

# Transplantacija fekalne mikrobiote

---

**Lugonjić, Danijel**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:943934>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-19**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Danijel Lugonjić

**TRANSPLANTACIJA FEKALNE MIKROBIOTE**

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Danijel Lugonjić

**TRANSPLANTACIJA FEKALNE MIKROBIOTE**

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: prof. dr. sc. Maja Abram, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana\_\_\_\_\_ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Darinka Vučković, dr. med.

2. prof. dr. sc. Brigita Tićac, dr. med.

3. doc. dr. sc. Ivana Mikolašević, dr. med.

Rad sadrži 38 stranica, 1 sliku, 2 tablice, 84 literaturnih

navoda.

## Zahvala:

Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Maja Abram, dr. med. na pruženoj pomoći, savjetima i strpljenju tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Želim izraziti zahvalnost svojoj obitelji, posebno mojoj majci Ivanki, ocu Slađanu, bratu Gabrijelu i sestri Antoniji, kao i prijateljima Ivanu, Ivi, Andriji i Matiji koji su bili uz mene tijekom svih ovih godina studija i pružili mi bezuvjetnu podršku i razumijevanje.

# Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Svrha rada.....	2
3. Fekalna mikrobiota.....	3
3.1. Enterotipovi fekalne mikrobiote.....	3
3.2. Uloga fekalne mikrobiote.....	4
3.2.1. Metabolička uloga fekalne mikrobiote.....	5
3.2.2. Zaštitna imunološka uloga fekalne mikrobiote.....	6
3.2.3. Neurološka i neuroprotektivna uloga fekalne mikrobiote.....	8
4. Transplantacija fekalne mikrobiote.....	9
4.1. Priprema uzorka za FMT.....	10
4.2. Odabir darivatelja.....	12
4.3. Priprema pacijenta za FMT.....	15
4.4. Postupak FMT.....	15
4.5. Indikacija za FMT.....	16
4.5.1. <i>Clostridioides difficile</i> .....	17
4.6. Nuspojave FMT.....	18
5. Primjena FMT u budućnosti.....	20
5.1. Upalne bolesti crijeva.....	20
5.2. Sindrom iritabilnog crijeva.....	21
5.3. Pretilost i metabolički sindrom.....	22
5.4. Neuropsihijatrijske bolesti.....	23
6. Rasprava.....	24
7. Zaključak.....	25
8. Sažetak.....	26
9. Summary.....	27
10. Literatura.....	28
11. Životopis.....	38

## Popis skraćenica i akronima:

5-HT – 5-hidroksitriptamin

ANS – engl. *autonomic nervous system*, autonomni živčani sustav

BCAA - engl. *branched-chain amino acids*, aminokiseline razgranatog lanca

CD – engl. *Chron's disease*, Chronova bolest

CNS – engl. *central nervous system*, središnji živčani sustav

ENS – engl. *enteric nervous system*, enterički živčani sustav

FMT – engl. *fecal microbiota transplantation*, transplantacija fekalne mikrobiote

GABA – engl. *gamma-aminobutyric acid*, gama-aminomaslačna kiselina

GIT – gastrointestinalni trakt

HPA – engl. *hypothalamic–pituitary–adrenal*, hipotalamus-hipofizno-nadbubrežna os

IBD – engl. *Inflammatory bowel disease*, upalna bolest crijeva

IBS – engl. *Iritable bowel syndrome*, sindrom iritabilnog crijeva

MAMP – engl. *microbe associated molecular patterns*, molekularni obrasci povezani s mikroorganizmima

RCT – engl. *Randomized controlled trial*, randomizirano kontrolirano ispitivanje

Rho GTPaze – Rho obitelj gvanozin trifosfataza

SCFA – engl. *short chain fatty acid*, kratkolančane masne kiseline

TLR – engl. *toll-like receptor*, Toll-u slični receptor

UC – engl. *Ulcerative colitis*, ulcerozni kolitis

## 1. Uvod

Mikrobiota je naziv za sve mikroorganizme koji se nalaze u nekom dijelu našega tijela. Gastrointestinalni trakt (GIT) dom je raznolikoj populaciji bakterija koje koegzistiraju s domaćinom. Smatra se da mikrobiota ljudskog crijeva sadrži najmanje  $10^{14}$  bakterija i do 1200 različitih vrsta bakterija, od kojih velika većina nastanjuje debelo crijevo. Procjenjuje se da je broj bakterija koje se nalaze na i u našem tijelu ukupno veći, ili barem podjednak, broju naših vlastitih stanica (1).

Različita koljena bakterija zastupljena su u humanoj mikrobioti. Dokazano je da su *Bacteroidetes* i *Firmicutes* najdominantnija koljena, a slijede *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Actinobacteria* i *Verrucomicrobia*, koji čine do 90% ukupne mikrobne populacije kod ljudi. U većini slučajeva, raznolika mikrobiota je korisna za cjelokupno zdravlje (2). Simbiotski odnos između crijevne mikrobiote i domaćina reguliran je i stabiliziran složenom mrežom interakcija koje obuhvaćaju metaboličke, imunološke i neuroendokrine interakcije. Međusobni odnosi potencijalno su posredovani mikrobnim metabolitima koji pokazuju pleiotropne učinke, uključujući signalne molekule u regulaciji neuro-imuno-upalnih osi domaćina koje bi mogle fiziološki povezati crijeva s drugim organskim sustavima.



## 2. Svrha rada

Svrha rada je pregledno prikazati novu metodu liječenja, transplantaciju fekalne mikrobiote. U radu ću obraditi fekalnu mikrobiotu i njenu široku ulogu i pozitivan utjecaj na čovjeka, proces odabira darivatelja, uzimanja i obrade uzorka i transplantacije, indikacije za koje se ova metoda trenutno primjenjuje u Republici Hrvatskoj i svijetu, te se dotaknuti mogućih budućih indikacija koje su trenutno u različitim fazama istraživanja.

### 3. Fekalna mikrobiota

Fekalna mikrobiota je najveća mikrobiota ljudskoga tijela. Od samoga rođenja dolazi do velikih promjena u mikrobioti gastrointestinalnog sustava. Tijekom trudnoće crijeva djeteta su sterilna i rođenjem dolazi do prvog kontakta s bakterijama koje počinju nastanjivati cijeli GIT (2). Sam tijek razvoja fekalne mikrobiote kod novorođenčadi je individualan, ali pod velikim utjecajem različitih čimbenika. Genetika, način poroda, obrasci hranjenja dojenčadi, upotreba antibiotika, sanitarni uvjeti života i dugoročne prehrambene navike pridonose oblikovanju sastava crijevne mikrobiote (3). Potpuna kolonizacija GIT-a te kompozicija mikrobiote postiže se oko treće godine života (2-4). Iako nakon treće godine života vrste bakterija koje se nalaze u crijevima imaju vrlo male varijacije kroz vrijeme od djetinjstva do sredine odrasle dobi, njihovi odnosi su veoma varijabilni i najviše određeni vrstom prehrane koju pojedinac konzumira (5, 6).

