Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

Wydział Nauki o Żywności



mgr inż. Małgorzata Frajberg

ŻYWIENIE DZIECI A MIKROFLORA PRZEWODU POKARMOWEGO W OBRAZIE PARAMETRÓW DIAGNOSTYCZNYCH

Praca doktorska wykonana w Katedrze Żywienia Człowieka Wydziału Nauki o Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Pod kierunkiem

dr hab. inż. Katarzyny Eufemii Przybyłowicz, prof. UWM

oraz

dr inż. Lucyny Kłębukowskiej

Olsztyn 2023

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Faculty of Food Sciences



Małgorzata Frajberg M.Sc

CHILDREN'S NUTRITION AND DIETARY MICROFLORA IN DIAGNOSTIC PARAMETERS

Doctoral thesis done at the Department of Human Nutrition Faculty of Food Sciences

University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Written under supervision of

Professor Katarzyna Eufemia Przybyłowicz, Ph.D. D. Sc.

and

Lucyna Kłębukowska Ph.D.

Olsztyn 2023

Pragnę serdecznie podziękować
Pani dr hab. inż. Katarzynie Eufemii Przybyłowicz, prof. UWM
za umożliwienie wykonania badań, opiekę, wiarę we mnie większą niż moja własna oraz liczne rozmowy będące inspiracją w kierunku nowych rozwiązań i motywacją do pracy.

Pragnę złożyć podziękowania Pani dr inż. Lucynie Kłębukowskiej za nieocenioną pomoc udzieloną w trakcie przygotowywania pracy doktorskiej, oraz inspirację do zgłębiania zagadnień naukowych.

Składam serdeczne podziękowania wszystkim pracownikom katedry byłym, obecnym i tym współpracującym, szczególnie dr inż. Katarzynie Boradyn, dr inż. Annie Danilewicz oraz lek med. Jakubowi Morze, dzięki którym realizowanie badań wchodzących w skład niniejszej pracy doktorskiej było możliwe.

Pragnę też podziękować moim przyjaciołom Elwirze, Karolinie, Marcie i innym za cierpliwość i wytrwałość oraz wiarę w moje możliwości nawet wtedy, kiedy sama w siebie wątpiłam
oraz pani Ewie Małkowskiej za inspiracje na początku mojej drogi naukowej i daniu możliwości do jej realizowania

Niniejszą pracę dedykuję mojej rodzinie, mężowi i dzieciom, którzy we mnie wierzyli, wspierali i wytrzymali cały ten czas ze mną,

oraz

moim kochanym Rodzicom, którzy nieustannie mnie wspierają

Spis treści

1.Wykaz skrótów 8
2. Streszczenia 9
2.1. Streszczenie 9
2.2. Abstract 11
3. Wstęp 12
3.1. Czynnościowe zaburzenia bólów brzucha 12
3.2. Przyczyny występowania bólu brzucha u dzieci 15
3.3. Diagnostyka mikrobioty jelitowej i jej znaczenie w kształtowaniu zdrowia 17
3.3.1. Bakterie tlenowe i względnie beztlenowe 18
3.3.1.1. *Escherichia coli* 18
3.3.1.2. *Proteus* sp. 19
3.3.1.3. *Klebsiella* sp. 20
3.3.1.4. *Hafnia alvei* 22
3.3.1.5. *Serratia* sp 22
3.3.1.6. *Providencia* sp. 23
3.3.1.7. *Morganella morganii* 24
3.3.1.8. *Kluyvera sp*. 24
3.3.1.9. *Citrobacter* sp. 25
3.3.1.10. *Pseudomonas* sp. 26
3.3.1.11 *Enterococcus* sp. 27
3.3.2. Bakterie względnie beztlenowe 28
3.3.2.2. *Bifidobacterium* sp. 28
3.3.2.2. *Bacteroides* sp 30
3.3.2.3. *Lactobacillus* sp. 32
3.3.2.4. *Clostridium* sp 33
3.3.2.5. *Clostridium difficile* 34
3.3.3. Grzyby 36
3.3.3.1. *Candida albicans* 36
3.3.3.2. *Geotrichium* sp. 36
3.3.4 pH kału 36
3.3.5. Badanie metabolitów bakterii w moczu 37
3.3.5.1. Kwas hipurowy 38
3.3.5.2. Kwas fenylooctowy 39

3.3.5.3. Indolowy kwas octowy 40
3.3.5.4. Kwas n-butyrowy 40
3.3.5.5. P-krezol 40
3.3.5.6. Kwas fenylopropinowy 41
3.3.5.8. D-arabinitol, ... 42
3.3.5.9. Kwas winowy 42
3.3.6. Zonulina 42
4.Omówienie Strategii Dietetycznej 46
4.1. NICE 46
4.2. FODMAP 47
5. Cel pracy 52
6. Hipotezy badawcze: 52
7. Metodyka badań 53
7.1. Protokół badania 53
7.2. Interwencja dietetyczna 54
7.3. Schemat badania 55
8. Analiza statystyczna 59
9. Wyniki, omówienie 60
9.1. Charakterystyka grupy 60
9.2. Zawartość zonuliny w kale 61
9.3. Posiew kału 62
9.4. Stężenie metabolitów w moczu 71
10. Dyskusja 81
10.1. Ocena zależności pomiędzy zmianą analizowanych parametrów po zastosowaniu obu interwencji dietetycznych w zależności od początkowego składu mikrobioty jelitowej u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w obrazie parametrów diagnostycznych. 81
11. Stwierdzenia końcowe i wnioski 89
12. Piśmiennictwo 90

1.Wykaz skrótów

IBS – zespół jelita drażliwego

FAPD – czynnościowe bóle brzucha

IBS-D - zespół jelita drażliwego z dominującą biegunką

SCFA – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe

MMC - wędrujący kompleks motoryczny

LPS – lipopolisacharyd

IL-6 - Interleukina 6

IL-1β - Interleukina 1 β

TNF-α- czynnik martwicy nowotworów, cytokina prozapalna

SIBO – zespół rozrostu bakteryjnego jelita cienkiego

ZUM - zakażenia dróg moczowych

IBD – choroba zapalna jelit

NZJ – nieswoiste zapalenia jelit

MDD - duże zaburzenia depresyjnego

LAB - bakterie fermentacji mlekowej

FAP - rodzinna polipowatość gruczolakowata

TJ - ciasnych połączenia w jelicie

CDAD - biegunka towarzysząca Clostridium difficile

HFD - dieta wysokotłuszczowa

GI – połączenie szczelinowe w jelicie

BMI - wskaźnik masy ciała

anty-TTG - przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej

anty-DGP- przeciwciała przeciwko deamidowanej gliadynie

NCGS - nieceliakalna nadwrażliwość na gluten

LFM - dieta niskofodmapowa

CRP – białko c-reaktywne,

ALT – aminotransferaza alaninowa

AST – aminotransferaza asparaginianowa

FAPDC – kompletna morfologia krwi,

ERS – szybkość opadania krwinek czerwonych, stężenie albuminy w surowicy

2. Streszczenia

2.1. Streszczenie

Mając na uwadze wzrost częstości występowania czynnościowych bólów brzucha w populacji dzieci konieczne jest poszukiwanie bezinwazyjnych metod diagnostycznych, pozwalających na objęcie jak największej populacji dzieci oraz precyzyjne wyjaśnienie wpływu modulacji dietetycznej na zmiany mikrobioty, jako pierwszego etapu postępowania terapeutycznego. Przeprowadzone badanie miało na celu ocenę możliwości wykorzystania testów diagnostycznych mikrobioty przewodu pokarmowego u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w relacji do zastosowanej interwencji dietetycznej. Badaniem objęto grupę 28 dzieci w wieku od 5 do 12 lat spełniających kryteria włączenia. Badani zostali podzieleni na dwie grupy za pomocą randomizacji: I grupę, która otrzymywała dietę z ograniczeniem FODMAP oraz grupę, która otrzymywała dietę zgodną z zaleceniami NICE.

Badane parametry diagnostyczne moczu dzieci wykazały w większości podwyższony poza zakresem wartości prawidłowych poziom metabolitu D-arabinitolu u 96% odsetka badanej próby przed włączeniem interwencji dietetycznej. Metabolit jest produktem metabolizmu kilku gatunków *Candida* sp., które są potencjalnie patogenne, co może stanowić podstawę opracowania terapii dietetycznej ograniczającej spożycie węglowodanów ogółem. Po przeprowadzeniu 4-tygodniowej interwencji dietetycznej FODMAP i diety opartej na zaleceniach NICE zaobserwowano zmiany w składzie mikrobioty jelitowej w obrazie analizowanych parametrów diagnostycznych dysbiozy i poziomu zonuliny w odniesieniu do stanu przed interwencją. Różnice te nie uzyskały jednak mocy statystycznej.

Interwencja dietetyczna oparta na zaleceniach NICE wykazywała istotnie niższe stężenie metabolitu kwasu hydroksyfenylooctowego w porównaniu do grupy stosującej dietę FODMAP, co może wskazywać na jego znaczenie jako potencjalnego biomarkera lub wskaźnika odpowiedzi na zastosowaną interwencję dietetyczną.

Uzyskane wyniki badania pomimo braku uzyskania istotnych różnic w poziomach większości analizowanych parametrów diagnostycznych wskazują, że mogą one być przydatnym narzędziem pomocniczym w ocenie i terapii dzieci z czynnościowym bólem brzucha. Konieczne są jednak dalsze badania kliniczne na większej liczebnościowo populacji w celu weryfikacji analizowanych markerów stanu zdrowia. Skuteczna

diagnostyka mikrobioty przewodu pokarmowego może mieć istotne znaczenie w leczeniu i profilaktyce dzieci z czynnościowym bólem brzucha.

2.2. Abstract

Considering the increase in the incidence of functional abdominal pain in the children's population, it is necessary to seek non-invasive diagnostic methods that can cover the largest possible number of children and provide precise explanations of the impact of dietary modulation on changes in the microbiota as the first stage of therapeutic intervention. The conducted study aimed to evaluate the potential use of diagnostic tests for the gastrointestinal microbiota in children with functional abdominal pain in relation to the applied dietary intervention.

The study included a group of 28 children aged 5 to 12 years who met the inclusion criteria. The participants were divided into two groups using randomization: Group I received a diet with FODMAP restriction, while Group II received a diet in accordance with NICE guidelines.

The investigated diagnostic parameters of urine in the children mostly showed elevated levels of D-arabinitol metabolite, exceeding the normal range, in 96% of the study sample before the dietary intervention. This metabolite is a product of the metabolism of several potentially pathogenic *Candida sp*., which may serve as a basis for developing a dietary therapy limiting overall carbohydrate intake. After the 4-week FODMAP dietary intervention and the diet based on NICE guidelines, changes in the gut microbiota composition were observed in the analyzed diagnostic parameters of dysbiosis and zonulin levels compared to the pre-intervention state. However, these differences did not achieve statistical significance.

The dietary intervention based on NICE guidelines showed significantly lower concentrations of hydroxyphenylacetic acid metabolite compared to the FODMAP diet group, which may indicate its significance as a potential biomarker or indicator of response to the applied dietary intervention.

The obtained study results, despite not achieving significant differences in the levels of most analyzed diagnostic parameters, suggest that they can be a valuable supplementary tool in the assessment and therapy of children with functional abdominal pain. However, further clinical studies with a larger population are necessary to verify the analyzed health status markers. Effective diagnosis of the gastrointestinal microbiota may be of significant importance in the treatment and prevention of children with functional abdominal pain.

3. Wstęp

3.1. Czynnościowe zaburzenia bólów brzucha

Jako pierwszy czynnościowe bóle brzucha opisał John Apley w latach 50. XX w., określając je jako trzy lub więcej epizodów bólowych, które zakłócają codzienną aktywność dziecka, albo występuje ból utrzymujący się lub nawracający przez okres przynajmniej 3 miesięcy, a którego etiologia nie jest znana Przez lata podejmowano próby scharakteryzowania zaburzeń czynnościowych, co doprowadziło do zebrania tych opisów w formie Kryteriów Rzymskich. Bóle brzucha u dzieci wyodrębnione jako zaburzenie pojawiło się w II modyfikacji Kryteriów Rzymskich. Przedstawiono pięć zaburzeń czynnościowych układu pokarmowego, w których ból brzucha stanowił główny objaw. Te zaburzenia to: dyspepsja czynnościowa, zespół jelita nadwrażliwego, zespół czynnościowego bólu brzucha, migrena brzuszna i aerofagia. Dalsze obserwacje wykazały, że 16-35% dzieci, u których czynnościowe bóle brzucha można było rozpoznać na podstawie kryteriów Apleya, nie spełniało jednak warunków wymaganych w II Kryteriach Rzymskich. W związku z tym, w III modyfikacji tego dokumentu, obok zespołu czynnościowego bólu brzucha uwzględniono również czynnościowy ból brzucha jako odrębną postać tego zespołu Aerofagia została przeklasyfikowana jako część grupy H1, która obejmuje objawy związane z wymiotami i aerofagią. Modyfikacja ta pozwoliła zwiększyć zgodność czynnościowych bólów brzucha z kryteriami Apleya do 86%. Kryteria te różnią się od wymogów dla osób dorosłych [5].

Ból brzucha i objawy żołądkowo-jelitowe, takie jak wymioty lub biegunka, są częstymi dolegliwościami małych dzieci. Uważa się, że jest to raczej zaburzenie funkcjonalne, a nie choroba organiczna [1]. Czynnościowy ból brzucha (ang. functional abdominal pain disorder, FAPD) występuje u 10–19% dzieci, najczęściej w przedziale wiekowym 4–6 lat oraz u nastolatków [2-4].

Mikrobiota jelitowa to duża i zróżnicowana grupa mikroorganizmów żyjących w przewodzie pokarmowym. Ludzkie jelita zawierają około 10^{14} kom mikroorganizmów, które odgrywają ważną rolę w homeostazie jelit, co wpływa na metabolizm, zdrowie gospodarza. Mikrobiota jelitowa człowieka, a zwłaszcza bakterie probiotyczne odgrywają ważną rolę w homeostazie jelit i mają wpływ na metabolizm i zdrowie gospodarza. Wśród probiotycznych metabolitów SCFA są jednym ze składników postbiotycznych, które w znacznym stopniu przyczyniają się do utrzymania integralności tkanki przewodu

pokarmowego i mogą pozytywnie wpływać na odpowiedź immunologiczną organizmu Główne SCFA to kwas octowy, masłowy i propionowy (≥ 95%), podczas gdy kwasy mrówkowy, walerianowy, kapronowy itp. stanowią pozostałe SCFA, dzięki czemu obniżają pH światła jelita, poprawiają wchłanianie niektórych składników odżywczych i mają bezpośredni wpływ na skład mikrobiomu jelitowego. Ponadto SCFA są głównym źródłem energii dla komórek okrężnicy. Wykazano, że 70% energii uzyskiwanej przez komórki nabłonka jelit pochodzi z kwasu masłowego, który jest wytwarzany głównie przez bakterie komensalne, zwłaszcza z typu *Firmicutes,* takie jak *Ruminococcus* sp. i *Faecalibacterium* sp. Większość *E. coli* jest nieszkodliwa i pomaga w utrzymaniu zdrowia przewodu pokarmowego. Jednak *Escherichia coli* Nissle 1917, bakteria Gram-ujemna, o której donoszono, że jest bakterią probiotyczną, wytwarza również SCFA jako końcowe produkty metabolizmu węglowodanów w warunkach wzrostu beztlenowego, głównie z kwasem octowym i niektórymi kwasami propionowym i masłowym. Badanie wykazało, że szczepy *E. coli* izolowane ze zdrowych ludzkich odchodów wykazywały inny profil SCFA (krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych), co sugeruje, że są one bezpiecznymi bakteriami komensalnymi, ponieważ nie posiadały żadnego genu kodującego toksynę [133].

W badaniach przedstawiono wyniki badań nad zmianami w mikrobiomie jelitowym u dzieci z czynnościami bólami brzucha czy też IBS. Wyniki te sugerują, że zaburzenia w mikrobiomie jelitowym mogą mieć wpływ na rozwój objawów bólu brzucha u niektórych dzieci. Jednakże, większość tych badań jest niewielka i krótkotrwała, co ogranicza siłę ich wyników. Potrzebne są dalsze badania, aby dokładniej ocenić związek między mikrobiomem jelitowym a czynnościami bólami brzucha u dzieci [42,46,47,48,50].

Mikrobiota jelitowa to złożona społeczność mikroorganizmów, w tym bakterii, wirusów, grzybów i archeów, które zasiedlają jelita. Ta mikrobiota pełni kluczową rolę w regulacji funkcji jelitowych i metabolicznych organizmu. Czynniki związane z dysbiozą mikrobioty jelitowej, czyli zaburzeniami równowagi mikrobiotycznej, mogą wpływać na występowanie chorób układu pokarmowego, w tym czynnościowych bólów brzucha (FADP). Istnieją różne czynniki związane z występowaniem FAPD, takie jak zaburzenia motoryki jelitowej, czynniki psychospołeczne, dieta, alergie pokarmowe, a także czynniki związane z mikrobiotą jelitową. Badania wykazały, że mikrobiota jelitowa jest istotnym czynnikiem w patogenezie FAPD u dzieci. Stwierdzono, że skład mikrobiomu jelitowego dorosłych i dzieci z IBS (w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną) jest inny [175]. Jednym z mechanizmów związanych z rolą mikrobioty jelitowej

w FAPD jest zwiększone wytwarzanie gazów jelitowych, co może prowadzić do bólu i dyskomfortu brzucha. Ponadto, wykazano, że niektóre szczepy bakterii jelitowych mogą wpływać na wrażliwość błony śluzowej jelit, co z kolei może prowadzić do zwiększonej percepcji bólu i występowania FAPD.W badaniach udowodniono, że niektóre bakterie probiotyczne takie jak *Lactobacillus acidophilus* NCFM (L-NCFM) i *Bifidobacterium lactis* Bi-07 (B-LBi07) podawane dwa razy dziennie łagodzą objawy wzdęć u pacjentów z FABD. Dane te potwierdzają rolę bakterii jelitowych w patofizjologii FABD oraz rolę bakterii probiotycznych w leczeniu tych zaburzeń.[52]. W innym badaniu modyfikacje mikrobioty jelitowej za pomocą probiotyków wykazują obiecujące rezultaty w łagodzeniu objawów czynnościowych bólów brzucha u dzieci. Badanie wykazało, że suplementacja probiotykami z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* przyniosła istotną poprawę w częstotliwości i nasileniu bólów brzucha u dzieci [51].

Wpływ bakterii jelitowych na FAPD został zbadany w wielu badaniach klinicznych, w tym w metaanalizach [85,86,87]. Wyniki tych badań sugerują, że mikrobiota jelitowa może wpływać na występowanie FAPD poprzez wpływ na czynniki takie jak: stan zapalny, czynność motoryczna jelit, obrona immunologiczna i procesy trawienne [88].

Jednym z mechanizmów, które mogą przyczynić się do występowania FAPD jest dysbioza jelitowa, czyli zaburzenia równowagi mikrobioty jelitowej [88]. Wyniki badań wskazują, że pacjenci z FAPD mają zmniejszoną różnorodność mikrobioty jelitowej, co może wpłynąć na funkcjonowanie przewodu pokarmowego [89]. Innym mechanizmem jest wpływ na czynność motoryczną jelit. Badania sugerują, że niektóre szczepy bakterii jelitowych mogą wpływać na rytm skurczów jelitowych i wydzielanie hormonów jelitowych, co może prowadzić do bólu brzucha i zaburzeń rytmu wypróżnień [68,90].

Dodatkowo, mikrobiota jelitowa może wpływać na procesy trawienne i wchłanianie składników odżywczych [91]. Nieprawidłowa flora jelitowa może prowadzić do zaburzeń trawienia i wchłaniania składników odżywczych, co z kolei może prowadzić do bólu brzucha i innych objawów FAPD.

Wpływ bakterii jelitowych na czynnościowe bóle brzucha jest ważnym obszarem badań i istnieją dowody na to, że mikrobiota jelitowa może wpływać na występowanie FAPD poprzez różne mechanizmy, takie jak zaburzenia równowagi mikrobioty jelitowej, wpływ na czynność motoryczną jelit i procesy trawienne. Dalsze badania są jednak potrzebne, aby lepiej zrozumieć rolę mikrobioty jelitowej w patogenezie FAPD i opracować nowe terapie oparte na manipulacji składem bakteryjnym. Wyniki badań

wskazują, że pacjenci z FAPD mają zmniejszoną różnorodność mikrobioty jelitowej, co może wpłynąć na funkcjonowanie przewodu pokarmowego [67]. Dodatkowo, mikrobiota jelitowa może wpływać na procesy trawienne i wchłanianie składników odżywczych [69]. Nieprawidłowa flora jelitowa może prowadzić do zaburzeń trawienia i wchłaniania składników odżywczych, co z kolei może prowadzić do bólu brzucha i innych objawów FAPD.

Stwierdza się, że jelitowy zespół funkcjonalnych zaburzeń bólowych (FAPD) charakteryzuje się statycznym mikrobiomem w porównaniu do zdrowej grupy o podobnym wieku. Odkrycie to wymaga potwierdzenia poprzez przeprowadzenie wieloośrodkowych badań na większej próbie populacji. Warto zauważyć, że wybrana grupa pacjentów stanowi niedostatecznie zbadany segment populacji, przy czym aż 25% dzieci z FAPD rozwija objawy zespołu jelita drażliwego (IBS) w wieku dorosłym. Mikrobiom jelitowy u pacjentów z FAPD (czynnościowe bóle brzucha) może charakteryzować się stabilnym profilem, co może pomóc zrozumieć związek z objawami, takimi jak stres związany z występowaniem dolegliwości. Na podstawie tych obserwacji, możliwe jest przeprowadzenie badań mających na celu pomiar różnic w składzie bakteryjnym lub metabolitach zawartych w kale pacjentów z FAPD [70].

Wniosek, że mikrobiota jelitowa odgrywa ważną rolę w patogenezie FAPD u dzieci, jest jednoznaczny i poparty wynikami licznych badań. Jednakże, nadal wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi i konieczne są dalsze badania w tym zakresie.

3.2. Przyczyny występowania bólu brzucha u dzieci

Przyczyna przewlekłego bólu brzucha nie została wyjaśniona. W obszarze medycznym zwraca się uwagę na występowanie różnych zaburzeń dotyczących motoryki jelita grubego oraz percepcji wewnętrznych odczuć związanych z trzewiami. Dodatkowo, badania skupiają się na zależnościach między funkcjonowaniem jelitowego układu nerwowego a centralnego układu nerwowego, przy uwzględnieniu wpływu na szlaki nerwowe. Zaburzenia te mogą wynikać z różnych czynników, w tym zarówno infekcji jak i czynników psychosomatycznych. Badania w tym obszarze pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy patologiczne i opracować bardziej precyzyjne metody diagnostyki oraz terapii. [7].

U dzieci cierpiących na czynnościowe bóle brzucha zaobserwowano zwiększoną amplitudę skurczów dwunastnicy oraz częstsze występowanie wędrujących kompleksów

motorycznych (Migrating Motor Complex - MMC), które przemieszczają się wolniej wzdłuż jelita. Dodatkowo, zaobserwowano zmniejszoną aktywność układu współczulnego w porównaniu do układu przywspółczulnego, co zwiększa amplitudę skurczów perystaltycznych i może być jedną z przyczyn bólu brzucha. U dzieci z diagnozą dyspepsji czynnościowej obserwuje się szereg zmian w funkcjonowaniu układu pokarmowego. Jedną z nich jest opóźnione opróżnianie żołądka, co oznacza, że proces przesuwania pokarmu z żołądka do jelit przebiega wolniej niż normalnie. Zaburzenia koordynacji między żołądkiem a dwunastnicą również występują, co oznacza, że synchronizacja skurczów mięśniowych tych narządów jest zakłócona. Dodatkowo, zaobserwowano nieprawidłową czynność mioelektryczną żołądka, czyli zaburzenia w rytmie i sekwencji elektrycznych impulsów regulujących skurcze mięśniowe żołądka. W przypadku dyspepsji czynnościowej często występuje tachygastria, czyli przyspieszony rytm czynnościowy żołądka oraz dysrytmia, czyli nieregularność w sekwencji impulsów. Te nieprawidłowości w czynności żołądka mogą przyczyniać się do dolegliwości bólowych brzucha i trudności w trawieniu u dzieci dotkniętych tym schorzeniem. [8]. W przypadku dzieci z zespołem jelita nadwrażliwego zaobserwowano opóźnienie czasu pasażu pokarmu przez jelita. Czynność motoryczna przewodu pokarmowego jest regulowana na różnych poziomach, włączając w to jelitowy układ nerwowy, układ wegetatywny i ośrodkowy układ nerwowy. Zaburzenia czucia trzewnego mogą występować na poziomie receptorów, dróg przewodzących, w układzie autonomicznym oraz w percepcji na poziomie ośrodkowego układu nerwowego. Można zaobserwować zaburzenia receptorów, które mogą wynikać z obniżonego progu wrażliwości na ból lub nadmiernych reakcji na fizjologiczne bodźce. Istnieje przypuszczenie, że receptory jelitowe odpowiedzialne za odczuwanie bólu są bardziej wrażliwe na rozciąganie jelita w sposób bierny niż na aktywne skurcze mięśniowe. Istnieje przypuszczenie, że receptory jelitowe odpowiedzialne za odczuwanie bólu są bardziej wrażliwe na pasywne rozciąganie jelita niż na aktywne skurcze mięśniowe. Bodźce przekazywane przez drogi współczulne i przywspółczulne mogą ulec modyfikacji przez układ siateczkowaty, limbiczny oraz ośrodkowe centra analizatorowe, co może prowadzić do tłumienia lub nasilenia odczuwania bólu. Wpływ modulujący, czyli wzmacniający lub tłumiący, może być obserwowany w zakresie doznań związanych z innymi zmysłami, takimi jak wzrok, słuch czy powonienie, a także w kontekście stanu emocjonalnego i nastroju dziecka. Ważnym czynnikiem jest również stan psychiczny pacjenta, obecność stresu, lęków oraz umiejętność radzenia sobie ze stresem, nawyki kulturowe oraz doświadczenia życiowe, takie jak wystąpienie fizycznego czy seksualnego

molestowania, a także subiektywne znaczenie bólu w danej sytuacji życiowej (czy jest on korzystny czy niekorzystny) pacjenta. U dzieci cierpiących na zespół jelita drażliwego (IBS) oraz czynnościowy ból brzucha zaobserwowano tendencję do mniej skutecznych strategii radzenia sobie ze stresem. Dodatkowo u tych dzieci występuje nadwrażliwość trzewna [9,10].

W przypadku znaczącego odsetka dzieci z nawracającymi bólami brzucha można stwierdzić występowanie nietolerancji laktozy. Wprowadzenie diety eliminacyjnej bez laktozy przyniosło obserwowalną poprawę u tych pacjentów. W przypadku pacjentów z zespołem jelita drażliwego (IBS), częstsze występowanie nietolerancji laktozy zaobserwowano w krajach Europy Południowej, natomiast nietolerancja fruktozy i sorbitolu częściej występuje w krajach skandynawskich [11].

Patogeneza FAPD pozostaje słabo poznana, chociaż ostatnio zauważono złożoną interakcję między jelitami a mózgiem [6].

3.3. Diagnostyka mikrobioty jelitowej i jej znaczenie w kształtowaniu zdrowia

W diagnostyce FAPD wykorzystuje się Kryteria Rzymskie IV [6]. Pewne zmiany wprowadzono także w kryteriach zaburzeń czynnościowych u dzieci i młodzieży. Ze względu na specyfikę zaburzeń w tych grupach wiekowych utrzymano pojęcie zaburzeń czynnościowych, w przeciwieństwie do zmian wprowadzonych do kryteriów zaburzeń występujących u dorosłych. Dokonano modyfikacji nazwy kategorii H1 Kryteriów Rzymskich IV, która odnosi się do zaburzeń występujących u dzieci i młodzieży w wieku 4-18 lat. Poprzednio była ona określana jako „Nudności i aerofagia", lecz teraz została zmieniona na „Zaburzenia czynnościowe związane z nudnościami i wymiotami". W tej aktualizacji zachowano jednak cztery główne rozpoznania w tej grupie zaburzeń, łącznie z aerofagią. Warto dodać, że aerofagia została usunięta z kategorii zaburzeń u dorosłych ze względu na dobrze udokumentowane występowanie zjawiska nadmiernego połykania powietrza u dzieci. Zmiana dotyczy także określenia częstości występowania czynnościowego bólu brzucha u dzieci z „co najmniej raz w tygodniu" na „4 razy w miesiącu". W przypadku zaburzeń defekacji, zarówno zaparcia czynnościowego, jak i nieretencyjnego nietrzymania stolca, skrócono czas występowania objawów umożliwiający postawienie diagnozy z 2 miesięcy do 1 miesiąca, podobnie jak jest to w młodszej grupie wiekowej [6].

U wszystkich pacjentów zgłaszających się do zakładów opieki zdrowotnej z objawami FAPD należy przeprowadzić szczegółową ocenę wywiadu rodzinnego, przyjmowanych leków, charakterystyki bólu oraz nawyków żywieniowych, a także częstotliwości oddawania stolca.

Na uwagę zasługuje fakt, że w niektórych przypadkach, zgodnie z decyzją lekarza, istotne może być przeprowadzenie badania fizykalnego (w tym badania per rectum), badań laboratoryjnych oraz oceny psychospołecznej. Ponadto, badania ultrasonograficzne jamy brzusznej mogą okazać się wartościowe dla dalszej diagnostyki [181].

3.3.1. Bakterie tlenowe i względnie beztlenowe

3.3.1.1. ***Escherichia coli*** - Bakteria ta jest powszechnie występująca w jelitach człowieka. *E. coli* to Gram-ujemna, oksydazo-ujemna bakteria w kształcie pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*. Jest w stanie rosnąć zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych, najlepiej w temperaturze 37°C [53].

Escherichia coli jest, paradoksalnie, zarówno najczęstszą komensalną względnie beztlenową Gram-ujemną pałeczką jelitową kręgowców, jak i jednym z głównych patogenów, odpowiedzialnym zarówno za zakażenia wewnątrzjelitowe, jak i pozajelitowe [143]. Patogenne serotypy *E. coli* mogą powodować szeroki zakres chorób u ludzi, od przewodu pokarmowego po miejsca pozajelitowe, takie jak układ moczowy, krwioobieg i ośrodkowy układ nerwowy. Różnorodność szczepów *E. coli* jest niezwykła, począwszy od nieszkodliwych, zasiedlających przewód pokarmowy, a skończywszy na różnorodnych patogenach zdolnych do wywoływania chorób jelitowych lub pozajelitowych. Wydaje się oczywiste, że patogenne serotypy *Escherichia coli* nadal podlegają ewolucji, jak dowodzi epidemia wywołana hybrydowym szczepem EAEC-STEC w 2011 roku, która dotknęła wiele krajów w Europie. Ten przykład jednoznacznie wskazuje na zdolność patogennych szczepów *E. coli* do przenoszenia się i szerzenia infekcji. Niskie dawki infekcyjne wielu patotypów oraz ich potencjał do rozprzestrzeniania się w różnych źródłach są niezwykle istotne. Żywność, woda, zwierzęta hodowlane, zwierzęta domowe oraz interakcje międzyludzkie stanowią potencjalne punkty zanieczyszczenia i przenoszenia tych patogennych bakterii [53].

Enteropatogenne szczepy *Escherichia coli* (EPEC) są odpowiedzialne za wywoływanie biegunek poprzez zakłócenie funkcji nabłonka jelitowego. W procesie tym wiele zmian w komórkach gospodarza jest mediowanych przez cząsteczki efektorowe,

które są wydzielane bezpośrednio do komórek nabłonka przez system wydzielniczy typu III EPEC. Jedną z istotnych cząsteczek efektorowych jest EspF, który odgrywa kluczową rolę w przemodelowaniu białek połączeń ścisłych oraz wpływa na funkcję bariery nabłonkowej. Autorzy badań zidentyfikowali różne mechanizmy, za pomocą których EPEC mogą prowadzić do uszkodzenia bariery jelitowej. Są to m. in.: adhezja do nabłonka jelitowego, tworzenie i inwazja kolonii bakteryjnych oraz produkcja toksyn. W wyniku tych procesów dochodzi do aktywacji układu immunologicznego oraz zwiększenia przepuszczalności jelitowej. Zwiększona przepuszczalność jelitowa może umożliwiać przenikanie bakterii oraz cząsteczek prozapalnych do tkanki podśluzowej, co w efekcie prowadzi do stanu zapalnego i występowania bólu brzucha [132].

