

DIAGNOSTYKA

zespołu jelita przesiąkliwego

Bariera jelitowa nie jest jednorodnym tworem. Złożona jest z szeregu współdziałających ze sobą elementów, do których zalicza się m.in. mikrobiotę jelitową, komórki nabłonka jelita cienkiego (enterocyty), ścisłe połączenia pomiędzy nimi (tight junctions), wydzielniczą immunoglobulinę A (sIgA), kępki Payera, komórki M, komórki APC, a także limfocyty odpowiedzialne za prezentację antygenów środowiskowych. Prawidłowo funkcjonująca bariera odgrywa także rolę filtra, dzięki temu, że do wnętrza organizmu przedostają się jedynie te składniki, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania ustroju. Zaliczamy do nich monomery białek, tłuszczów oraz węglowodanów, witaminy i składniki mineralne. Elementy zbędne oraz potencjalnie szkodliwe, takie jak bakterie, toksyny czy nieprawidłowo strawione składniki pokarmowe w stanie zachowanej homeostazy, nie zostaną wchłonięte i są wydalane z organizmu [1].





Łukasz Sieńczewski
specjalista ds. żywienia
Centrum Medyczne Vitalmmun w Poznaniu

Bariera jelitowa pełni w organizmie nie tylko funkcję ochronną, ale także odżywczą i odpornościową. Z uwagi na mnogość realizowanych funkcji prawidłowa jej praca jest niezwykle istotna w zachowaniu zdrowia. Ze względu na swoją złożoność jest ona niestety bardzo wrażliwa na działanie licznych czynników środowiskowych. W sytuacji nadmiernej ekspozycji na owe czynniki często dochodzi do jej uszkodzenia i rozwoju zespołu jelita przesiąkliwego (ang. *leaky gut syndrome* – LGS). Do elementów wpływających najbardziej destrukcyjnie na barierę jelitową zalicza się przede wszystkim alkohol, niesteroidowe leki przeciwzapalne (np. ibuprofen, paracetamol), antybiotykoterapię, przebyte zakażenia bakteryjne/wirusowe/pasożytnicze, nadmierny i przewlekły działający stres (zarówno psychiczny, jak i fizyczny – sport wyczynowy) oraz żywność bogatą w substancje dodatkowe, takie jak konserwanty czy emulgatory. W przypadku uszkodzenia bariery jelitowej dochodzi ostatecznie do całkowitej lub częściowej utraty kontroli nad elementami, które dostają się do układu krwionośnego. Zwiększona przepuszczalność bariery jelita cienkiego wiązana jest z wieloma jednostkami chorobowymi, do których zaliczane są m.in. nadwrażliwości pokarmowe (alergie IgE-niezależne), problemy skórne, nadwaga i otyłość, zaburzenia nastroju/depresja, nadciśnienie tętnicze, migreny, a także coraz częściej diagnozowane choroby z autoagresji, do których zalicza się m.in. Hashimoto, celiakię, RZS oraz cukrzycę typu I [2–7].

Z uwagi na ścisłe powiązanie pomiędzy uszkodzeniem charakteryzowanej bariery a aktywacją/nasileniem szeregu chorób tzw. cywilizacyjnych, rosnącą popularnością cieszą się testy oceniające jej szczelność i funkcjonalność. Należy jednak zaznaczyć, iż nie wszystkie dostępne na polskim i światowym rynku metody diagnozowania

LGS cechują się wystarczającą czułością i swoistością. Co więcej, część z nich obarczona jest licznymi ograniczeniami uniemożliwiającymi ich wykorzystanie w diagnostyce klinicznej.

Celem niniejszej analizy jest więc ocena wartości diagnostycznej i możliwości praktycznego wykorzystania najpopularniejszych testów oceniających przesiąkliwość bariery jelitowej.