#### 3.1. Enterotipovi fekalne mikrobiote

Iako je mikrobiota osobe jedinstvena za svakoga pojedinca, fekalnu mikrobiotu, prema Augumuramu i sur. možemo svrstati u tri velike grupe, odnosno tri enterotipa, ovisno o najzastupljenijem rodu bakterija u GIT-u: *Bacteroides* (enterotip 1), *Prevotella* (enterotip 2) i *Ruminococcus* (enterotip 3) (7). Enterotipovi su stabilni i izravno su povezani s dugotrajnim načinom prehrane. Prehrana bogata proteinima i životinjskim mastima povezana je s enterotipom kojim dominira *Bacteroides*, dok je prehrana bogata ugljikohidratima povezana s enterotipom kojim dominira *Prevotella*. Enterotip 3 u kojem dominiraju bakterije iz roda *Ruminococcus* povezan je s ograničenom raznolikošću namirnica, uglavnom dijetalnim vlaknima i rezistentnim škrobom. Cilj enterotipizacije je stratificirati mikrobiotu ljudskog crijeva i tako doći do zajedničkih obilježja mikrobiote koji bi poslužili kao markeri u istraživanju, dijagnostici i terapiji različitih upalnih i autoimunih bolesti (8).

Budući da se enterotipovi uspostavljaju na temelju crijevne mikrobiote, koja se brzo mijenja kao odgovor na različite utjecaje iz okoline kao što su prehrana, korištenje antibiotika, ali i promjene sredine stanovanja, poznato je da enterotipovi nisu stalni i nepromjenjivi za pojedinca, već se dinamički mijenjaju pod utjecajem mnogih čimbenika (8).

Potrebno je naglasiti da se sastav mikrobiote može brzo promijeniti kao rezultat kratkoročne promjene prehrane, iako ta promjena neće rezultirati trajnim promjenama između enterotipova (6). Čak i dugoročne promjene u prehrani, duže od šest mjeseci, koje su dovele do promjene u enterotipovima po povratku na uobičajene prehrambene navike dovele su do brzog povratka mikrobiote pojedinca u enterotip kakav je bio prije promjene prehrane (9).

### 3.2. Uloga fekalne mikrobiote

Mikrobiota crijeva, koja svoje hranjive tvari dobiva iz prehrambenih komponenti domaćina i odbačenih epitelnih stanica, samostalan je organ s opsežnom metaboličkom sposobnošću i značajnom funkcionalnom plastičnošću. Veza između crijevne mikrobiote i ljudskog zdravlja postaje sve očitija. Danas je općeprihvaćeno da je zdrava crijeva mikrobna flora uvelike odgovorna za cjelokupno zdravlje domaćina. U zadnjih nekoliko godina fokus je stavljen na istraživanje ovih mikroorganizama, njihovih funkcija i interakcija između mikroba i domaćina u zdravlju i bolesti (10). Mikrobiota crijeva igra niz važnih uloga u ljudskom tijelu, u prvom redu imaju važnu ulogu u probavi i metabolizmu hrane (11). Ostale uloge fekalne mikrobiote uključuju jačanje imunološkog sustava, kolonizaciju površina sluznice i proizvodnju antimikrobnih tvari (12), kontrolu proliferacije i diferencijacije epitelnih stanica (13), modificiranje inzulinske rezistencije i imaju utjecaj na njegovo izlučivanje (14), te utječe na komunikaciju između mozga i crijeva, stoga imaju veliki utjecaj na mentalno i neurološko zdravlje (13). Upalne bolesti crijeva (IBD, engl. *inflammatory bowel disease*), pretilost i

dijabetes, alergije, autoimune bolesti i kardiovaskularne bolesti povezuju se s poremećajem u populaciji crijevne mikrobiote (14-18).

### 3.2.1. Metabolička uloga fekalne mikrobiote

Mikrobiota je općenito zadužena za pretvaranje većinom neprobavljivih prehrambenih elemenata u bioaktivne komponente hrane (19). Neprobavljive polisaharide poput celuloze, hemiceluloze, škroba, pektina, oligosaharida i lignina te bakterije mogu pretvoriti procesom fermentacije ugljikohidrata u kratkolančane masne kiseline (SCFA, engl. *short chain fatty acid*) kao što su butirati, oksalati te propionati (20). *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i nekoliko anaerobnih crijevnih mikroba glavni su proizvođači ovih metaboličkih proizvoda. Ove masne kiseline ulaze u debelo crijevo nakon što se ne uspiju probavit u gornjem dijelu gastrointestinalnog sustava. Butirat se apsorbira u kolonocite kojima služi kao izvor energije (21). Propionat utječe na smanjenje lipogeneze i razine kolesterola čovjeka, a oksalat je glavni supstrat za nastanak bubrežnih kamenaca, ali bakterije u crijevima kao što su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, kao i *Oxalobacter formigenes*, imaju potencijal razgradnje oksalata, smanjujući njegovu apsorpciju i, kao rezultat, imaju zaštitni učinak od urolitijaze (22, 23). Poremećaj proizvodnje kratkih lanaca masnih kiselina može dovesti do niza patogenih posljedica za domaćina.

Mikrobiota također služi organizmu domaćina jer je uključena u proizvodnju vitamina poput tiamina (vitamin B1), riboflavina (vitamin B2), niacina (vitamin B3), pantotenske kiseline (vitamin B5), biotina (vitamin B7) i kobalamina (vitamin B12), kao i vitamina K (24). Posebno je važna uloga bakterija u proizvodnji vitamina K koji je esencijalni kofaktor neophodan za proizvodnju faktora zgrušavanja II, VII, IX i X kod ljudi te kofaktor za mnoge druge proteine u tijelu (25). Postoje dva izvora ovog esencijalnog vitamina, uključujući vitamin K1 ili filokinon koji se prvenstveno nalazi u zelenom lisnatom povrću i vitamin K2 ili menakinon koji

sintetiziraju određene crijevne bakterije (26). Iako se biosinteza vitamina događa u fekalnoj mikrobioti svakog pojedinca, uopćeno je da se brzina biosinteze razlikuje ovisno o enterotipu: enterotip 1 je više uključen u biosintezu askorbata, riboflavina, biotina i pantotenske kiseline, dok je enterotip 2 uključen u biosintezu folne kiseline i tiamina (7).

Osim gore navedenog, djelovanjem crijevne mikrobiote nastaju ugljikohidrati, aminokiseline razgranatog lanca, amini, fenoli, indoli i feniloctena kiselina (26). Nadalje, poznato je da je crijevna mikrobiota uključena u sintezu žučnih kiselina, kolesterola i konjugiranih masnih kiselina. Žučne kiseline se dekonjugiraju i dalje modificiraju putem komenzalnih fekalnih bakterija. Dekonjugacija žučnih kiselina u tankom crijevu ometa reapsorpciju, koja čovjeka tako posljedično štiti od toksičnosti žučne kiseline (27).

### 3.2.2. Zaštitna imunološka uloga fekalne mikrobiote

Na razvoj i diferencijaciju imunološkog sustava utječe crijevna mikrobiota. Naime, mikrobiota igra ključnu ulogu u nastanku i tijeku zaraznih bolesti.