Metabolity wydzielane przez szczep *E. coli* KUB-36 charakteryzowały się niższą aktywnością cytotoksyczną w stosunku do zdrowych komórek. Natomiast wykazywały one wyższą aktywność cytotoksyczną w przypadku komórek nowotworowych. Dodatkowo, metabolity *E. coli* KUB-36 wykazywały działanie przeciwzapalne na komórki makrofagów stymulowane lipopolisacharydem (LPS) poprzez skuteczne hamowanie wytwarzania cytokin zapalnych, takich jak IL-6, IL-8, IL-1β i TNF-α. W szczególności, metabolity E. coli KUB-36 zawierające głównie kwas octowy wywierały istotnie korzystny wpływ na aktywność przeciwzapalną komórek makrofagów poprzez stymulację produkcji IL-6, IL-1β i TNF-α. Wyniki tego badania stanowią silne dowody na potencjalne właściwości probiotyczne szczepu *E. coli* KUB-36. Niemniej jednak, obecne wyniki wskazują na obiecujące możliwości wykorzystania tego szczepu jako składnika terapii mających na celu zapobieganie i leczenie różnych stanów zapalnych oraz raka [133].

3.3.1.2. *Proteus* sp. to rodzaj bakterii Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae*, który obejmuje kilka gatunków, w tym *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri* i *Proteus hauseri*. Bakterie z tego rodzaju są ruchliwe i wytwarzają charakterystyczne, mlecznobiałe kolonie na agarze [106]. *Proteus* sp. mogą występować jako naturalna flora jelitowa u ludzi i zwierząt, ale mogą także powodować u ludzi m. in. zakażenia dróg moczowych, rany, zapalenia płuc i sepsę. *Proteus* sp. to bakterie oportunistyczne, które wykorzystują okazje do infekcji w osłabionych organizmach lub w obecności uszkodzonej bariery skórnej lub błony śluzowej. *Proteus mirabilis* jest najczęściej izolowanym gatunkiem z tego rodzaju w zakażeniach dróg moczowych. Bakteria ta wytwarza fimbrie, które umożliwiają jej przyleganie do powierzchni dróg moczowych, co może prowadzić do tworzenia kamieni nerkowych lub kryształów moczanowych. *Proteus vulgaris* jest

natomiast najczęściej izolowany w trakcie infekcji skórnych lub z ran. Bakterie z tego gatunku wytwarzają enzymy proteolityczne i hemolityczne, co umożliwia im penetrację do tkanek gospodarza i wywołanie zapalenia [107].

Gatunki z rodzaju *Proteus*, są powszechnie uważane za naturalne symbionty jelitowe i najczęściej identyfikowane klinicznie jako czynniki infekcyjne związane z infekcjami dróg moczowych. Niemniej jednak, niedawne badania wykazały potencjalną rolę pałeczek *Proteus* sp. jako patogenów jelitowych, zwłaszcza w nawrocie choroby Leśniowskiego-Crohna po resekcji jelita. Przedstawiciele *Proteus* sp. wykazują wiele czynników wirulencji, które mogą mieć znaczenie dla patogenności w przewodzie pokarmowym, takich jak ruchliwość, zdolność do adhezji, produkcja ureazy, hemolizyn i proteazy IgA, oraz zdolność do rozwoju oporności na antybiotyki. W środowisku żołądka i jelit, obecność *Proteus* sp. może wiązać się z różnymi schorzeniami, takimi jak zapalenie żołądka i jelit, zakażenia szpitalne, zapalenie wyrostka robaczkowego oraz choroba Leśniowskiego-Crohna [101- 105]. Pałeczki *Proteus* sp. zostały również wyizolowane z płynu czczego u 11% pacjentów z zespołem przerostu bakteryjnego jelita cienkiego (SIBO), który często rozwija się w wyniku rozwoju nieprawidłowych zbiorowisk bakterii beztlenowych. Gatunki *Proteus* sp. wykazują odporność, adaptacyjność i potencjalną patogenność w środowisku przewodu pokarmowego człowieka, jednak ich rola jako czynnika wywołującego choroby żołądkowo-jelitowe często jest niedoceniana. Interakcje między gospodarzem a *Proteus* sp., a także patogenność tego rodzaju bakterii, która może wynikać z ekspansji populacji w odpowiedzi na zmiany środowiskowe, stanowią istotne czynniki związane z chorobami związanymi z tymi mikroorganizmami [105].

Pałeczki *Proteus* sp. są także zdolne do wytwarzania różnych toksyn, w tym hemolizyn, cytotoksyn i endotoksyn, co przyczynia się do ich patogenności. Hemolizyny to toksyny, które niszczą krwinki czerwone, co może prowadzić do hemolizy i niedokrwistości.

Warto zauważyć, że *Proteus* sp. mają zdolność do szybkiego przystosowywania się do zmieniających się warunków środowiska. Bakterie te potrafią szybko zmieniać swoją ekspresję genów i modyfikować swoje cechy fenotypowe, co może wpłynąć na ich patogenność i reakcje na antybiotyki [107].

3.3.1.3. *Klebsiella* sp. należą do rodziny *Enterobacteriaceae* i są nieruchliwymi, pałeczkami Gram-ujemnymi, posiadającymi otoczkę. Przedstawiciele gatunku *Klebsiella pneumoniae* są komensalnymi bakteriami występującymi w przewodzie pokarmowym i

oddechowym oraz na skórze osób zdrowych. Są również wszechobecne w środowisku. Pałeczki te są patogenami oportunistycznymi, zdolnymi do wywoływania szerokiego zakresu zakażeń poza szpitalnych i szpitalnych, takich jak zakażenia dróg moczowych (ZUM), zakażenia dróg oddechowych oraz zakażenia ran i tkanek miękkich. Wytwarzanie otoczki polisacharydowej stanowi ważny czynnik wirulencji *Klebsiella* sp. Otoczka ta umożliwia bakteriom przyleganie do powierzchni komórek gospodarza, co ułatwia ich inwazję i powoduje oporność na fagocytozę. Otoczka polisacharydowa stanowi także ważny element diagnostyczny, ponieważ wiele szczepów *Klebsiella* sp. wykazuje specyficzne cechy antygenowe związane z ich otoczką polisacharydową. Warto zaznaczyć, że niektóre szczepy *Klebsiella* sp. wykazują także zdolność do tworzenia biofilmu, czyli warstwy bakteryjnej osadzonej na powierzchni, co zwiększa ich oporność na leki i może prowadzić do przewlekłych infekcji [109].

Pałeczki *Klebsiella* sp. wykazują oporność na czynniki zewnętrzne dzięki wytwarzaniu otoczki polisacharydowej. *Klebsiella* sp. są bakteriami oportunistycznymi, które mogą powodować wiele różnych zakażeń, takich jak zapalenie płuc, zapalenie opon mózgowych, zakażenia układu moczowego oraz sepsę. Wytwarzanie otoczki polisacharydowej oraz β-laktamaz stanowią ważne czynniki wirulencji *Klebsiella* sp. Szczepy należące do tego rodzaju mogą także wykazywać oporność na antybiotyki, w tym karbapenemy, co utrudnia leczenie zakażeń. Badania wykazały, że szczególnie niebezpieczne są tzw. szczepy KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), które wykazują oporność na wiele różnych klas antybiotyków, w tym na karbapenemy, które są uważane za ostatnią linię obrony w leczeniu zakażeń bakteryjnych [109,110].

Pewne badania sugerują, że pałeczki z rodzaju *Klebsiella* mogą odgrywać rolę w rozwoju IBS poprzez wpływ na mikrobiom jelitowy i układ odpornościowy [110].
Czynnościowe zaburzenia żołądkowo-jelitowe (FGID) stanowią jedną z najczęstszych dolegliwości u dzieci w pierwszym roku życia. W jednym z badań oceniano potencjał chorobotwórczy szczepów *Klebsiella* sp., które zostały wyizolowane z okrężnicy dzieci w pierwszym roku życia z FGID (czynnościowe zaburzenia przewodu pokarmowego). Wyniki wskazują, że wśród tych szczepów *Klebsiella* sp., które są obecne w jelitach dzieci jako składnik obcej mikroflory, można zaobserwować wystarczająco wysoki potencjał wirulencji [111]. W innym badaniu zwrócono uwagę, że *Klebsiella pneumoniae*, może prowadzić do zniszczenia bariery nabłonkowej jelit, nadmiernego wydzielania cytokin zapalnych, zaburzenia układu odpornościowego gospodarza i dysbiozę mikrobioty jelitowej, w konsekwencji pogarszając przewlekły stan zapalny jelit. Badano tam dysbiozę

mikrobioty jamy ustnej. To ciekawe badanie może otworzyć przyszłe horyzonty dla zrozumienia patogenezy IBD i dostarczyć nowych biomarkerów dla IBD [112].

Wykazano, że określone gatunki bakterii (*Klebsiella pneumoniae* oraz *Proteus mirabilis*), które nie wpływają na ogólny skład mikrobiomu jelitowego, niezależnie napędzają chorobę okrężnicy w obecności endogennej mikrobiotę w mysim modelu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego [113].

Rola zmian mikrobiomu jelitowego w patogenezie nieswoistych zapaleń jelit (NZJ) jest szeroko uznawana. Jednym z patobiontów jelitowych jest *Klebsiella oxytoca*, który potencjalnie może produkować cytotoksynę o nazwie tilliwalina. Częstość występowania *K. oxytoca* w NZJ wynosi ogółem 4,7%. Analiza nie wykazała istotnych różnic w rozmieszczeniu szczepów *K. oxytoca* między grupami (aktywna faza vs. remisja w przypadku wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego-Crohna). Dane te wskazują, że obecność *K. oxytoca* wytwarzającej toksynę tilliwalinę nie jest związana z nasileniem objawów IBD. Mimo że istnieje duża niejednoznaczność dotycząca roli *Klebsiella* sp., część badań sugeruje możliwy udział tych bakterii w procesach zapalnych jelit [114].

3.3.1.4. *Hafnia alvei* jest typowym gatunkiem z rodzaju *Hafnia* i jest powszechnym przedstawicielem mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka. Historycznie nie był postrzegany jako znaczący patogen; jest jednak coraz częściej rozpoznawana jako przyczyna infekcji w różnych miejscach ciała, szczególnie u pacjentów z chorobami współistniejącymi [115]. Jedno z badań na zwierzętach z 2020 roku, wykazało, że *H. alvei* HA4597 wykazuje pożądane właściwości probiotyczne suplementu przeciw otyłości lub odchudzaniu, tj. wywołuje działanie anoreksogenne i lipolityczne u hiperfagicznych myszy, powodując zmniejszenie masy tłuszczowej i przyrost masy ciała. Efekty obniżania masy ciała i tkanki tłuszczowej obserwowano również u otyłych myszy, chociaż bez znaczących działań anoreksogennych i lipolitycznych [144]. W innym badaniu wykazano, że mikroflora jelitowa otyłych pacjentów oraz pacjentów z chorobą nowotworową ma wspólny charakterystyczny profil mikrobiologiczny z wysoką kolonizacją przez gatunki degradujące mucynę, takie jak *Hafnia alvei* i *Akkermansia muciniphila* [167].

3.3.1.5. *Serratia* sp., należący do rodziny *Enterobacteriaceae,* obejmuje co najmniej 15 gatunków. Spośród nich, *Serratia marcescens* jest głównym gatunkiem patogennym dla ludzi. Jednak niewielka liczba przypadków zakażeń u ludzi jest spowodowana również

przez inne gatunki, takie jak *S. liquefaciens, S. rubidaea, S. plymuthica, S. odorifera, S. ficaria* i *S. fonticola*. Najczęściej izolowane od ludzi szczepy *Serratia* sp. nie fermentują laktozy, ale wykazują zdolność do redukcji azotanów (V) do azotanów (III). Są katalazo-dodatnie, oksydazo-ujemne i fermentują glukozę oraz wiele innych cukrów [116]. Stwierdzono, że *Serratia marcescens* jest związana z infekcjami płuc, opon mózgowych, wsierdzia, oparzeń i dróg moczowych, chociaż jej patogenna rola nie została jasno określona w każdym przypadku. Izolowana była również, bez widocznej infekcji, z przewodu pokarmowego noworodka [145].

Wpływ na czynnościowe bóle brzucha nie jest znany i nie obserwuje się go w badaniach klinicznych.

3.3.1.6. *Providencia* sp. to Gram-ujemne, ruchliwe pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae*. W obrębie tego rodzaju klasyfikuje się kilka gatunków: *Providencia alcalifaciens, Providencia rustigianii, Providencia stuartii, Providencia rettgeri* i *Providencia heimbachae*. Są to patogeny oportunistyczne i prowadzą do infekcji u gospodarza z obniżoną odpornością. Źródła *Providencia* sp. są zróżnicowane, a każdy gatunek ma preferowane siedlisko. *P. alcalifaciens* i *P. rustigianii* zostały wyizolowane z okrężnicy i kału, *P. stuartii* z ran, dróg moczowych i dróg oddechowych, a *P. heimbachae* z kału pingwinów. Najczęściej izolowaną bakterią *Providencia* sp. u człowieka jest *P. stuartii*, która na oddziałach intensywnej terapii prowadzi do infekcji dróg moczowych i bakteriemii. *P. rettgeri* został wyizolowany z drobiu, odchodów gadów i płazów oraz z wód powierzchniowych. Rzadko jest izolowany z ludzkich odchodów i dróg moczowych. Różne infekcje powodowane przez gatunki *Providencia* sp. to zakażenie dróg moczowych, bakteriemia, zapalenie wsierdzia, zakażenie miejsca operowanego, zakażenie tkanek miękkich, ropień mózgu, zapalenie opon mózgowych, zakażenie miejsca oparzenia, zakażenie urządzenia wewnątrznaczyniowego, zakażenie oka, odmiedniczkowe zapalenie nerek z ksantogranulomatem, zapalenie otrzewnej, zakażenie w obrębie jamy brzusznej [117]. *P. rettgeri* jest enteropatogenem u dorosłych. Uważa się, że *P. rettgeri* jest przyczyną biegunki wśród podróżnych [118]. W kilku badaniach zasugerowano, że *P. alcalifaciens* może powodować biegunkę poprzez inwazję błony śluzowej jelit, chociaż mechanizm patogenności nie został dobrze ustalony [119].

W badaniu z 2021 roku odkryto wpływ bakterii *Providencia* sp., na ścieżkę neuroprzekaźników, które są wytwarzane przez naturalne bakterie komensalne. Okazało

się, że bakterie te wpływają na sensoryczne decyzje behawioralne gospodarza poprzez uzupełnianie lub kompensowanie aktywności kluczowych enzymów biosyntetycznych. W rezultacie zmienia się sprawność zarówno gospodarza, jak i samego drobnoustroju [168].

3.3.1.7. *Morganella morganii* obecnie bakterie z rodzaju *Morganella*, w tym *Morganella morganii*, należą obecnie do grupy *Proteae* z rodziny *Enterobacteriaceae*, wraz z rodzajami *Proteus* i *Providencia*. Te mikroorganizmy występują powszechnie w środowisku naturalnym, a ich naturalnym środowiskiem wzrostu są woda i gleba. Mogą stanowić naturalną mikrobiotę przewodu pokarmowego ssaków oraz gadów. *M. morganii* to pałeczki Gram-ujemne o długości 1,0–1,7 μm i szerokości 0,6–0,7 μm. Większość szczepów jest ruchliwa (urzęsienie okołorzęse). Są nieprzetrwalnikujące, nie wytwarzają otoczki. Bakterie z rodzaju *Morganella,* w tym *Morganella morganii*, są klasyfikowane jako względne beztlenowce, które nie wykazują aktywności oksydazy cytochromowej. Należą do grupy chemoorganotrofów, charakteryzujących się metabolizmem fermentacyjnym. W procesie fermentacji przekształcają glukozę w kwas i gaz, fermentują mannozę, jednak nie zachodzi fermentacja laktozy [120].

Pałeczki z gatunku *M. morganii* cechują się ograniczoną zdolnością do inwazji. W przypadku osób zdrowych rzadko powodują infekcje, ale w środowisku szpitalnym mogą być przyczyną ciężkich zakażeń o charakterze oportunistycznym, które są związane z wysokim ryzykiem śmiertelności [121]. W badaniach nie zaobserwowano wpływu na zaburzenia jelitowe. Zwiększona przepuszczalność jelita, znana również jako „nieszczelne jelito", odgrywa istotną rolę w osi jelitowo-mózgowej poprzez wpływ na procesy immunologiczno-zapalne w całym organizmie. W przypadku dużego zaburzenia depresyjnego (MDD) zaobserwowano wyższe poziomy odpowiedzi immunologicznej (IgM/IgA) w surowicy krwi na LPS, czyli lipopolisacharyd bakterii Gram-ujemnych. To sugeruje, że może występować zwiększona translokacja bakterii z jelit do innych obszarów organizmu oraz dysbioza jelitowa [169]. Już w 2008 roku opublikowano pierwszy artykuł wykazujący, że dużemu zaburzeniu depresyjnemu (MDD) towarzyszą nieprawidłowości w osi mikrobiota-jelito-mózg, o czym świadczy podwyższony poziom IgM/IgA w surowicy do lipopolisacharydów (LPS) bakterii Gram-ujemnych, takich jak *Morganella morganii* i *Klebsiella pneumoniae* [170].

3.3.1.8. *Kluyvera sp*. jest Gram-ujemnym, fakultatywnie beztlenowym, ruchliwym rodzajem bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Przedstawiciele *Kluyvera* sp. występują w

wodzie, glebie i ściekach. Bakterie *Kluyvera* sp. mogą powodować zakażenia oportunistyczne u pacjentów z obniżoną odpornością.

Jedno z badań, w którym przeanalizowano kilka przypadków zakażeń, ilustrują różne objawy infekcji *K. ascorbata* o różnym nasileniu, w różnych miejscach, zarówno wśród gospodarzy immunokompetentnych, jak i z obniżoną odpornością [122].

W populacji pediatrycznej jest opisywana w powiązaniu z klinicznie istotnymi zakażeniami, od infekcji dróg moczowych do posocznicy z niewydolnością wielonarządową. W analizie wystąpiła posocznica, bakteriemia związana z centralnym cewnikiem żylnym, od miedniczkowe zapalenie nerek i gromadzenie płynu w jamie brzusznej. Wiek badanych pacjentów wahał się od siedmiu miesięcy do 17 lat [123].

3.3.1.9. *Citrobacter* sp. to rodzaj bakterii należący do rodziny *Enterobacteriaceae*, obejmujący 11 gatunków. Komórki bakterii *Citrobacter* sp. są stosunkowo dużymi, ruchliwymi pałeczkami (średnica ok. 1 μm i długości 2-6 μm), nie wytwarzającymi otoczek. Występują w kale i moczu człowieka oraz innych kręgowców, a także w glebie, wodzie, ściekach oraz żywności. Niektóre gatunki (*C. amalonaticus, C. koseri, C. freundii*) wykorzystują cytryniany jako jedyne źródło węgla [124].

Bakterie z rodzaju *Citrobacter* są uważane za patogeny oportunistyczne, które mogą powodować różne infekcje związane z układami: moczowym (najczęściej), oddechowym, nerwowym. Mogą przyczyniać się do wystąpienia zakażenia otrzewnej czy wsierdzia. Jednak ze względu na rzadkość zachorowań spowodowanych tymi mikroorganizmami, liczba przeprowadzonych badań klinicznych nad *Citrobacter* sp. jest ograniczona [122].

Wpływ pałeczek *Citrobacter* sp. na mikrobiom jelitowy i jego skład bakteryjny jest słabo zbadany. Obecnie brak jest wystarczających dowodów, aby jednoznacznie określić wpływ *Citrobacter* sp. na czynnościowe bóle brzucha. W badaniach na myszach z 2010 roku, odkryto, że stres sam w sobie nie zmienia ekspresji genów cytokin w okrężnicy, ale czyni myszy bardziej podatnymi na infekcje jelitowe *Citrobacter* sp. [171]. Dysbioza jelit i niektóre drobnoustroje jelitowe są związane ze zmianami w reakcjach behawioralnych i różnymi patologiami mózgu. Wśród nielicznych publikacji na ten temat, wykazano, że wkrótce po zakażeniu *Citrobacter* sp. (7-8 godzin po podaniu doustnym zgłębnikiem) myszy wykazywały wzrost zachowań podobnych do lęku, które są niezależne od indukcji krążących cytokin prozapalnych. Chociaż nie zbadano specyficznych mechanizmów, autorzy tych badań zaobserwowali aktywację białka c-Fos w neuronach zwojów nerwu

błędnego myszy zakażonych *Citrobacter* sp., co sugerowałoby szlak czuciowy, w którym pośredniczą neurony nerwu błędnego. Wykrycie i odpowiedź *Citrobacter* sp. na różne neurochemikalia w jelitach, takie jak katecholaminy, serotonina i endokannabinoidy, sugeruje potencjał modulacji poziomów tych związków chemicznych w jelitach oraz interakcji z ich receptorami bakteryjnymi jako obiecującą strategię przeciwwirusową w leczeniu infekcji jelitowych. Jednocześnie, coraz większa liczba dowodów wskazuje, że infekcja Citrobacter może wpływać na funkcje mózgu i zachowanie gospodarza poprzez modyfikację składu mikroflory jelitowej oraz indukcję stanu zapalnego w jelitach [171,172].

3.3.1.10. *Pseudomonas* sp. to rodzaj bakterii Gram-ujemnych, niezwykle zróżnicowanych pod względem biochemicznym i genetycznym. Bakterie te występują powszechnie w glebie, wodzie oraz w środowisku ludzkim, w tym w przewodzie pokarmowym człowieka. *Pseudomonas aeruginosa* jest wszechobecnym patogenem zdolnym do infekowania praktycznie wszystkich tkanek. Duża różnorodność czynników wirulencji przyczynia się do jego znaczenia w ranach oparzeniowych, infekcjach płuc i infekcjach oczu [125]. Mikroorganizmy z rodzaju *Pseudomonas* wykazują zdolność do oddychania tlenowego, używając tlenu jako końcowego akceptora elektronów. Dodatkowo, niektóre z nich mogą przeprowadzać proces denitryfikacji, co pozwala na oddychanie bez udziału tlenu. Są katalazododatnie i należą do grupy chemoorganotrofów, jednak nie tworzą endospor. Charakteryzują się zdolnością do degradacji różnych związków organicznych, takich jak węglowodory i związki aromatyczne.

Jak wspomniano, bakterie te występują w różnych środowiskach, takich jak gleba, woda, ścieki i powietrze. Często kolonizują nowe środowiska, zwłaszcza jeśli dostępne są sole mineralne, cukry lub kwasy organiczne. Wiele gatunków *Pseudomonas* sp. ze względu na wytwarzanie ciepłoopornych enzymów proteolitycznych i lipolitycznych oraz ze względu na przynależność do mikroorganizmów psychrotrofowych przyczynia się do pojawiania się wad żywności, również przechowywanej w warunkach chłodniczych. Ponadto, niektóre z nich wykazują zdolność patogenności wobec ludzi (np. *Pseudomonas aeruginosa*), zwierząt i roślin (np. *Pseudomonas syringae*). Pałeczki z rodzaju *Pseudomonas* są również częstymi patogenami oportunistycznymi, co oznacza, że mogą wywoływać zakażenia u osłabionych organizmów [126]. Jednakże, obecnie brak jest wystarczających dowodów, aby jednoznacznie określić wpływ *Pseudomonas* sp. na czynnościowe bóle brzucha. Są badania pośrednio wskazujące na możliwość powiązania

wpływu *Pseudomonas* sp. na zmiany w mikrobiomie jelitowym. Prawie 65% (9 z 14) pacjentów wykazało nieprawidłową obecność drobnoustrojów jelitowych we krwi. Próbki osocza zawierały głównie *Proteobacteria, Firmicutes* i *Actinobacteria*. Populacja bakterii Gram-ujemnych m. in. *Pseudomonas* sp., u badanych pacjentów była wyższa niż bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus* sp. i *Lactobacillus* sp.). Również poziomy markerów przepuszczalności osocza jelita były wyższe u pacjentów z COVID-19 w porównaniu z osobami zdrowymi [173].

3.3.1.11 *Enterococcus* sp. to rodzaj bakterii Gram-dodatnich, które występują powszechnie w środowisku, w tym w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt. Bakterie te są w większości bezpieczne i przyczyniają się do utrzymania równowagi mikrobiomu jelitowego. Enterokoki to bakterie kwasu mlekowego (LAB), obejmujące zarówno mikroorganizmy patogenne, jak i komensalne, wszechobecne w środowisku, nawet jako symbionty jelitowe. Ze względu na tolerancję na sole i kwasy, paciorkowce z rodzaju *Enterococcus* sp. są wysoce przystosowane do kilku systemów żywnościowych, biorą również udział w fermentacji tradycyjnie wytwarzanych serów i suchych kiełbas. Doniesienia naukowe wskazują, że szczepy z tego rodzaju wytwarzają związki przeciwdrobnoustrojowe, w tym bakteriocyny, wykorzystywanych do biokonserwacji szerokiej gamy produktów spożywczych i jest obecnie uważana za cechę probiotyczną. Enterocyny wykazują szerokie spektrum działania, hamują nie tylko blisko spokrewnione gatunki, ale także patogeny Gram-dodatnie, w szczególności gatunek *Listeria monocytogenes*. Probiotyczne szczepy enterokoków można stosować w leczeniu i/lub zapobieganiu niektórym chorobom ludzi i zwierząt, takim jak łagodzenie objawów zespołu jelita drażliwego i biegunki wywołanej antybiotykami oraz zapobieganie różnym czynnościowym i przewlekłym chorobom jelit. Choroby przewodu pokarmowego są zwykle związane z dysbiozą mikroflory jelitowej [147]. Probiotyki wpływają na funkcjonalność przewodu pokarmowego poprzez różnorodne mechanizmy, takie jak zakłócanie przyłączania się patogenów do miejsc adhezji, konkurowanie z patogenami o składniki odżywcze, degradację lub inne zmiany receptorów toksyn, wytwarzanie substancji hamujących (np. bakteriocyn i/lub kwasów organicznych) oraz stymulację odporności/immunomodulacji [146]. Ponieważ wykazano, że właściwości probiotyczne są specyficzne dla szczepu, bardzo ważna jest dokładna identyfikacja szczepów, szczególnie z powodu ogromnego potencjału paciorkowców *Enterococcus* sp. w przenoszeniu genów lekooporności. Pomimo swojego potencjału chorobotwórczego enterokoki komensalne

generalnie wykazują niski poziom zjadliwości, o czym świadczy ich obecność jako naturalnych kolonizatorów przewodu pokarmowego ludzi i większości zwierząt oraz fakt, że od dziesięcioleci są one bezpiecznie stosowane jako probiotyki w preparatach adresowanych dla zwierząt rolnych hodowlanych [147].

3.3.2. Bakterie względnie beztlenowe

3.3.2.2. *Bifidobacterium* sp. - bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* są często stosowane jako probiotyki ze względu na ich korzystny wpływ na zdrowie jelit. Bifidobakterie, należące do typu *Actinobacteria* i stanowią naturalną mikrobiotę przewodu pokarmowego. W jelitach zdrowych niemowląt, po wyczerpaniu tlenu przez fakultatywne beztlenowce, populacje bifidobakterii dominują wśród mikroorganizmów. W wieku dorosłym, poziomy tych bakterii znacznie się zmniejszają, jednak pozostają względnie stabilne, choć ponownie maleją w starszym wieku. Niektóre szczepy bifidobakterii są szeroko stosowane jako probiotyki, a ich bezpieczeństwo zostało potwierdzone przez długotrwałe spożycie w postaci sfermentowanego mleka oraz rosnącą wiedzę na temat ich fizjologii i genomu. Bifidobakterie odgrywają istotną rolę w działaniu bariery jelitowej oraz stymulacji układu odpornościowego, co przyczynia się do szeregu korzystnych efektów zdrowotnych. Narasta coraz większa liczba dowodów potwierdzających korzystny wpływ suplementacji bifidobakteriami na poprawę zdrowia człowieka. Suplementacja ta przyczynia się do ochrony przed infekcjami oraz wywołuje różnorodne efekty zarówno wewnątrz, jak i poza jelitem. Bifidobakterie są również zaangażowane w produkcję wielu potencjalnie korzystnych dla zdrowia metabolitów, takich jak krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, sprzężony kwas linolowy i bakteriocyny.

Wiele chorób, zarówno jelitowych, jak i pozajelitowych, zostało powiązanych ze zmianami w składzie i funkcji mikrobioty jelitowej. Przykładem takiej choroby jest otyłość, która stanowi globalny problem dotykający zarówno dzieci, jak i dorosłych. Często wiąże się ona ze zmianami w mikroflorze jelitowej. Badania wykazały niższy poziom bifidobakterii u otyłych dzieci, co koreluje z częstszym występowaniem enterobakterii lub gronkowców. Ponadto, badania skupiły się na wpływie biegunki związanej z *Clostridium difficile* na mikrobiotę jelitową osób starszych. Opisano zmniejszenie liczby bifidobakterii u starszych osób z infekcją w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Zmniejszona liczba bifidobakterii zaobserwowana została również w przypadku innych chorób, takich jak mukowiscydoza, wirusowe zapalenie wątroby typu B

oraz cukrzyca typu I i II. Przeprowadzono wiele badań koncentrujących się na związku między mikrobiotą jelitową a patogenezą zespołu jelita drażliwego (IBS). Wyniki tych badań wykazują zmienioną mikrobiotę u pacjentów z IBS oraz niższe poziomy bifidobakterii w tej grupie. Ogólnie rzecz biorąc, istnieje powtarzający się trend, który wskazuje na związek między niższymi poziomami bifidobakterii a różnymi powszechnymi stanami chorobowymi, co sugeruje rolę *Bifidobacterium* sp. w utrzymaniu zdrowia. Jednak nadal istnieje wiele nieznanych czynników dotyczących wpływu liczby bifidobakterii na jakikolwiek związek przyczynowy z którąkolwiek z tych chorób [54].

Bifidobakterie są klasyfikowane jako bakterie kwasu mlekowego (LAB) ze względu na ich zdolność do produkcji kwasu mlekowego jako jednego z głównych produktów fermentacji. Pomimo różnic filogenetycznych, należą one do bakterii Gram-dodatnich o wysokiej zawartości G+C (od 42 do 67%). Rodzina *Bifidobacteriaceae*, do której należą rodzaje *Gardnerella* i *Bifidobacterium*, jest częścią typu *Actinobacteria* i należy do odrębnego rzędu - *Bifidobacteriales*. Typ *Actinobacteria* obejmuje również inne rodziny, takie jak *Actinomycetaceae*, *Propionibacteria*, *Corynebacteria*, *Mycobacteria* i *Streptomyces*. Grupa gatunków bifidobakterii, które są uważane za charakterystyczne dla człowieka, obejmuje te, które zostały wykryte w jelitach dorosłych i niemowląt oraz w ich kale. Są to między innymi *Bifidobacterium pseudocatenulatum, Bifidobacterium catenulatum, Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium angulatum* i *Bifidobacterium dentium*. Podobnie jak większość bakterii jelitowych, bifidobakterie posiadają zdolność do metabolizowania różnych sacharydów i odgrywają istotną rolę w fermentacji węglowodanów w okrężnicy. Dane fizjologiczne jednoznacznie potwierdzają, że bifidobakterie są zdolne do fermentacji różnorodnych źródeł węgla, takich jak mucyna żołądkowa, ksylooligosacharydy (trans)-galaktooligosacharydy, oligosacharydy soi, maltooligosacharydy, fruktooligosacharydy, pektyny i inne oligosacharydy pochodzenia roślinnego. Jednak zdolność metabolizmu poszczególnych węglowodanów zależy od konkretnego gatunku i szczepu *Bifidobacterium* sp. Ogólnie rzecz biorąc, bakterie jelitowe przekształcają złożone węglowodany polimerowe w oligosacharydy o niższej masie cząsteczkowej. Następnie, za pomocą różnych enzymów rozkładających węglowodany, te oligosacharydy mogą być dalej rozkładane do monosacharydów. Bifidobakterie wykorzystują te monosacharydy jako substraty w procesie fermentacji heksoz, co prowadzi do powstania związku pośredniego, zw. bifidowym bocznikiem fruktozo-6-fosforanowym. W ostatnim etapie tej fermentacji, związek ten przekształca się w krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) oraz inne

związki organiczne, niektóre z nich potencjalnie korzystne dla organizmu. Przykładowo, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA), które są bogate w kalorie, są wchłaniane przez komórki nabłonkowe jelita grubego i hepatocyty, gdzie są metabolizowane i stanowią ważne źródło energii. Dodatkowo, SCFA mają zdolność do stymulowania wchłaniania sodu i wody w jelicie grubym, a także znane są z indukowania enzymów, które sprzyjają regeneracji błony śluzowej jelit [134].

W kontekście bakterii jelitowych, bifidobakterie są uważane za zdolne do syntezy kilku witamin z grupy B, w tym kwasu foliowego, biotyny, tiaminy, kwasu nikotynowego, pirydoksyny, ryboflawiny i witaminy B_{12}. Badania przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że podawanie bifidobakterii produkujących kwas foliowy korzystnie wpływa na poziom tego związku we krwi, sugerując, że witamina ta jest wytwarzana *in vivo* przez szczepy probiotyczne i wchłaniana. Podobnie, w badaniu przeprowadzonym na ludziach, podawanie tych samych szczepów bifidobakterii znacząco zwiększyło stężenie kwasu foliowego w kale. Choć wpływ na stężenie kwasu foliowego we krwi nie był dotychczas badany, bifidobakterie wytwarzające kwas foliowy mogą stanowić dodatkowe źródło tej witaminy w organizmie i przyczyniać się do zapobiegania niedoborom folianów, które często są związane sprzed nowotworowymi zmianami w nabłonku jelita grubego [135].