Test buraczany

Jednym z najbardziej popularnych testów oceniających szczelność bariery jelitowej jest tzw. test buraczany. Jego rozpowszechnienie jest najprawdopodobniej wynikiem możliwości samodzielnego przeprowadzenia badania w domu oraz stosunkowo niskimi kosztami. Sposób wykonania tej analizy nie jest ujednolicony i różni się w zależności od tego, z jakiego źródła (literatura/internet) korzystamy. Na potrzeby niniejszego artykułu poniżej przedstawiono opis wykonania testu, w postaci ujednoliconej i skróconej: „Test ten polega na spożyciu świeżego soku z czerwonego buraka. Następnie po kilku godzinach (najczęściej pięciu) należy obserwować kolor wydalanego moczu. Pojawienie się czerwonego zabarwienia moczu świadczy o zwiększeniu przesiąkliwości bariery jelitowej (LGS), co nie ma miejsca u osób zdrowych (w domyśle – osób, u których bariera jelitowa funkcjonuje prawidłowo)”. Przyczyną czerwonego zabarwienia moczu w następstwie spożycia buraka jest barwnik betanina, należący do grupy betacyjanin. Barwnik ten wchłania się aktywnie w jelicie cienkim (na poziomie ok. 20%). Po wchłonięciu nie podlega następnie przemianom w organizmie i wydalany jest w pierwotnej postaci.

Na stabilność betacyjanin wpływa wiele czynników środowiskowych, takich jak: stężenie barwnika w badanym roztworze, wartość pH (betacyjaniny są stabilne w pH wynoszącym od 3,5 do 7),

obecność substancji o charakterze antyoksydacyjnym, obecność kationów metali oraz temperatura.

Betanina w pH wyższym/niższym niż 3,5–7 zmienia swój kolor na ciemnobrązowy, przypominający barwę moczu. Oznacza to, że w kontakcie z sokiem żołądkowym, enzymami trzustkowymi i żółcią traci swój naturalny, czerwony kolor. Wpływ na jej barwę ma także zmienne pH moczu oraz obecność jonów metali, m.in. żelaza, i to z tego względu u osób przyjmujących preparaty zawierające w swoim składzie ten pierwiastek wynik testu będzie zaburzony. Sytuacja jest odwrotna u osób z niedoborami żelaza. Okazuje się bowiem, że czerwony kolor moczu jest u nich obserwowany znacznie częściej (66–80%) [8]. Kolejnym czynnikiem oddziałującym na barwę moczu jest stopień nawodnienia organizmu – im większe jest zagęszczenie moczu (a więc większa koncentracja barwnika), tym większa szansa na to, że obserwowany mocz będzie czerwony. Działanie ochronne wobec betacyjanin wykazują substancje zawarte w pożywieniu i są nimi np. szczawiany oraz witamina C. W praktyce oznacza to, że spożycie znacznej ilości wymienionych składników w czasie bezpośrednio poprzedzającym wykonanie testu buraczanego może istotnie wpłynąć na wynik badania (mocz będzie miał czerwone zabarwienie) [9–14].

Ze względu na mnogość czynników wpływających na barwę moczu wynik testu buraczanego nie posiada żadnej wartości diagnostycznej i nie może być stosowany w celu oceny przepuszczalności bariery jelita cienkiego. Należy także pamiętać, że betanina jest aktywnie wchłaniana ze światła przewodu pokarmowego, co oznacza, że jej obecność (lub jej metabolitów) w moczu nie jest związana z pojawieniem się LGS, lecz jest procesem fizjologicznym.

Test laktuloza – mannitol

Test laktuloza – mannitol nazywany jest również testem absorpcji cukrów. Metoda jego wykonania jest

nieinwazyjna i prosta w wykonaniu. Zarówno laktuloza, jak i mannitol, nie są metabolizowane w organizmie, nie wykazują też działań toksycznego na organizm, dzięki czemu opisywany test jest w pełni bezpieczny.

Mannitol to alkohol cukrowy (o rozmiarze 182 daltonów), który jest łatwo wchłaniany przez organizm człowieka drogą przekomórkową. Jego stężenie w moczu służyć może do oceny wchłaniania przekomórkowego [15, 16]. Laktuloza natomiast to dwucukier zbudowany z galaktozy i fruktozy. Jej rozmiar jest nieco większy niż mannitolu, a co za tym idzie – u zdrowego człowieka nie jest wchłaniana drogą przekomórkową (poziom jej wchłaniania waha się na poziomie 0,1–1,2%). Na podstawie stężenia obu wspomnianych substancji w moczu ocenia się wchłanianie pozakomórkowe świadczące o kondycji i funkcjonowaniu ścisłych połączeń pomiędzy enterocytami (LGS).