Komenzalni mikroorganizmi potrebni su za sazrijevanje imunološkog sustava, u kojem imunološki sustav "uči" razlikovati komenzalne i patogene bakterije (28). Toll-like receptori (TLR, engl. *toll-like receptor*) iz membrana epitelnih i limfoidnih stanica u tankom crijevu uključeni su u ovo diferencijalno prepoznavanje i odgovorni su za normalan razvoj imunološkog sustava crijevne sluznice. TLR inhibiraju upalne odgovore i potiču imunološku toleranciju na normalne komponente mikrobiote. TLR prepoznaje različite molekularne obrasce povezane s mikroorganizmima (MAMP, engl. *microbe associated molecular patterns*) i aktivira urođenu crijevnu imunost. Nakon stimulacije dolazi do složene kaskade događaja koja rezultira oslobađanjem NF- $\kappa$ B, koji aktivira niz gena koji kodiraju kemokine, citokine, proteine akutne faze i druge efektore humoralnog imunološkog odgovora (29).

Tijekom prvih tjedana života, aktivnost TLR-a opada, vjerojatno olakšavajući stvaranje stabilne crijevne bakterijske zajednice. Aktivacija TLR-a antigenima iz normalne crijevne mikrobiote također signalizira supresiju upalnih procesa, što ga čini važnim za održavanje crijevne homeostaze (30).

Dokazano je da mikrobiota gastrointestinalnog trakta modulira migraciju i funkciju neutrofila te utječe na diferencijaciju populacija T stanica u različite vrste pomoćnih T limfocita (28, 31).

Mikrobiota izravno sprječava invaziju stranih mikroba kolonizirajući mjesta ulaska patogena u sluznicu natječući se s patogenim bakterijama u crijevima za mjesta adhezije i za hranjive tvari, ali i oslobađanjem toksičnih molekula za suzbijanje kolonizacije patogena, kao i neizravno stimuliranjem imunološkog odgovora (32). Mikrobiota crijeva šalje signale koji pomažu imunološkom sustavu normalno razvijanje i pravilno sazrijevanje imunoloških stanica (33). Primjeri izravne zaštitne uloge mikrobiote je aktivacija sekretornog IgA odgovora, koji ubija rotaviruse, također mikrobiota sprječava kolonizaciju *Clostridioides difficile* i neutralizira toksin kolere (32).

Mikrobiota stimulira imunološki odgovor konstatno otpuštajući signalne molekule koje aktivno oblikuju sistemski imunološki odgovor domaćina regulirajući hematopoezu i posljedično pojačavajući odgovor na infekciju. Signali dobiveni iz komenzalne mikrobiote pokreću razvoj granulocitnih/monocitnih progenitora u koštanoj srži i stoga utječu na urođenu imunološku populaciju koja živi u tkivu, što zauzvrat potiče rani urođeni odgovor domaćina (34). Kada je mikrobiota raznolika i stabilna, barijera je učinkovita. Kada dođe do disbioze (zbog niza čimbenika kao što su loša kolonizacija, terapija antibioticima, neuravnotežena, nezdrava prehrana ili druga patološka stanja koja rezultiraju sekundarnim imunodeficijencijama), mikrobiota gubi svoju funkciju barijere, omogućujući domaćinu da se lako zarazi patogenim mikroorganizmima iz okoliša. Nadalje, neke vrste koje su dio normalne mikrobiote potaknute

novim stanjem disbioze mogu pokazati svoj patogeni potencijal uzrokujući oportunističke infekcije (33).

### 3.2.3. Neurološka i neuroprotektivna uloga fekalne mikrobiote

Crijevno – moždana os je složena i dvosmjerna veza između GIT-a i središnjeg živčanog sustava (CNS, engl. *central nervous system*) koja je u interakciji u kontekstu zdravlja i bolesti (13). Ova interakcija omogućuje crijevnim senzornim visceralnim signalima da utječu na CNS u upravljanju refleksima i promjenama raspoloženja; zauzvrat, mozak usmjerava signale za moduliranje fiziologije crijeva i drugih aktivnosti putem vagusnog živca. Autonomni živčani sustav (ANS, engl. *autonomic nervous system*), enterički živčani sustav (ENS, engl. *enteric nervous system*), hipotalamus-hipofizno-nadbubrežna (HPA, engl. *hypothalamic–pituitary–adrenal*) os, simpato-nadbubrežna os i silazni monoaminergički putovi imaju aferentne i eferentne neurone koji povezuju neuronske mreže i prenose informacije kroz njih (35). Nekoliko međurelacijskih i neurohumoralnih čimbenika snažno je isprepletено i upravlja svakim putem. ENS je komplicirana mreža neurona koja je odgovorna za intrinzičnu inervaciju crijevne funkcije. Sastoji se od dva ganglijska pleksusa, mienterijskog i submukoznog, koji kontroliraju gastrointestinalne aktivnosti kao što su peristaltika, izlučivanje i apsorpcija (35, 36).

Trenutna istraživanja otkrila su molekularne uvide u to kako crijevna mikrobiota regulira funkcije CNS-a i ENS-a, što implicira da metaboliti i stanične komponente dobivene iz crijevne mikrobiote igraju ključnu ulogu u homeostazi mozga i evoluciji neuropsiholoških poremećaja. Stvaranje brojnih neuromodulatornih metabolita/neurotransmitera od strane crijevne mikrobiote moglo bi joj omogućiti da se poveže sa CNS-om i ENS-om. Prekursori i metaboliti triptofana, 5-hidroksitriptamin (5-HT), gama-aminomaslačna kiselina (GABA, engl. *gamma-*

*aminobutyric acid*), glutamin, histamin, aminokiseline razgranatog lanca (BCAA, engl. *branched-chain amino acids*), SCFA, žučne kiseline i kateholamini samo su neki od važnih metabolita ili komponenata dobivenih iz domaćina/mikroba koji moduliraju važne procese koji se događaju tijekom neurogeneze, funkcije glijalnih stanica, mijelinizacije, sinaptičkog obrezivanja i funkcije krvno-moždane barijere (35, 37).

Mehanizmi kojima crijevna mikrobiota utječe na mozak temeljito su istraženi. Na integritet krvno-moždane barijere utječu cirkulirajuće SCFA koje proizvodi crijevna mikrobiota jačajući sintezu proteina čvrstog spoja. Poboljšani integritet krvno-moždane barijere sprječava ulazak neželjenih metabolita u moždano tkivo (13, 21). Lipoproteini i lipopolisaharidi, koje proizvodi crijevna mikrobiota, mijenjaju autoimunu aktivnost povećanjem proizvodnje citokina iz imunoloških stanica. Ovi citokini mogu proći kroz krvno-moždanu barijeru i stimulirati neurone, mijenjajući neurološke funkcije i uzrokujući promjene raspoloženja i ponašanja (38).