Wydzielane metabolity probiotyków działają cytoprotekcyjnie na nabłonek jelitowy i wykazano, że łagodzą stany zapalne i zmniejszają przepuszczalność jelit. W jednym z badań na zwierzętach doniesiono, że podawanie *B. infantis* zmniejszyło częstość występowania NEC (kolka) w noworodkowym modelu mysim, częściowo z powodu osłabienia zwiększonej przepuszczalności jelitowej. W badaniu wykazano, że bifidobacterie zmniejszyły przepuszczalność jelitową jelita mierzoną klaudyną-4 i okludyną w TJ. Przedstawiciele rodzaju *Bacteroides* stanowiły prawie 40% przeciętnego bakteriomu jelitowego zdrowego dziecka [136].

3.3.2.2. *Bacteroides* sp. jako komensale jelitowe, pełnią wiele funkcji, w tym zapewniają ochronę przed patogenami i dostarczają składniki odżywcze innym mikroorganizmom zamieszkującym jelita. Kolonizacja jelit przez drobnoustroje zależy również od rodzaju metody porodu zastosowanej podczas narodzin, ponieważ stwierdzono, że *Bacteroides* sp. jest powszechne w jelitach niemowląt urodzonych drogą pochwową [164]. Ponadto, bakteriom jelitowym niemowląt urodzonych drogą pochwową przypisuje się znaczne podobieństwo do flory jelit matek. W populacji *Bacteroides* sp. w jelicie niemowlęcym występuje zróżnicowanie, a niemowlęta karmione mlekiem modyfikowanym mają wyższy

odsetek *Bacteroides* sp. w porównaniu do niemowląt karmionych piersią [165]. Ciekawym badaniem jest badanie z 2015 roku, w którym przeprowadzono analizę rozwoju flory jelitowej u niemowląt w ciągu pierwszych 12 miesięcy. W wieku 4 miesięcy zaobserwowano zwiększoną produkcję aminokwasów i witamin. W okresie od 10. do 12 miesiąca flora jelitowa niemowląt wykazywała wzrost ekspresji genów odpowiedzialnych za degradację złożonych cukrów. Zjawisko to zostało przypisane wyższej populacji *Bacteroides* sp., znanych ze repertuaru zdolności do degradacji glikanów i oligosacharydów ludzkiego mleka [166].

Bacteroides sp. są na ogół „przyjaznymi" komensalami, gdy przebywają w jelitach, ale mają tendencję do stawania się patogenami oportunistycznymi, gdy znajdują się poza jelitami. Na przykład stwierdzono, że *B. fragilis* symbiont jelitowy, jest patogenem oportunistycznym wśród *Bacteroides* sp., ponieważ jest również najczęstszym izolatem z ropni w jamie brzusznej. Translokacja *Bacteroides* sp. odbywa się przez błonę śluzową jelita do normalnie sterylnych tkanek, ostatecznie powodując różne stany chorobowe. To przemieszczenie z jelita do miejsc pozajelitowych w organizmie można przypisać różnym czynnikom; po pierwsze - upośledzonemu układowi odpornościowemu, czy też przerwaniu bariery jelitowej (nieszczelne jelita), oraz urazom chirurgicznym, a także nadmiernemu stosowaniu antybiotyków i starzeniu się. Na przykład nadmierna liczba *Bacteroides caccae* powoduje zwiększoną degradację śluzu, co pomaga zmniejszyć zapalenie jelit poprzez zmniejszenie interakcji bakterii z komórkami nabłonka jelitowego w jelicie, a w szczególności w barierze śluzowej okrężnicy. Z powodu cieńszych warstw śluzu funkcja bariery jelitowej zostaje osłabiona, co powoduje wydalanie potencjalnych patogenów do miejsc pozajelitowych [137].

Jedno z badań jednoznacznie wskazuje na obecność dysbiozy mikroflory błony śluzowej w przypadku dominującego zespołu jelita drażliwego związanego z biegunką. Niektóre gatunki z rodzajów *Bacteroides* i *Clostridium* są wskazywane jako prozapalne. Chociaż nie jest jasne, czy jest to zjawisko pierwotne czy wtórne, sugeruje się, że mikroflora przewodu pokarmowego może odgrywać istotną rolę w etiologii IBS, a modulacja tej mikroflory jelitowej może przynieść korzyści [138]. Przedstawiciele *Bacteroides* i *Clostridiales* dominują jako populacje w jelicie grubym. Warto zaznaczyć, że nawet w obrębie tych samych typów bakterii istnieje znaczne zróżnicowanie w zdolności do metabolizowania polisacharydów. Sugeruje to, że skład polisacharydów w diecie może znacząco wpływać na względną obfitość poszczególnych gatunków bakterii z rodziny *Bacteroidetes* lub *Clostridiales*. Rozkład składników odżywczych w jelicie

stanowi główny czynnik determinujący strukturę mikrobioty jelitowej. Wiele badań wykazało różnice w składzie mikrobiomu między osobami zdrowymi a pacjentami z chorobami jelitowymi, co może wynikać ze zmian w dostępności czynników gospodarza i składników odżywczych w stanie chorobowym, a także być wtórne do odpowiedzi zapalnej [139].

Jelito cienkie jest bogate w składniki odżywcze wykorzystywane zarówno przez gospodarza, jak i drobnoustroje do wzrostu. W jelicie cienkim dominują *Proteobacteria* (głównie enterobakterie), *Lactobacillales* i *Erysipelotrichales* (zwłaszcza *Turicibacter*). W przeciwieństwie do tego, jelito grube jest ubogie w takie składniki odżywcze i dlatego zawiera znacznie mniej tych bakterii, podczas gdy rodzaje *Bacteroidetes* i *Clostridium*, które mogą wykorzystywać niestrawne włókna gospodarza jako źródła energii są dominujące [138,139].

3.3.2.3. *Lactobacillus* sp. obejmuje dużą heterogenną grupę Gram-dodatnich, niesporulujących, fakultatywnie beztlenowych bakterii, do których należą *L. acidophilus, L. rhamnosus, L. bulgaricus, L. casei* i *L. reuteri i inne*. Ten rodzaj odgrywa bardzo ważną rolę w fermentacji żywności, zasiedla również układ pokarmowy ludzi i zwierząt w różnych ilościach w zależności od gatunku, wieku żywiciela lub lokalizacji w jelicie. Badania na zwierzętach i wyniki przedkliniczne wykazały, że pałeczki *Lactobacillus* sp. mogą pomóc w zapobieganiu i leczeniu wielu zaburzeń przewodu pokarmowego. Wśród tych zaburzeń są infekcje jelitowe, biegunka związana z antybiotykami, martwicze zapalenie jelit u wcześniaków, nieswoiste zapalenie jelit, rak jelita grubego i zespół jelita drażliwego [55].

Lactobacillus reuteri (obecnie *Limosilactobacillus reuteri*) to gatunek korzystnych mikroorganizmów jelitowych, które mogą żyć w jelitach wielu ssaków, w tym ludzi. Od czasu pierwszego odkrycia tego mikroorganizmu w 1962 roku przeprowadzono wiele badań, aby zrozumieć jego funkcję i unikalną rolę jako korzystnego probiotyku w różnych chorobach. Badania te skupiały się na zrozumieniu korzystnych efektów i mechanizmów działania *L. reuteri* w przypadkach chorób jelitowych. Szczepy *L. reuteri* występują w różnych formach, ale najczęściej spotyka się je u ludzi, szczurów i świń. Spośród wielu szczepów *L. reuteri* znaczenie mają zwłaszcza te zawierające DSM 17938, które często są stosowane u ludzi, szczególnie u dzieci. Działanie *L. reuteri* w łagodzeniu zaburzeń jelitowych opiera się na kilku mechanizmach. Przede wszystkim, pomaga w ochronie bariery jelitowej, co jest istotne dla utrzymania zdrowia jelit. Dodatkowo, hamuje stany

zapalne i reguluje odpowiedzi immunologiczne, co jest korzystne w chorobach jelitowych. Mikroorganizm ten wpływa również na równowagę flory jelitowej i jej metabolizm, co odgrywa kluczową rolę w zdrowym funkcjonowaniu jelit. Ponadto, *L. reuteri* pomaga w redukcji stresu oksydacyjnego, co przyczynia się do ogólnej poprawy stanu zdrowia jelit. Wszystkie te aspekty wskazują, że *L. reuteri* jest ważnym czynnikiem w utrzymaniu zdrowia jelit i może być użytecznym wsparciem w leczeniu różnych chorób związanych z tym obszarem. Pomimo coraz większej liczby badań skupiających się na *L. reuteri*, istnieje nadal wiele niewiadomych dotyczących jego działania terapeutycznego, bezpieczeństwa klinicznego i dokładnych mechanizmów działania. *Lactobacillus* sp., które można znaleźć w różnych produktach spożywczych, należy do najczęściej stosowanych probiotyków i obejmuje takie gatunki jak *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus, Lactobacillus casei* i *Lactobacillus reuteri*. Oprócz działania przeciwzapalnego, *L. reuteri* może również wpływać na mikroflorę jelitową oraz zaburzenia metaboliczne w przypadku zapalenia jelita grubego u myszy [93].

Obecne badania na przykład nad FAP (rodzinna polipowatość gruczolakowata) u dzieci koncentrują się na *L. reuteri* DSM 17938. Autorzy stwierdzili, że *L. reuteri* DSM 17938 skutecznie łagodzi ból i przywraca normalne funkcjonowanie u dzieci z FAP [94]. Innym badaniem wykazano, że suplementacja *Lactobacillus casei (Lacticaseibacillus casei)* zmniejsza objawy zespołu jelita drażliwego u dorosłych [95]. Pałeczki *Lactobacillus* sp. mogą również wpływać na zdrowie psychiczne. Badania wykazują, że suplementacja *Lactobacillus plantarum (obecnie Lactiplantibacillus plantarum)* zmniejsza objawy lęku i depresji u osób starszych [96]. Innym badaniem wykazano, że suplementacja *Lactobacillus helveticus* i *Bifidobacterium longum* zmniejsza objawy depresji u osób z zaburzeniami nastroju [97].

Wpływ przedstawicieli rodzaju *Lactobacillus* na zdrowie człowieka jest przedmiotem licznych badań naukowych. Jednakże, dalsze badania są potrzebne, aby lepiej zrozumieć mechanizmy działania tych bakterii oraz ich wpływ na zdrowie człowieka. W kontekście informacji, że czynnościowe bóle brzucha u dzieci mogą mieć również podłoże psychiczne i powiązaniu osi jelita – mózg te informacje wydają się ciekawym rozpoczęciem badań.

3.3.2.4. *Clostridium* sp. - rodzaj *Clostridium* obejmuje około 200 różnych gatunków, które występują powszechnie w różnych środowiskach. Można je znaleźć zarówno w glebie, jak i w przewodzie pokarmowym zwierząt i człowieka. Dodatkowo, występują także w wodzie

i ściekach. Te bakterie mają zdolność do wiązania azotu z atmosfery oraz redukcji siarczynów, a także produkują lotne kwasy tłuszczowe.

Większość bakterii z tego rodzaju to saprofity, co oznacza, że pełnią ważną rolę w rozkładzie celulozy i pektyn oraz uczestniczą w procesach fermentacji. Niektóre gatunki mogą wykazywać właściwości chorobotwórcze, które są związane z produkcją silnych egzotoksyn. Inne zaś działają jako drobnoustroje oportunistyczne, co oznacza, że mogą wywoływać infekcje u osób o osłabionej odporności [148].

W jednym z badań na zwierzętach zaobserwowano, że uraz oparzeniowy zmienił strukturę mikrobiomu jelitowego myszy, w szczególności zmniejszył liczebność *C. butyricum* i poziom maślanu. Zarówno liczba *C. butyricum*, jak i poziom maślanu były ujemnie skorelowane z przepuszczalnością jelit. Doustne podawanie *C. butyricum* zwiększyło poziom maślanu, obniżyło poziomy TNF-α i IL-6 oraz stłumiło uszkodzenie jelit u myszy z oparzeniami [127]. W innym badaniu zwrócono uwagę na fakt, że szczepy *C. butyricum* poprawiają funkcję bariery jelitowej poprzez zwiększenie grubości warstwy błony śluzowej i zwiększenie ekspresji białek TJ. Zwiększona ekspresja białek TJ może również wynikać ze stymulacji przez *C. butyricum* produkcji IL-17 przez śródnabłonkowe limfocyty T. Ta ulepszona bariera powoduje zmniejszenie przenikania LPS i bakterii chorobotwórczych do tkanek i krwi gospodarza. Szczepy *C. butyricum* wydają się zwiększać zdolność jelit do zmniejszania zaburzeń mikrobiologicznych i immunologicznych wywołanych przez antybiotyki, patogeny lub inne czynniki, co czyni je interwencjami o potencjalnym znaczeniu w wielu stanach zdrowotnych. Dla ludzi probiotyczne szczepy *C. butyricum* są obiecujące w leczeniu objawów żołądkowo-jelitowych, stanów psychicznych i chorób metabolicznych. Według dostępnej literatury szczepy *C. butyricum* u myszy wykazały korzystny wpływ w szerokim zakresie zwierzęcych modeli chorób człowieka, jednak ich korzystny wpływ na ludzi w przypadku tych samych chorób pozostaje niedostatecznie zbadany w badaniach klinicznych. Chociaż autorzy badań przedklinicznych i klinicznych sugerują, że maślan jest przyczyną skutków suplementacji *C. butyricum*, bezpośrednie dowody na to wciąż pozostają niewyjaśnione [149].

3.3.2.5. *Clostridium difficile*. Bakteria ta produkuje toksyny, które powodują uszkodzenie błony śluzowej jelita grubego. Bakteria *Clostridium difficile* to Gram-dodatnia laseczka, która wykazuje szczególną zdolność do przetrwania w różnorodnych środowiskach, takich jak organizmy zwierząt, ludzi oraz środowisko zewnętrzne. Występuje w dwóch formach -

jako wegetatywna, aktywna postać oraz wytwarzająca spory, które są wytrzymałymi strukturami przetrwalnikowymi. Spory *C. difficile* odgrywają kluczową rolę w przenoszeniu zakażenia i pozwalają bakterii przetrwać w trudnych warunkach.

Dzięki zdolności do tworzenia spor, *C. difficile* może przetrwać w organizmach oraz pozostawać w środowisku zewnętrznym, co zwiększa ryzyko rozprzestrzeniania się infekcji. Spory są oporne na działanie wysokiej temperatury, kwasów i antybiotyków. Bakteria rozprzestrzenia się zazwyczaj drogą feralno-oralną. Większość komórek wegetatywnych ginie w żołądku, zaś spory, które przeżywają w kwaśnym środowisku żołądka, w jelicie cienkim przekształcają się w postaci wegetatywne zdolne do wytwarzania toksyn, głównego czynnika zjadliwości [128]. Częstość występowania infekcji *Clostridium difficile* znacznie wzrosła w ostatnich latach, ponieważ pojawiły się nowe szczepy i wzrosła oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe. Dokładne globalne dane epidemiologiczne są trudne do uzyskania ze względu na stale zmieniające się dane dotyczące rozpowszechnienia i różnice w praktykach nadzoru. W jednej z ostatnich analiz w USA oszacowano 453 000 przypadków zakażeń *C. difficile*, 29 000 zgonów i częstość występowania związaną z opieką zdrowotną na poziomie 92,8 na 100 000 osób. Europejskie dane epidemiologiczne wskazują na duże zróżnicowanie zgłaszanej częstości występowania zakażenia *C. difficile*. W metaanalizie CDAD w krajach rozwijających się stwierdzono, że 15% przypadków biegunki można przypisać zakażeniu *C. difficile* (w tym u pacjentów poza szpitalnych i hospitalizowanych) [129].

Zakażenie *C. difficile* występuje głównie w wyniku przeniesienia przetrwalników. Przetrwalniki (spory) są odporne na ciepło, kwasy i antybiotyki. Główną barierą ochronną przed *C. difficile* jest prawidłowa mikroflora jelitowa. Po dotarciu do jelita, kwasy żółciowe odgrywają ważną rolę w indukcji kiełkowania przetrwalników *C. difficile*. Kwasy żółciowe są pochodnymi cholesterolu wytwarzanymi i przekształcanymi w wątrobie. Ułatwiają wchłanianie tłuszczów i witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w jelicie. Wspomagają trawienie, poprawiają motorykę przewodu pokarmowego, aktywnie wpływają na florę bakteryjną. Kiedy równowaga mikroorganizmów jelitowych zostaje zakłócona, *C. difficile* zaczyna dominować i kolonizować jelito grube, co może być pierwszym etapem infekcji. Obraz kliniczny zakażenia *C. difficile* może być różny, od bezobjawowego stanu nosicielstwa do zagrażającego życiu zapalenia jelita grubego prowadzącego do zgonu [150].

3.3.3. Grzyby

3.3.3.1. *Candida albicans*

Candida albicans jest głównym patogenem grzybiczym występującym u ludzi. Naturalnie zasiedla jamę ustną, jelita i drogi rodne większości osób, gdzie jest kontrolowany przez lokalną mikroflorę, bariery nabłonkowe i mechanizmy obronne organizmu. Jednakże, kiedy te mechanizmy zostają osłabione, może dochodzić do nadmiernej reprodukcji grzyba i rozwoju infekcji błon śluzowych, takich jak kandydoza jamy ustnej i gardła, a także sromu i pochwy. U osób o obniżonej odporności *Candida albicans* może stanowić zagrożenie życia, prowadząc do ogólnoustrojowych zakażeń. *Candida albicans* jest patogenem oportunistycznym, co oznacza, że występuje jako współmieszkaniec u większości osób, ale staje się szkodliwy dopiero w określonych warunkach. Grzyb ten może rozwijać się w bardzo różnym zakresie pH środowiska, od pH 2 do 10 [130].

Badania nadwrażliwości trzewnej są szeroko prowadzone jako istotny czynnik związany z bólem brzucha w zespole jelita drażliwego (IBS). U pacjentów z IBS, zaobserwowano zwiększoną obecność grzybów *Candida albicans* i *Saccharomyces cerevisiae*. Jednakże, takie zmiany zaobserwowano zarówno u pacjentów z nadwrażliwością, jak i u tych o normalnej wrażliwości, i nie wykazano różnic w różnorodności grzybów między podgrupami IBS. Sugeruje to, że kiedy pacjenci przechodzą z nadwrażliwości do normalnej wrażliwości, wpływ grzybów jelitowych niekoniecznie znajduje odzwierciedlenie w zmianach składu mikobioty [151].

3.3.3.2. *Geotrichium* sp., Geotrichum candidum występuje jako saprofit w jamie ustnej i przewodzie pokarmowym, wykrywany jest także m.in. w produktach mlecznych i w ziemi. Grzyb może, zwykle w stanach obniżonej odporności, powodować zapalenia jamy ustnej oraz endogenne zakażenia przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, gałki ocznej, narządów płciowych a także grzybice uogólnione [131].

3.3.4 pH kału może mieć wartość diagnostyczną w niektórych przypadkach, ponieważ zmiany w pH mogą być związane z zaburzeniami trawienia i chorobami przewodu pokarmowego. W zdrowych warunkach, pH kału powinno wynosić między 6,5 a 7,5. Jednakże, w przypadku niektórych chorób przewodu pokarmowego, pH kału może ulec zmianie. Przegląd 14 badań klinicznych opublikowanych w latach 1926-2017,

obejmujących ponad 312 zdrowych niemowląt karmionych piersią, wykazał zmianę pH kału z 5,0 na 6,5. Ten trend zwiększania pH kału niemowląt w ciągu ostatniego stulecia jest zgodny z obecnie zgłaszanymi rozbieżnościami w obfitości gatunków *Bifidobacterium* sp. mikrobiomie jelitowym w krajach bogatych w zasoby w porównaniu z raportami historycznymi. Analizy wykazały, że zwiększone pH kału i członków zwiększona populacja rodzin *Enterobacteriaceae, Clostridiaceae, Peptostreptococcaceae* i *Veillonellaceae* są powiązane, co wskazuje, że utrata wysoce wyspecjalizowanych gatunków *Bifidobacterium* sp. może skutkować dysbiozą, której konsekwencje nie są jeszcze w pełni wyjaśnione [98]. Pacjenci z rakiem jelita grubego (colorectal cancer – CRC) wykazywali znaczące różnice w środowisku jelitowym, w tym zmiany mikroflory, zmniejszone SCFA i podwyższone pH. Zmiany te nie są wynikiem progresji CRC, ale są zaangażowane w początek CRC [99,100].

Mimo że pH kału może mieć wartość diagnostyczną, to nie jest to jednoznaczny wskaźnik choroby lub zaburzenia. Wiele czynników, takich jak dieta, suplementy i leki, może wpłynąć na pH kału. Dlatego, diagnoza chorób przewodu pokarmowego i zaburzeń trawienia powinna być oparta na wielu różnych testach i badaniach.

3.3.5. Badanie metabolitów bakterii w moczu, zwane również testem mikrobiomu moczowego, jest to nowa technologia diagnostyczna, która pozwala na analizę metabolitów produkowanych przez bakterie w moczu pacjenta. Badanie to jest stosowane w diagnostyce chorób układu moczowego, w tym np. nawracających zakażeń dróg moczowych, przewlekłych zakażeń moczowych, a także w innych stanach zapalnych układu moczowego czy też dysbiozy. Może wykryć bakterie, których nie zidentyfikowano za pomocą tych rutynowych procedur. Metabolity bakterii w moczu są analizowane przy użyciu technik spektrometrii mas, chromatografii gazowej lub innych metod analitycznych. Wyniki badania umożliwiają identyfikację rodzaju bakterii obecnych w moczu pacjenta, a także wykrycie produktów ich metabolizmu, takich jak kwasy organiczne, aminokwasy i inne związki chemiczne. Badanie metabolitów bakterii w moczu jest uważane za bardziej szczegółowe niż tradycyjne badania bakteriologiczne moczu, które polegają na hodowli bakterii na podłożu agarowym. Tradycyjne badanie bakteriologiczne może nie wykryć drobnoustrojów, które nie rosną na podłożu agarowym, co może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników. Natomiast badanie metabolitów bakterii w moczu pozwala na wykrycie obecności drobnoustrojów, nawet jeśli nie rosną

one na podłożu agarowym, co może poprawić skuteczność diagnostyki. Warto jednak zauważyć, że badanie metabolitów bakterii w moczu jest stosunkowo nową metodą diagnostyczną i jej skuteczność w różnych warunkach klinicznych wymaga dalszych badań. Ponadto, interpretacja wyników testu może być skomplikowana i wymagać specjalistycznej wiedzy i doświadczenia [56-62].

Wpływ bakterii jelitowych na FAPD został zbadany w wielu badaniach klinicznych, w tym wielu metaanalizach [63,64,66]. Wyniki tych badań sugerują, że mikrobiota jelitowa może wpływać na występowanie FAPD poprzez wpływ na czynniki takie jak: stan zapalny, czynność motoryczna jelit, obrona immunologiczna i procesy trawienne [65,71,72].

Metabolity bakterii w moczu mogą mieć wpływ na występowanie czynnościowych bólów brzucha poprzez wpływ na mikrobiotę jelitową oraz procesy trawienne i wchłanianie składników odżywczych. Dalsze badania są jednak potrzebne, aby lepiej zrozumieć mechanizmy wpływu metabolitów bakterii na FAPD i opracować nowe terapie oparte na manipulacji składem bakteryjnym jelit. Kilka badań wykazało, że na metabolity w moczu większy wpływ mają czynniki środowiskowe (dieta, rytm dobowy, wiek, płeć i wpływy kulturowe) niż metabolity w surowicy lub osoczu. Pomimo tych różnic dane metabolomiczne moczu mogą zapewnić ważny wgląd w zmiany w populacji bakterii kolonizujących jelita, informacje, które mogą mieć duże znaczenie [77].

3.3.5.1. Kwas hipurowy od lat jest głównym metabolitem człowieka. Jednak nie ma dobrze znanych udokumentowanych korzyści zdrowotnych z tym związanych, z wyjątkiem wydalania toksycznych dla środowiska narażeń na związki aromatyczne, takie jak toluen, lub z degradacji i ponownej syntezy białek dietetycznych przez metabolizm mikroflory jelitowej kwasu chinowego na szlaku szikimowym. Tak więc kwas hipurowy może pojawiać się u ludzi jako produkt wydalniczy ze źródeł naturalnych lub nienaturalnych. Przez lata uważano, że głównym źródłem poziomów kwasu hipurowego w moczu u ludzi jest ekspozycja na toksyczne rozpuszczalniki środowiskowe. Jednak ostatnio wykazano, że około 1-2 mM kwasu hipurowego jest codziennie wydalane z moczem, nawet przy braku ekspozycji na rozpuszczalniki organiczne, widoczne są również sygnalizujące obfite metaboliczne źródła dietetyczne kwasu hipurowego. Jednym z nich były białka dietetyczne. Drugi wynika z dobrze udokumentowanej obecności kwasu chinowego w zdrowych kolorowych produktach spożywczych. Kwas chinowy jest kluczowym metabolitem związanym ze szlakiem szikimowym występującym tylko w

roślinach i odpowiada za biosyntezę niezbędnych aminokwasów, takich jak tryptofan, fenyloalanina i tyrozyna. W badaniu tym zaobserwowano w wyniku przeglądu dowodów na to, że mikroflora przewodu pokarmowego człowieka jest odpowiedzialna za metabolizm kwasu chinowego nie tylko do kwasu hipurowego, ale, co ważniejsze, do skutecznych aminokwasów przeciwutleniających i witamin [73]. Sugeruje się, że nieobecność i obecność m-HPPA i kwasu hipurowego wynika z połączenia różnic w dietetycznych prekursorach substratów do koniugacji glicyny i zależnej od diety redystrybucji mikroflory jelitowej odpowiedzialnej za rozkład roślinnych fenoli i aminokwasów aromatycznych. Podsumowując, badanie to podkreślało, jak prosta zmiana diety może spowodować głębokie zmiany w metabolizmie [74].

Zauważono w innym badaniu, również niski poziom hipuranu w moczu pacjentów z IBD, co sugeruje, że hipuran może być kandydatem na biomarker. Odkrycia są bardzo interesujące, ponieważ ostatnio wykazano, że poziom hipuranu koreluje z obecnością *Clostridium* sp. w jelicie, a bakterie *Clostridium* sp. powszechnie występowały u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna [77].

3.3.5.2. Kwas fenylooctowy chociaż większość skutków zdrowotnych przypisywanych polifenolom można powiązać z ich metabolitami pochodzącymi z fenoli. Rola fenoli pochodzących z jelit dla zdrowia człowieka wciąż nie jest dobrze poznana. U 71 ochotników w podeszłym wieku określono profil metabolitów fenoli, mikroflory, biomarkerów stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego oraz dziennego spożycia związków bioaktywnych. Głównymi metabolitami fenolowymi obecnymi w kale były kwasy fenylooctowy i fenylopropionowy. Z nich kwas fenylooctowy był związany ze stanem bardziej prooksydacyjnym i stymulowanym immunologicznie, a oba były ujemnie związane z propionianem w kale, podczas gdy kwas fenylopropionowy był bezpośrednio związany ze stężeniem octanu w kale. Ponadto, kwas fenylooctowy był ujemnie związany z grupą Bacteroides i klastrem Clostridium XIVa, a dodatnio z Lactobacillus. Wyniki te stanowią uzasadnienie dla zbadania potencjału metabolitów fenoli pochodzących z drobnoustrojów kałowych jako możliwych biomarkerów stanu zdrowia [75]. Produkt degradacji fenyloalaniny, czyli kwas fenylooctowy, pojawiający się w wyniku działań mikroorganizmów chorobotwórczych, może być wskaźnikiem nieprawidłowo nadmiernego wzrostu flory bakteryjnej o charakterze patogennym.

3.3.5.3. Indolowy kwas octowy to kwas organiczny, który powstaje w wyniku metabolizmu tryptofanu przez bakterie jelitowe. W jednym z badań odkryto, że indolowy kwas octowy, łagodzi hepatotoksyczność indukowaną przez HFD (dietę wysokotłuszczową) u myszy, co okazuje się być związane z poprawą oporności na insulinę, metabolizmu lipidów oraz stresu oksydacyjnego i zapalnego [76]. Wpływ tych metabolitów na FAPD może wynikać z ich wpływu na mikrobiotę jelitową oraz procesy trawienne i wchłanianie składników odżywczych. Na przykład, hippurynian i fenylooctowy kwas mogą wpływać na wchłanianie aminokwasów i kwasów tłuszczowych, co może wpłynąć na funkcjonowanie przewodu pokarmowego [77]. Indykan to pochodna związana z tryptofanem, powstająca wskutek zaburzonego metabolizmu tego aminokwasu w jelicie cienkim. Nadmierny przyrost flory bakteryjnej może mieć wpływ na ten proces. Indykan, jako substancja, może odgrywać istotną rolę w organizmie, wpływając na różnorodne efekty fizjologiczne. Zwiększone wydalanie pojawia się przede wszystkim w przypadku schorzeń jelita cienkiego (celiakia), po operacjach chirurgicznych w obrębie jelita cienkiego oraz w przypadku zablokowania przewodów żółciowych w wyniku niewydolności trzustki [152].

3.3.5.4. Kwas n-butyrowy . W badaniu przeprowadzonym na pacjentach z IBS wykazano, że poziom kwasu n-butyrowego w kale był istotnie niższy u pacjentów z IBS-D w porównaniu z grupą kontrolną [78].

3.3.5.5. P-krezol jest produktem ubocznym metabolizmu aminokwasów aromatycznych, takich jak fenyloalanina i tyrozyna, przez niektóre bakterie jelitowe, zwłaszcza tworzony jest przez bakterie *Proteus vulgaris* i *Clostridium difficile* [81]. *C. difficile* to bakteria występująca w mikroflorze jelitowej, która ma niezwykłą zdolność do wytwarzania związku przeciwdrobnoustrojowego o nazwie para-krezol. Ten związek działa selektywnie na bakterie Gram-ujemne. Proces wytwarzania para-krezolu zachodzi poprzez fermentację tyrozyny lub bezpośredni obrót egzogennego związku o nazwie para-hydroksyfenylooctan (p-HPA) w jelitach człowieka. Istotnym aspektem tego procesu jest działanie specjalnego enzymu o nazwie dekarboksylazy HpdBCA, który powoduje przekształcenie p-HPA w para-krezol. Wytwarzanie dekarboksylazy HpdBCA jest indukowane przez obecność zwiększonej ilości p-HPA, co prowadzi do wzmożonej produkcji para-krezolu. Efekt tego procesu jest szkodliwy dla korzystnego mikrobiomu jelitowego, ponieważ para-krezol powoduje znaczne zmniejszenie różnorodności i bogactwa mikroorganizmów w jelitach.

To z kolei stanowi korzyść dla bakterii *C. difficile*, gdyż sprzyja jej patogenności i może prowadzić do nawrotów infekcji. Jeśli udałoby się zahamować ten szlak biosyntezy para-krezolu, otworzyłoby to perspektywy na stworzenie wysoce specyficznego środka terapeutycznego, który mógłby skutecznie zwalczać *C. difficile* i przeciwdziałać nawrotom infekcji. Taka terapia mogłaby być szczególnie korzystna i pomocna w leczeniu infekcji wywołanych przez *C. difficile* [153]. W zdrowym przewodzie pokarmowym p-krezol jest metabolizowany przez wątrobę i wydalany z moczem. Jednak w przypadku nieprawidłowej flory jelitowej, poziomy p-krezolu w jelitach może wzrosnąć. Wpływa również na kilka innych funkcji, takich jak pobieranie tlenu przez komórki, wiązanie leku z białkami, wzrost i przepuszczalność błony komórkowej. P-krezol hamuje różne procesy metaboliczne związane z produkcją wolnych rodników, które biorą udział w niszczeniu bakterii przez aktywowane fagocyty [81,82,153]. P -krezol jest końcowym produktem katabolizmu białek, wytwarzanym przez bakterie jelitowe w wyniku metabolizmu tyrozyny i fenyloalaniny. W okrężnicy p-krezol może osiągać fizjologicznie znaczące stężenia, które przyczyniają się do narażenia genotoksycznego w świetle jelita, wytwarzanie p-krezolu może być osłabiane przez substrat, a zatem dietę, co czyni go potencjalnym modyfikowalnym biomarkerem genotoksyczności w okrężnicy [82,83].

Wysokie poziomy niektórych metabolitów bakterii w moczu, takich jak hippurynian, fenylooctowy kwas i indolowy kwas octowy, mogą wpływać na występowanie czynnościowych bólów brzucha. Dalsze badania są jednak potrzebne, aby lepiej zrozumieć mechanizmy wpływu tych metabolitów na FAPD i opracować nowe terapie oparte na manipulacji składem bakteryjnym jelit.

