. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *The Lancet*. 353 (9168). 1930-1933.
- Phillips, M., Greenberg, J. 1991. Method for the collection and analysis of volatile compounds in the breath. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 564 (1). 242-249.
- Pickel, D., Manucy, G. P., Walker, D. B., Hall, S. H., Walker, J. C. 2004. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Applied Animal Behaviour Science*. 89 (1-2). 107-116.
- Pihlstrom, H., Fortelius, M., Hemila, S., Forsman, R., Reuter, T. 2005. Scaling of mammalian ethmoid bones can predict olfactory organ size and performance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 272 (1566). 957-962.
- Powers, J. B., Winans, S. S. Vomeronasal Organ: Critical Role in Mediating Sexual Behavior of the Male Hamster. 1975. 187 (4180). p. 961-963

- Preti, G., Labows, J. N., Kostelc, J. G., Aldinger, S., Daniele, R. 1988. Analysis of lung air from patients with bronchogenic carcinoma and controls using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 432. 1-11.
- Quignon, P., Kirkness, E., Cadieu, E., Touleimat, N., Guyon, R., Renier, C., Hitte, Ch., André, C., Fraser, C., Galibert, F. 2003. Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biology*. 4 (12). R80.
- Rooney, N. J., Morant, S., Guest, C., Hughes, W. 2013. Investigation into the Value of Trained Glycaemia Alert Dogs to Clients with Type I Diabetes. *PLoS ONE*. 8 (8). e69921-.
- Salazar, I., Cifuentes, J. M., Sánchez-Quinteiro, P. 2013. Morphological and Immunohistochemical Features of the Vomeronasal System in Dogs. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*. 296 (1). 146-155.
- Savolainen, P., Zhang, Y. P., Luo, J., Lundeberg, J., Leitner, T. Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs. *Science*. 298 (5598). 1610-1613.
- Simenhoff, M. L., Burke J. F., Saukkonen J. J., Ordinario A. T., Doty R., Dunn S. 1977. Biochemical Profile of Uremic Breath. *New England Journal of Medicine*. 297 (3). 132-135.
- Siniscalchi, M., Sasso, R., Pepe, A. M., Dimatteo, S., Vallortigara, G., Quaranta, A. 2011. Sniffing with the right nostril: lateralization of response to odour stimuli by dogs. *Animal Behaviour*. 82 (2). 399-404.
- Smith, T. D., Kunwar, P., Bhatnagar, P. T., Burrows, A. M. 2004. Distribution of olfactory epithelium in the primate nasal cavity: Are microsmia and macrosmia valid morphological concepts? *The Anatomical Record*. 281A (1). 1173-1181.
- Smith, T. D., Rossie, J. B., Bhatnagar, K. P. 2007. Evolution of the nose and nasal skeleton in primates. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*. 16 (4). 132-146.
- Stocks, A. E. 2002. Can dogs help patients with hypoglycaemia? *Diabetologia*. 45 (A79).
- Strong, V., Brown, S., Huyton, M., Coyle, H. 2002. Effect of trained Seizure Alert Dogs on frequency of tonic-clonic seizures. *Seizure*. 11 (6). 402-405.
- Strong, V., Brown, S. W. 2000. Should people with epilepsy have untrained dogs as pets? *Seizure*. 9 (6). 427-430.
- Strong, V., Brown, S., Walker, R. 1999. Seizure-alert dogs — fact or fiction? *Seizure*. 8 (1). 62-65.

- Urbanová, L., Vyhnanáková, V., Krisová, Š., Pacík, D., Nečas, A. 2015. Intensive training technique utilizing the dog's olfactory abilities to diagnose prostate cancer in men. *Acta Veterinaria Brno*. 84 (1). 77-82.
- Taniguchi, K., Saito, S., Taniguchi, K. 2011. Phylogenetic Outline of the Olfactory System in Vertebrates. *Journal of Veterinary Medical Science*. 73 (2). 139-147.
- Tauveron, I., Delcourt, I., Desbiez, F., Somda, F., Thieblot, P. 2006. Canine detection of hypoglycaemic episodes whilst driving. *Diabetic Medicine*. 23 (3). 335-335.
- Walker, D. B., Walker, J. C., Cavnar, P. J., Taylor, J. L., Pickel, D. H., Hall, S. B., Suarez, J. C. 2006. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Applied Animal Behaviour Science*. 97 (2-4). 241-254.
- Walker, J. C. 2003. Human Odor Detectability: New Methodology Used to Determine Threshold and Variation. *Chemical Senses*. 28 (9). 817-826.
- Waugh, A., Grant A. 2014. *Ross and Wilson anatomy and physiology in health and illness*. Churchill Livingstone. London. p. 522. ISBN: 978-0-7020-5325-2.
- Wells, D. L., Lawson, S. W., Siriwardena, A. N. 2008. Canine Responses to Hypoglycemia in Patients with Type 1 Diabetes. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 14 (10). 1235-1241.
- Williams, H., Pembroke, A. 1989. Sniffer dogs in the melanoma clinic? *The Lancet*. 333 (8640). 734.
- Willis, C. M., Church, S. M., Guest, C. M., Cook, W. A., McCarthy, N., Bransbury, A. J., Church, M. R. T., Church, J. C. 2004. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *BMJ*. 329 (7468). 712.
- Wysocki, C. J., Kruczek, M., Wysocki, L. M., Lepri, J. J. 1991. Activation of reproduction in nulliparous and primiparous voles is blocked by vomeronasal organ removal. *Biology of reproduction*. 45 (4). 611-616.
- Yilmaz, B., Yildiz, H., Akkoc, C. O., Arican, I. 2008. Vomeronasal organ in Labrador retriever dog (*Canis familiaris*). *Bull Vet Inst Pulawy*. 52. 185-188.
- Zarzo, M. 2007. The sense of smell: molecular basis of odorant recognition. *Biological Reviews*. 82 (3). 455-479.