#### 4. Transplantacija fekalne mikrobiote

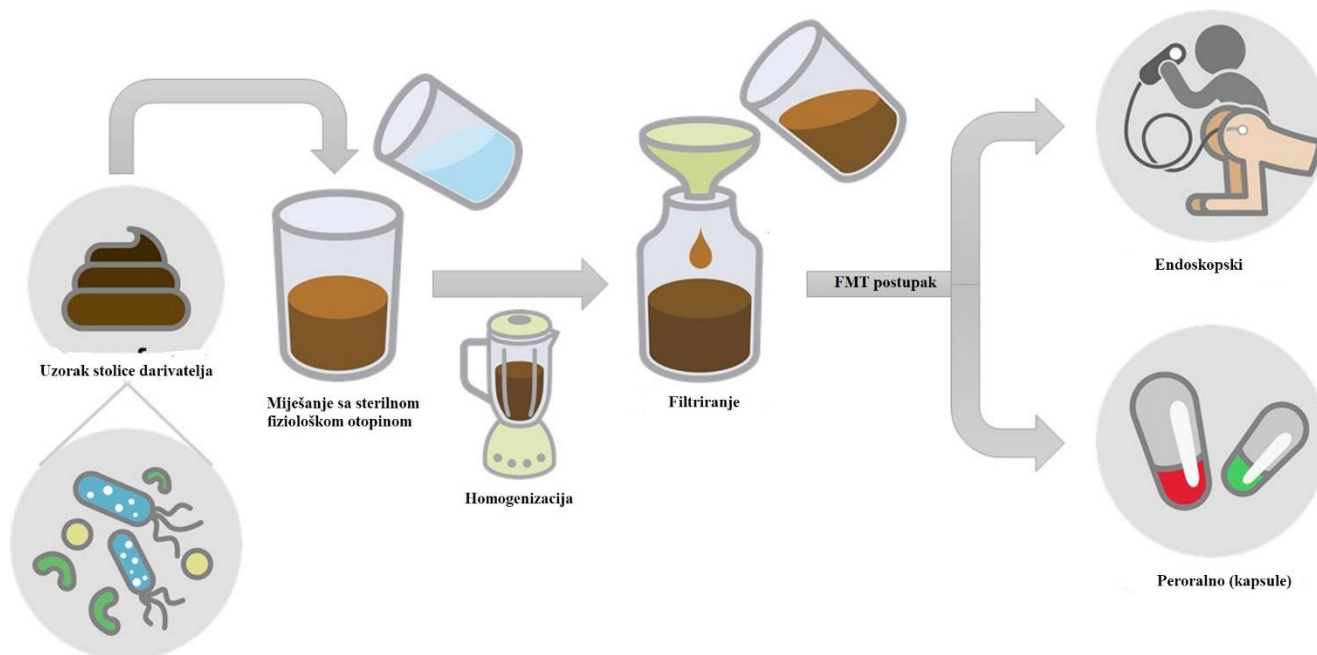
Transplantacija fekalne mikrobiote (FMT, engl. *fecal microbiota transplantation*) je metoda za izravnu promjenu primateljeve crijevne mikrobiote kako bi se normalizirao sastav fekalne mikrobiote i stekla terapijska korist (39). Povijest FMT-a seže do četvrtog stoljeća kada je prvi puta izvedena u Kini, kada je „žuta juha“ korištena u liječenju bolesnika s teškim proljevom. Do kineske dinastije Ming u 16. stoljeću opisani su izvještaji o liječenju svježim ili fermentiranim fekalnim suspenzijama primijenjenim u bolesnika s gastrointestinalnim poremećajima, uključujući proljev, zatvor i bolove u truhu. U modernoj medicini, FMT se spominje 1958. kada je uspješno korištena za liječenje refraktorne *Clostridioides difficile* infekcije koja je dovela do pseudomembranoznog kolitisa. U fokus istraživanja dolazi od 2013. godine, kada je američka regulatorna agencija odobrila FMT za liječenje rekurentne i



refraktorne *Clostridioides difficile* infekcije (39, 40). Prva FMT u Republici Hrvatskoj izvedena je 2017. u Kliničkom bolničkom centru Rijeka (41). Danas se u svijetu provode istraživanja o terapijskoj primjeni FMT u različitim bolestima kao što su upalne bolesti crijeva, metabolički sindrom, sindromu iritabilnog crijeva, neuropsihijatrijske bolesti, hematološke bolesti i druge (42).

#### 4.1. Priprema uzorka za FMT

Za transplantaciju fekalne mikrobiote moguće je koristiti svježi ili smrznuti fekalni materijal, te do sada nije uočena značajna razlika u učinkovitosti između tih uzoraka (43). Svježi fekalni materijal prikuplja se odmah nakon defekacije i može se čuvati do osam sati na 4 °C bez značajnog utjecaja na preživljavanje bakterija, ali vitalnost opada na sobnoj temperaturi ili na 4 °C nakon više od osam sati. Ako vrijeme od uzorkovanja, obrade, zatim primjene prelazi 24 sata, svježi uzorci ne bi se trebali izlagati temperaturama iznad 20 °C, a hlađenje na 4 °C može biti sigurno rješenje. Za jedan postupak FMT, koji je shematski prikazan na slici 1, minimalna količina potrebnog fekalnog uzorka je 30g, a najčešće se koristi 50g fekalnog materijala jer je u manjim količinama neuspjeh FMT češći.



Slika 1. Shematski prikaz pripreme uzorka za FMT

preuzeto i prilagođeno iz Wang JW *et al.* (40)

Fekalni uzorak se, ovisno o konzistenciji, pomiješa sa 150 do 250 ml sterilne fiziološke otopine. Ova smjesa se homogenizira u blenderu na maloj brzini tijekom najmanje 30 sekundi. Dobivenu suspenziju nakon miješanja je potrebno profiltrirati kroz više slojeva filtera ili gaze za uklanjanje neprobavljene hrane i drugih čestica. Dobiveni filtrat je spreman za transplantaciju ili smrzavanje. Prije smrzavanja fekalna suspenzija se obično dopunjava s 10% glicerola kao krioprotektivnim sredstvom koje inhibira stvaranje unutarstaničnog leda. Ustanovljeno je kako nema značajne razlike u uspješnosti FMT korištenjem zamrznutog ili svježe pripremljenog transplantata. Kritični parametri koji utječu na kvalitetu uzorka nakon smrzavanja su temperatura i vrijeme. Kratkotrajna krioprezervacija, od nekoliko tjedana, može se provesti na temperaturi od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , no duža pohrana na ovoj temperaturi može rezultirati nestabilnošću mikrobiote i utjecati na klinički ishod FMT. Stoga se dugotrajna pohrana fekalne suspenzije vrši na temperaturama u rasponu od  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  u električnim zamrzivačima do  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  u tekućem

dušiku u specijaliziranim biobankama. Prva i, za sada, jedina fekalna biobanka u Hrvatskoj uspostavljena je 2021. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci. Proizvodnja smrznute suspenzije stolice omogućuje brzu dostupnost uzorka kad god postoji potreba za FMT. Prije samog postupka, na dan FMT-a zamrznuta fekalna suspenzija se otopi i primijenjuje unutar nekoliko sati od odmrzavanja. Ponovno zamrzavanje jednom odmrznute suspenzije se ne preporuča (44).