Wpływ tych metabolitów na FAPD może wynikać z ich wpływu na mikrobiotę jelitową oraz procesy trawienne i wchłanianie składników odżywczych. Na przykład, kwas n-butyrowy może mieć korzystny wpływ na funkcjonowanie jelit i zmniejszenie stanu zapalnego, a kwas indol-3-masłowy może działać przeciwzapalnie i przeciwutleniająco [79,80].

3.3.5.6. Kwas fenylopropinowy, coraz więcej dowodów sugeruje, że metabolity drobnoustrojów jelitowych mogą być półproduktami interakcji gospodarza z mikroflorą jelitową. Kwas 3-fenylopropionowy, który jest metabolitem pochodzącym z *Bacteroides fragilis*, ma pozytywny wpływ na funkcjonowanie bariery nabłonkowej jelit. *Bakteroides*

fragilis to gatunek bakterii, który występuje naturalnie w jelitach ludzi. Podczas metabolizmu, ta bakteria produkuje kwas 3-fenylopropionowy [177].

3.3.5.7. Kwas hydroksybenzoesowy. W badaniach przeprowadzonych dotyczących interakcji między różnymi organizmami, zauważono, że związek 4-HBA (4-hydroksybenzoesan) wykazuje silne działanie hamujące na tworzenie biofilmów przez drożdże *Candida albicans*. Efekt ten był zależny od dawki zastosowanego 4-HBA. Warto zaznaczyć, że zarówno *S. sonnei,* jak i *C. albicans* są ważnymi patogenami jelitowymi u ludzi. Badania potwierdziły, że *S. sonnei* również wykorzystuje 4-HBA do komunikacji między różnymi królestwami organizmów w celu poprawy swojej konkurencyjności. Zrozumienie takich mechanizmów komunikacji może prowadzić do rozwoju nowych strategii terapeutycznych lub interwencji, które mogą skutecznie kontrolować infekcje wywołane przez bakterie z rodzaju *Shigella* i inne patogeny jelitowe [178].

3.3.5.8. D-arabinitol, jest produktem metabolitu typowym dla kilku gatunków *Candida* sp., które są patogenne i potencjalnie wykorzystywane jako markery kandydozy [179,180].

3.3.5.9. Kwas winowy *Candida albicans* jest oportunistycznym grzybem chorobotwórczym odpowiedzialnym za szerokie spektrum infekcji u osób z obniżoną odpornością, począwszy od powierzchownej grzybicy, a skończywszy na ogólnoustrojowej i rozsianej kandydozie. Dane pokazały, że wzrost komórek *C. albicans* w obecności mleczanu indukuje wydzielanie kwasu winowego, który może modulować cykl TCA zarówno w drożdżach, jak i komórkach gospodarza [181].

3.3.6. Zonulina to białko odkryte w 2000 roku przez Alessio Fasano i jego zespół badawczy z Uniwersytetu Maryland. Pierwsze badania nad zonuliną skupiały się na jej roli w regulacji przepuszczalności bariery jelitowej i jej wpływie na rozwój chorób autoimmunologicznych, takich jak celiakia [17].

W czasie kolejnych lat naukowcy z różnych dziedzin zaczęli zgłębiać zagadnienia związane z zonuliną. W 2011 roku Fasano opublikował artykuł w czasopiśmie „Physiological Reviews", w którym przedstawił koncepcję zonuliny jako „biologicznych drzwi" do zapalnych, autoimmunologicznych i nowotworowych chorób. W artykule tym Fasano zasugerował, że zonulina może odgrywać kluczową rolę w regulacji

przepuszczalności bariery jelitowej i w rozwoju chorób autoimmunologicznych i nowotworów [18]. W kolejnych latach badania nad zonuliną skupiały się przede wszystkim na wyjaśnieniu mechanizmów regulujących jej poziom oraz na identyfikacji chorób z nią związanych. Jednym z ciekawszych wniosków z tych badań było stwierdzenie, że zonulina ma wpływ nie tylko na układ pokarmowy, ale także na stan zdrowia ogólny organizmu [19]. W pracy z 2023 zasugerowano na podstawie licznych badań, dowody naukowe wykazały związek między dysfunkcją jelit a wieloma chorobami przewodu pokarmowego (GI) i innymi chorobami oraz wskazały na związek z przepuszczalnym jelitem i rolą zonuliny [20]. Inne badania z kolei skupiły się na roli zonuliny w rozwoju chorób metabolicznych, takich jak cukrzyca i otyłość [21].

W 2015 roku ukazała się praca badaczy z Uniwersytetu w Chicago, którzy zbadali wpływ diety na poziom zonuliny. Okazało się, że dieta bogata w tłuszcze nasycone i fruktozę zwiększała poziom zonuliny, co prowadziło do zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej i stanów zapalnych [23]. Zonulina jest białkiem, które moduluje strukturę TJ. W przekrojowym badaniu kobiet niebędących w ciąży wyższe poziomy zonuliny wiązały się z wyższymi stężeniami markerów stanu zapalnego (białko C-reaktywne w surowicy i IL-6). Zaproponowano znaczące powiązania między stężeniem zonuliny w surowicy a wskaźnikiem masy ciała (BMI), wymiarami talii i bioder oraz masą tłuszczu [22]. Wyniki te skłoniły naukowców do zastanowienia się nad wpływem diety na zdrowie jelit i ogólnie na zdrowie człowieka.

W kolejnych latach badania nad zonuliną skupiały się także na identyfikacji potencjalnych leków i suplementów, które mogą wpłynąć na jej poziom i regulować funkcjonowanie bariery jelitowej. Jednym z takich leków jest larazotide acetate, który był testowany w celu leczenia choroby trzewnej (celiakii) [23]. W 2022 roku ukazała się praca, która sugerowała związek między zonuliną a chorobami neurologicznymi, takimi jak choroba Alzheimera i stwardnienie rozsiane [24].

W przypadku osób predysponowanych genetycznie, kiedy dokładnie zrównoważony szlak zonuliny zostaje zaburzony, może to prowadzić do wystąpienia różnorodnych zaburzeń autoimmunologicznych, zapalnych oraz nowotworowych, zarówno w obrębie jelit, jak i poza nimi. Ta nowa koncepcja podważa tradycyjne teorie dotyczące etiologii tych chorób, sugerując, że procesy te można zahamować poprzez przerwanie wzajemnych interakcji między genami a czynnikami środowiskowymi, przywracając jednocześnie funkcję bariery jelitowej regulowanej przez zonulinę. W tym kontekście, precyzyjnie dostrojony szlak zonuliny, kiedy ulegnie zakłóceniu, prowadzi do zwiększonej

przepuszczalności bariery jelitowej. To z kolei umożliwia przenikanie czynników patogennych i substancji wywołujących stan zapalny z przewodu pokarmowego do krwiobiegu. To zjawisko, nazywane "nieszczelnym jelitem", może spowodować reakcje autoimmunologiczne i zapalne w różnych tkankach i narządach organizmu, a także sprzyjać rozwojowi nowotworów. Nawiązując do nowego paradygmatu, istnieje perspektywa zapobiegania i łagodzenia tych chorób poprzez przywrócenie integralności bariery jelitowej i regulacji szlaku zonuliny. Możliwości terapeutyczne skupiają się na zapobieganiu nadmiernemu wytwarzaniu zonuliny oraz kontrolowaniu jej działania, aby ograniczyć przepuszczalność jelit i uniknąć negatywnych skutków oddziaływania genetycznych czynników ryzyka z ekspozycją na szkodliwe składniki środowiskowe. W ten sposób, odpowiednia interwencja może zahamować rozwój lub postęp chorób autoimmunologicznych, zapalnych i nowotworowych, co ma znaczący potencjał dla zdrowia pacjentów [140]. Jednak stopień korelacji między zonuliną a stanem zapalnym oraz między zonuliną a przepuszczalnością nabłonka pozostaje do ustalenia, nawet jeśli stężenie zonuliny w surowicy jest podwyższone u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit [25,35].

W 2022 roku ukazała się praca badaczy z Uniwersytetu w Finlandii, którzy zbadali wpływ zonuliny na proces starzenia się. Okazało się, że zonulina może wpływać na proces starzenia się poprzez regulowanie metabolizmu energii i stresu oksydacyjnego [26].

Mimo że wiele badań wykazało związek zonuliny z chorobami autoimmunologicznymi, metabolicznymi i nowotworowymi, nie jest jasne, jakie jest dokładne znaczenie zonuliny w patologii tych chorób. Wciąż potrzebne są dalsze badania nad zonuliną i jej funkcjami w organizmie ludzkim.

2016 roku ukazała się praca, która wykazała związek między zonuliną a chorobami sercowo-naczyniowymi. Badacze odkryli, że wysoki poziom zonuliny jest związany z większym ryzykiem wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Stwierdzono, że stężenie zonuliny było istotnie wyższe u pacjentów z chorobą wieńcową. Doświadczenie *in vitro* wykazało, że bakterie jelitowe *Pseudomonas fluorescens* zwiększyły ekspresję i wydzielanie zonuliny w komórkach Caco-2, a w konsekwencji zwiększyły IP, prowadząc do większej penetracji przez *Pseudomonas fluorescens* błony transwell. Wyniki wskazują, że podwyższony poziom zonuliny w miażdżycy tętnic może zwiększać IP jelit i ułatwiać transport bakterii z jelita do krwi [27].

Mikrobiota jelitowa jest silnie związana z chorobami autoimmunologicznymi. Zonulina, jako modulator ścisłych połączeń, który kontroluje selektywną przepuszczalność

jelita, może indukować podwyższenie przepuszczalności jelita. Zonulina jest potencjalnym kandydatem na biomarker, który może wiązać przepuszczalność jelit z etiologią chorób autoimmunologicznych [28].

Ciekawe wydaje się, że istnieje wpływ zonuliny na tak wiele jednostek chorobowych, możliwe, że ma to związek ze składem mikroflory jelitowej. W 2021 roku opublikowano badanie, które wykazało związek między poziomem zonuliny a składem mikrobioty jelitowej. Badacze zauważyli, że u osób z wyższym poziomem zonuliny występowała większa dysbioza jelitowa, co sugeruje, że zonulina może wpływać na skład mikrobioty jelitowej. Przypuszcza się, że aktywacja szlaku zonuliny może być mechanizmem obronnym, który zapobiega przyleganiu i kolonizacji jelita cienkiego bakteriom chorobotwórczym. W tym przypadku modulacja przepuszczalności jelit poprzez aktywację szlaku zonuliny może być dodatkiem do niespecyficznej odpowiedzi organizmu na utrzymanie homeostazy jelit. Z tego powodu poziomy zonuliny nie zawsze mogą przekładać się na patologiczny stan kliniczny [29,30].

W 2022 roku zostało opublikowane badanie przeprowadzone na myszach, które dostarczyło dowodów na to, że dieta bogata w tłuszcze nasycone i fruktozę prowadzi do zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej poprzez zwiększenie poziomu zonuliny. Wyniki tych badań sugerują, że zonulina może stanowić jeden z mechanizmów, za pomocą którego dieta może wpływać na zdrowie jelit [31,32]. W 2017 roku opublikowano badanie, które wykazało związek między poziomem zonuliny a dysbiozą jelitową. Badacze zauważyli, że osoby z wyższym poziomem zonuliny miały gorszą jakość mikrobioty jelitowej i większą dysbiozę jelitową, co sugeruje, że zonulina może wpływać na skład i funkcję mikrobioty jelitowej [33]. Z kolei inne badanie z 2021 zdaje się potwierdzać tą tezę, zbadano 74 nastolatków z otyłością w wieku 12-17 lat. Przeprowadzono badania antropometryczne oraz skład mikroflory jelita grubego w zależności od płci. Należy zauważyć, że otyłości towarzyszy powstawaniu dysbiozy jelitowej u 78,2% pacjentów, wraz ze spadkiem bezwzględnej mikroflory i wzrostem warunkowo patogennej mikroflory. U młodzieży wystąpił istotny wzrost poziomu interleukiny-6 i tendencja do wzrostu poziomu interleukiny-10 w porównaniu z młodzieżą o prawidłowej masie ciała, co świadczyło o zapaleniu o małym nasileniu. Zaobserwowano znaczny wzrost poziomu zonuliny u otyłych nastolatków w porównaniu z grupą kontrolną, co może świadczyć o zwiększonej przepuszczalności jelit [141].

W 2022 roku opublikowano badanie przeprowadzone na grupie pacjentów z celiakią. Zbadano, czy pacjenci nieprzestrzegający diety bezglutenowej mają wyższy

poziom zonuliny w surowicy i przepuszczalność jelit. Poziomy zonuliny i przepuszczalność jelit były wyższe u osób z celiakią, które nie przestrzegały diety bezglutenowej. Badacze sugerują, że zonulina może być markerem aktywności choroby i wpływać na stan bariery jelitowej u pacjentów z celiakią [34,142]. Populacyjne badania genetyczne wykazały, że zwiększony odsetek nowo zdiagnozowanych małych dzieci z cukrzycą typu 1 ma również wyższe ryzyko genetyczne celiakii, co sugeruje, że wspólne środowiskowe czynniki ryzyka napędzają występowanie obu chorób.

Ciekawym badaniem było badanie z 2015 roku w którym, wykazano, że stężenie zonuliny w surowicy wzrasta nie tylko w celiakii, ale także u pacjentów z nieceliakalną nadwrażliwością na gluten oraz IBS-D. Ciekawym wydaje się, że, poziom zonuliny w surowicy korelował ze zmianami przeciwciał anty-TTG i anty-DGP. Dane sugerują, że zależna od zonuliny dysfunkcja wywołująca „nieszczelne jelita" może odgrywać rolę w patofizjologii tych chorób Konieczne są dalsze badania, aby wykazać możliwą rolę zonuliny jako biomarkera w patologiach ze zmianą przepuszczalności, takich chorób jak NCGS i IBS [36].

Badania wykazały zwiększoną przepuszczalność jelitową w zespole jelita drażliwego. Jednym z badań jest badanie badające związek poziomu zonulina a IBS. Stężenie zonuliny w surowicy jest podwyższone w zespole jelita drażliwego, a poziomy są porównywalne z tymi w celiakii. Poziomy zonuliny korelowały z nasileniem nawyków jelitowych w zespole jelita drażliwego z przewagą biegunki [37].

4.Omówienie Strategii Dietetycznej

W 2022 roku opublikowano badanie, którego celem było ustalenie zaleceń żywieniowych dla pacjentów z czynnościowymi zaburzeniami jelitowymi. Zgodnie z tym badaniem, dieta powinna być zrównoważona i uwzględniać preferencje pacjentów, a także powinna uwzględniać spożycie błonnika pokarmowego, który może pomóc w łagodzeniu objawów bólu brzucha u pacjentów z czynnościowymi zaburzeniami jelitowymi [40,41].

4.1. NICE

Wytyczne NICE (National Institute for Health and Care Excellence) są opracowane w sposób bardziej ogólny, koncentrując się na różnych aspektach, nie tylko na eliminacji konkretnych produktów będących potencjalnym źródłem FODMAP. Na przykład, zalecenia obejmują zmianę zachowań żywieniowych, takich jak regularne spożywanie

posiłków i znalezienie czasu na nie, aby poprawić stan zdrowia., wytyczne zawierają zalecenia, które mają na celu łagodzenie objawów żołądkowo-jelitowych, takich jak w przypadku IBS, ale nie skupiają się wyłącznie na eliminacji konkretnych składników diety. Zmiany w zachowaniach żywieniowych, takie jak regularne i spokojne spożywanie posiłków, mogą mieć pozytywny wpływ na objawy żołądkowo-jelitowe. Wytyczne NICE odnoszą się do tych aspektów, aby wspierać pacjentów w łagodzeniu objawów IBS i poprawie jakości życia, nie skupiając się wyłącznie na restrykcyjnych ograniczeniach żywieniowych.

Jest to podejście, które uwzględnia szeroki zakres czynników i ma na celu zapewnienie pacjentom kompleksowej opieki żywieniowej, aby skutecznie łagodzić objawy żołądkowo-jelitowe i poprawić ich zdrowie.

1. Zaleca się spożywanie regularnych posiłków w spokojnej atmosferze, bez pośpiechu.
2. Należy unikać pomijania posiłków oraz długich przerw między nimi.
3. Wskazane jest picie co najmniej 8 szklanek płynu dziennie, szczególnie wody lub innych napojów bezkofeinowych, takich jak ziołowe herbaty.
4. Zaleca się ograniczenie spożycia herbaty i kawy do maksymalnie 3 filiżanek dziennie.
5. Należy ograniczyć spożycie napojów gazowanych.
6. Ograniczenie spożycia pokarmów bogatych w błonnik może być pomocne, takich jak pełnoziarniste mąki, pieczywo lub zboża o wysokiej zawartości błonnika.
7. Zaleca się ograniczenie spożycia skrobi opornej na trawienie, która często występuje w żywności przetworzonej lub gotowej do spożycia.
8. Spożycie świeżych owoców powinno być ograniczone do 3 porcji dziennie, gdzie porcja wynosi około 80g.
9. Osoby cierpiące na biegunkę powinny unikać sorbitolu, który występuje w gumach do żucia, niektórych napojach oraz niektórych produktach dla diabetyków i odchudzających [176].

4.2. FODMAP

Koncepcja diety FODMAP opiera się na założeniu, że różne składniki FODMAP mają skumulowany wpływ na funkcjonowanie jelit. Redukcja ogólnego spożycia wszystkich składników FODMAP u jednostki może maksymalizować korzyści wynikające z tej zmiany żywieniowej w kontekście łagodzenia objawów. Jeśli szerokie ograniczenie to

przynosi pożądane rezultaty, poszczególne składniki FODMAP można stopniowo wprowadzać ponownie, metodologicznie identyfikując konkretne czynniki wywołujące objawy oraz tolerowane przez daną osobę dawki. Następnie można dostosować lub spersonalizować dietę FODMAP, która jest odpowiednia pod względem wartości odżywczych i zrównoważona na dłuższą metę. Obecnie ten trójstopniowy proces, który obejmuje kolejno: „redukcję FODMAP", „reintrodukcję FODMAP" oraz „utrzymującą dietę FODMAP", znany jest jako „dieta FODMAP" lub „strategia żywieniowa FODMAP". W początkowej fazie charakteryzuje się ona rygorystycznym ograniczeniem spożycia wszystkich składników FODMAP (tzw. „dieta niskofodmapowa") [39].

FODMAP to grupa dietetycznych krótkołańcuchowych węglowodanów, które docierają do jelita grubego z powodu: (a) powolnego wchłaniania, co wynika z nadmiernego spożycia fruktozy w stosunku do glukozy i polioli, takich jak mannitol i sorbitol; (b) niestrawności w jelicie cienkim, szczególnie fruktooligosacharydów (fruktanów) i galaktooligosacharydów, z powodu braku odpowiednich enzymów hydrolitycznych w jelicie; lub (c) obniżonej aktywności odpowiednich enzymów hydrolitycznych na szczycie kosmków jelitowych, które mogą być wynikiem czynników genetycznych lub nabytych, na przykład w przypadku laktozy (hipolaktazji) oraz rzadziej, prawdopodobnie sacharozy (hipomorficzne formy sacharazy-izomaltazy). Wartości FODMAP dla różnych żywności zostały dokładnie zmapowane, a wyniki, klasyfikowane jako niskie, graniczne lub wysokie FODMAP dla standardowych wielkości porcji, są łatwo dostępne w specjalnej aplikacji dietetycznej FODMAP stworzonej przez Uniwersytet Monash. Dzięki temu osoby stosujące dietę FODMAP mogą łatwo kontrolować spożycie tych węglowodanów i unikać potencjalnych dolegliwości jelitowych, jakie mogą się pojawić przy ich nietolerancji. Dieta FODMAP stała się skuteczną strategią dla osób z wrażliwością na te węglowodany, ponieważ pozwala na indywidualne dostosowanie spożycia FODMAP, minimalizując ryzyko wystąpienia dolegliwości jelitowych, takich jak wzdęcia, bóle brzucha czy biegunka. Poprzez ścisłe monitorowanie i kontrolę diety w oparciu o dane z aplikacji FODMAP, pacjenci mogą osiągnąć poprawę jakości życia i lepsze samopoczucie [38]. W ostatnich latach, podejście dietetyczne oparte na fermentujących oligosacharydach, disacharydach, monosacharydach i poliolach (FODMAP) zdobyło znaczącą uwagę w kontekście leczenia zespołów funkcjonalnych zaburzeń przewodu pokarmowego (FGID) zarówno u dorosłych, jak i dzieci. Dieta niskofodmapowa (LFM) polega na ograniczeniu spożycia określonych rodzajów węglowodanów podlegających fermentacji, w tym produktów zawierających fruktany (np.

pszenica i cebula), galaktooligosacharydy (np. rośliny strączkowe i kapusta), laktozę (np. produkty mleczne) oraz nadmiar fruktozy w stosunku do glukozy (np. gruszki i jabłka). Dodatkowo, zaleca się ograniczenie spożycia polioli, takich jak sorbitol i mannitol (np. owoce pestkowe i sztuczne słodziki). Badania wykazały obiecujący wpływ diety o niskiej zawartości FODMAP na zmniejszenie objawów czynnościowych przewodu pokarmowego u dorosłych pacjentów. Wprowadzenie diety LFM może przynieść ulgę w przypadku dolegliwości takich jak wzdęcia, bóle brzucha, wiatry oraz nieregularne wypróżnienia. Ponadto, dieta LFM została z powodzeniem stosowana u dzieci z FGID, co sugeruje, że może być skuteczną opcją terapeutyczną również w tej grupie wiekowej. Warto podkreślić, że dieta LFM wymaga odpowiedniego monitorowania i indywidualnego dostosowania pod nadzorem specjalisty dietetyka, aby uniknąć niedoborów składników odżywczych. Mimo to, FODMAP stał się cennym narzędziem w zarządzaniu objawami FGID i przyciągnął znaczną uwagę ze strony społeczności naukowej i pacjentów, jako perspektywiczna strategia żywieniowa dla osób z tymi dolegliwościami przewodu pokarmowego [12] ale dowody na to u dzieci są ograniczone [13-15].

U dorosłych postępowanie dietetyczne, zwłaszcza dieta FODMAP, jest kluczowym, opartym na dowodach elementem terapii multimodalnej u pacjentów z zaburzeniami interakcji jelitowo-mózgowych, w szczególności z zespołem jelita drażliwego Wskazanie odpowiednich kryteriów do rozszerzenia diagnostyki jest kluczowe, ponieważ umożliwia szybkie postawienie trafnej diagnozy oraz skuteczne wdrożenie odpowiedniego planu terapeutycznego. Taka kompleksowa ocena stanu pacjenta przyczynia się do znaczącej poprawy wskaźników przeżycia oraz minimalizuje nieodwracalne uszkodzenia, co ma kluczowe znaczenie dla osiągnięcia korzystnych wyników leczenia [16].

Analizując szereg badań dotyczących wpływu diety FODMAP na zespół jelita drażliwego (IBS), można zauważyć korzystne działanie tego podejścia. Na przykład, w jednym z badań przeprowadzonych na dzieciach z IBS (zdiagnozowanym zgodnie z kryteriami z Rzymskimi III), uczestnicy zostali losowo przydzieleni do diety o niskiej zawartości FODMAP lub typowej amerykańskiej diety dla dzieci (TACD), po czym odbył się 5-dniowy okres adaptacji przed przejściem do kolejnej diety. Stwierdzono, że dieta o niskiej zawartości FODMAP wiązała się z mniejszą częstością występowania bólu brzucha w porównaniu z TACD. Dzieci również zgłaszały mniejszą liczbę codziennych epizodów bólu brzucha podczas diety o niskiej zawartości FODMAP. Osoby reagujące na dietę o niskiej zawartości FODMAP wykazywały również bogatszą mikroflorę jelitową (np.

Bacteroides, Ruminococcaceae, Faecalibacterium prausnitzii). Na podstawie tych wniosków można stwierdzić, że dieta o niskiej zawartości FODMAP przyczynia się do zmniejszenia częstości występowania bólu brzucha. Biomarkery mikrobiomu jelitowego mogą być związane z różną skutecznością diety FODMAP [42].

Każda strategia dietetyczna, która obejmuje ograniczenia dietetyczne, napotyka określone pytania dotyczące bezpieczeństwa. Charakter restrykcyjnych diet w populacji pediatrycznej oznacza, że wpływa to na całą rodzinę, w której rodzice odgrywają kluczową rolę we wpływaniu na nawyki żywieniowe swoich dzieci. Obecnie istnieje niewiele dobrej jakości danych naukowych dotyczących przestrzegania diety low FODMAP i jej wpływu na jakość życia dzieci i ich rodzin. Innym badaniem przeprowadzonym w 2019 roku na grupie dzieci w wieku od 5 do 14 lat z IBS wykazało, że zdrowe odżywianie skutecznie łagodzi objawy żołądkowo-jelitowe u dzieci z IBS, bez konieczności wykluczania FODMAP [174].

W przeglądzie badań przeprowadzonym w 2022 roku gdzie przyjrzano się kilku interwencjom dietetycznym w celu złagodzenia objawów FAPD. W tym przeglądzie systematycznym oceniono skuteczność i bezpieczeństwo interwencji dietetycznych u dzieci z FAPD. Znaleziono dowody o bardzo niskiej pewności, że stosowanie włókien prowadzi do większej skuteczności leczenia [44]. W badaniu przeprowadzonym w 2020 roku na grupie dzieci w wieku od 3 do 18 lat z czynnościami bólami brzucha, stwierdzono, że dieta FODMAP przyniosła poprawę objawów u większości dzieci, bez negatywnego wpływu na masę ciała [45]. Polskie badanie na polskiej populacji dzieci z czynnościowymi brzucha sugeruje, że dieta ta nie przynosi istotnej poprawy w zakresie częstości i nasilenia bólów brzucha oraz innych objawów u dzieci i należy poszukiwać innych sposobów leczenia tego schorzenia [60].

Wyniki badań są niestety dość rozbieżne, jedne sugerują, że dieta FODMAP może przynieść poprawę objawów u niektórych dzieci z czynnościami bólami brzucha inne, że nie przynosi istotnej poprawy. Jednakże, większość tych badań jest niewielka i krótkotrwała, co ogranicza siłę ich wyników. Potrzebne są dalsze badania, aby dokładniej ocenić skuteczność i bezpieczeństwo diety FODMAP u dzieci. Nie ma wystarczających dowodów przemawiających za lub przeciw skuteczności i bezpieczeństwu stosowania diety o niskiej zawartości FODMAP w leczeniu dzieci z FAPD [49].

Jeżeli wyniki są niejednoznaczne to czy można wywnioskować, że zmiana dietetyczna wpływa również na zmianę w mikroflorze jelitowej u tych dzieci? W jednym z

badań autorzy zwrócili uwagę na możliwy wpływ innych czynników, jak różnorodność mikroflory jelitowej [42].

5. Cel pracy

Głównym celem badania była ocena mikrobioty przewodu pokarmowego u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w relacji do zastosowanej interwencji dietetycznej w obrazie parametrów diagnostycznych.

Cele szczegółowe:

- ocena zależności pomiędzy zmianą analizowanych parametrów po zastosowaniu obu interwencji dietetycznych w zależności od początkowego składu mikrobioty jelitowej u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w obrazie parametrów diagnostycznych
- ocena zależności pomiędzy dietą FODMAP i NICE a zmianą składu mikrobioty jelitowej u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w obrazie parametrów diagnostycznych
- ocena możliwości wykorzystania analizowanych testów diagnostycznych jako wskaźników choroby/zaburzeń przewodu pokarmowego u dzieci

6. Hipotezy badawcze:

- dzieci z czynnościowym bólem brzucha mają nieprawidłową florę bakteryjną.
- modulacja dietetyczna zmienia skład mikrobioty przewodu pokarmowego w obrazie parametrów diagnostycznych.
- odpowiednio dobrana terapia dietetyczna może korzystnie wpłynąć na zmianę mikrobioty przewodu pokarmowego w obrazie parametrów diagnostycznych.
- odpowiednio przeprowadzona diagnostyka mikrobioty przewodu pokarmowego może być przydatnym narzędziem w leczeniu/profilaktyce dzieci z czynnościowym bólem brzucha w celu sprecyzowania działań terapeutycznych i profilaktycznych

7. Metodyka badań

7.1. Protokół badania

Do badania włączono dzieci w wieku od 5 do 12 lat, które miały zdiagnozowany czynnościowy ból brzucha na podstawie Kryteriów Rzymskich III, oraz których rodzice/opiekunowie prawni wyrazili zgodę na uczestnictwo w badaniu. Rekrutacje do badania zostały przeprowadzone w okresie od stycznia do października 2017 roku. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Wydziale Nauk Medycznych Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (decyzja nr 6/2015).

Kryteria włączenia: wiek 5–12 lat,

- rozpoznanie czynnościowego bólu brzucha według kryteriów Rzymskich III oraz na podstawie badania ultrasonograficznego
- pozytywna decyzja lekarza gastroenterologa do zakwalifikowania udziału w projekcie naukowym oraz podpisanie świadomej zgody rodziców na udział dziecka w badaniu.

Kryteria wyłączenia:

- organiczne zaburzenia przewodu żołądkowo-jelitowego,
- przewlekłe zapalne zaburzenia żołądkowo-jelitowe
- alergie pokarmowe i nietolerancje pokarmowe;
- kuracja antybiotykowa w obrębie ostatnich 8 tygodni.

Próba dzieci została zrekrutowana w ramach realizacji pracy doktorskiej pt.: Ocena skuteczności diety z ograniczeniem FODMAP w leczeniu czynnościowego bólu brzucha u dzieci, sfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie uzyskanych w ramach konkursu PRELUDIUM 9 (numer rej. 2015/17/N/NZ5/02596) (Boradyn K.M., Przybyłowicz K.E., Jarocka-Cyrta E. The role of selected dietary and lifestyle factors in the occurrence of symptoms in children with functional abdominal pain - a pilot study. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria 2020; 19(3); 291-300; https://doi.org/10.17306/J.AFS.0833.; Boradyn K.M., Przybyłowicz K.E., Jarocka-Cyrta E. Low FODMAP diet is not effective in children with functional abdominal pain: a randomized controlled trial. Annals of Nutrition and Metabolism 2020; Oct 19; 1-

11 https://doi.org/10.1159/000510795.; Boradyn K.M., Jarocka-Cyrta E., Przybyłowicz K.E., Obara-Gołębiowska M. Parental opinion about the low FODMAP diet in dietary treatment of children with functional abdominal pain. International Journal of Environmental Research and Public Health 2020; 17(15):5554. https://doi.org/10.3390/ijerph17155554). Badanie zostało przeprowadzone w ramach współpracy pomiędzy Katedrą Żywienia Człowieka, Wydziału Nauki o Żywności, oraz Katedrą Pediatrii Klinicznej, Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie Gastroenterologicznej Wojewódzkiego Specjalistycznego Szpitala Dziecięcego w Olsztynie. Uzyskane dane stanowią bazę danych Katedry Żywienia Człowieka.

7.2. Interwencja dietetyczna

Dzieci zostały podzielone na dwie grupy za pomocą randomizacji: grupę badaną, która otrzymywała dietę z ograniczeniem FODMAP, oraz grupę, która otrzymywała dietę zgodną z zaleceniami NICE.

Interwencja dietetyczna trwała 4 tygodnie, a wszystkie posiłki były dostarczane przez firmę cateringową na podstawie ustalonych przez dietetyka jadłospisów.