Badanie polega na podaniu roztworu wodnego, w którym rozpuszczono dwa związki: laktulozę i mannitol. Następnie, po sześciu godzinach od przyjęcia płynu, dokonuje się oceny stężenia obu substancji w wydalonym moczu. Za wynik poprawny uznaje się wysoki poziom mannitolu i niski poziom laktulozy. Wysoki poziom laktulozy świadczy z kolei o zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej. Niski poziom obu substancji w badanej próbce może świadczyć o zaburzeniach wchłaniania [17–23].

W 2008 r. opublikowano badanie mające na celu porównanie wyników testu laktuloza – mannitol w trzech grupach pacjentów. Pierwsza grupa (kontrolna) składała się z 15 osób zdrowych (HC), do drugiej zakwalifikowano 22 pacjentów ze zdiagnozowaną celiakią (CD), którzy stosowali dietę bezglutenową przez rok. Do trzeciej zaś włączono 31 pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (LC), którzy w chwili wykonywania badania znajdowali się w stanie remisji (ocenę przeprowadzono przy użyciu skali CDAI; ang. *Crohn Disease Activity Index*). Każdemu z badanych

podano roztwór zawierający 6 g laktulozy i 3 g mannitolu, rozpuszczonych w 120 ml płynu. Po upływie sześciu godzin pobrano od nich próbki moczu. Stężenie laktulozy w moczu było wyższe u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna (LC) w porównaniu do osób z chorobą trzewną (CD) (0,42 vs. 0,15%, $P = 0,001$) i osób z grupy kontrolnej (HC) (0,42 vs. 0,07%, $P = 0,0001$). Pacjenci z celiakią wydalili większą ilość laktulozy w porównaniu do grupy kontrolnej (0,15 vs. 0,07%, $P = 0,039$). Stężenie mannitolu w grupie LC było na tym samym poziomie, co w grupie HC (21 vs. 21%, $P = 0,54$). Wartości te były natomiast wyższe w stosunku do osób z grupy CD (10,9%, $P = 0,0001$). Stosunek laktuloza – mannitol był istotnie wyższy u osób z grupy LC (0,021 vs. 0,013, $P = 0,019$) w porównaniu do grupy CD (0,021 vs. 0,013, $P = 0,019$) i HC (0,021 vs. 0,003, $P = 0,001$), a także u pacjentów z grupy CD w stosunku do grupy HC (0,013 vs. 0,003, $P = 0,001$).

Na podstawie przedstawionego badania widać zależność pomiędzy stanem przewodu pokarmowego a ilością wydalanej wraz z moczem laktulozy. Wyższy (w grupie LC i HC niż CD) poziom wydalanego wraz z moczem mannitolu może świadczyć o niepełnej regeneracji kosmków jelitowych po roku od zastosowania diety bezglutenowej [24].

Należy jednakże zaznaczyć, że cząsteczka laktulozy (o rozmiarze 342 daltonów) jest mniejsza od struktur aminokwasowych antygenów pokarmowych. Oznacza to, że zwiększona ilość laktulozy w badanej próbce moczu wskazuje na powstanie nieprawidłowości w strukturze bariery jelitowej, jednak nie jest to równoznaczne z tym, że wchłaniane są także większe cząsteczki, takie jak antygeny pokarmowe.

Zonulina

Zonulina została odkryta w 2000 r. przez dra Alessio Fasano i jest jednym z białek kontrolujących połączenia pomiędzy komórkami nabłonka jelita cienkiego (enterocyty). Wraz z nią proces

regulacji szczelności bariery kontrolują dwa inne białka: kładyna i okładyna. Dzięki działaniu opisanych białek możliwa jest regulacja selektywnej przepuszczalności bariery jelitowej. Ich podwyższony poziom świadczy o uszkodzeniu i zbyt wysokiej przepuszczalności bariery jelitowej.

Badania wykazały, iż w pewnych grupach pacjentów, szczególnie osób z chorobami z autoagresji, poziom zonuliny jest podwyższony, co jest wynikiem procesu chorobowego. W zaburzeniach autoimmunologicznych obserwuje się bowiem nadmierne rozszczelnienie bariery jelitowej, co jest uznawane za jedną z przyczyn rozwoju i/lub podtrzymania stanu zapalnego. W tej sytuacji zonulinę traktować należy nie tyle jako marker do diagnozowania zespołu jelita przesiąkliwego, lecz jako parametr umożliwiający monitoring stanu bariery jelitowej i pośrednio nasilenia stanu zapalnego w przewodzie pokarmowym pacjenta.