## 4.2. Odabir darivatelja

Kako bi se ograničila opasnost od štetnih učinaka, treba pažljivo odabrati davatelja stolice. Donacija mora biti dobrovoljna i popraćena potpisom informiranog obrasca dopuštenja. Svaki potencijalni darivatelj mora ispuniti upitnik kojim se procjenjuje rizik od prijenosa zarazne bolesti. Od ključne je važnosti prikupiti temeljitu medicinsku anamnezu kako bi se isključili bilo kakvi poremećaji ili lijekovi koji mogu promijeniti mikrobiotu (45).

Kriteriji za izbor darivatelja stolice na osnovi medicinske anamneze mogu se podijeliti u tri skupine: kriteriji rizika nastanka infektivnih komplikacija, čimbenici koji mogu utjecati na crijevnu mikrobiotu te postojeće bolesti (45).

U skupinu rizika nastanka infektivnih komplikacija ekskluzivni kriteriji su: aktivna zarazna bolest, infekcija hepatitis virusima ili HIV-om, rizično seksualno ponašanje, nedavno cijepljenje, tetoviranje, akupunktura, piercing ili ubodni incidenti, nedavno putovanje u zemlje gdje su crijevne infekcije endemske, transplantirani pacijenti, pacijenti koji su primali krvne pripravke, ljudi koje rade poslove rizične za prijenos zoonoza te zdravstveni djelatnici zbog rizika prijenosa multirezistentih mikroorganizama (45).

Čimbenici koji mogu utjecati na crijevnu mikrobiotu su: uzimanje antibiotika, imunosupresiva ili kemoterapeutika u posljednja tri mjeseca ili dugotrajna terapija blokatorima protonske pumpe.

U prijašnje bolesti koje isključuju potencijalne darivatelje spadaju: kronične gastrointestinalne bolesti poput upalne bolesti crijeva, funkcionalni poremećaji, celijakija, sustavne autoimune bolesti, neurološke ili neurodegenerativne bolesti, psihičke bolesti, alergijske bolesti te prekomjerna tjelesna masa i pretilost (45).

Ukoliko darivatelji zadovolje kriterije za darivanje na osnovu medicinske anamneze potrebno je učiniti dodatne laboratorijske pretrage krvi i stolice. Primarni razlog testiranja darivatelja je ustanoviti je li inficiran nekim od mikroorganizama (uzročnika bolesti) koji se potencijalno, putem FMT mogu prenijeti u primatelja. U pretragama krvi je potrebno napraviti kompletnu i diferencijalnu krvnu sliku, biokemijske pretrage koje obuhvaćaju sedimentaciju i C-reaktivni protein, urea, kreatinin, elektrolite, ukupne proteine i albumine te hepatogram. Osim toga potrebno je napraviti i mikrobiološke pretrage krvi na virusne hepatitis, HIV te neke druge patogene. (45). Testovi koji se provode u obradi darivatelja za FMT u KBC Rijeka (Tablica 1) su odabrani prema Smjernicama Europske radne grupe za FMT te prema epidemiološkim podacima za naše geografsko područje.

Tablica 1. Mikrobiološka obrada darivatelja

Pretrage iz uzorka krvi (seruma)	Bakteriološka pretraga uzorka stolice	Virološka pretraga uzorka stolice	Parazitološka pretraga uzorka stolice
Hepatitis A (IgG/IgM)	<i>Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia, Enterohemoragična Escherichia coli O157</i>	Rotavirus Ag	Mikroskopski pregled na jaja i ciste parazita
Hepatitis B (HBsAg, anti HBs, anti HBC ukupni)	Prisustvo shiga-like toksina	Adenovirus 40 i 41 Ag	<i>Entamoeba histolytica</i> Ag
Hepatitis C (anti HCV)	<i>Helicobacter pylori</i> Ag	Norovirus Ag	<i>Giardia lamblia</i> Ag
HIV-1 i HIV-2 (HIV 1/2 Ag/At)	Kolonizacija višestrukorezistentnim bakterijama	SARS-CoV-2	<i>Cryptosporidium</i> Ag
	<i>Clostridioides difficile</i> – prisustvo Ag, toksina A/B, prisustvo gena za produkciju toksina		Modificirano bojenje po Ziehl-Neelsenu za detekciju kokcidija

Ag – antigen; At - antitijela

Ispitivanje stolice darivatelja sastoji se od pregleda na okultno krvarenje, norovirus i rotavirus, *C. difficile* toksin, kulture stolice na crijevne patogene, parazitološke pretrage, pretrage za multirezistentne mikroorganizme te, u današnje vrijeme, molekularna detekcija SARS-CoV2 (45). Kako bi se skratilo vrijeme, te proširila paleta testiranih uzročnika umjesto klasične bakteriološke, parazitološke i virološke analize stolice donora, koristi se molekularna dijagnostika, multipleks PCR (BIOFIRE® FILMARRAY® GI Panel) kojim je odjednom, u istom danu, moguće detektirati 22 različita entoropatogena mikroorganizma (Tablica 2).

Tablica 2. Mikroorganizmi koje je moguće detektirati koristeći *Filmarray* panel za gastrointestinalne infekcije

<b>Bakterije</b>	<b>Dijarogene <i>E. coli</i>/Shigella</b>
<i>Campylobacter (jejuni, coli, upsaliensis)</i> <i>Clostridioides difficile</i> (Toxin A/B) <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus, cholerae)</i> <i>Vibrio cholerae</i>	<i>Enterohemoragična E. coli O157</i> (EHEC) Enteroagregativna <i>E. coli</i> (EAEC) Enteropatogena <i>E. coli</i> (EPEC) Enterotoksigena <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i> Shiga-like toksin-producirajuća <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> <i>E. coli O157</i> <i>Shigella</i> /Enteroinvazivna <i>E. coli</i> (EIEC)
<b>Virusi</b>	<b>Paraziti</b>
Adenovirus F 40/41 Astrovirus Norovirus GI/GII Rotavirus A Sapovirus (I, II, IV, and V)	<i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>

### 4.3. Priprema pacijenta za FMT

Iako je FMT jednostavna metoda za izvođenje bolesnika je potrebno educirati i informirati o ovoj metodi (40). Antibiotici se ne smiju davati primatelju 12-48 sati prije fekalne infuzije (44). FMT tehnika se priprema na isti način kao i svaka druga endoskopska pretraga s posebnim naglaskom na pripremu crijeva. Kako bi se zajamčio dobar transplant, crijevo bi trebalo biti gotovo potpuno očišćeno od kontaminiranog fekalnog materijala prije infuzije fekalne suspenzije darivatelja. Prema određenim istraživanjima, loperamid treba dati jedan sat prije FMT-a kako bi se osiguralo da presađeni izmet ostane u crijevima najmanje četiri sata (45).