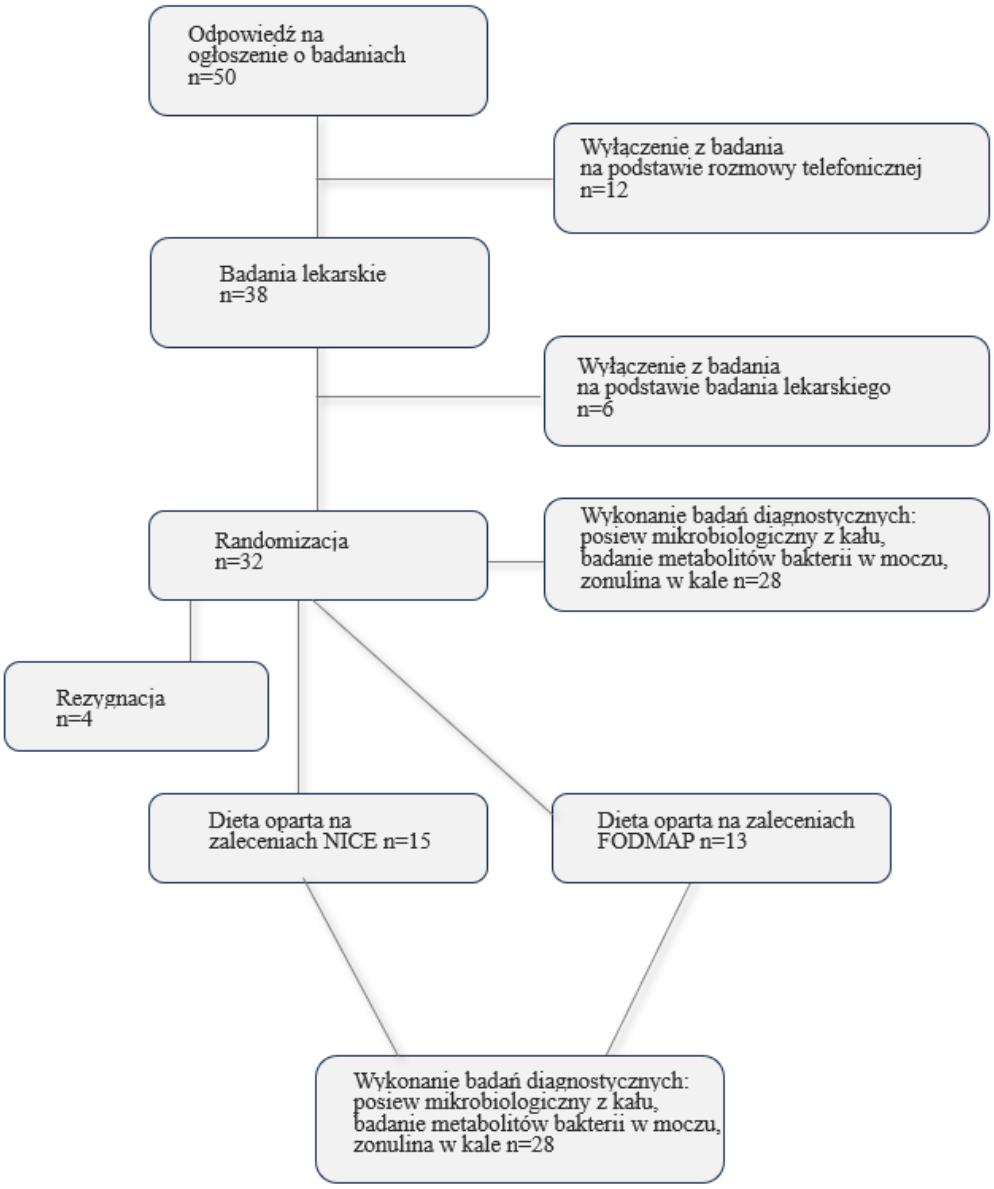
Diety, które zostały zastosowane w badaniu, były zgodne z normami żywienia opracowanymi dla populacji Polski [194]. Poziom kalorii i składniki makroskładników zawarte w dietach zostały dostosowane do indywidualnych potrzeb pacjentów, uwzględniając różnice związane z wiekiem, płcią, masą ciała oraz poziomem aktywności fizycznej. Codzienna dieta składała się z pięciu posiłków: śniadania, drugiego śniadania, obiadu, podwieczorka i kolacji.

Dieta z ograniczeniem FODMAP została opracowana przy użyciu aplikacji Low FODMAP diet AppTM (Melbourne, Victoria, Australia) opracowanej przez Monash University [38]. Posiłki składano głównie z produktów zawierających małe ilości FODMAP i ograniczonych ilości produktów o umiarkowanej zawartości FODMAP, przy jednoczesnym wykluczeniu produktów bogatych w FODMAP. Natomiast dieta NICE opierała się na wytycznych NICE i zawierała zarówno produkty o niskiej, jak i wysokiej zawartości FODMAP.

7.3. Schemat badania

Randomizacja pacjentów dokonana na podstawie tabeli liczb losowych

- I grupa badana – dieta z ograniczoną zawartością FODMAP
- II grupa badana – dieta oparta na zaleceniach NICE



Rysunek 1 . Schemat badania

7.4. Badanie diagnostyki mikrobioty przewodu pokarmowego

Zrekrutowanym do badań dzieciom wykonano ten sam pakiet badań diagnostycznych w II etapach.

Badania mikrobioty jelitowej wykonano w Alab Laboratoria Sp. z o.o., które posiada ISO 14001:2015 spełniające wymagania normy Systemu Zarządzania Środowiskowego: Certyfikat obejmuje następujący zakres: usługi medycznej diagnostyki laboratoryjnej, mikrobiologicznej, genetycznej, serologii, transfuzjologicznej, farmakologii klinicznej, patomorfologii oraz zarządzanie siecią medycznych laboratoriów diagnostycznych, oraz posiada akredytację na zgodność z normą PN-EN ISO 15189:2013-05 – europejską normą jakości wykonywanych badań w medycznych laboratoriach diagnostycznych.

Badanie zonuliny w kale wykonano w laboratorium Ganzimmun w Mainz w Niemczech, które posiada akredytacje Niemieckiej Jednostki Akredytacyjnej GmbH zgodnie z DIN EN ISO/IEC 17025:2016

Badanie metabolity organiczne w moczu w Centrum Badawczo-Rozwojowym Alab Laboratoria Sp. z o.o., które posiada akredytację na zgodność z normą PN-EN ISO 15189:2013-05 – europejską normą jakości wykonywanych badań w medycznych laboratoriach diagnostycznych.

I etap – przed rozpoczęciem interwencji dietetycznej
II etap – po zakończeniu interwencji dietetycznej FODMAP oraz NICE.

7.4.1. Badane parametry diagnostyczne:

7.4.1.1. Zonulina w kale; metoda immunoenzymatyczna (ELISA) – zakres referencyjny: >60ng/ml

7.4.1.2. Badanie flory bakteryjnej w kale - hodowla i identyfikacja bakterii; NIR; ELISA, które zawierało :

- ***Bakterie tlenowe i względnie beztlenowe:***
  - ✓ *Escherichia coli zakres referencyjny: $1x10^{\wedge 6}$-$9x10^{\wedge 7}$*
  - ✓ *Proteus sp. zakres referencyjny: <$1x10^{\wedge 4}$*

- ✓ *Klebsiella* sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Enterobacter* sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Hafnia alveii* zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ Serratia sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Providencia* sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Morganella morganii* zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Kluyvera* sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Citrobacter* sp. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Pseudomonas sp*. zakres referencyjny: <1x10^4
- ✓ *Enterococcus sp*. zakres referencyjny: 1x10^6-9x10^7

- **Bakterie beztlenowe**

- ✓ *Bacteroides sp.* zakres referencyjny 1x10^9-9x10^11
- ✓ *Bifidobacterium sp.* zakres referencyjny: 1x10^9-9x10^11
- ✓ *Lactobacillus sp*. zakres referencyjny : 1x10^6-9x10^7
- ✓ *Clostridium sp.* zakres referencyjny: <1x10^6
- ✓ *Clostridium difficile* zakres referencyjny : nieobecny

- **Grzyby**

- ✓ *Candida albicans* zakres referencyjny: <1x10^3
- ✓ *Candida sp*. zakres referencyjny : <1x10^3

- *Geotrichium sp*. zakres referencyjny : <1x10^3
- **Pleśń : zakres referencyjny : nieobecna**
- **pH kału** – metodą biochemiczna, norma : 7,0 – 7,7

7.4.1.3. Badanie metabolitów bakterii w moczu - materiałem do badania był mocz pobrany z próbki porannej, ze środkowego strumienia. Badanie wykonano metodą spektrometrii mas, która wskazuje we wczesnym etapie na zwiększoną kolonizację patogennych mikroorganizmów w jelicie, D-arabinitol – wykonany chromatografią gazową – tandemową spektrometrię mas (GC-MS/MS).

- **Badane metabolity :**
  - ✓ Kwas fenylooctowy - zakres referencyjny : <19,50 ug/g kreatyniny

- ✓ Kwas hydroksybenzoesowy - zakres referencyjny : <0,90 mg/g kreatyniny
- ✓ Kwas benzoesowy - zakres referencyjny : <1,10 mg/g kreatyniny
- ✓ Kwas hipurowy - zakres referencyjny: <554,10 mg/g kreatyniny
- ✓ Kwas winowy - zakres referencyjny : <2,2 mg/g kreatyniny
- ✓ Kwas hydroksy-2-metylobutanodiowy - zakres referencyjny : <4,90 mg/g kreatyniny
- ✓ D-arabinitol - zakres referencyjny : <9,24 mg/g kreatyniny
- ✓ Kwas p-hydroksyfenylooctowy - zakres referencyjny : <21,40
- ✓ mg/g kreatyniny
- ✓ Indykan - zakres referencyjny : <87,00mg/

8. Analiza statystyczna

Zmienne jakościowe opisano za pomocą liczby oraz odsetka. Zmienne ilościowe o rozkładzie zbliżonym do normalnego za pomocą średniej wraz z odchyleniem standardowym, a zmienne ilościowe o rozkładzie różnym od rozkładu normalnego za pomocą mediany oraz rozstępu kwartylnego (*interquartile range* - IQR). Normalność rozkładu zmiennych ilościowych została oceniona na pomocą testu Shapiro-Wilka. Podstawową charakterystykę uczestników badania, tj. wiek i płeć porównano między ramieniami badania za pomocą odpowiednio testu t Studenta dla prób niezależnych oraz testu χ^2. Średnie stężenie zonuliny po transformacji porównano między grupami przed i po interwencji za testu U Mann-Whitney'a. Dodatkowo w celu oceny czy różnica między grupami po interwencji (efekt interwencji) nie jest zaburzona poprzez stężenie przed interwencją (szczególnie poprzez różnicę w stężeniu między grupami jako wynik niedoskonałości losowego doboru do grup w przypadku małych liczebności) przeprowadzono analizę kowariancji (ANCOVA). Zbudowano model, gdzie zmienną zależną było zlogarytmizowane stężenie markeru po interwencji, a zmiennymi niezależnymi zlogarytmizowane stężenie markeru przed interwencją oraz grupa interwencji żywieniowej. Analogicznie przeanalizowano dane dla posiewu kału oraz stężenia metabolitów w moczu.

W analizie wyników posiewu kału, w wypadku mikroorganizmów występujących rzadko (<4 osób z liczbą baterii > wartości referencyjnej) dane przedstawiono jakościowo jako liczba i odsetek osób z dodatnim posiewem. Formalne porównanie grup pod kątem tych mikroorganizmów nie było możliwe z racji za małej liczebności próby. Za wynik testu istotny statystycznie uznano dwustronne $P<0.05$. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem języka R wersja 4.1.0 (R Foundation for Statistical Computing, Wiedeń, Austria).

W analizie wyników metabolitów bakterii w moczu całej grupy badanej, w wypadku mikroorganizmów występujących bardzo często (<21 osób z liczbą metabolitów > wartości referencyjnej) dane przedstawiono jakościowo jako liczba i odsetek osób z dodatnim wynikiem.

9. Wyniki, omówienie

9.1. Charakterystyka grupy

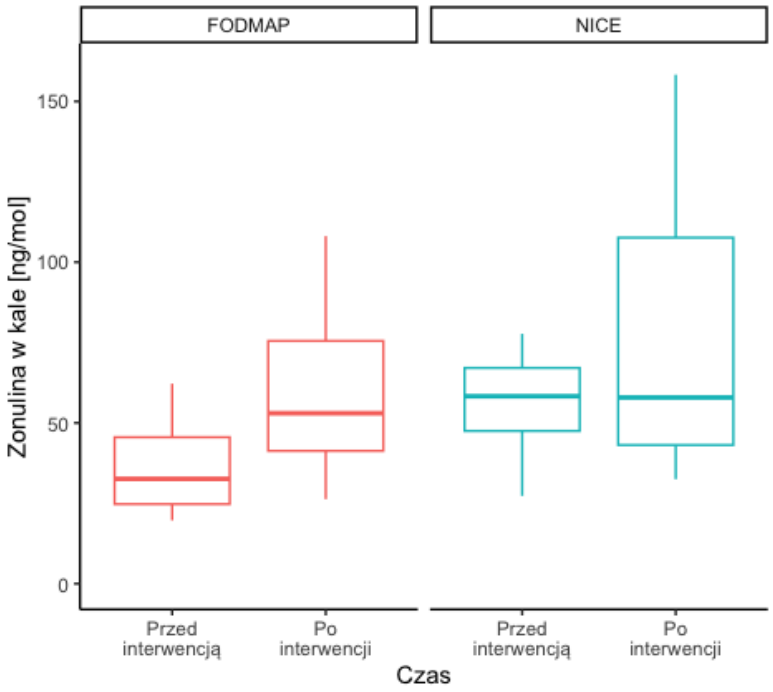
	Grupa FODMAP	**Grupa NICE**	**P**
n	14	13	
Wiek, lata	8.2 ± 2.3	8.7 ± 2.0	0.55
Płeć, n (%)			>0.99
Męska	7 (50%)	6 (46%)	
Żeńska	7 (50%)	7 (54%)	

Tabela 1. Ogólna charakterystyka podstawowa dzieci, które ukończyły interwencję żywieniową.

W tabeli 1. Przedstawiono podstawową charakterystykę dzieci, które po losowym przydzieleniu do ramion badania, ukończyły interwencję żywieniową oraz uczestniczyły w badaniu po zakończeniu interwencji. Interwencję żywieniową łącznie ukończyło 27 dzieci, w tym 14 było przydzielonych do grupy z dietą FODMAP i 13 do grupy z dietą NICE. Średni wiek dzieci nie różnił się istotnie statystycznie między ramionami badania (8.2 ± 2.3 vs. 8.7 ± 2.0, $P_{Student}$=0.55). Rozkład płci dzieci był również identyczny w obu grupach (Płeć męska 7 (50%) vs. 6 (46%), $P_{\chi 2}$>0.99)

9.2. Zawartość zonuliny w kale

Rycina 1. Mediana stężenia zonuliny w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.

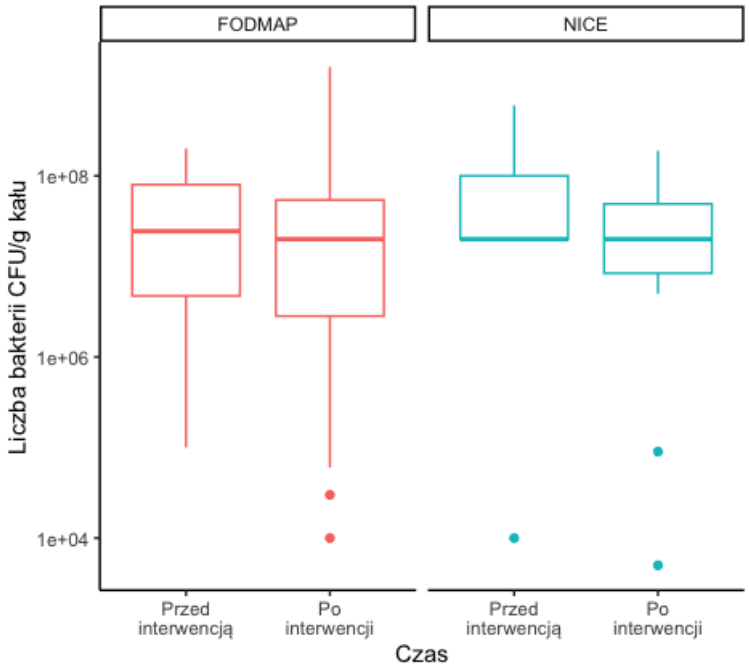


Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana zawartości zonuliny w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=14) wyniosła 33 (IQR: 25, 46) ng/mol, a w grupie z dietą NICE (n=13) wyniosła 58 (IQR: 48, 67) ng/mol. Zawartość zonuliny w kale przed interwencją była istotnie wyższa w grupie dzieci z grupą NICE niż w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.005). Po interwencji mediana zawartości zonuliny w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 53 (IQR: 41, 76) ng/mol, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 58 (IQR: 43, 108) ng/mol. Zawartość zonuliny w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.76). Pomiar zawartości zonuliny w kale był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie (B_{FODMAP}: -0.07, SE: 0.21, P=0.72).

9.3. Posiew kału

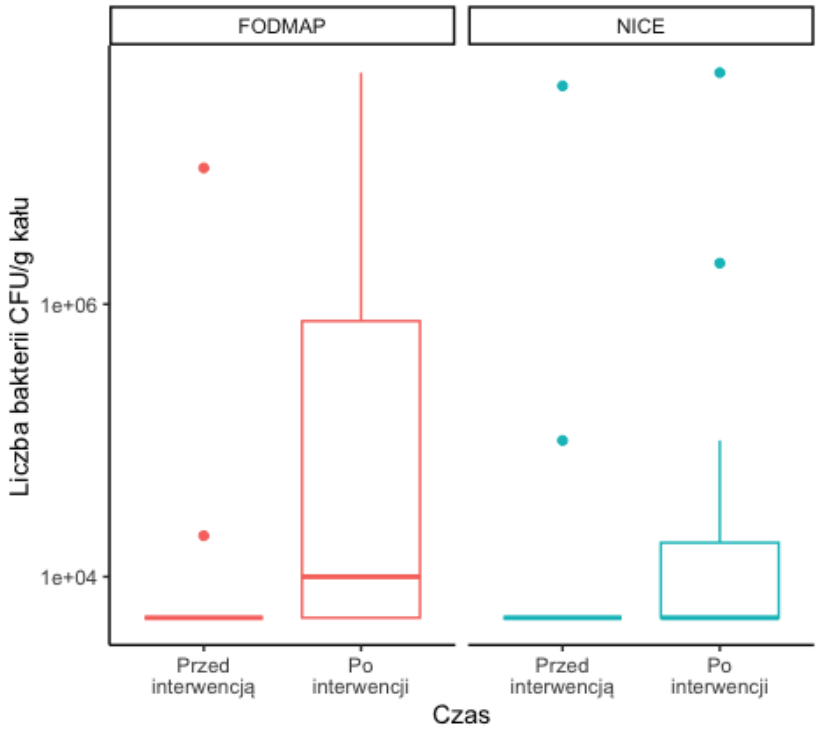
Rycina 2. Mediana liczby bakterii *Escherichia coli* w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Escherichia coli* w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 3,5 x 10^7 (IQR: 7,6 x 10^6, 8,0 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 2,0 x 10^7 (IQR: 2,0 x 10^7, 1,0 x 10^8) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna w grupie dzieci z grupą NICE od grupy dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.48). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 2,2 x 10^7 (IQR: 3,3 x 10^6, 5,5 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 2,0 x 10^7 (IQR: 8,8 x 10^6, 5,3 x 10^7) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.99). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.07, SE: 0.21, P=0.67).

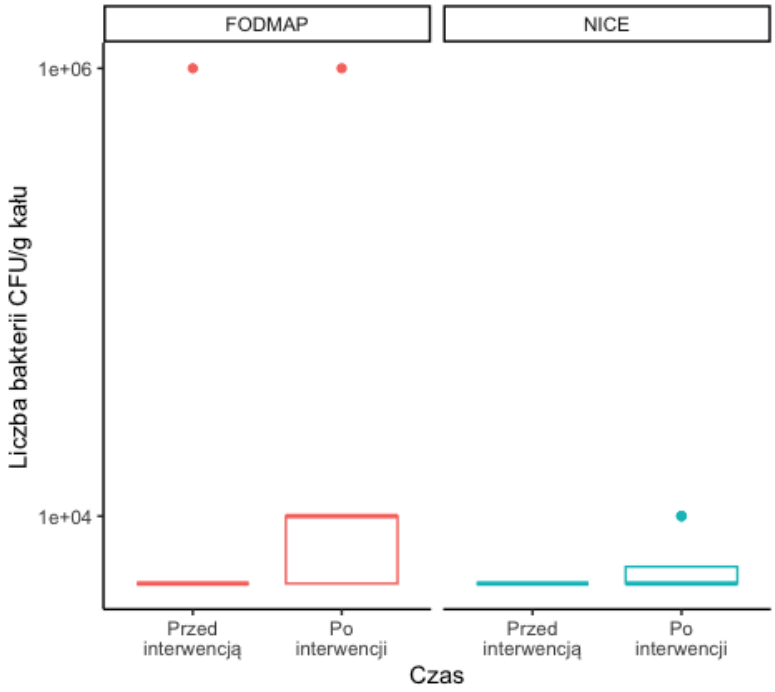
Rycina 3. Mediana liczby bakterii *Citrobacter* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Citrobacter* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 5 x 10^3 (IQR: 5 x 10^3, 5 x 10^3) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 5 x 10^3 (IQR: 5 x 10^3, 5 x 10^3) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna w grupie dzieci z grupą diety NICE od grupy dzieci z dietą FODMAP (P_{M-W}=0.72). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 1 x 10^4 (IQR: 5 x 10^3, 1.6575 x 10^6) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 5 x 10^3 (IQR: 5 x 10^3, 3.25 x 10^4) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa (P_{M-W}=0.30). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: 0.64, SE: 1.48, P=0.67).

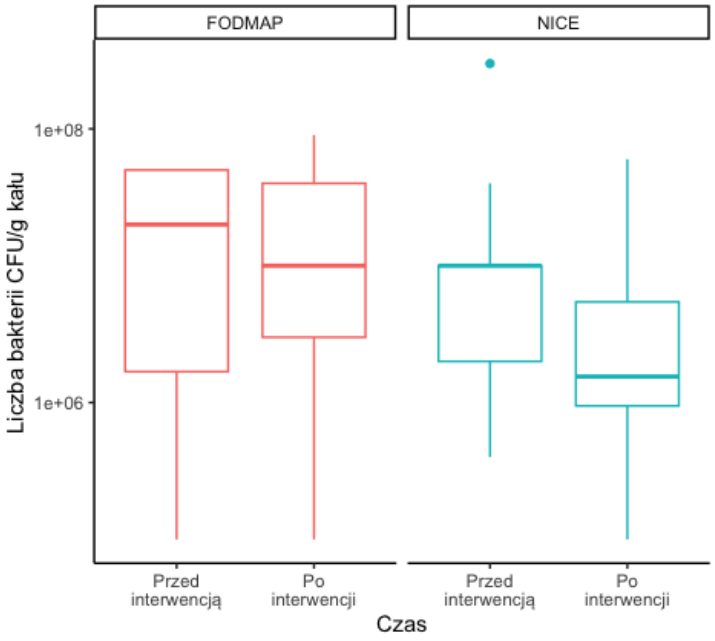
Rycina 4. Mediana liczby bakterii *Pseudomonas* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Pseudomonas* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 5,0 x 10^3 (IQR: 5,0 x 10^3, 5,0 x 10^3) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 5,0 x 10^3 (IQR: 5,0 x 10^3, 5,0 x 10^3) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna w grupie dzieci z grupą diety NICE od grupy dzieci z dietą FODMAP (P_{M-W}=0.44). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 1,0 x 10^4 (IQR: 5,0 x 10^3, 1,0 x 10^4) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 5,0 x 10^3 (IQR: 5,0 x 10^3, 6,3 x 10^3) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa (P_{M-W}=0.10). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.71, SE: 0.51, P=0.1)

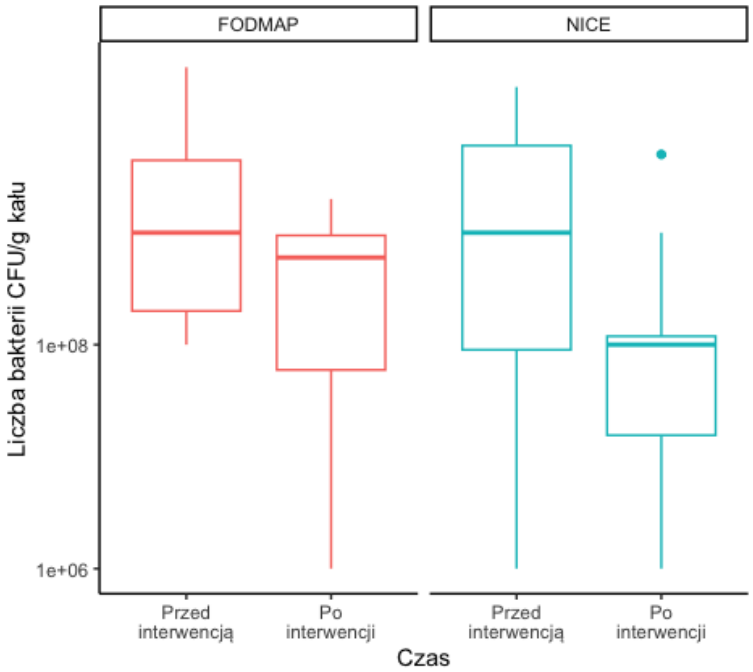
Rycina 5. Mediana liczby bakterii *Enterococcus* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Enterococcus* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 2,0 x 10^7 (IQR: 1,8 x 10^6, 5,0 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 1,0 x 10^7 (IQR: 2,0 x 10^6, 1,0 x 10^7) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna w grupie dzieci z grupą diety NICE od grupy dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.54). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 1,0 x 10^7 (IQR: 3,0 x 10^6, 4,0 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 1,6 x 10^6 (IQR: 9,5 x 10^5, 5,5 x 10^6) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.13). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -1.11, SE: 0.99, P=0.28).

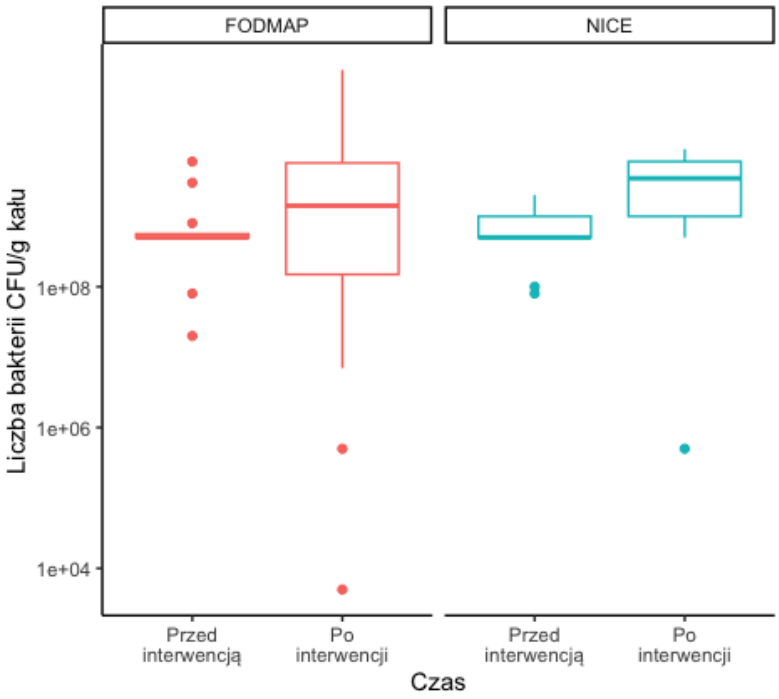
Rycina 6. Mediana liczby bakterii *Bacteroides* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Bacteroides* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 1,0 x 10^9 (IQR: 2,0 x 10^8, 4,5 x 10^9) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 1,0 x 10^9 (IQR: 9,0 x 10^7, 6,0 x 10^9) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna od grupy dzieci z grupą NICE niż w grupie dzieci z dietą FODMAP (P_{M-W}=0.64). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 6,0 x 108 (IQR: 6,3 x 10^7, 9,5 x 10^8) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 1,0 x 10^8 (IQR: 1,6 x 10^7, 1,3 x 10^8) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa (P_{M-W}=0.24). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie (B_{FODMAP}: -1.35, SE: 1.16, P=0.26).

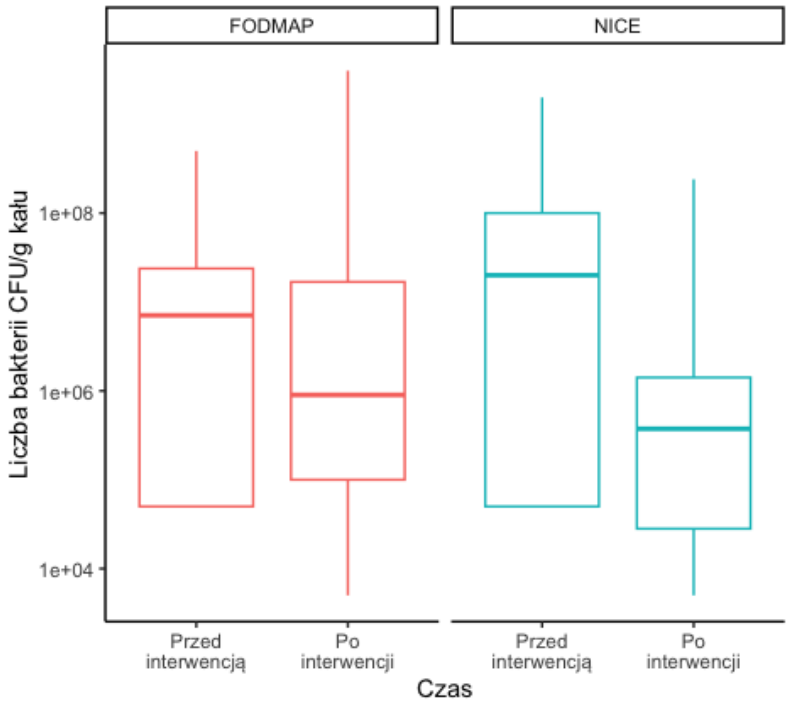
Rycina 7. Mediana liczby bakterii *Bifidobacterium* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Bifidobacterium* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 5,0 x 10^8 (IQR: 5,0 x 10^8, 5,8 x 10^8) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 5,0 x 10^8 (IQR: 5,0 x 10^8, 1,0 x 10^9) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna od grupy dzieci z grupą dietą NICE niż w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.68). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 1,5 x 10^9 (IQR: 2,0 x 10^8, 5,8 x 10^9) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 3,5 x 10^9 (IQR: 1,0 x 10^9, 6,0 x 10^9) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.41). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: 1.82, SE: 1.83, P=0.34).

Rycina 8. Mediana liczby bakterii *Lactobacillus* sp. w kale przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana liczby bakterii *Lactobacillus* sp. w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 7,5 x 10^6 (IQR: 5,0 x 10^4, 2,5 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 2,0 x 10^7 (IQR: 5,0 x 10^4, 1,0 x 10^8) CFU/g kału. Liczby bakterii w kale przed interwencją nie była istotnie statystycznie różna od grupy dzieci z grupą diety NICE niż w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.53). Po interwencji mediana liczby bakterii w kale w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=12) wyniosła 9,0 x 10^5 (IQR: 1,0 x 10^5, 1,8 x 10^7) CFU/g kału, a w grupie z dietą NICE (n=9) wyniosła 4,5 x 10^5 (IQR: 3,9 x 10^4, 1,8 x 10^6) CFU/g kału. Liczba bakterii w kale po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.39). Posiew kału w kierunku był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -3.074, SE: 1.63, P=0.08).

Tabela 2. Rozkład uczestników z potwierdzoną obecnością rzadkich mikroorganizmów w posiewie kału przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.

Posiew	**Wartość referencyjna**	**Przed interwencją**		**Po interwencji**	
		FODMAP	**NICE**	**FODMAP**	**NICE**
Proteus sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	3 (21%)	1 (8.3%)
Klebsiella sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	2 (17%)	0 (0%)	3 (21%)	2 (17%)
Enterobacter sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	2 (17%)	0 (0%)	2 (14%)	1 (8.3%)
Hafnia alveii	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	3 (21%)	1 (8.3%)
Serratia sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	2 (14%)	1 (8.3%)
Providencia sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	2 (17%)	0 (0%)	2 (14%)	1 (8.3%)
Morganella morganii	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	0 (0%)	1 (11%)	3 (21%)	1 (8.3%)
Kluyvera sp.	$<1 \times 10^4$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	2 (14%)	1 (8.3%)
Clostridium sp.	$<1 \times 10^6$ **[CFU/g]**	1 (8.3%)	1 (11%)	2 (14%)	1 (8.3%)
Clostridium difficile	Obecność	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Candida albicans	$<1 \times 10^3$ **[CFU/g]**	1 (8.3%)	2 (22%)	0 (0%)	2 (17%)
Candida sp.	$<1 \times 10^3$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	1 (7.1%)	2 (17%)
Geotrichium sp.	$<1 \times 10^3$ **[CFU/g]**	0 (0%)	0 (0%)	1 (7.1%)	1 (8.3%)
Pleśń	Obecność	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

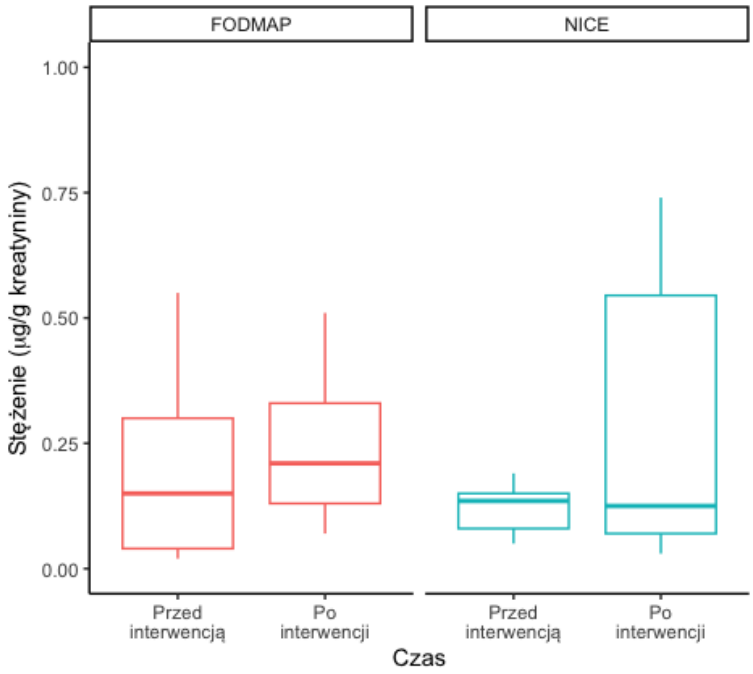
W tabeli 2. przedstawiono liczbę (odsetek) uczestników u których wykazano obecność rzadziej występujących mikroorganizmów w posiewie kału. Ze względu na małą liczbę

uczestników badaniu u których wykryto poszczególne mikroorganizmy nie jest możliwe porównanie statystyczne częstości ich występowania między grupami, zarówno przed jak i po interwencji. Przed interwencją u żadnego z dzieci przydzielonych do ramion z dietą FODMAP i NICE nie stwierdzono występowania *Proteus* sp., *Hafnia alveii, Serratia* sp., *Kluyvera sp., Clostridium difficile, Candida sp., Geotrichium sp.* oraz pleśni. Odpowiednio u dwojga dzieci w ramieniu z dietą FODMAP oraz u żadnego dziecka w ramieniu z dietą NICE wykazano występowanie *Klebsiella sp., Enterobacter sp.* oraz *Providencia sp. Morganella morganii* wykazano w kale jednego dziecka z grupy NICE, *Clostridium sp.* u jednego dziecka w obu grupach, a *Candida albicans* odpowiednio u jednego i dwójki dzieci w ramionach z dietą FODMAP i dietą NICE.