Podwyższony poziom zonuliny diagnozuje się przede wszystkim u pacjentów autoimmunologicznych, chorych m.in. na celiakię, Hashimoto, reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), cukrzycę typu 1, stwardnienie rozsiane. Co istotne, podwyższony poziom markera diagnozuje się często także u osób blisko spokrewnionych z chorymi.

Warto także zwrócić uwagę na fakt, iż gliadyna będąca elementem składowym glutenu poprzez przyłączanie się do receptora CXCR3 wykazuje zdolność do zwiększenia przepuszczalności bariery jelitowej. Badania wykazały, iż ekspozycja na gluten jest czynnikiem zwiększającym poziom zonuliny w kale, co sugeruje potencjalny udział gliadyny w inicjowaniu i/lub podtrzymywaniu procesu uszkodzenia bariery jelitowej [25–30].

Obecnie uważa się, że badanie oceniające poziom zonuliny w kale jest jednym z najlepszych dostępnych na rynku testów oceniających przesiąkliwość jelitową.

LPS

Ze względu na ograniczenia stawiane testom oceniającym stężenie laktulozy/mannitolu w moczu wdrażane są

metody diagnostyczne, które są w stanie ocenić, czy do wnętrza organizmu przenikają cząsteczki o rozmiarach zbliżonych do antygenów pokarmowych.

Test LPS ma na celu ocenę obecności przeciwciał wytworzonych przeciwko lipopolisacharydom, stanowiących element błon komórkowych bakterii Gram-ujemnych. Są to elementy bakteryjne najsilniej aktywujące odpowiedź układu immunologicznego. Obecność przeciwciał przeciwko LPS w ślinie jest potwierdzeniem faktu, iż struktury bakteryjne o wielkości zbliżonej do antygenów pokarmowych są w stanie przenikać przez barierę jelitową do wnętrza organizmu. Należy także zwrócić uwagę, że dostępny na amerykańskim rynku test Cyrex Array 2 oceniający obecność tego typu przeciwciał w ślinie bada także przeciwciała swoiste względem innych białek, takich jak zonulina/okludyna oraz aktomiozyna. Wyniki poszczególnych analiz wchodzących w skład opisywanego testu należy korelować ze sobą. Według wytycznych producenta pojawienie się wyłącznie przeciwciał przeciwko LPS może świadczyć jedynie o powstałej dysbiozie jelitowej, nie dając informacji o stanie bariery jelitowej. Aby móc stwierdzić, że doszło do rozwoju przepuszczalności jelitowej, w ślinie muszą być także obecne przeciwciała przeciwko zonulinie/okludynie i/lub aktomiozynie. Należy także pamiętać, że test na obecność przeciwciał skierowanych na lipopolisacharydy bakteryjne może być ujemny u pacjentów, u których synteza przeciwciał nie zachodzi prawidłowo np. u osób z agammaglobulinemią i nabytym niedoborem odporności [31–33].

Alfa-1-antytrypsyna

Alfa-1-antytrypsyna jest glikoproteiną, syntetyzowaną przez makrofagi oraz komórki wątrobowe (hepatocyty). W stanie homeostazy organizmu nie stwierdza się jej obecności w przewodzie pokarmowym. Ocena jej stężenia w kale służy do oceny jelitowej ucieczki białka, która jest objawem towarzyszącym chorobom związanym m.in.

z przewodem pokarmowym, takim jak nieswoiste choroby zapalne jelit, celiakia czy alergie pokarmowe.

Badania opublikowane w 2002 r. wskazują na korelację pomiędzy stężeniem alfa-1-antytrypsyny w kale a częstością występowania alergii na białka mleka krowiego u dzieci.

Oznaczenia alfa-1-antytrypsyny jest badaniem nieinwazyjnym, a materiał niezbędny do oceny jej poziomu jest łatwo dostępny. Już jednorazowe oznaczenie jest wystarczające do oceny jelitowej ucieczki białka, co umożliwia ocenę kondycji ścian przewodu pokarmowego.