### 4.4. Postupak FMT

Postoji više modaliteta kojima se fekalna suspenzija može administrirati u pacijenta. Najčešće korištena metoda je putem kolonoskopije, ali ako kolonoskopski pristup nije opcija moguće je fekalnu suspenziju administrirati u debelo crijevo sigmoidoskopijom ili retencijskom klizmom

ili preko gornjeg dijela gastrointestinalnog sustava putem nazogastrične ili nazojejunalne sonde, kapsulama i ezofagogastroduodenoskopijom (46). Sve metode FMT-a imaju prednosti i nedostatke, a kod svakog bolesnika treba individualno procijeniti idealan put isporuke.

Kolonoskopija se koristi kao primarni pristup zbog najveće dokazane učinkovitosti, ali i činjenice da je ona ujedno dijagnostička metoda vizualizacije cijeloga debelog crijeva. FMT se može primijeniti kroz gornji gastrointestinalni sustav pacijentima koji imaju ileus, teški kolitis ili koji se protive kolonoskopiji (48). Aspiracija ili povraćanje su vjerojatnije komplikacije kod bilo koje vrste administracije putem gornjeg dijela GIT-a (46). Najnovija istraživana metoda administracije FMT-a je peroralna primjena kapsula sa smrznutim ili liofiliziranim fekalnim pripravkom (49). Tako bi se pacijentima koji se ne mogu, zbog vlastitog zdravstvenog stanja, podvrgnuti kolonoskopiji, koji žive udaljeno od ustanove koja nudi zahvat kolonoskopije ili koji se protive pristupu donjem dijelu GIT-a mogao pružiti alternativni pristup (50). Dostava putem kapsule smanjuje trajanje postupka, troškove kolonoskopije, potrebu za pripremom debelog crijeva i rizik od komplikacija kolonoskopije (46). Dok su ostale metode putem gornjeg GIT-a značajno manje učinkovite od FMT administriranog kolonoskopijom, učinkovitost FMT-a primijenjenog putem kapsula nije inferiornija od kolonoskopskog pristupa (51, 52).

#### 4.5. Indikacija za FMT

Trenutno jedina općeprihvaćena indikacija u svijetu je infekcija bakterijom *Clostridioides difficile* (45). Brojne studije su pokazale da je FMT izuzetno učinkovit u liječenju pacijenata s rekurentnim i rezistentnim *C. difficile* infekcijama; ova se učinkovitost može objasniti postojanim obnavljanjem normalne mikrobiote nakon FMT-a. Iznenadujuće, stopa izlječenja za rekurentnu ili refraktornu *C. difficile* infekciju je gotovo 90%, što je daleko bolje od dugotrajne antimikrobne terapije sa stopom uspješnosti od 20-30% (53).

#### 4.5.1. *Clostridioides difficile*

*Clostridioides difficile* je gram-pozitivna bakterija koja stvara spore, a obično se širi fekalno-oralnim putem. Stanje koje uzrokuje, može biti u rasponu od asimptomatskog kliconoštva preko blage dijareje do kolitisa ili pseudomembranoznog kolitisa, a posljedica je neinvazivne proizvodnje toksina A i B (54). Rho obitelj gvanozin trifosfataza (Rho GTPaze) inaktivirana je toksinima, što uzrokuje smrt kolonocita, gubitak funkcije crijevne barijere i neutrofilni kolitis (55). Toksin B, koji je na molarnoj osnovi više od deset puta jači od toksina A za izazivanje ozljede sluznice debelog crijeva, značajno doprinosi patogenosti *C. difficile* (56).

Prevalencija infekcije *C. difficile* kreće se od 5 do 15% u zdravih odraslih osoba, ali može doseći i do 84,4% u novorođenčadi i zdrave dojenčadi te 57% u štićenika ustanova za dugotrajnu skrb. Glavni izvori prijenosa u zdravstvenim ustanovama uključuju kontakt od ruke do ruke između zaraženih pacijenata i članova osoblja, kao i površinsku kontaminaciju okoline (57).

Dva glavna čimbenika rizika za infekciju su izloženost mikroorganizmu i izloženost antibioticima. Ostali čimbenici rizika uključuju komorbiditete, kirurgiju gastrointestinalnog trakta i lijekove za smanjenje želučane kiseline poput inhibitora protonske pumpe (58, 59).

Pokazalo se da antibiotici imaju dvije ključne uloge u razvoju *C. difficile*. Prirodna barijerna funkcija crijevne mikrobiote prvo je poremećena antibioticima, dajući *C. difficile* mjesto za umnožavanje i produkciju toksina (60). Drugo, zbog sojeva s većom virulentnošću, čini se da otpornost *C. difficile* na klindamicin ili fluorokinolone igra značajnu ulogu u bolesti (61). Fluorokinoloni, klindamicin, penicilini širokog spektra i cefalosporini su antibiotici koji se najčešće povezuju s predispozicijom za *C. difficile* infekciju. Čak i metronidazol i vankomicin, koji su dva glavna antibiotika koji se koriste za liječenje ove infekcije, mogu predisponirajući faktor za kolonizaciju *C. difficile* (62).



Tri kliničke slike infekcije *C. difficile* smatraju se indikacijom za FMT. Ova tri stanja su teška, rekurentna i refraktorna infekcija *C. difficile*. Antibiotici se koriste kao prva linija liječenja za ove infekcije, a u slučaju neuspješnosti liječenja pribjegava se FMT-u. Teška infekcija *C. difficile* odnosi se na epizodu infekcije s jednim ili više specifičnih kliničkih, laboratorijskih, radiografskih (distenzija debelog crijeva, debljina stijenke debelog crijeva) ili endoskopskih (pseudomembranozni kolitis) simptoma i pokazatelja teškog kolitisa ili teškog tijeka bolesti. Klinički nalazi uključuju vrućicu, hemodinamsku nestabilnost, respiratorno zatajenje koje zahtijeva mehaničku ventilaciju, znakove i simptome peritonitisa te znakove i simptome ileusa debelog crijeva. Značajna leukocitoza, povećanje razine laktata i kreatinina i značajan pad serumskog albumina uočeni su u laboratoriju.

Rekurentna infekcija *C. difficile* definira se kao remisija simptoma tijekom odgovarajuće terapije, nakon čega slijedi ponovna pojava simptoma unutar dva do osam tjedana nakon prestanka liječenja. Unutar 30 dana liječenja, do 25% osoba razvije rekurentnu *C. difficile* infekciju.

Refraktorna infekcija *C. difficile* definira se kao trajni proljev s pozitivnošću toksina ili perzistentni proljev s nedetektabilnim toksinima u odsutnosti drugih potencijalnih uzroka proljeva (45).

#### 4.6. Nuspojave FMT

Jedna od glavnih nepoznanica vezana uz korištenje FMT-a je sigurnost, no nuspojave FMT-a obično se nedovoljno prijavljuju. Čini se da je velika većina nuspojava FMT-a gastrointestinalne prirode, blaga i samoograničavajuća (63). Navedeno je samo nekoliko izvješća o teškim nuspojavama. Pogoršanje upalnih bolesti crijeva, gram negativna

bakterijemija, krv u stolici, perforacija i smrt bile su najteže nuspojave identificirane iz dostupnih podataka koji su oskudni (64).