W posiewach zebranych po interwencji żywieniowej *Proteus sp., Hafnia alveii, Morganella morganii* wykazano odpowiednio u trojga i jednego dziecka w grupie FODMAP i NICE, *Enterobacter sp., Serratia sp., Providencia sp., Kluyvera sp., Clostridium sp.* odpowiednio u dwojga i jednego dziecka w grupie FODMAP i NICE. *Klebsiella sp.* zaobserwowano odpowiednio u trojga i dwojga dzieci w grupie FODMAP i NICE, *Candida sp.* u jednego i dwojga w grupie FODMAP i NICE, a *Geotrichum sp.* u jednego w obu grupach. *Clostridium difficile* oraz pleśń nie były wykryte w żadnej z grup po interwencji żywieniowej.

9.4. Stężenie metabolitów w moczu

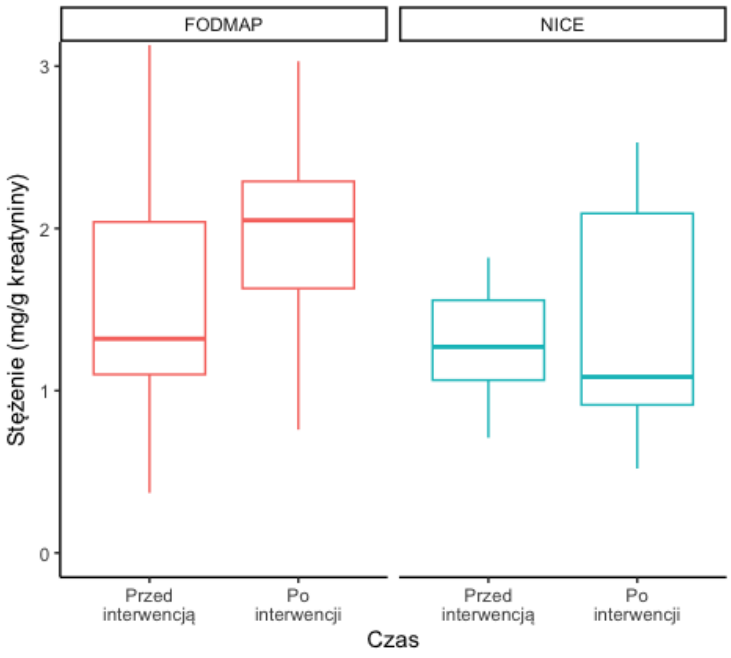
Rycina 9. Średnie stężenia kwasu fenylooctowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu fenylooctowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 0,15 (IQR: 0,04, 0,30) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 0,14 (IQR: 0,08, 0,15) µg/g kreatyniny. Stężenie kwasu fenylooctowego w grupie stosującą dietę NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.43). Po interwencji mediana stężenia kwas fenylooctowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 0.21 (IQR: 0.13, 0.33) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 0.13 (IQR: 0.07, 0.55) µg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwas fenylooctowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.62). Pomiar stężenia kwasu fenylooctowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.07, SE: 0.21, P=0.72).

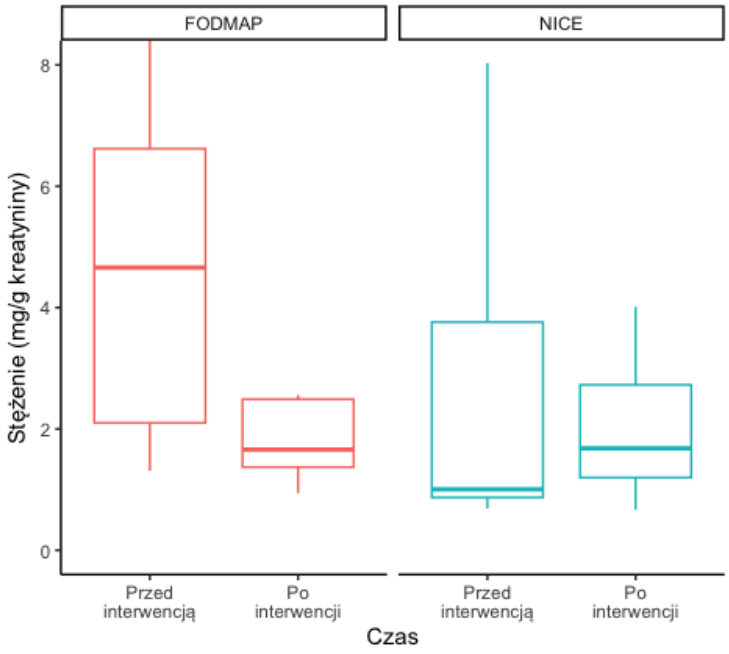
Rycina 10. Średnie stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 1.32 (IQR: 1,10, 2,04) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,27 (IQR: 1,07, 1,56) mg/g kreatyniny. Stężenie kwasu hydroksybenzoesowego w grupie diety NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.74). Po interwencji mediana stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 2.05 (IQR: 1,63, 2.,29) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,09 (IQR: 0,91, 2,09) mg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwasu hydroksybenzoesowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.09). Pomiar stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Jednakże stężenie metabolitu w grupie z dietą NICE było niższe niż w grupie z dietą FODMAP po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.58, SE: 0.26, P=0.03).

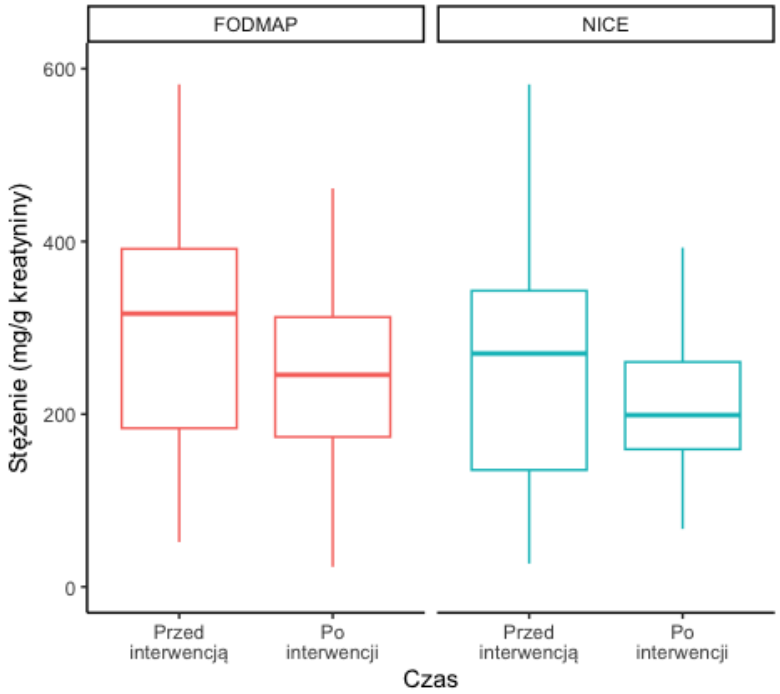
Rycina 11. Średnie stężenia kwasu benzoesowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu benzoesowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 4,7 (IQR: 2,1, 6,6) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,0 (IQR: 0,9, 3,8) µg/g kreatyniny. Stężenie kwasu benzoesowego w grupie diety NICE istotnie statystycznie niższe od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.01). Po interwencji mediana stężenia kwasu benzoesowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 1,7 (IQR: 1,4, 2,5) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,7 (IQR: 1,2, 2,7) µg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwasu benzoesowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.81). Pomiar stężenia kwasu benzoesowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.14, SE: 0.27, P=0.60).

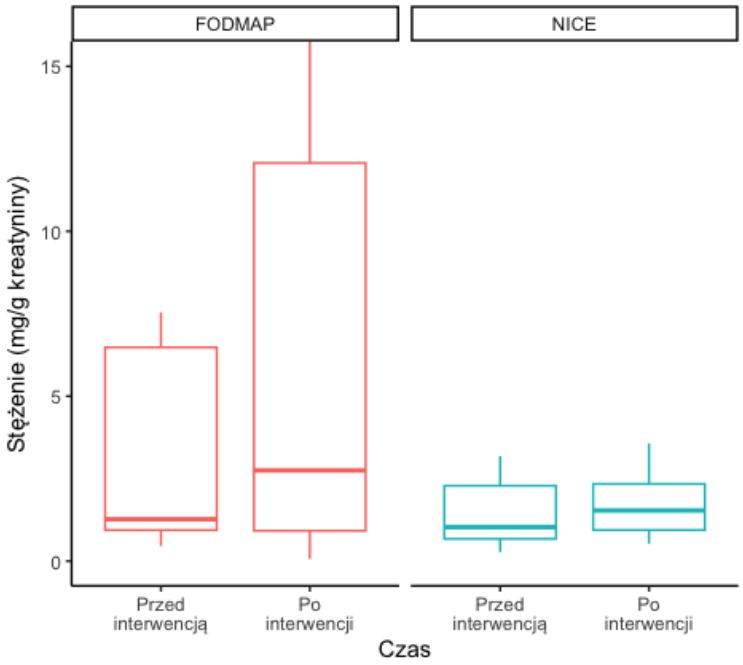
Rycina 12. Średnie stężenia kwasu hipurowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu hipurowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 316 (IQR: 184, 391) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 270 (IQR: 135, 343) µg/g kreatyniny. Stężenie kwasu hipurowego w grupie NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP (P_{M-W}=0.64). Po interwencji mediana stężenia kwas hipurowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 245 (IQR: 174, 312) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 199 (IQR: 159, 260) µg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwasu hipurowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa (P_{M-W}=0.43). Pomiar stężenia kwasu hipurowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.003, SE: 0.318, P>0.99).

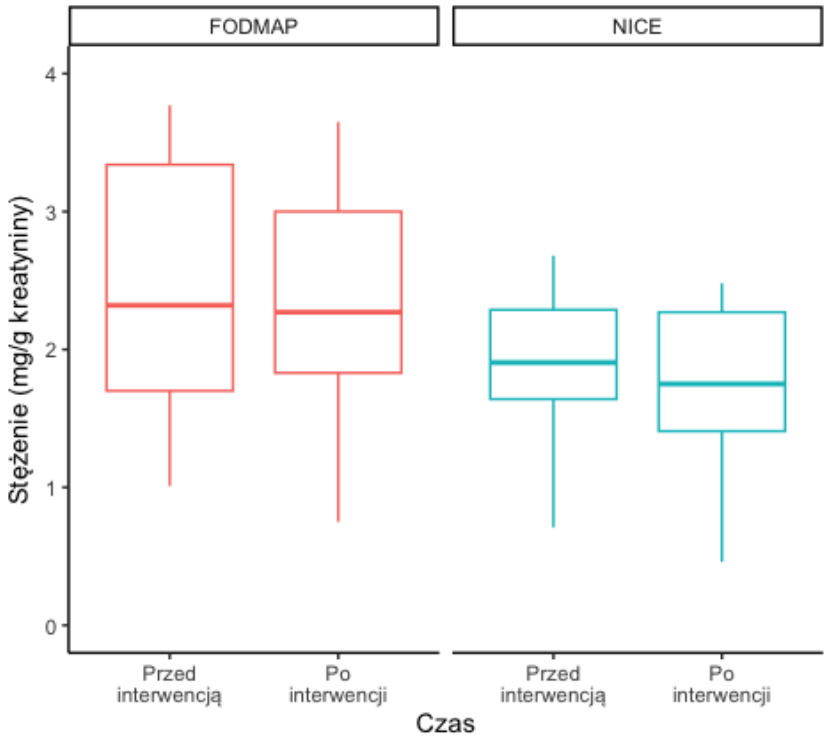
Rycina 13. Średnie stężenia kwasu winowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu winowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 1,27 (IQR: 0,94, 6,48) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,03 (IQR: 0.68, 2.29) mg/g kreatyniny. Stężenie kwasu winowego w grupie NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.21). Po interwencji mediana stężenia kwas winowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 2,75 (IQR: 0,92, 12,07) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,54 (IQR: 0,94, 2,34) mg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwasu winowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.43). Pomiar stężenia kwasu winowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.22, SE: 0.83, P=0.79).

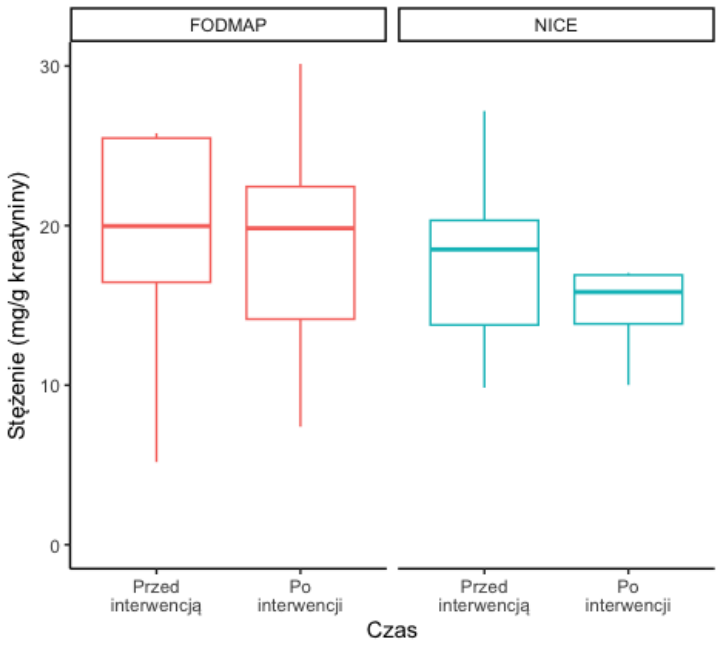
Rycina 14. Średnie stężenia kwasu hydroksy-2-metylobutanodiowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu hydroksy-2-metylobutanodiowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 2,32 (IQR: 1,70, 3,34) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,91 (IQR: 1,64, 2,29) µg/g kreatyniny. Stężenie kwasu hydroksy-2-metylobutanodiowego w grupie z dietą NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.18). Po interwencji mediana stężenia kwasu hydroksy-2-metylobutanodiowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 2,27 (IQR: 1,83, 3,00) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,75 (IQR: 1,41, 2,27) µg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwas hydroksy-2-metylobutanodiowego po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.29). Pomiar stężenia kwasu hydroksy-2-metylobutanodiowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.19, SE: 0.24, P=0.44).

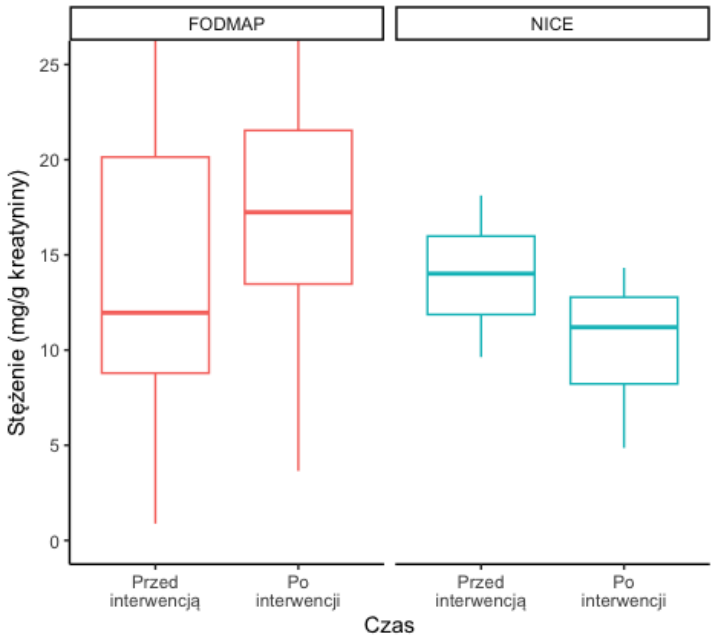
Rycina 15. Średnie stężenia D-arabinitolu w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia D-arabinitolu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 20 (IQR: 16, 25) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 19 (IQR: 14, 20) mg/g kreatyniny. Stężenie D-arabinitolu w grupie diety NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.26). Po interwencji mediana stężenia D-arabinitolu w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 20 (IQR: 0. 14, 22) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 16 (IQR: 14, 17) mg/g kreatyniny. Mediana stężenia D-arabinitolu po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.28). Pomiar stężenia D-arabinitolu w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.33, SE: 0.18, P=0.08).

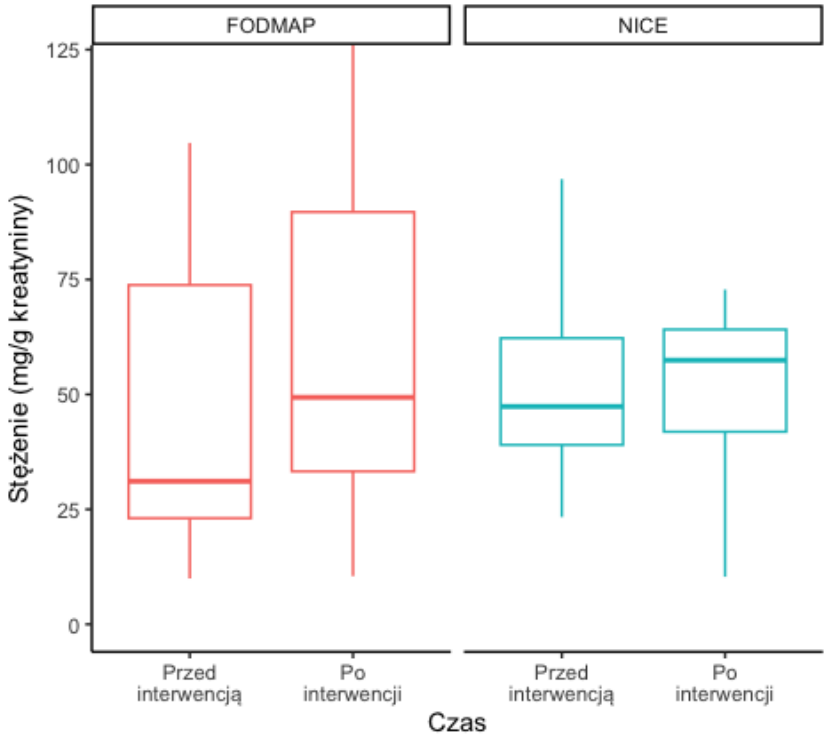
Rycina 16. Średnie stężenia kwasu p-hydroksyfenylooctowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia kwasu p-hydroksyfenylooctowego w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 12,0 (IQR: 8,8, 20,1) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 14,0 (IQR: 11,9, 16,0) µg/g kreatyniny. Stężenie kwasu p-hydroksyfenylooctowego w grupie NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.89). Po interwencji mediana stężenia kwasu p-hydroksyfenylooctowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 17,0 (IQR: 13,0, 22,0) µg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 11,0 (IQR: 8,0, 13,0) µg/g kreatyniny. Mediana stężenia kwas p-hydroksyfenylooctowego po interwencji była wyższa w grupie z dietą NICE niż w grupie z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.02). Pomiar stężenia kwasu p-hydroksyfenylooctowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Stężenie metabolitu było również istotnie statystycznie niższe w grupie NICE niż FODMAP po uwzględnieniu korekcji na stężenie metabolitu przed interwencją ($B_{KONTROLA}$: -0.49, SE: 0.22, P=0.03).

Rycina 17. Średnie stężenia kwasu indykanu w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.



Wartości na rycinie zostały przedstawione jako mediana z rozstępem kwartylnym (ramka) i minimum/maximum (wąs)

Przed interwencją mediana stężenia indykanu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 31 (IQR: 23, 74) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 47 (IQR: 39, 62) mg/g kreatyniny. Stężenie indykanu w grupie diety NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP ($P_{M\text{-}W}$=0.29). Po interwencji mediana indykanu w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 49 (IQR: 33, 90) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 57 (IQR: 42, 64) mg/g kreatyniny. Mediana stężenia indykanu po interwencji w obu grupach z interwencją dietetyczną była równa ($P_{M\text{-}W}$=0.85). Pomiar stężenia indykanu w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Różnica między grupami po interwencji po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie ($B_{KONTROLA}$: -0.23, SE: 0.27, P=0.41).

Tabela 3. Rozkład uczestników z potwierdzoną obecnością najczęściej występującą przekraczającą normę metabolitów w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej.

met. GC-MS/MS	**Wartość referencyjna mg/g kreatyniny**	**Przed interwencją**		**Po interwencji**	
		FODMAP	**NICE**	**FODMAP**	**NICE**
D-arabinitol	<9,24	12 (100%)	12 (92,31%)	11(91,66%)	12 (84,61%)
Kwas hydroksybenzoesowy	<0,90	11(84,61%)	12 (85,71%)	8 (66,66%)	12(92,31%)
Kwas benzoesowy	<1,10	5(41,66%)	12 (85,71%)	9 (75%)	12 (92,31%)

W tabeli 3. przedstawiono liczbę (odsetek) uczestników u których wykazano obecność najczęściej występujących metabolitów bakterii w moczu. Przed interwencją u prawie każdego uczestnika badania 23 osoby z 24 miały podniesiony parametr D-arabinitol. Zarówno u dzieci przydzielonych do ramion z dietą FODMAP i NICE stwierdzono występowanie przynajmniej trzech podniesionych parametrów metabolitów bakterii w moczu.

10. Dyskusja

10.1. Ocena zależności pomiędzy zmianą analizowanych parametrów po zastosowaniu obu interwencji dietetycznych w zależności od początkowego składu mikrobioty jelitowej u dzieci z czynnościowym bólem brzucha w obrazie parametrów diagnostycznych.

Średnie stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu przed i po interwencji w podziale na grupy w zależności od stosowanej diety interwencyjnej**.** Przed interwencją stężenie kwasu hydroksybenzoesowego w grupie diety NICE nie różniło się istotnie statystycznie od stężenia w grupie dzieci z dietą FODMAP (PM-W=0.74). Po interwencji mediana stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu w grupie dzieci z dietą FODMAP (n=13) wyniosła 2.05 (IQR: 1,63, 2.,29) mg/g kreatyniny, a w grupie z dietą NICE (n=12) wyniosła 1,09 (IQR: 0,91, 2,09) mg/g kreatyniny. Pomiar stężenia kwasu hydroksybenzoesowego w moczu był niedostępny u dwóch z uczestników badania. Jednakże stężenie metabolitu w grupie z dietą NICE było niższe niż w grupie z dietą FODMAP po uwzględnieniu korekcji na wartości przed interwencją nie była istotna statystycznie (BKONTROLA: -0.58, SE: 0.26, P=0.03). W badaniach przeprowadzonych dotyczących interakcji między różnymi organizmami, zauważono, że związek kwasu hydroksybenzoesowego, wykazuje silne działanie hamujące na tworzenie strzępek i biofilmów przez drożdże Candida albicans.

Warto pamiętać, że omawiany kwas jest organicznym kwasem. Szacuje się, że każdego dnia do jelita grubego dostaje się od 3 do 25 g białka i peptydów z pożywienia oraz z wewnętrznych źródeł organizmu, takich jak pozostałości komórek, bakterie, enzymy trzustkowe i inne substancje. W jelitach te substancje ulegają degradacji dzięki działaniu enzymów trzustkowych i bakteryjnych proteaz i peptydaz. W wyniku tego procesu powstają krótkie peptydy i aminokwasy, które są następnie fermentowane przez różne bakterie jelitowe, takie jak *Bacteroides, Lactobacillus, Bifidobacterium, Clostridium i Streptococcus.* W wyniku tych reakcji powstają różnorodne związki fenolowe i indolowe, takie jak fenol, krezol, HPA, kwas hydroksyfenylopropionowy (HPP) i kwas hydroksybenzoesowy. Są to główne produkty fermentacji tyrozyny w jelitach człowieka. Ponieważ wytwarzanie tych związków aromatycznych było hamowane w obecności łatwo fermentującego źródła węglowodanów, dostępność węglowodanów może być krytycznym czynnikiem wpływającym na fermentację aminokwasów aromatycznych w jelicie grubym

Wykorzystanie kwasu benzoesowego, kwasu p -hydroksybenzoesowego i kwasu fenylooctowego (PA) przez Enterobacter aerogenes jako jedynego źródła węgla i energii było jednym z pierwszych doniesień o katabolizmie kwasów aromatycznych przez enterobakterię [201]. W badaniach nad katabolizmem kwasów aromatycznych u bakterii E. coli zaobserwowano zróżnicowaną zdolność wewnątrzgatunkową do mineralizacji różnych związków aromatycznych, takich jak PA, HPA, PP, 3HPP, 3HCI, PEA, tyramina i dopamina. Związki aromatyczne wytwarzane przez beztlenowce jelitowe mają różne losy w organizmie. Mogą być odtruwane poprzez sprzęganie z glukuronidami lub siarczanami, a także pozostać niewchłonięte i wydalane z kałem i moczem. Istnieje również możliwość, że w lokalnych warunkach tlenowych w jelicie grubym ulegną całkowitemu rozpadowi pod wpływem niektórych fakultatywnych beztlenowców, w tym E. coli. Wprawdzie nie było istotnie statystycznej różnicy między grupami, jednak była zauważalna, a w kontekście interwencji dietetycznej, gdzie znaczącą poprawę symptomów u pacjentów odnotowano natomiast w czasie stosowania diety opartej na zalecenia NICE, w porównaniu do obserwacji przed dietą ($p<0,01$) [60], warto przyjrzeć się temu markerowi [196,197].

Metabolity bakteryjne różnią się od tych, które mogą być wytwarzane przez ludzkie enzymy, ponieważ procesy bakteryjne zachodzą w warunkach beztlenowych i opierają się głównie na reakcjach redukcji i/lub hydrolizy. W większości przypadków metabolizm bakteryjny zmniejsza aktywność związków dietetycznych; jednak czasami określony produkt transformacji bakteryjnej wykazuje ulepszone właściwości. Badania nad metabolizmem polifenoli przez mikroflorę jelitową są kluczowe dla zrozumienia roli tych związków i ich wpływu na nasze zdrowie. Równowaga między układem odpornościowym gospodarza a komensalną mikroflorą jelitową ma kluczowe znaczenie dla utrzymania zdrowia. Jeśli ta równowaga zostanie zaburzona (dysbioza), relacja między gospodarzem a drobnoustrojem może rozwinąć się w kierunku choroby. Skład mikroflory jelitowej jest zależny od jakości i ilości spożywanych węglowodanów, które są głównym źródłem węgla i energii dla drobnoustrojów. Każda dieta, która jest selektywna lub wadliwa pod względem zawartości składników odżywczych, spowoduje zakłócenie delikatnej równowagi między gospodarzem a jego mikroflorą jelitową, prowadząc do dysbiozy związanej z dietą. Taka sytuacja może następnie sprzyjać przerostowi patogenów oportunistycznych i osłabiać obronę gospodarza przed infekcją i przewlekłym stanem zapalnym, prawdopodobnie poprzez zmiany w odporności błony śluzowej [195].

Kwas 4-hydroksyfenylooctowy to mikrobiologiczny produkt uboczny powstały z tyrozyny, tyraminy i polifenoli, które występują między innymi w winie i zielonej herbacie. W badaniu przeprowadzonym na próbie 475 osób, kwas 4-hydroksyfenylooctowy był najczęściej obecny w moczu, a jego występowanie wiązano wyłącznie z aktywnością mikroflory jelitowej [198]. Uważa się, że bakterie wytwarzające kwas 4-hydroksyfenylooctowy to: gatunki *Arthrobacter, Bacillus, Halomonas,* gatunki Clostridium, Klebsiella, Proteus czy Pseudomonas [199,200].

W jednym badaniu z udziałem dzieci wyższy poziom kwasu 4-hydroksyfenylooctowego był związany z Giardia lamblia, resekcją jelita krętego i przerostem bakteryjnym jelita cienkiego. Naukowcy zauważyli, że jest to przydatne narzędzie do badania przerostu bakteryjnego jelita cienkiego (SIBO) [199]. Poziom tego polifenolu w moczu był 1,4 razy wyższy u mężczyzn niż u kobiet [198].

Stężenie metabolitu było również istotnie statystycznie niższe w grupie z dietą NICE niż FODMAP po uwzględnieniu korekcji na stężenie metabolitu przed interwencją.

W kontekście czynnościowych bólów brzucha oraz wpływu czynników zewnętrznych wpływających na nie, możemy zauważyć ciekawej zależności. Prawie wszystkie dzieci 23 osoby (96%) w grupie badanej (z 24 osób) na samym początku miały podniesiony jeden z parametrów D-arabinitol, który jest produktem metabolitu typowo kilku gatunków Candida, które są patogenne i potencjalnie może być wykorzystywany jako markery kandydozy [179,180]. Należy zaznaczyć, że już w 2002 roku ustalono normy dla D-arabinitol dla populacji dzieci zdrowych w Polsce w wieku od 0 do 18 lat., oznaczono ją metodą chromatografii gazowej (GC). Średnie proporcje D-/L-arabinitol w badanych grupach wahały się od 2,48 do 1,65. Stwierdzono, że stosunek D-/L-arabinitolu jest regresywny wykładniczo wraz z wiekiem [203]. Należy zwrócić uwagę, że w posiewie, również dało się zaobserwować u 3 osób przed interwencją Candida albicans. Rozumiejąc oczywiście, niedoskonałość testu posiewu z kału. Niedoskonałości testu posiewu z kału, który jest stosowany do identyfikacji mikroorganizmów obecnych w próbce kału, obejmują kilka istotnych kwestii, taki jak czułość testu. Czułość testu odnosi się do zdolności testu do wykrycia prawdziwie pozytywnych przypadków obecności mikroorganizmów. Niski poziom czułości oznacza, że test może nie wykryć pewnych patogenów lub mikroorganizmów, co prowadzi do fałszywych negatywnych wyników. Przyczynami tego mogą być niskie stężenia bakterii w próbce kału lub błędy w pobieraniu lub przechowywaniu próbki.

Kolejnym parametrem na który możemy zwrócić uwagę to swoistość testu. Swoistość testu odnosi się do zdolności testu do wykrywania tylko rzeczywistych przypadków obecności danego mikroorganizmu, a nie innych mikroorganizmów. Niski poziom swoistości może prowadzić do fałszywie dodatnich wyników, gdzie test wykrywa obecność mikroorganizmu, który tak naprawdę nie jest obecny w próbce oraz pobieranie próbki przez pacjenta. Prawidłowe pobranie próbki kału jest kluczowe dla dokładności testu. Jeśli próbka nie zostanie prawidłowo zebrana lub przechowywana, może to wpłynąć na wynik testu. Hodowla próbek kału ma z natury niską czułość w wykrywaniu patogenów, zwłaszcza u osób zdrowych, ponieważ złożona mikroflora zdrowych osób utrudnia wykrycie patogenu wśród „szumów" tła. Fakt, że posiew kału jest użyteczną procedurą diagnostyczną pomimo jego niskiej czułości, można częściowo wytłumaczyć faktem, że u pacjentów na przykład z biegunką patogen jest na ogół wydalany w znacznie większej liczbie i stanowi znacznie większą część nadającej się do hodowli mikroflory niż w przypadku zdrowych osób, które są bezobjawowymi nosicielami tego samego patogenu [202].