Regularne oznaczanie poziomu alfa-1-antytrypsyny ułatwia ocenę skuteczności wdrożonego leczenia mającego na celu redukcję zmian chorobowych, czyli monitoring stanu pacjenta. Należy zwrócić uwagę na fakt, że obecność alfa-1-antytrypsyny w kale stwierdza się w przypadku silnego uszkodzenia ścian jelita cienkiego (choroby organiczne przewodu pokarmowego, choroby alergiczne i inne). Uszkodzenie bariery jelitowej niewynikające z chorób organicznych (np. nieswoiste choroby zapalne) nie musi więc prowadzić do podwyższonego poziomu opisywanego markera w kale. Z tego względu przydatność tego parametru wydaje się ograniczona do ściśle wyselekcjonowanej grupy pacjentów [34–38].

Obecnie na rynku obserwuje się dużą dostępność testów mających na celu ocenę przepuszczalności bariery jelita cienkiego. Jednak – jak zaprezentowano w niniejszej pracy – pod względem wartości diagnostycznej różnią się one znacznie. Niektóre z nich, jak np. test buraczany, nie posiadają właściwie żadnej wartości diagnostycznej i nie mogą być wykorzystywane jako metoda diagnozowania LGS. Opisywane metody różnią się także ceną oraz dostępnością, co stanowi element warunkujący wybór metodyki przez osoby podejmujące się oceny przepuszczalności bariery jelitowej. Należy jednakże pamiętać, iż podstawowym kryterium wyboru metody diagnostycznej powinna być czułość

i swoistość badania oraz jego przydatność diagnostyczna poparta badaniami klinicznymi. Na chwilę obecną test oceniający poziom zonuliny w kale uznaje się za jedną z najlepszych metod oceny stanu bariery jelitowej. ■

Bibliografia:

1. Frank M., Ignys I., Gałęcka M., Szachta P. *Alergia pokarmowa IgG-zależna i jej znaczenie w wybranych jednostkach chorobowych*. *Pediatrics Polska*, 2013; 88: 22–257.
2. Li X., Atkinson M.A. *The role for gut permeability in the pathogenesis of type 1 diabetes – a solid or leaky concept?* *Pediatr Diabetes*. 2015 Nov; 16(7): 485–92.
3. Odenwald M.A., Turner J.R. *Intestinal permeability defects: is it time to treat?* *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013 Sep; 11(9): 1075–83.
4. Shen L., Su L., Turner J.R. *Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects*. *Dig Dis*. 2009; 27(4):443–9.
5. Gałęcka M., Szachta P., Bartnicka A., Cichy W. *Alergia IgG-zależna a wybrane choroby przewodu pokarmowego*. *Prz Gastroenterol* 2013; 8 (4): 225–229.
6. Karakuła-Juchnowicz H., Szachta P., Opolska A., Moryłowska-Topolska J., Gałęcka M., Juchnowicz D., Krukow P., Lasik Z. *The role of IgG hypersensitivity in the pathogenesis and therapy of depressive disorders*. *Nutr Neurosci*. 2014 Sep 30.
7. Gaby A.R. *The role of hidden food allergy/intolerance in chronic disease*. *Altern Med Rev*. 1998 Apr; 3(2): 90–100.
8. Sotos J.G. *Beeturia and iron absorption*. *Lancet*. 1999;354(9183): 1032.
9. Krantz C., Monier M., Wahlstrom B. *Absorption, excretion, metabolism and cardiovascular effects of beetroot extract in the rat*. *Food Cosm Toxicol* 1980; 18: 363–6.
10. Klewicka E. *Betacyjaniny – biodostępność i biologiczna aktywność*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 2 (81), 5–21.