Prema trenutnom mišljenju, slab imunitet primatelja, oštećenje barijere crijevne sluznice, neprovjereni darivatelji stolice, kontaminacija tijekom procesa stvaranja fekalnih bakterija i različiti modaliteti administracije FMT ključni su čimbenici rizika za nuspojave povezane s FMT-om kod pacijenata (65).

Brojne studije su pokazale da put isporuke ima značajnu ulogu u nastanku negativnih učinaka kod FMT-a. FMT koji se isporučuje putem donjeg GIT vjerojatnije će rezultirati stanjima kao što su bol u trbuhu, povećana učestalost stolice, nadutost u trbuhu, grčevi, anorektalna nelagoda i rektalni apsces. FMT koji se isporučuje putem gornjeg GIT-a vjerojatnije će uzrokovati mučninu, povraćanje, začepljenost nosa, grlobolju, bol u trbuhu, nadutost u trbuhu, aspiraciju pripravka, gušenje i pneumoniju. Zajednički je konsenzus da je vjerojatnije da će transplantacije koje se izvode putem gornjeg GIT imati negativne ishode (65).

Nejasno je imaju li oni koji primaju FMT veće šanse zaraziti se određenim bolestima koje su u trenutku donacije kod darivatelja u latentnoj fazi ili se još nisu niti razvile (44). Iako nisu uočene kod darivatelja, pretpostavlja se da neke bolesti nastaju pod utjecajem mikrobiote. *Fusobacterium nucleatum*, na primjer, je patogen koji se nalazi u crijevima i povećava rizik od raka debelog crijeva. Stoga je potrebno zapitati se može li se ova osjetljivost prenijeti na primatelja od darivatelja koji je u to vrijeme zdrav, ali će kasnije dobiti rak debelog crijeva (65).

## 5. Primjena FMT u budućnosti

Nakon što je dokazana učinkovitost FMT u liječenju infekcija *C. difficile*, a s obzirom na nisku cijenu i jednostavnost postupka, vrlo brzo se počela istraživati primjena FMT i u drugim, primarno gastrointestinalnim, bolestima (39). Glavni čimbenik različitih bolesti na koji se pokušava utjecati je disbioza mikrobiote. Neke od bolesti koje su najviše istraživane te se u nekim zemljama počele smatrati i kao terapijska indikacija su upalne bolesti crijeva, sindrom iritabilnog crijeva, metaboličke bolesti kao dijabetes tip II i pretilost, neuropsihijatrijske bolesti (14-18).

### 5.1. Upalne bolesti crijeva

Upalna bolest crijeva (IBD) je kronična i relapsirajuća bolest koju karakteriziraju ponavljajuće epizode gastrointestinalne upale. Postoje dvije vrste IBD-a: ulcerozni kolitis (UC, engl. *ulcerative colitis*) i Crohnova bolest (CD, engl. *Chron's disease*). Za razliku od CD-a, koji je povezan s upalom cijele stijenke crijeva, UC je ograničen na sloj sluznice i rezultira površinskim oštećenjem crijevne stijenke (66). Tijekom aktivne bolesti pacijenti imaju proljev, zajedno s mučninom, gubitkom težine, febrilitetom i bolovima u truhu. Točna patofiziologija, međutim, nije u potpunosti shvaćena, a etiologija je multifaktorska, pod utjecajem čimbenika kao što su imunološki odgovor domaćina, vanjsko okruženje, crijevna mikrobiota i genetska predispozicija pojedinca (67).

Uz otkrivanje općeg pada bakterijske raznolikosti, metabolomička i metagenomska istraživanja također su identificirala karakteristike mikrobiote u IBD-u, s posebnim opadanjem članova obitelji *Lachnospiraceae* i koljena *Bacteroidetes*, zajedno s porastom *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. Pokazalo se da se *Fecalibacterium prausnitzii*, bakterija s protuupalnim svojstvima, smanjuje u uzorcima tkiva uzetim biopsijom od pacijenata s CD-om (68).

Trenutne strategije liječenja upalnih bolesti crijeva usredotočene su na modulaciju imunološkog odgovora pacijenta. Iako je uvođenje biološke terapije značajno poboljšalo ukupnu prognozu kod IBD-a, njezina uporaba ima određena ograničenja, uključujući značajne stope primarnog neodgovora i sekundarnog gubitka odgovora. Brojni dokazi o ulozi disbioze u IBD-u i nedostaci dostupnih farmakoloških terapija čine izgleda za siguran, "prirodni" i uzročni tretman rješavanjem disbioze još privlačnijim (69).

Za razliku od liječenja infekcija *C.difficile* gdje se uspješnost liječenja i oporavak mikrobiote postiže u preko 90% slučajeva već nakon prvog postupka FMT, u IBD rezultati nisu toliko uspješni. Meta-analiza prikazala je ukupnu kliničku remisiju od 37%, ukupni klinički odgovor od 54%, a učestalost nuspojava od 29% (70). Bolji rezultati učinkovitosti bili su povezani sa smrznutim fekalnim materijalom i kod primjene stolice nesrodnih darivatelja zbog razlike u podložnosti bolesti u odnosu na darivatelja koji je u srodstvu s pacijentom (69). S obzirom na niže stope remisije i promjenjiv odgovor na liječenje, FMT trenutno još uvijek nije opcija liječenja upalne bolesti crijeva i može se ponuditi pacijentima samo kao dio kliničkog ispitivanja (69).

## 5.2. Sindrom iritabilnog crijeva

Najčešće dijagnosticirana gastrointestinalna bolest na zapadnoj hemisferi je sindrom iritabilnog crijeva, koji je sastavni dio funkcionalnih gastrointestinalnih bolesti. Mogu se identificirati po postojanju gastrointestinalnih simptoma bez ikakvih očitih anatomskih ili biokemijskih abnormalnosti (39).

Visceralna preosjetljivost, poremećena funkcija barijere, promijenjen motilitet gastrointestinalnog trakta i izmijenjena osovina crijeva i mozga dio su nepotpuno shvaćene patogeneze. Ove promjene mogu biti povezane s abnormalnostima u crijevnoj mikrobioti (71).

Mikrobiota crijeva je manje raznolika u bolesnika s IBS-om, enterobakterije su zastupljenije, a bifidobakterije i laktobacili prisutni su u relativno malom broju. Bolesnici s IBS-om često imaju nadutost i bolove u želucu zbog neadekvatne proizvodnje butirata, kao i prekomjerne proizvodnje acetata i propionata (72).

IBS (engl. *irritable bowel syndrome*) se ne može učinkovito liječiti, no čini se da bi FMT mogao biti uspješan način liječenja. Pokazalo se da su simptomi i kvaliteta života pacijenata s IBS-om poboljšani nakon FMT-a u određenim randomiziranim kontroliranim ispitivanjima (RCT, engl. *randomized controlled trial*), ali ne u svim. Za razlike u rezultatima ovih RCT-ova krivi su postupci odabira darivatelja i liječenih bolesnika, doza transplantata i način isporuke. Da bi se poboljšali uvjeti FMT za pacijente s IBS-om, potrebno je više istraživanja (73).