W wyniku globalizacji, zachodnie diety, charakteryzujące się wysoką zawartością tłuszczów i cukrów, a jednocześnie ubogą w błonnik roślinny, stały się powszechne, przyczyniając się do narastającego problemu otyłości oraz chorób cywilizacyjnych. Te zmiany w diecie wywierają niekorzystny wpływ na mikroflorę jelitową, co może prowadzić do występowania zapalenia jelit. Szczególnie zachodnie diety sprzyjają dysbiozie jelitowej oraz nadmiernemu rozrostowi Candida albicans, co stanowi główną przyczynę infekcji grzybiczych na całym świecie. Oprócz niezdrowego stylu żywienia, wiele innych czynników także przyczynia się do rozwoju chorób i zaburzeń równowagi mikroflory jelitowej. Brak aktywności fizycznej, długotrwałe stosowanie antybiotyków oraz przewlekły stres – to wszystko może pogłębiać problemy zdrowotne związane z jelitami. Zrozumienie tych zależności jest kluczowe dla podejmowania odpowiednich działań prewencyjnych i terapeutycznych w celu ochrony zdrowia jelit oraz ogólnego dobrostanu organizmu. Edukacja na temat zdrowego stylu życia, w tym zrównoważonej diety bogatej w błonnik roślinny, regularnej aktywności fizycznej oraz unikania negatywnych czynników, może przyczynić się do poprawy jakości życia i zapobiegania wielu chorobom jelitowym i związanym z nimi schorzeniom [184].

Różnorodna dieta, bogata w błonnik roślinny, wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3, witaminy D i E, oraz mikroelementy, w połączeniu z odpowiednią suplementacją probiotyków lub prebiotyków, może wywierać korzystny wpływ na różnorodność

mikroflory jelitowej. W rezultacie może dojść do zwiększenia produkcji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz zmniejszenia obfitości grzybów w jelitach. Włączenie różnorodnych składników odżywczych do codziennej diety, takich jak błonnik roślinny, wspomaga rozwój korzystnych mikroorganizmów jelitowych. Wprowadzenie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, które są obecne m.in. w rybach, orzechach i nasionach, również przyczynia się do poprawy mikroflory jelitowej. Dodatkowo, witaminy D i E oraz mikroelementy wykazują działanie korzystne dla równowagi mikrobiomu jelitowego [184,185].

Mechanizm przenikania Candida albicans z jelita do ważnych narządów jest związany z wieloma czynnikami, w tym zmianami w mikroflorze jelitowej, uszkodzeniem bariery nabłonkowej oraz dysfunkcją układu odpornościowego. Te czynniki predysponują organizm do zakażeń Candida albicans, umożliwiając tym drożdżom przedostanie się do innych obszarów organizmu. Ważnym elementem oddziaływania Candida albicans na gospodarza jest ściana komórkowa grzyba, która stanowi główne miejsce kontaktu. Ta struktura pełni kluczową rolę w ochronie drożdży przed czynnikami stresowymi środowiska, zapewniając integralność i funkcjonalność komórek grzyba. Warto zaznaczyć, że czynnikiem stresowym dla Candida albicans może być między innymi drastyczna zmiana temperatury, ciśnienia osmotycznego, odwodnienie oraz odpowiedź immunologiczna organizmu. Zrozumienie mechanizmów oddziaływania Candida albicans na organizm oraz jego roli w powstawaniu infekcji grzybiczych jest kluczowe dla rozwijania skutecznych strategii terapeutycznych i prewencyjnych w walce z tymi infekcjami. Badania nad interakcjami między drożdżami a gospodarzem pozostają ważnym obszarem w dziedzinie medycyny i mikrobiologii, co może przyczynić się do rozwijania nowych metod leczenia i kontroli zakażeń grzybiczych. Obecność Candida w jelitach jest normalna, jednak nadmierna produkcja może prowadzić do poważnych problemów zdrowotnych związanych z niezrównoważoną florą jelitową. Może to objawiać się różnymi dolegliwościami jelitowymi, takimi jak zaburzenia wypróżniania, nadmierne gazy i inne objawy. Istnieje również związek między przerostem Candida a niektórymi chorobami, takimi jak choroba Leśniowskiego-Crohna i choroba wrzodziejąca jelita grubego. Niedawne badania potwierdzają, że przewlekła kandydoza jelitowa może być związana z zespołem przerostu Candida oraz zespołem chronicznego zmęczenia. Odpowiednia równowaga flory bakteryjnej w jelitach odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu zdrowego układu trawiennego. Istotne jest również spożywanie odpowiedniego rodzaju pożywienia, które wspiera tę równowagę [184].

Stwierdzono też pozytywną zależność między dietą wysokowęglowodanową i kandydozą [204]. Bez wątpienia, staranne unikanie diety bogatej w cukry oraz odpowiednia kontrola cukrzycy i niedoborów żywieniowych, które mogą wpływać na funkcjonowanie układu odpornościowego, stanowią istotne czynniki w profilaktyce przerostu Candida. Wypracowanie zdrowych nawyków żywieniowych odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu harmonijnej flory jelitowej, co z kolei minimalizuje ryzyko nadmiernego rozrostu Candida albicans. Przyjmowanie zbyt dużej ilości cukrów, zwłaszcza prostej fruktozy, może stymulować wzrost i rozmnażanie się Candida albicans. Dlatego istotne jest, aby kontrolować spożycie cukrów prostych, a także unikać żywności, która może sprzyjać przerostowi tych drożdżaków. Przyjęcie odpowiedniej diety o niskim indeksie glikemicznym oraz ograniczenie spożycia słodkich, przetworzonych produktów może przyczynić się do utrzymania zdrowego stanu mikroflory jelitowej. Dążenie do zrównoważonej i różnorodnej diety, bogatej w błonnik roślinny, witaminy, minerały oraz korzystne kwasy tłuszczowe, jak np. omega-3, jest kluczowym aspektem w utrzymaniu zdrowego mikrobiomu jelitowego. Odpowiednie nawyki żywieniowe pomagają utrzymać równowagę między korzystnymi i szkodliwymi mikroorganizmami w jelitach, co przyczynia się do minimalizacji ryzyka przerostu Candida i zachowania zdrowia układu pokarmowego [190].

Ciekawym aspektem jest to, że kolonizacja C. albicans jest zaangażowana w choroby zapalne. Dowody eksperymentalne i kliniczne sugerują możliwy związek między C. albicans a chorobą Leśniowskiego-Crohna (CD) [183,184]. Niezdrowe diety bogate w tłuszcze i cukier, a zwłaszcza przetworzona żywność spożywana w krajach zachodnich, wywołują zmiany w mikroflorze jelitowej związane z zapaleniem jelit [185]. Spożywanie przetworzonej żywności oraz wysokotłuszczowych diet wiąże się z występowaniem dysbiozy, w badaniach na myszach [192,193]. Przetwarzanie zachodniej żywności obejmuje, podgrzewanie i dodawanie konserwantów, które wpływają na drobnoustroje obecne w żywności [186].

Zgodnie z badaniami, dieta bogata w tłuszcze może wpływać niekorzystnie na mikroflorę jelitową, co prowadzi do wzrostu populacji bakterii wytwarzających lipopolisacharydy (LPS), takich jak Enterobacteriaceae, oraz równocześnie zmniejsza populację bakterii hamujących LPS, takich jak Bifidobacterium. Ponadto, tego typu dieta może wpływać na komórki nabłonka jelitowego, prowadząc do zmian w bariery jelitowej, takich jak zwiększona przepuszczalność jelit i wzmożona translokacja LPS z jelita do krwiobiegu. Większe spożycie tłuszczów, zwłaszcza długołańcuchowych kwasów

tłuszczowych, może stymulować uwalnianie cytokin zapalnych przez różne komórki w obrębie jelita, takie jak limfocyty jelitowe, limfocyty śródnabłonkowe, komórki dendrytyczne oraz komórki nabłonka jelitowego. Skutkuje to stanem zapalnym, który może przyczyniać się do różnych zaburzeń zdrowotnych, w tym zaburzeń jelitowych. Badania wykazują, że diety o niskiej zawartości tłuszczu, ale bogate w błonnik, mają korzystny wpływ na zmniejszenie stanów zapalnych i poprawę równowagi mikroflory u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Spożycie diety o niskiej zawartości tłuszczu może pomóc w redukcji aktywności zapalnej w jelitach, co może poprawić jakość życia osób dotkniętych tym schorzeniem [184].

Badania na temat diety bogatej w cukry wykazują, że spożycie prostych cukrów może skutkować zmniejszeniem różnorodności mikroflory jelitowej oraz obniżeniem poziomu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA). Eksperymenty przeprowadzone na myszach ukazały, że podawanie wysokocukrowej diety prowadziło do znacznego wzrostu przepuszczalności jelit, masy śledziony oraz poziomu neutrofili. W efekcie, myszy te wykazywały szybkie pogorszenie stanu zdrowia związane z ciężkim zapaleniem okrężnicy po podaniu substancji wywołującej takie zapalenie (DSS). Dodatkowo, analiza próbek kału myszy wykazała istotny wzrost patobiontów, takich jak Escherichia coli i różne gatunki Candida [189].

Stres jest stanem, w którym organizm nieustannie staje w obliczu wyzwań i traci wewnętrzną równowagę. Jego źródła mogą mieć zarówno charakter zewnętrzny, jak i wewnętrzny, a prowadzi to do reakcji nazywanej stresem. Badania wskazują, że wystawienie na stres społeczny wpływa na równowagę mikroflory jelitowej, co skutkuje translokacją bakterii i zmianami w reaktywności układu immunologicznego. Dane naukowe wskazują na możliwe zmniejszenie liczby bakterii z rodzaju Bacteroides oraz wzrost obfitości bakterii z rodzaju *Clostridia* w jelitowej mikroflorze po ekspozycji na stres społeczny. To ważne odkrycie podkreśla kompleksową interakcję między stresem a mikroflorą jelitową. niezdrowe wzorce żywieniowe nie są jedynymi czynnikami stylu życia przyczyniającymi się do patogenezy stanu zapalnego; palenie tytoniu, nadmierne spożywanie alkoholu, brak aktywności fizycznej, długotrwałe stosowanie antybiotyków i przewlekły stres psychiczny przyczyniają się do rozwoju choroby i dysbiozy jelitowej [184,187,191].

Są to ważne stwierdzenia, które podkreślają kompleksową interakcję między stresorem a mikrobiotę jelitową. Zrozumienie tych mechanizmów może mieć znaczenie w

opracowywaniu strategii terapeutycznych mających na celu przywrócenie równowagi mikrobioty jelitowej i ochronę organizmu przed niekorzystnymi skutkami stresu.

11. Stwierdzenia końcowe i wnioski

Na podstawie przeprowadzonego badania można potwierdzić postawioną hipotezę badawczą, że dzieci z czynnościowym bólem brzucha mają nieprawidłową mikrobiotę przewodu pokarmowego.

Po przeprowadzonej interwencji dietetycznej u każdego badanego dziecka, niezależnie od zastosowanej diety (FODMAP czy NICE), zaobserwowano zmiany w parametrach diagnostycznych. Istotne zmiany zaobserwowano w poziomie kwasu hydroksyfenylooctowego w grupie badanej stosującej dietę opartą na zaleceniach NICE. Poziom zonuliny wykazał nieistotną zmianę w obu analizowanych grupach. Podsumowując na podstawie przeprowadzonych badań statystycznych kwas hydroksyfenylooctowy, można uznać za potencjalnego biomarkera lub wskaźnika odpowiedzi na interwencję dietetyczną.

Diagnostyka mikrobioty przewodu pokarmowego może stanowić istotne narzędzie w leczeniu i profilaktyce dzieci z czynnościowym bólem brzucha, umożliwiając sprecyzowanie odpowiednich działań terapeutycznych w tym zastosowania odpowiedniej diety. Należy jednak podkreślić, że dostępne badania w tym obszarze są nadal jeszcze ograniczone, a przeprowadzone badania mogą wskazać potencjalne kierunki diagnostyczne oraz terapeutyczne. Konieczne jest projektowanie dalszych badań klinicznych na większej liczebnościowo populacji w celu poznania związków między modulacją dietetyczną a składem mikrobioty przewodu pokarmowego w obrazie parametrów diagnostycznych.

12. Piśmiennictwo

1. Brusaferro, A., Farinelli, E., Zenzeri, L., Cozzali, R., & Esposito, S. (2018). The Management of Paediatric Functional Abdominal Pain Disorders: Latest Evidence. Paediatric Drugs, 20(3), 235-247. https://doi.org/10.1007/s40272-018-0287-z

2. Chitkara DK, Rawat DJ, Talley NJ. The epidemiology of childhood recurrent abdominal pain in Western countries: a systematic review. Am J Gastroenterol. 2005 Aug;100(8):1868-75. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.41893.x.

3. Saps M, Seshadri R, Sztainberg M, Schaffer G, Marshall BM, Di Lorenzo C. A prospective school-based study of abdominal pain and other common somatic complaints in children. J Pediatr. 2009 Mar;154(3):322-6. doi: 10.1016/j.jpeds.2008.09.047. Epub 2008 Nov 28.

4. Ramchandani PG, Hotopf M, Sandhu B, Stein A; ALSPAC Study Team. The epidemiology of recurrent abdominal pain from 2 to 6 years of age: results of a large, population-based study. Pediatrics. 2005 Jul;116(1):46-50. doi: 10.1542/peds.2004-1854.

5. Thompson WG, Heaton KW. Functional bowel disorders in apparently healthy people. Gastroenterology. 1980 Aug;79(2):283-8.

6. Hyams JS, Di Lorenzo C, Saps M, Shulman RJ, Staiano A, van Tilburg M. Functional Disorders: Children and Adolescents. Gastroenterology. 2016 Feb 15:S0016-5085(16)00181-5. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.015.

7. https://gastroenterologia-praktyczna.pl/a2120/Przewlekle-bole-brzucha-u-dzieci.html/ Ryżko J.: Przewlekłe bóle brzucha u dzieci. Gastroenterologia Praktyczna 2011, 1 (11), 20-28.; dostęp z dnia 02.05.2023

8. Piñeiro-Carrero VM, Andres JM, Davis RH, Mathias JR. Abnormal gastroduodenal motility in children and adolescents with recurrent functional abdominal pain. J Pediatr. 1988 Nov;113(5):820-5. doi: 10.1016/s0022-3476(88)80007-6.

9. Van Ginkel R, Voskuijl WP, Benninga MA, Taminiau JA, Boeckxstaens GE. Alterations in rectal sensitivity and motility in childhood irritable bowel syndrome. Gastroenterology. 2001 Jan;120(1):31-8. doi: 10.1053/gast.2001.20898.

10. Faure C, Wieckowska A. Somatic referral of visceral sensations and rectal sensory threshold for pain in children with functional gastrointestinal disorders. J Pediatr. 2007 Jan;150(1):66-71. doi: 10.1016/j.jpeds.2006.08.072.

11. Rumessen JJ, Gudmand-Høyer E. Malabsorption of fructose-sorbitol mixtures. Interactions causing abdominal distress. Scand J Gastroenterol. 1987 May;22(4):431-6. doi: 10.3109/00365528708991486.

12. Marsh A, Eslick EM, Eslick GD. Does a diet low in FODMAPs reduce symptoms associated with functional gastrointestinal disorders? A comprehensive systematic review and meta-analysis. Eur J Nutr. 2016 Apr;55(3):897-906. doi: 10.1007/s00394-015-0922-1. Epub 2015 May 17.

13. Newlove-Delgado TV, Martin AE, Abbott RA, Bethel A, Thompson-Coon J, Whear R, Logan S. Dietary interventions for recurrent abdominal pain in childhood. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Mar 23;3(3):CD010972. doi: 10.1002/14651858.CD010972.pub2.

14. Hyams JS, Burke G, Davis PM, Rzepski B, Andrulonis PA. Abdominal pain and irritable bowel syndrome in adolescents: a community-based study. J Pediatr. 1996 Aug;129(2):220-6. doi: 10.1016/s0022-3476(96)70246-9..

15. Quek SH. Recurrent abdominal pain in children: a clinical approach. Singapore Med J. 2015 Mar;56(3):125-8; quiz 132. doi: 10.11622/smedj.2015038.

16. Jamer T, Pytrus T, Zaleska-Dorobisz U, Iwańczak B. [Ganglioneuroblastoma in a child with chronic abdominal pain - a case report]. Dev Period Med. 2018;22(4):364-370. Polish. doi: 10.34763/devperiodmed.20182204.364370.

17. Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol. 2005 Sep;2(9):416-22. doi: 10.1038/ncpgasthep0259.

18. 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.

19. El Asmar R, Panigrahi P, Bamford P, Berti I, Not T, Coppa GV, Catassi C, Fasano A. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. Gastroenterology. 2002 Nov;123(5):1607-15. doi: 10.1053/gast.2002.36578. Erratum in: Gastroenterology 2003 Jan;124(1):275. El Asmar Rahzi [corrected to El Asmar Ramzi].

20. Liang, L., Saunders, C., & Sanossian, N. (2023). Food, gut barrier dysfunction, and related diseases: A new target for future individualized disease prevention and management. Food Science & Nutrition, 11, 1671– 1704. https://doi.org/10.1002/fsn3.3229

21. Fasano A. Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. Clin Gastroenterol Hepatol. 2012 Oct;10(10):1096-100. doi: 10.1016/j.cgh.2012.08.012. Epub 2012 Aug 16.

22. Mörkl S, Lackner S, Meinitzer A, Mangge H, Lehofer M, Halwachs B, Gorkiewicz G, Kashofer K, Painold A, Holl AK, Bengesser SA, Müller W, Holzer P, Holasek SJ. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women. Eur J Nutr 57: 2985–2997, 2018. doi: 10.1007/s00394-018-1784-0

23. Kelly CP, Green PH, Murray JA, Dimarino A, Colatrella A, Leffler DA, Alexander T, Arsenescu R, Leon F, Jiang JG, Arterburn LA, Paterson BM, Fedorak RN; Larazotide Acetate Celiac Disease Study Group. Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. Aliment Pharmacol Ther. 2013 Jan;37(2):252-62. doi: 10.1111/apt.12147. Epub 2012 Nov 19.

24. Stuart CM, Varatharaj A, Winberg ME, Galea P, Larsson HBW, Cramer SP, Fasano A, Maherally Z, Pilkington GJ, Keita ÅV, Galea I. Zonulin and blood-brain barrier permeability are dissociated in humans. Clin Transl Med. 2022 Jul;12(7):e965. doi: 10.1002/ctm2.965.

25. Bianchi, M., Fava, G., & Rocca, A. (2020). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: The Biological Door to Inflammation, Autoimmunity, and Cancer. International Journal of Molecular Sciences, 21(16), 5895.

26. Shruti Shandilya, Sandeep Kumar, Niraj Kumar Jha, Kavindra Kumar Kesari, Janne Ruokolainen, Interplay of gut microbiota and oxidative stress: Perspective on neurodegeneration and neuroprotection, Journal of Advanced Research,Volume 38,2022,Pages 223-244,ISSN 2090-1232, https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.09.005.

27. Li C, Gao M, Zhang W, Chen C, Zhou F, Hu Z, Zeng C. Zonulin Regulates Intestinal Permeability and Facilitates Enteric Bacteria Permeation in Coronary Artery Disease. Sci Rep. 2016 Jun 29;6:29142. doi: 10.1038/srep29142.

28. Demir E, Önal B, Özkan H, Utku İK, Şahtiyancı B, Kumbasar A, Yenmiş G, Demir B. The relationship between elevated plasma zonulin levels and Hashimoto's thyroiditis. Turk J Med Sci. 2022 Jun;52(3):605-612. doi: 10.55730/1300-0144.5352. Epub 2022 Jun 16.

29. Serek P, Oleksy-Wawrzyniak M. The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. Int J Mol Sci. 2021 Oct 21;22(21):11359. doi: 10.3390/ijms222111359.

30. Boncuk Ulaş S, Güzey Aras Y, Irmak Gözükara S, Acar T, Acar BA. Correlates of Zonulin and Claudin-5, markers of intestinal and brain endothelial permeability, in

Parkinson's Disease: A pilot study. Parkinsonism Relat Disord. 2023 Mar 17;110:105361. doi: 10.1016/j.parkreldis.2023.105361.
31. de Sousa Rodrigues ME, Bekhbat M, Houser MC, Chang J, Walker DI, Jones DP, Oller do Nascimento CMP, Barnum CJ, Tansey MG. Chronic psychological stress and high-fat high-fructose diet disrupt metabolic and inflammatory gene networks in the brain, liver, and gut and promote behavioral deficits in mice. Brain Behav Immun. 2017 Jan;59:158-172. doi: 10.1016/j.bbi.2016.08.021.
32. Veres-Székely A, Szász C, Pap D, Szebeni B, Bokrossy P, Vannay Á. Zonulin as a Potential Therapeutic Target in Microbiota-Gut-Brain Axis Disorders: Encouraging Results and Emerging Questions. Int J Mol Sci. 2023 Apr 19;24(8):7548. doi: 10.3390/ijms24087548.
33. Ciccia F, Guggino G, Rizzo A, et alDysbiosis and zonulin upregulation alter gut epithelial and vascular barriers in patients with ankylosing spondylitisAnnals of the Rheumatic Diseases 2017;76:1123-1132.
34. Öztekin, Yeşim Benal, Fatma Esra Güneş and Yeşim Özen Alahdab. “The Investigation of Nutritional Status, Intestinal Permeability, and Quality of Life in People with Celiac Disease.” The Turkish Journal of Gastroenterology 33 (2022): 1043 - 1049.
35. Wood Heickman LK, DeBoer MD, Fasano A. Zonulin as a potential putative biomarker of risk for shared type 1 diabetes and celiac disease autoimmunity. Diabetes Metab Res Rev. 2020 Jul;36(5):e3309. doi: 10.1002/dmrr.3309. Epub 2020 Mar 31.
36. Barbaro, Maria Raffaella, Cesare Cremon, Giacomo Caio, Roberto De Giorgio, Umberto Volta, Vincenzo Stanghellini and Giovanni Barbara. “247 Zonulin Serum Levels Are Increased in Non-Celiac Gluten Sensitivity and Irritable Bowel Syndrome With Diarrhea.” Gastroenterology 148 (2015): n. pag.
37. Singh, Prashant, Jocelyn A. Silvester, Xinhua Chen, Hua Xu, V Sawhney, Vikram Rangan, Johanna Iturrino, Judy Nee, Donald R. Duerksen and Anthony J Lembo. “Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D.” United European Gastroenterology Journal 7 (2019): 709 - 715.
38. Monash University. Low FODMAP Diet App. Available online: https://www.monashfodmap.com/ibs-central/i-have-ibs/get-the-app/ (dostęp z dnia 01 Maj 2023).
39. Rhys-Jones, D.; Varney, J.E.; Muir, J.G.; Gibson, P.R.; Halmos, E.P. Application of The FODMAP Diet in a Paediatric Setting. Nutrients 2022, 14, 4369. https://doi.org/10.3390/nu14204369

40. Chey WD, Hashash JG, Manning L, Chang L. AGA Clinical Practice Update on the Role of Diet in Irritable Bowel Syndrome: Expert Review. Gastroenterology. 2022 May;162(6):1737-1745.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2021.12.248. Epub 2022 Mar 23.
41. Manning LP, Yao CK, Biesiekierski JR. Therapy of IBS: Is a Low FODMAP Diet the Answer? Front Psychiatry. 2020 Aug 31;11:865. doi: 10.3389/fpsyt.2020.00865.
42. Chumpitazi BP, Cope JL, Hollister EB, Tsai CM, McMeans AR, Luna RA, Versalovic J, Shulman RJ. Randomised clinical trial: gut microbiome biomarkers are associated with clinical response to a low FODMAP diet in children with the irritable bowel syndrome. Aliment Pharmacol Ther. 2015 Aug;42(4):418-27. doi: 10.1111/apt.13286. Epub 2015 Jun 24
43. Suárez González, Marta, Juan José Díaz Martín, Santiago Jiménez Treviño and Carlos Alfredo Bousoño García. "[Effect of healthy eating before intervention with a low FODMAP diet in pediatric patients with irritable bowel syndrome]." Nutricion hospitalaria 36 2 (2019): 275-281 .
44. de Bruijn, Clara M A, Robyn Rexwinkel, Morris Gordon, Vassiliki Sinopoulou, Marc Alexander Benninga and Merit M Tabbers. "Dietary interventions for functional abdominal pain disorders in children: a systematic review and meta-analysis." Expert Review of Gastroenterology & Hepatology 16 (2022): 359 - 371.
45. El Gendy YGA, Abdel Wahed MA, Ragab MHH, Awad YMM. Effects of a Low-Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyol Diet on Symptoms of Functional Abdominal Pain in Pediatric Patients. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2022 Nov;25(6):510-518. doi: 10.5223/pghn.2022.25.6.510. Epub 2022 Nov
46. Chumpitazi BP, Hollister EB, Oezguen N, Tsai CM, McMeans AR, Luna RA, Savidge TC, Versalovic J, Shulman RJ. Gut microbiota influences low fermentable substrate diet efficacy in children with irritable bowel syndrome. Gut Microbes. 2014 Mar-Apr;5(2):165-75. doi: 10.4161/gmic.27923. Epub 2014 Jan 27.
47. Rodiño-Janeiro, B.K., Vicario, M., Alonso-Cotoner, C. et al. A Review of Microbiota and Irritable Bowel Syndrome: Future in Therapies. Adv Ther 35, 289–310 (2018). https://doi.org/10.1007/s12325-018-0673-5
48. Rigsbee L, Agans R, Shankar V, Kenche H, Khamis HJ, Michail S, Paliy O. Quantitative profiling of gut microbiota of children with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol. 2012 Nov;107(11):1740-51. doi: 10.1038/ajg.2012.287.

49. Stróżyk A, Horvath A, Szajewska H. FODMAP dietary restrictions in the management of children with functional abdominal pain disorders: A systematic review. Neurogastroenterol Motil. 2022 Oct;34(10):e14345. doi: 10.1111/nmo.14345. Epub 2022 Mar 1.

50. Abu-Salih M, Dickinson CJ. Lactobacillus GG may improve frequency and severity of pain in children with functional abdominal pain. J Pediatr. 2011 Jul;159(1):165-6. doi: 10.1016/j.jpeds.2011.05.009.

51. Gawrońska A, Dziechciarz P, Horvath A, Szajewska H. A randomized double-blind placebo-controlled trial of Lactobacillus GG for abdominal pain disorders in children. Aliment Pharmacol Ther. 2007 Jan 15;25(2):177-84. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.03175.x.

52. Ringel-Kulka T, Palsson OS, Maier D, Carroll I, Galanko JA, Leyer G, Ringel Y. Probiotic bacteria Lactobacillus acidophilus NCFM and Bifidobacterium lactis Bi-07 versus placebo for the symptoms of bloating in patients with functional bowel disorders: a double-blind study. J Clin Gastroenterol. 2011 Jul;45(6):518-25. doi: 10.1097/MCG.0b013e31820ca4d6.

53. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev. 2013 Oct;26(4):822-80. doi: 10.1128/CMR.00022-13

54. Arboleya S, Watkins C, Stanton C and Ross RP (2016) Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. Front. Microbiol. 7:1204. doi: 10.3389/fmiFAPD.2016.01204.

55. Mu Q, Tavella VJ, Luo XM. Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases. Front Microbiol. 2018 Apr 19;9:757. doi: 10.3389/fmiFAPD.2018.00757.

56. Siddiqui H, Nederbragt AJ, Lagesen K, Jeansson SL, Jakobsen KS. Assessing diversity of the female urine microbiota by high throughput sequencing of 16S rDNA amplicons. BMC Microbiol. 2011;11(1):244. doi:10.1186/1471-2180-11-244

57. Komesu YM, Dinwiddie DL, Richter HE. Urinary Microbiome: Implications in OAB Pathophysiology and Treatment. Curr Urol Rep. 2018;19(11):87. doi:10.1007/s11934-018-0858-1

58. Wolfe AJ, Toh E, Shibata N, Rong R, Kenton K, Fitzgerald M, Mueller ER, Schreckenberger P, Dong Q, Nelson DE, Brubaker L. Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. J Clin Microbiol. 2012 Feb;50(2):1376-83. doi: 10.1128/JCM.05852-11. Epub 2012 Jan 4.

59. Lewis DA, Brown R, Williams J, White P, Jacobson SK, Marchesi JR, Drake MJ. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. Front Cell Infect Microbiol. 2013 Oct 2;3:41. doi: 10.3389/fcimb.2013.00041.

60. Boradyn KM, Przybyłowicz KE, Jarocka-Cyrta E. Low FODMAP Diet Is Not Effective in Children with Functional Abdominal Pain: A Randomized Controlled Trial. Ann Nutr Metab. 2020;76(5):334-344. doi: 10.1159/000510795. Epub 2020 Oct 19.

61. Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. Biochemical Journal, 474(11), 1823-1836. doi: 10.1042/BCJ20160510

62. Drossman, D. A. (2016). Functional gastrointestinal disorders: History, pathophysiology, clinical features and Rome IV. Gastroenterology, 150(6), 1262-1279. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.032

63. Zhou, Q., & Verne, G. N. (2018). New insights into visceral hypersensitivity—clinical implications in IBS. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 15(3), 135-142. doi: 10.1038/nrgastro.2017.157

64. Saha, L. (2014). Irritable bowel syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. World Journal of Gastroenterology, 20(22), 6759-6773. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6759

65. Distrutti, E., Monaldi, L., & Ricci, P. (2016). Microbiota role in IBS: Methodological considerations. Digestive Diseases, 34(Suppl. 1), 68-77. doi: 10.1159/000447303

66. Simrén, M., Barbara, G., Flint, H. J., Spiegel, B. M. R., Spiller, R. C., Vanner, S., … Whorwell, P. (2013). Intestinal microbiota in functional bowel disorders: A Rome foundation report. Gut, 62(1), 159-176. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302167

67. Jeffery, I. B., O'Toole, P. W., Ohman, L., Claesson, M. J., Deane, J., Quigley, E. M., … O'Sullivan, O. (2012). An irritable bowel syndrome subtype defined by sp.-specific alterations in faecal microbiota. Gut, 61(7), 997-1006. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301501

68. Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., … Collins, S. M. (2011). The anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. Neurogastroenterology & Motility, 23(12), 1132-1139. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01796.x

69. Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, Lopetuso LR, Scaldaferri F, Pulcini G, Miggiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC. Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. Nutrients. 2019 Oct 7;11(10):2393. doi: 10.3390/nu11102393

70. Abomoelak, Bassam, Miguel Saps, Sailendharan Sudakaran, Chirajyoti Deb and Devendra I. Mehta. “Gut Microbiome Remains Static in Functional Abdominal Pain Disorders Patients Compared to Controls: Potential for Diagnostic Tools.” BioTech 11 (2022): n. pag.

71. Wallace, Chris, Morris Gordon, Vassiliki Sinopoulou and Anthony K Akobeng. “Probiotics for management of functional abdominal pain disorders in children.” The Cochrane database of systematic reviews 2 (2017): CD012849 .

72. Ikhimalo, O. P. and Moses Anthony Ugbenyen. “Probiotics in Inflammatory Pain Relief: A Mini Review.” (2019).

73. Pero RW. Health consequences of catabolic synthesis of hippuric acid in humans. Curr Clin Pharmacol. 2010 Feb;5(1):67-73. doi: 10.2174/157488410790410588

74. Phipps AN, Stewart J, Wright B, Wilson ID. Effect of diet on the urinary excretion of hippuric acid and other dietary-derived aromatics in rat. A complex interaction between diet, gut microflora and substrate specificity. Xenobiotica. 1998 May;28(5):527-37. doi: 10.1080/004982598239443.

75. Gutiérrez-Díaz, I., Fernández-Navarro, T., Salazar, N., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V., López, P., Suárez, A., de los Reyes-Gavilán, C.G., Gueimonde, M., & González, S. (2018). Could Fecal Phenylacetic and Phenylpropionic Acids Be Used as Indicators of Health Status? Journal of agricultural and food chemistry, 66 40, 10438-10446 .

76. Ji, Yun, Yuan Gao, Hong Chen, Yue Yin and Weizhen Zhang. “Indole-3-Acetic Acid Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice via Attenuation of Hepatic Lipogenesis, and Oxidative and Inflammatory Stress.” Nutrients 11 (2019): n. pag.

77. Storr M, Vogel HJ, Schicho R. Metabolomics: is it useful for inflammatory bowel diseases? Curr Opin Gastroenterol. 2013 Jul;29(4):378-83. doi: 10.1097/MOG.0b013e328361f488

78. Shen XJ, Rawls JF, Randall T, Burcal L, Mpande CN, Jenkins N, Jovov B, Abdo Z, Sandler RS, Keku TO. Molecular characterization of mucosal adherent bacteria and associations with colorectal adenomas. Gut Microbes. 2010 May-Jun;1(3):138-47. doi: 10.4161/gmic.1.3.12360

79. Agus, A., Planchais, J., & Sokol, H. (2018). Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. Cell host & microbe, 23(6), 716-724.

80. Bertrand, J., Lévesque, M., & Guillemette, J. (2021). Synthesis and evaluation of the antioxidant activity of indole and benzofuran derivatives. Molecules, 26(2), 327.