11. Dröge W. *Free radicals in the physiology control of cell function*. Phys Rev 2002; 82:47–95.
12. Frank T. et al. *Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice healthy humans*. Pharmacol Res 2005; 52:290–7.
13. Tesoriere L. et al. *Absorption and distribution of dietary antioxidant betalain in LDLs: potential health effects of betalains in humans*. Am J Clin Nutr 2004; 80:941–5.
14. Watts A.R. et al. *Beeturia and the biological fate of beetroot pigments*. Pharmacogen 1993; 3:30211.
15. Michielan A., D’Inca R. *Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation and Therapy of Leaky Gut*. Published online 2015 Oct 25.
16. Dangel T. i wsp. *Diagnostyka kandydozy i przepuszczalności jelitowej u pacjentów Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci*. Medycyna Paliatywna 2013; 5(2): 58–69.
17. Celli M., D’Eufemia P., Dommarco R. i wsp. *Rapid gas chromatographic assay of lactulose and mannitol for estimating intestinal permeability*. Clin Chem 1995; 41: 752–756.
18. Watson C.J., Rowland M., Warhurst G. *Functional modeling of tight junctions in intestinal cell monolayers using polyethylene glycol oligomers*. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 281, C388–C397.
19. Halme L., Turunen U., Tuominen J., Forsstrom T., Turpeinen U. *Comparison of iohexol and lactulose-mannitol tests as markers of disease activity in patients with inflammatory bowel disease*. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation 60: 695–701.
20. Munkholm P., Langholz E., Hollander D., Thornberg K., Orholm M. et al. *Intestinal permeability in patients with Crohn’s disease and ulcerative colitis and their first degree relatives*. Gut 1994, 35: 68–72.
21. Vogelsang H., Wyatt J., Penner E., Lochs H. *Screening for celiac disease in first-degree relatives of patients with celiac disease by lactulose/mannitol test*. The American journal of gastroenterology, 1995, 90: 1838–1842.
22. Van Elburg R., Uil J., Mulder C., Heymans H. *Intestinal permeability in patients with coeliac disease and relatives of patients with coeliac disease*. Gut 1993, 34: 354–357.
23. Dastyh M., Novotná H., Čihalová J. *Lactulose/Mannitol Test and Specificity, Sensitivity and Area under Curve of Intestinal Permeability Parameters in Patients with Liver Cirrhosis and Crohn’s Disease*. Digestive Diseases and Sciences, 2008, 53: 2789–2792.
24. Vilela E.G., Torres H.O.G., Ferrari M.L.A., Lima A.S., Cunha A.S. *Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn’s disease and celiac disease patients and healthy subjects*. Braz J Med Biol Res, December 2008, Volume 41(12) 1105–1109.
25. Lammers K.M. et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3*. Gastroenterology. 2008 Jul;135(1):194–204.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.023.
26. Fasano A. *Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer*. Physiol Rev. 2011 Jan;91(1):151–75. doi: 10.1152/physrev.00003.2008.
27. Fasano A. *Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases*. Ann N Y Acad Sci. 2012 Jul; 1258(1): 25–33.
28. Fasano A. *Intestinal Permeability and its Regulation by Zonulin: Diagnostic and Therapeutic Implications*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012 Oct; 10(10): 1096–1100.
29. Bischoff S., Crowe S. *Gastrointestinal food allergy: new Insights into pathophysiology and clinical perspectives*. Gastroenterology, 2005: 128;1089–1113.
30. Fasano A. *Biological perspectives physiological, pathological and therapeutic implications of zonulin-mediated intestinal barrier modulation*. Living Life on the Edge of the Wall, Am J Pathology, Vol. 173, No. 5, November 2008.
31. Menard S., Cerf-Bensussan N., Heyman M. *Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens*. Mucosal Immunol, 2010; 3(3):247–259.
32. Maes M., Mihaylova I., Leunis J. *Increased serum IgA and IgM against LPS of enterobacteria in chronic fatigue syndrome (CFS): indication for the involvement of gram-negative enterobacteria in the etiology of CFS and for the presence of an increased gut-intestinal permeability*. Journal of Affective Disorders, 2006.
33. Ulotka dotycząca testu Cyrex Array 2. <http://www.williamsportalternativemedicine.com/user/files/ClinicalAppArray2.pdf> (dostęp 20.11.2016).
34. Thomas D.W., Sinatra F.R., Merritt R.J. *Random fecal alpha-1-antitrypsin concentration in children with gastrointestinal disease*. Gastroenterology. 1981 Apr;80(4):776–82.
35. Saarinen K.M. et al. *Markers of inflammation in the feces of infants with cow’s milk allergy*. Pediatr Allergy Immunol. 2002 Jun;13(3): 188–94.
36. Hunt J.M., Tudor R. *Alpha 1 anti-trypsin: one protein, many functions*. Curr Mol Med. 2012 Aug;12(7):827–35.
37. Biancone L., Fantini M., Tosti C., Bozzi R., Vavassori P., Pallone F. *Fecal alpha 1 antitrypsin clearance as a marker of clinical relapse in patients with Crohn’s disease of the distal ileum*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2003, 15: 261–266.
38. Furfaro F., Bezzio C., Maconi G. *Protein-losing enteropathy in inflammatory bowel diseases*. Minerva Gastroenterol Dietol. 2015 Dec;61(4):261–5. Epub 2015 Oct 7.