81. Vanholder, R., & De Smet, R. (1999). Pathophysiologic effects of uremic retention solutes. Journal of the American Society of Nephrology, 10(8), 1815-1823

82. Al Hinai EA, Kullamethee P, Rowland IR, Swann J, Walton GE, Commane DM. Modelling the role of microbial p-cresol in colorectal genotoxicity. Gut Microbes. 2019;10(3):398-411. doi: 10.1080/19490976.2018.1534514. Epub 2018 Oct 25.

83. Bermudez-Martin P, Becker JAJ, Caramello N, Fernandez SP, Costa-Campos R, Canaguier J, Barbosa S, Martinez-Gili L, Myridakis A, Dumas ME, Bruneau A, Cherbuy C, Langella P, Callebert J, Launay JM, Chabry J, Barik J, Le Merrer J, Glaichenhaus N, Davidovic L. The microbial metabolite p-Cresol induces autistic-like behaviors in mice by remodeling the gut microbiota. Microbiome. 2021 Jul 8;9(1):157. doi: 10.1186/s40168-021-01103-z..

84. Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. Biochemical Journal, 474(11), 1823-1836. doi: 10.1042/BCJ20160510

85. Drossman, D. A. (2016). Functional gastrointestinal disorders: History, pathophysiology, clinical features and Rome IV. Gastroenterology, 150(6), 1262-1279. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.032

86. Zhou, Q., & Verne, G. N. (2018). New insights into visceral hypersensitivity—clinical implications in IBS. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 15(3), 135-142. doi: 10.1038/nrgastro.2017.157

87. Saha, L. (2014). Irritable bowel syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. World Journal of Gastroenterology, 20(22), 6759-6773. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6759

88. Distrutti, E., Monaldi, L., & Ricci, P. (2016). Microbiota role in IBS: Methodological considerations. Digestive Diseases, 34(Suppl. 1), 68-77. doi: 10.1159/000447303

89. Jeffery IB, O'Toole PW, Öhman L, Claesson MJ, Deane J, Quigley EM, Simrén M. An irritable bowel syndrome subtype defined by sp.-specific alterations in faecal microbiota. Gut. 2012 Jul;61(7):997-1006. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301501. Epub 2011 Dec 16

90. Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., … Collins, S. M. (2011). The anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. Neurogastroenterology & Motility, 23(12), 1132-1139. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01796.x

91. Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Pulcini, G., … Gasbarrini, A. (2019). Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. Nutrients, 11(10), 2393. doi: 10.3390/nu11102393

92. Weizman Z., Abu-Abed J., Binsztok M. (2016). Lactobacillus reuteri DSM 17938 for the management of functional abdominal pain in childhood: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Pediatr. 174, 160–164.e1. 10.1016/j.jpeds.2016.04.003

93. Yu Z, Chen J, Liu Y, Meng Q, Liu H, Yao Q, Song W, Ren X, Chen X. The role of potential probiotic strains Lactobacillus reuteri in various intestinal diseases: New roles for an old player. Front Microbiol. 2023 Feb 2;14:1095555. doi: 10.3389/fmiFAPD.2023.1095555.

94. Indrio, F., Riezzo, G., Raimondi, F., Bisceglia, M., Cavallo, L., Francavilla, R., & Miniello, V. L. (2011). The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 53(2), 171-176. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318220192c

95. Nobaek, S., Johansson, M. L., Molin, G., Ahrné, S., & Jeppsson, B. (2000). Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. The American journal of gastroenterology, 95(5), 1231-1238. https://doi.org/10.1016/S0002-9270(00)00819-5

96. Kazemi, A., Noorbala, A. A., Azam, K., Eskandari, M. H., & Djafarian, K. (2018). Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. Clinical nutrition ESPEN, 24, 60-65. https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2018.05.005

97. Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J. F., Desor, D., Javelot, H., & Rougeot, C. (2011). Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in healthy human volunteers. Gut microbes, 2(4), 256-261. https://doi.org/10.4161/gmic.2.4.16108

98. Henrick, Bethany Michele, Andra A Hutton, Michelle C Palumbo, Giorgio Casaburi, Ryan D. Mitchell, Mark A. Underwood, Jennifer Tracy Smilowitz and Steven A. Frese. “Elevated Fecal pH Indicates a Profound Change in the Breastfed Infant Gut Microbiome Due to Reduction of Bifidobacterium over the Past Century.” mSphere 3 (2018): n. pag.

99. Ohigashi, Seiji, Kazuki Sudo, Daiki Kobayashi, Osamu Takahashi, Takuya Takahashi, Takashi Asahara, Koji Nomoto and Hisashi Onodera. “Changes of the Intestinal Microbiota, Short Chain Fatty Acids, and Fecal pH in Patients with Colorectal Cancer.” Digestive Diseases and Sciences 58 (2013): 1717-1726.

100. Osuka, Akinori, Kentarou Shimizu, Hiroshi Ogura, Osamu Tasaki, Toshimitsu Hamasaki, Takashi Asahara, Koji Nomoto, Masami Morotomi, Yasuyuki Kuwagata and

Takeshi Shimazu. “Prognostic impact of fecal pH in critically ill patients.” Critical Care 16 (2012): R119 - R119.

101. Wright EK, Kamm MA, Wagner J, Teo SM, Cruz P, Hamilton AL, Ritchie KJ, Inouye M, Kirkwood CD. 2017. Microbial factors associated with postoperative Crohn's disease recurrence. J Crohns Colitis 11:191–203. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjw136

102. Mondot S, Lepage P, Seksik P, Allez M, Treton X, Bouhnik Y, Colombel JF, Leclerc M, Pochart P, Dore J, Marteau P, GETAID . 2016. Structural robustness of the gut mucosal microbiota is associated with Crohn's disease remission after surgery. Gut 65:954–962. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309184

103. Chan RC, Reid G, Bruce AW, Costerton JW. 1984. Microbial colonization of human ileal conduits. Appl Environ Microbiol 48:1159–1165.

104. Mathoera RB, Kok DJ, Verduin CM, Nijman RJM. 2002. Pathological and therapeutic significance of cellular invasion by Proteus mirabilis in an enterocystoplasty infection stone model. Infect Immun 70:7022–7032. doi: 10.1128/IAI.70.12.7022-7032.2002.

105. Hamilton AL, Kamm MA, Ng SC, Morrison M. Proteus spp. as Putative Gastrointestinal Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2018 Jun 13;31(3):e00085-17. doi: 10.1128/CMR.00085-17

106. Mobley, H. L., & Belas, R. (1995). "Swarming and pathogenicity of Proteus mirabilis in the urinary tract." Trends in Microbiology, 3(7), 280-284. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)88955-0.

107. Morgenstern, M., Erichsen, C., Hackl, S., Mily, J., Militz, M., Friedl, A., & Hirschl, A. M. (2017). "Antimicrobial resistance in urinary isolates from inpatients and outpatients at a tertiary care hospital in Southwestern Germany." PLoS One, 12(7), e0180873. DOI: 10.1371/journal.pone.0180873.

108. Lee, C. R., Lee, J. H., Park, K. S., Kim, Y. B., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2016). "Global dissemination of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods." Frontiers in Microbiology, 7, 895. DOI: 10.3389/fmiFAPD.2016.00895.

109. Herridge WP, Shibu P, O'Shea J, Brook TC, Hoyles L. Bacteriophages of Klebsiella spp., their diversity and potential therapeutic uses. J Med Microbiol. 2020 Feb;69(2):176-194. doi: 10.1099/jmm.0.001141. Epub 2020 Jan 24..

110. Ganji, Leila, Masoud Alebouyeh, Mohammad Hasan Shirazi, Seyed Saeed Eshraghi, Abbas Mirshafiey, Naser Ebrahimi Daryani and Mohammad Reza Zali. “Dysbiosis of fecal microbiota and high frequency of Citrobacter, Klebsiella spp., and Actinomycetes in

patients with irritable bowel syndrome and gastroenteritis.” Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench 9 (2016): 325 - 330..

111. Grigorova, E. V., Lyubov V. Rychkova, E. I. Ivanova, U. M. Nemchenko and M. V. Savelkaeva. “DETECTION OF GENETIC DETERMINANTS OF PATHOGENICITY OF STRAINS OF KLEBSIELLA SPP. ISOLATED FROM THE INTESTINAL BIOTOPE OF CHILDREN WITH FUNCTIONAL GASTROINTESTINAL DISORDERS.” Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal) (2018): n. pag.

112. Qi Y, Wu HM, Yang Z, Zhou YF, Jin L, Yang MF, Wang FY. New Insights into the Role of Oral Microbiota Dysbiosis in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. Dig Dis Sci. 2022 Jan;67(1):42-55. doi: 10.1007/s10620-021-06837-2. Epub 2021 Feb 1.

113. Garrett WS, Gallini CA, Yatsunenko T, Michaud M, DuBois A, Delaney ML, Punit S, Karlsson M, Bry L, Glickman JN, Gordon JI, Onderdonk AB, Glimcher LH. Enterobacteriaceae act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. Cell Host Microbe 8: 292–300, 2019

114. Zollner-Schwetz I, Herzog KA, Feierl G, Leitner E, Schneditz G, Sprenger H, Prattes J, Petritsch W, Wenzl H, Kump P, Gorkiewicz G, Zechner E, Högenauer C. The Toxin-Producing Pathobiont Klebsiella oxytoca Is Not Associated with Flares of Inflammatory Bowel Diseases. Dig Dis Sci. 2015 Nov;60(11):3393-8. doi: 10.1007/s10620-015-3765-y. Epub 2015 Jun 20.

115. Bullen A, Grahe A, Kassolis P, Singleton DR. Complete Genome Sequence of a Novel Hafnia alvei Bacteriophage. Microbiol Resour Announc. 2022 Mar 17;11(3):e0004922. doi: 10.1128/mra.00049-22. Epub 2022 Feb 28.

116. Song, Eunkyung, as Yordany Boza Mejias and Stella Antonara. “145 – Serratia Species.” (2018).

117. Sharma, D., Sharma, P. & Soni, P. First case report of Providencia Rettgeri neonatal sepsis. BMC Res Notes 10, 536 (2017). https://doi.org/10.1186/s13104-017-2866-4

118. Yoh M, Matsuyama J, Ohnishi M, Takagi K, Miyagi H, Mori K, Park KS, Ono T, Honda T. Importance of Providencia species as a major cause of travellers' diarrhoea. J Med Microbiol. 2005 Nov;54(Pt 11):1077-1082. doi: 10.1099/jmm.0.45846-0.

119. Shah MM, Odoyo E, Ichinose Y. Epidemiology and Pathogenesis of Providencia alcalifaciens Infections. Am J Trop Med Hyg. 2019 Aug;101(2):290-293. doi: 10.4269/ajtmh.18-0376. PMID: 31218997;

120. Zalas-Więcek P, Michalska A, Gospodarek E. Pałeczki Morganella--charakterystyka, zakażenia, mechanizmy oporności na antybiotyki [Morganella sp. rods--characteristics,

infections, mechanisms of resistance to antibiotics]. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2012 Apr 23;66:242-51. Polish. doi: 10.5604/17322693.992214.

121. O'Hara C.M., Brenner F.W., Miller J.M.: Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella. Clin. Microbiol. Rev., 2000; 13: 534–546

122. Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M., Mikrobiologia lekarska, red. P.B. Heczko,

A. Pietrzyk, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007.

123. Karadağ Öncel E, Özsürekci Y, Akyön Y, Gür D, Cengiz AB, Kara A. Kluyvera ascorbata infections in children: a case series. Turk Pediatri Ars. 2015 Jun 1;50(2):123-8. doi: 10.5152/tpa.2015.923..

124. Yang, X., Wang, J., Wu, J., Liu, Y., & Yu, J. (2017). "Effect of Citrobacter freundii on the intestinal microbial ecosystem and immune system in mice." Microbial pathogenesis, 107, 341-347. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.04.031.

125. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist. Microbes Infect. 2000 Jul;2(9):1051-60. doi: 10.1016/s1286-4579(00)01259-4.

126. Hans G. Schlegel: Mikrobiologia ogólna. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2005, s. 136–137. ISBN 83-01-13999-4

127. Zhang D, Zhu C, Fang Z, Zhang H, Yang J, Tao K, Hu D, Han J, Yang X. Remodeling gut microbiota by Clostridium butyricum (C.butyricum) attenuates intestinal injury in burned mice. Burns. 2020 Sep;46(6):1373-1380. doi: 10.1016/j.burns.2020.01.007. Epub 2020 Jan 31.

128. Jurkowska G., Kostrzewska M., Świdnicka-Siergiejko A.: Zakażenie Clostridium difficile – diagnostyka i leczenie. Gastroenterologia Praktyczna 2014, 3 (24), 61-74.

129. Zhang, F., Luo, W., Shi, Y., Fan, Z., Ji, G., & Jiang, X. (2017). "Should probiotics be used in the ICU? A systematic review and meta-analysis." PloS one, 12(10), e0186230. DOI: 10.1371/journal.pone.0186230.

130. d'Enfert C, Kaune AK, Alaban LR, Chakraborty S, Cole N, Delavy M, Kosmala D, Marsaux B, Fróis-Martins R, Morelli M, Rosati D, Valentine M, Xie Z, Emritloll Y, Warn PA, Bequet F, Bougnoux ME, Bornes S, Gresnigt MS, Hube B, Jacobsen ID, Legrand M, Leibundgut-Landmann S, Manichanh C, Munro CA, Netea MG, Queiroz K, Roget K, Thomas V, Thoral C, Van den Abbeele P, Walker AW, Brown AJP. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon Candida albicans infections: current knowledge

and new perspectives. FEMS Microbiol Rev. 2021 May 5;45(3):fuaa060. doi: 10.1093/femsre/fuaa060.

131. A. Kurnatowska Wybrane zagadnienia mikologii medycznej. Wydawnictwo Promedi, Łódź 1995. ISBN 83-85803-01-7.

132. Viswanathan VK, Weflen A, Koutsouris A, Roxas JL, Hecht G. Enteropathogenic E. coli-induced barrier function alteration is not a consequence of host cell apoptosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008 May;294(5):G1165-70. doi: 10.1152/ajpgi.00596.2007. Epub 2008 Mar 20. PMID: 18356531

133. Nakkarach, A., Foo, H.L., Song, A.AL. et al. Anti-cancer and anti-inflammatory effects elicited by short chain fatty acids produced by Escherichia coli isolated from healthy human gut microbiota. Microb Cell Fact 20, 36 (2021). https://doi.org/10.1186/s12934-020-01477-z

134. Pokusaeva K, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. Genes Nutr. 2011 Aug;6(3):285-306. doi: 10.1007/s12263-010-0206-6. Epub 2011 Feb 16.

135. Rossi, M., Amaretti, A., & Raimondi, S. (2011). "Folate production by probiotic bacteria." Nutrients, 3(1), 118-134. DOI: 10.3390/nu3010118.

136. Guo S, Gillingham T, Guo Y, Meng D, Zhu W, Walker WA, Ganguli K. Secretions of Bifidobacterium infantis and Lactobacillus acidophilus Protect Intestinal Epithelial Barrier Function. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017 Mar;64(3):404-412. doi: 10.1097/MPG.0000000000001310.

137. Zafar H, Saier MH Jr. Gut Bacteroides species in health and disease. Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1-20. doi: 10.1080/19490976.2020.1848158.

138. Parkes, Gareth C, Neil Rayment, Barry N. Hudspith, Liljana Petrovska, Carlo Nunes, Miranda C E Lomer, Jonathan Brostoff, Kevin Whelan and Jeremy D. Sanderson. “W1336 Dysbiosis in Diarrhoea-Predominant IBS: Significant Increase in Mucosa-Associated Bacteroides.” Gastroenterology 134 (2008): n. pag.

139. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. Nat Immunol. 2013 Jul;14(7):685-90. doi: 10.1038/ni.2608.

140. 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. PMID: 21248165

141. Pellizoni, Felipe Papa, Aline Zazeri Leite, Nathália de Campos Rodrigues, Marcelo Jordão Ubaiz, Marina Ignácio Gonzaga, Nauyta Naomi Campos Takaoka, Vânia

Sammartino Mariano, Wellington Pine Omori, Daniel Guariz Pinheiro, Euclides Matheucci Júnior, Eleni Gomes and Gislane Lelis Vilela de Oliveira. “Detection of Dysbiosis and Increased Intestinal Permeability in Brazilian Patients with Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis.” International Journal of Environmental Research and Public Health 18 (2021): n. pag.

142. Duerksen, Donald R., C. Wilhelm-Boyles, Rebecca Veitch, Debby Kryszak and David M. Parry. “A Comparison of Antibody Testing, Permeability Testing, and Zonulin Levels with Small-Bowel Biopsy in Celiac Disease Patients on a Gluten-Free Diet.” Digestive Diseases and Sciences 55 (2010): 1026-1031.

143. Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B. et al. The population genetics of commensal Escherichia coli. Nat Rev Microbiol 8, 207–217 (2010). https://doi.org/10.1038/nrmicro2298

144. Legrand, R., Lucas, N., Dominique, M. *et al.* Commensal *Hafnia alvei* strain reduces food intake and fat mass in obese mice—a new potential probiotic for appetite and body weight management. *Int J Obes* **44**, 1041–1051 (2020). https://doi.org/10.1038/s41366-019-0515-9

145. Lancaster, Leland J.. “Role of Serratia species in urinary tract infections.” Archives of internal medicine 109 (1962): 536-9 .

146. Fliss I., Hammami R., Le Lay C. (2011). Biological control of human digestive microbiota using antimicrobial cultures and bacteriocins A2 - Lacroix, Christophe, in Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation, ed Lacroix C. (Oxford: Woodhead Publishing;), 240–263

147. Hanchi H, Mottawea W, Sebei K, Hammami R. The Genus Enterococcus: Between Probiotic Potential and Safety Concerns-An Update. Front Microbiol. 2018 Aug 3;9:1791. doi: 10.3389/fmiFAPD.2018.01791.

148. Laseczki Gram-dodatnie wytwarzające spory, [w:] Piotr Heczko, Marta Wróblewska, Agata Pietrzyk, Mikrobiologia lekarska, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2014, s. 129-136, ISBN 978-83-200-4308-2, OCLC 892596249

149. Stoeva MK, Garcia-So J, Justice N, Myers J, Tyagi S, Nemchek M, McMurdie PJ, Kolterman O, Eid J. Butyrate-producing human gut symbiont, Clostridium butyricum, and its role in health and disease. Gut Microbes. 2021 Jan-Dec;13(1):1-28. doi: 10.1080/19490976.2021.1907272.

150. Czepiel J, Dróżdż M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin

Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3

151. van Thiel, I.A.M., Stavrou, A.A., de Jong, A. *et al*. Genetic and phenotypic diversity of fecal *Candida albicans* strains in irritable bowel syndrome. *Sci Rep* **12**, 5391 (2022). https://doi.org/10.1038/s41598-022-09436-x

152. Wyatt M, Greathouse KL. Targeting Dietary and Microbial Tryptophan-Indole Metabolism as Therapeutic Approaches to Colon Cancer. Nutrients. 2021 Apr 3;13(4):1189. doi: 10.3390/nu13041189.

153. Harrison MA, Strahl H, Dawson LF. Regulation of para-cresol production in Clostridioides difficile. Curr Opin Microbiol. 2022 Feb;65:131-137. doi: 10.1016/j.mib.2021.11.005. Epub 2021 Nov 29.

154. Mearin F, Lacy BE, Chang L, Chey WD, Lembo AJ, Simren M, Spiller R. Bowel Disorders. Gastroenterology. 2016 Feb 18:S0016-5085(16)00222-5. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.031.

155. Mayer EA, Tillisch K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes. Annu Rev Med. 2011;62:381-96. doi: 10.1146/annurev-med-012309-103958.

156. Barbara G, Stanghellini V, Brandi G, Cremon C, Di Nardo G, De Giorgio R, Corinaldesi R. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. Am J Gastroenterol. 2005 Nov;100(11):2560-8. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.00230.x.

157. El-Salhy M, Hausken T. The role of the neuropeptide Y (NPY) family in the pathophysiology of inflammatory bowel disease (IBD). Neuropeptides. 2016 Feb;55:137-44. doi: 10.1016/j.npep.2015.09.005.

158. Barbara G, Cremon C, Stanghellini V. Inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: similarities and differences. Current Opinion in Gastroenterology. 2014 Jul;30(4):352-358. DOI: 10.1097/mog.0000000000000070

159. Lewandowski K, Kaniewska M, Karłowicz K, Rosołowski M, Rydzewska G. The effectiveness of microencapsulated sodium butyrate at reducing symptoms in patients with irritable bowel syndrome. Prz Gastroenterol. 2022;17(1):28-34. doi: 10.5114/pg.2021.112681. Epub 2022 Jan 18.

160. Kibbie JJ, Dillon SM, Thompson TA, Purba CM, McCarter MD, Wilson CC. Butyrate directly decreases human gut lamina propria CD4 T cell function through histone deacetylase (HDAC) inhibition and GPR43 signaling. Immunobiology. 2021 Sep;226(5):152126. doi: 10.1016/j.imbio.2021.152126

161. Bultman S.J. Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer. Mol. Nutr. Food Res. 2017;61:1500902. doi: 10.1002/mnfr.201500902
162. Kumps A., Duez P., Mardens Y.: Metabolic, nutritional, iatrogenic and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table. Clin. Chem., 2002; 48 (5): 708–717
163. Mayer EA, Tillisch K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes. Annu Rev Med. 2011;62:381-96. doi: 10.1146/annurev-med-012309-103958. PMID: 21090962; PMCID: PMC3817711.
164. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. Microbiol Mol Biol Rev. 2017:81. doi: 10.1128/MMBR.00036-17
165. Wang M, Li M, Wu S, Lebrilla FAPD, Chapkin RS, Ivanov I. Fecal microbiota composition of breast-fed infants is correlated with human milk oligosaccharides consumed. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2015;60(6):825–833. doi: 10.1097/MPG.0000000000000752
166. Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. Cell Host Microbe. 2015;17(5):690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004
167. Campisciano, Giuseppina, Nicolò de Manzini, Serena Delbue, Carolina Cason, Davide Cosola, Giuseppe Basile, Pasquale Ferrante, Manola Comar and Silvia Palmisano. “The Obesity-Related Gut Bacterial and Viral Dysbiosis Can Impact the Risk of Colon Cancer Development.” Microorganisms 8 (2020): n. pag.
168. O'Donnell MP, Fox BW, Chao PH, Schroeder FC, Sengupta P. A neurotransmitter produced by gut bacteria modulates host sensory behaviour. Nature. 2020 Jul;583(7816):415-420. doi: 10.1038/s41586-020-2395-5. Epub 2020 Jun 17.
169. Simeonova, Denitsa et al. “Increased Serum Immunoglobulin Responses to Gut Commensal Gram-Negative Bacteria in Unipolar Major Depression and Bipolar Disorder Type 1, Especially When Melancholia Is Present.” *Neurotoxicity Research* 37 (2019): 338 - 348.
170. Maes M, Bosmans E, Suy E, Vandervorst C, De Jonckheere C, Raus J. Immune disturbances during major depression: upregulated expression of interleukin-2 receptors. Neuropsychobiology. 1990-1991;24(3):115-20. doi: 10.1159/000119472

171. Bailey MT, Dowd SE, Parry NM, Galley JD, Schauer DB, Lyte M: Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by Citrobacter rodentium. *Infect Immun* 2010, 78:1509–1519.

172. Martins FH, Cuesta S. Citrobacter rodentium infection at the gut-brain axis interface. Curr Opin Microbiol. 2021 Oct;63:59-65. doi: 10.1016/j.mib.2021.06.003. Epub 2021 Jul 1

173. Prasad R, Patton MJ, Floyd JL, Vieira CP, Fortmann S, DuPont M, Harbour A, Jeremy CS, Wright J, Lamendella R, Stevens BR, Grant MB. Plasma microbiome in COVID-19 subjects: an indicator of gut barrier defects and dysbiosis. bioRxiv [Preprint]. 2021 Apr 6:2021.04.06.438634. doi: 10.1101/2021.04.06.438634. Update in: Int J Mol Sci. 2022 Aug 15;23(16)

174. Suárez González M, Díaz Martín JJ, Jiménez Treviño S, Bousoño García CA. Efecto de la alimentación saludable previa a la intervención con dieta baja en FODMAP en pacientes pediátricos con síndrome de intestino irritable [Effect of healthy eating before intervention with a low FODMAP diet in pediatric patients with irritable bowel syndrome]. Nutr Hosp. 2019 Apr 10;36(2):275-281. Spanish. doi: 10.20960/nh.2234. PMID: 30868906.

175. Rajilic-Stojanovic M, Jonkers DM, Salonen A, Hanevik K, Raes J, Jalanka J, de Vos WM, Manichanh C, Golic N, Enck P, Philippou E, Iraqi FA, Clarke G, Spiller RC, Penders J (2015) Intestinal microbiota and diet in IBS: causes, consequences, or epiphenomena? Am J Gastroenterol 110(2):278–287

176. Chumpitazi BP, Shulman RJ. Dietary Carbohydrates and Childhood Functional Abdominal Pain. Ann Nutr Metab. 2016;68 Suppl 1(Suppl 1):8-17. doi: 10.1159/000445390. Epub 2016 Jun 30. PMID: 27355647; PMCID: PMC4943582.

177. Hu, J., Chen, J., Xu, X., Hou, Q., Ren, J., & Yan, X. (2023). Gut microbiota-derived 3-phenylpropionic acid promotes intestinal epithelial barrier function via AhR signaling. Microbiome, 11.

178. Wang M, Zeng J, Zhu Y, Chen X, Guo Q, Tan H, Cui B, Song S, Deng Y. A 4-Hydroxybenzoic Acid-Mediated Signaling System Controls the Physiology and Virulence of Shigella sonnei. Microbiol Spectr. 2023 Jun 15;11(3):e0483522. doi: 10.1128/spectrum.04835-22. Epub 2023 Apr 10.

179. Retnaningtyas, Y., Supriyanto, G., Puspaningsih, N.N., & Irawan, R. (2020). Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Polymer as Adsorbent for D-arabinitol. Moroccan Journal of Chemistry, 8.

180. Miyazawa, M., Takahashi, T., Horibe, I., & Ishikawa, R. (2012). Two new aromatic compounds and a new d-arabinitol ester from the mushroom Hericium erinaceum. Tetrahedron, 68, 2007-2010.
181. Oliveira-Pacheco J, Alves R, Costa-Barbosa A, Cerqueira-Rodrigues B, Pereira-Silva P, Paiva S, Silva S, Henriques M, Pais C, Sampaio P. The Role of Candida albicans Transcription Factor RLM1 in Response to Carbon Adaptation. Front Microbiol. 2018 May 29;9:1127. doi: 10.3389/fmiFAPD.2018.01127.
182. Müller-Lissner S, Andresen V, Corsetti M, Bustos Fernández L, Forestier S, Pace F, Valdovinos MA. Functional Abdominal Cramping Pain: Expert Practical Guidance. J Clin Gastroenterol. 2022 Nov-Dec 01;56(10):844-852. doi: 10.1097/MCG.0000000000001764
183. Sendid, B.; Dotan, N.; Nseir, S.; Savaux, C.; Vandewalle, P.; Standaert, A.; Zerimech, F.; Guery, B.P.; Dukler, A.; Colombel, J.F.; et al. Antibodies against glucan, chitin, and Saccharomyces cerevisiae mannan as new biomarkers of Candida albicans infection that complement tests based on C. albicans mannan. Clin. Vaccine Immunol. 2008, 15, 1868–1877.
184. Jawhara, S.; Thuru, X.; Standaert-Vitse, A.; Jouault, T.; Mordon, S.; Sendid, B.; Desreumaux, P.; Poulain, D. Colonization of mice by Candida albicans is promoted by chemically induced colitis and augments inflammatory responses through galectin-3. J. Infect. Dis. 2008, 197, 972–980
185. Hildebrandt, M.A.; Hoffmann, C.; Sherrill-Mix, S.A.; Keilbaugh, S.A.; Hamady, M.; Chen, Y.Y.; Knight, R.; Ahima, R.S.; Bushman, F.; Wu, G.D. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. Gastroenterology 2009, 137, 1716–1724.e1–e2
186. Graf, D.; Di Cagno, R.; Fak, F.; Flint, H.J.; Nyman, M.; Saarela, M.; Watzl, B. Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. Microb. Ecol. Health Dis. 2015, 26, 26164.
187. Tomasello, G., Mazzola, M., Leone, A., Sinagra, E., Zummo, G., Farina, F., Damiani, P., Cappello, F., Gerges Geagea, A., Jurjus, A.R., Bou Assi, T., Messina, M., & Carini, F. (2016). Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia, 160 4, 461-466 .
188. Bailey, M.T.; Dowd, S.E.; Galley, J.D.; Hufnagle, A.R.; Allen, R.G.; Lyte, M. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: Implications for stressor-induced immunomodulation. Brain Behav. Immun. 2011, 25, 397–407.

189. Fajstova, A.; Galanova, N.; Coufal, S.; Malkova, J.; Kostovcik, M.; Cermakova, M.; Pelantova, H.; Kuzma, M.; Sediva, B.; Hudcovic, T.; et al. Diet Rich in Simple Sugars Promotes Pro-Inflammatory Response via Gut Microbiota Alteration and TLR4 Signaling. Cells 2020, 9, 2701

190. Rusu, A.V., Penedo, B.A., Schwarze, A., & Trif, M. (2020). The Influence of Candida spp. in Intestinal Microbiota; Diet Therapy, the Emerging Conditions Related to Candida in Athletes and Elderly People. Update in Geriatrics.

191. Pizarro, N., & de la Torre, R. (2018). Inter-relationship of the Intestinal Microbiome, Diet, and Mental Health. Current Behavioral Neuroscience Reports, 5, 1-12.

192. Graham, C.; Mullen, A.; Whelan, K. Obesity and the gastrointestinal microbiota: A review of associations and mechanisms. Nutr. Rev. 2015, 73, 376–385

193. Liu L, Xu M, Lan R, Hu D, Li X, Qiao L, Zhang S, Lin X, Yang J, Ren Z, Xu J. Bacteroides vulgatus attenuates experimental mice colitis through modulating gut microbiota and immune responses. Front Immunol. 2022 Nov 30;13:1036196. doi: 10.3389/fimmu.2022.1036196.

194. Jarosz M. Human Nutrition Recommendations for Polish Population. IZZ:
Warsaw, Poland, 2012.

195. Duda-Chodak A, Tarko T, Satora P, Sroka P. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. Eur J Nutr. 2015 Apr;54(3):325-41. doi: 10.1007/s00394-015-0852-y. Epub 2015 Feb 12.

196. Hryhorczuk LM, Novak EA, Gershon S. Gut flora and urinary phenylacetic acid. Science. 1984 Nov 23;226(4677):996. doi: 10.1126/science.6438798.

197. Russell, W.R., Duncan, S.H., Scobbie, L., Duncan, G.J., Cantlay, L., Calder, A.G., Anderson, S.E., & Flint, H.J. (2013). Major phenylpropanoid-derived metabolites in the human gut can arise from microbial fermentation of protein. Molecular nutrition & food research, 57 3, 523-35 .

198. Zamora-Ros R, Achaintre D, Rothwell JA, Rinaldi S, Assi N, Ferrari P, Leitzmann M, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Auffret A, Kühn T, Katzke V, Boeing H, Trichopoulou A, Naska A, Vasilopoulou E, Palli D, Grioni S, Mattiello A, Tumino R, Ricceri F, Slimani N, Romieu I, Scalbert A. Urinary excretions of 34 dietary polyphenols and their associations with lifestyle factors in the EPIC cohort study. Sci Rep. 2016 Jun 7;6:26905. doi: 10.1038/srep26905

199. Chalmers RA, Valman HB, Liberman MM. Measurement of 4-hydroxyphenylacetic aciduria as a screening test for small-bowel disease. Clin Chem. 1979 Oct;25(10):1791-4

200. Liebgott PP, Amouric A, Comte A, Tholozan JL, Lorquin J. Hydroxytyrosol from tyrosol using hydroxyphenylacetic acid-induced bacterial cultures and evidence of the role of 4-HPA 3-hydroxylase. Res Microbiol. 2009 Dec;160(10):757-66. doi: 10.1016/j.resmic.2009.09.015. Epub 2009 Oct 28

201. Grant DJ. Kinetic aspects of the growth of Klebsiella aerogenes with some benzenoid carbon sources. J Gen Microbiol. 1967 Feb;46(2):213-24. doi: 10.1099/00221287-46-2-213

202. Robins-Browne RM, Levine MM. Laboratory diagnostic challenges in case/control studies of diarrhea in developing countries. Clin Infect Dis. 2012 Dec;55 Suppl 4(Suppl 4):S312-6. doi: 10.1093/cid/cis756

203. Stradomska TJ, Mielniczuk Z. Gas chromatographic determination of D-/L-arabinitol ratio in healthy Polish children. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2002 Jun 25;773(2):175-81. doi: 10.1016/s1570-0232(02)00180-0.

204. Rogalski P., Kandydoza przewodu pokarmowego – fakty i mity, Via Medica, Gastroenterologia Kliniczna, 2010; 2(3):97-97