### 5.3. Pretilost i metabolički sindrom

Prekomjerno nakupljanje masnog tkiva glavna je značajka pretilosti. Rizik od razvoja dijabetes melitusa i bolesti srca povećava se nizom simptoma poznatih kao metabolički sindrom, koji uključuje središnju pretilost, hipertenziju, dislipidemiju i hiperglikemiju (74). Metagenomsko istraživanje utvrdilo je jasne razlike između sastava crijevnih mikrobiota mršavih i pretilih ljudi. Omjer *Firmicutes* u odnosu na *Bacteroidetes* porastao je u mikrobioti crijeva pretilih miševa, koji su također imali veću sposobnost izdvajanja energije iz hrane (75). Promijenjena mikrobiota uočena kod pretilih ljudi može ih dovesti u opasnost od pretilosti povećanjem ekstrakcije energije, ometanjem osi crijeva i mozga kako bi se smanjio izlaz energije ili utječući na sitost (76).

Inzulinska rezistencija, u kojoj stanice pokazuju slabu reakciju na inzulin i ne mogu održavati homeostazu glukoze, definirajuća je značajka metaboličkog sindroma. Tijekom istraživanja u kojemu su pretile osobe s dijabetesom tipa 2 primale fekalnu suspenziju putem nazojejunalne

sonde od zdravih, mršavih darivatelja došlo je do utjecaja na metabolizam domaćina povećanjem osjetljivosti na inzulin (77).

Iako je klinički učinak minimalan, FMT može igrati ulogu u liječenju metaboličkog sindroma kao pomoćna terapija, osobito u pogledu poboljšanja HbA1c i HDL kolesterola. Potrebno je više istraživanja jer je kvaliteta dokaza još uvijek nedostatna. Uspoređujući FMT s placeboom, klinički značajni pokazatelji pretilosti nisu se statistički značajno poboljšali (78).

#### 5.4. Neuropsihijatrijske bolesti

GIT i njegova rezidentna mikrobiota povezuju se s neurološkom disfunkcijom kod Parkinsonove bolesti, Alzheimerove bolesti, multiple skleroze, epilepsije i moždanog udara (79). Gubitak crijevnih neurona, propadanje crijevne epitelne barijere i prekomjerna proizvodnja proupalnih citokina imaju negativan utjecaj na osovinu crijeva i mozga. Osim toga, tijekom neuroloških bolesti dolazi do značajnih promjena u raznolikosti i količini crijevnih mikroba, posebice onih koji proizvode protuupalne tvari (80). FMT se sve više istražuje za liječenje neuroloških bolesti zbog svoje sposobnosti da drastično promijeni bogatstvo crijevnih vrsta i obnovi udio protuupalnih bakterija (81).

Smatra se da manipulacija crijevnom mikrobiotom također može utjecati na farmakokinetiku nekoliko lijekova koji se koriste za liječenje neuroloških problema u pacijenata, povećavajući učinkovitost konvencionalnog medicinskog liječenja (42).

Klinička ispitivanja s FMT-om provedena su u bolesnika s poremećajem iz spektra autizma i pokazala su povoljne učinke na neurološke simptome. Za multiplu sklerozu i Parkinsonovu bolest, nekoliko studija na životinjama sugeriralo je pozitivan učinak FMT-a, što je potkrijepljeno nekim izvješćima o ljudskim slučajevima. Za epilepsiju, Touretteov sindrom i dijabetičku neuropatiju neke studije sugerirale su povoljan učinak FMT-a, ali dokazi su bili ograničeni na prikaze slučajeva i ograničen broj studija na životinjama. Za moždani udar,

Alzheimerovu bolest i Guillain-Barréov sindrom identificirane su samo studije na životinjskim modelima. Ove studije sugerirale su potencijalni povoljan učinak FMT-a zdravih darivatelja. Proveden je ili je u tijeku ograničen broj studija na ljudima, dok su za neke poremećaje provedeni samo pokusi na životinjama (81).

## 6. Rasprava

Poučeni uspjehom FMT za liječenje teških *C. difficile* infekcija otvorio se veliki prostor za pokušaj implementacije FMT u liječenje drugih kroničnih i idiopatskih bolesti. Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća postalo je sve jasnije koliko je komenzalna crijevna mikrobiota presudna za ljudsko zdravlje i dobrobit. FMT je postao popularan kao tretman za ponovno uspostavljanje poremećene mikrobiote i ispravljanje neravnoteže. Aktivno se istražuje složenost fekalne mikrobiote, a nedavna istraživanja su otkrila da disregulacija mikrobiote pridonosi etiologiji mnogih bolesti, kako gastroenteroloških tako i negastroenteroloških (2, 5, 8, 10). Međutim, za većinu poremećaja nije sasvim jasno jesu li promjene u mikrobioti izravno povezane s patofiziologijom ili su samo nuspojava poremećaja. Promjena mikrobiote može utjecati na tijek bolesti ako je crijevna mikrobiota uzročna u patogenezi. U većini slučajeva, malo je vjerojatno da će jedan mikroorganizam biti uzročni patogen ili ključna zaštitna bakterija. Kao rezultat toga, FMT ima prednost u odnosu na prebiotike i probiotike u tome što uvodi potpunu, zdravu crijevnu floru.

FMT je nestandardizirana terapija koja se mora poboljšati i standardizirati za određene indikacije. U prilog tome ide i otkriće superdonora, koje pokazuje da određeni bakterijski sastav može biti uspješniji u liječenju određene bolesti (82). Nadalje, metoda i način liječenja mogu utjecati na sastav i kolonizaciju mikrobiote, što se može odraziti i na terapijski ishod. Upotreba FMT kapsula učinilo je terapiju manje invazivnom, ujednačenijom i pristupačnijom. Ipak, treba imati na umu neka potencijalna ograničenja oralne primjene FMT-a. Priprema kapsula je

zahtjevnija od pripreme uzorka za endoskopsku primjenu. Također, važno je što primjena kapsula zahtijeva suradnju bolesnika i ograničena je u bolesnika s disfagijom ili gastrointestinalnim poremećajem. Povraćanje i aspiracija ostaju potencijalna zabrinutost, iako je prema našem iskustvu to rijetka pojava. Iako je primjena uvelike pojednostavljena, priprema kapsula je radno intenzivna u usporedbi s inokulama namijenjenim za endoskopsku primjenu i možda nije izvediva u nekim kliničkim uvjetima.

Kako bi se pokazala učinkovitost FMT-a za različite poremećaje, potrebna su dobro osmišljena randomizirana kontrolirana ispitivanja; ove studije trebale bi usporediti mikrobiotu tankog crijeva i fekalija prije i nakon FMT-a kako bi se bolje razumjeli terapijski mehanizmi. Određene studije bi nam također mogle omogućiti da se točno odrede bakterije i nusproizvodi koji igraju ulogu u etiologiji bolesti (83). Otkriće određenih korisnih probiotičkih bakterija ili inhibitora specifičnih mikroba i/ili proizvoda koji mogu poboljšati ljudsko zdravlje starenjem crijevne mikrobiote može biti rezultat buduće studije. To uključuje identificiranje aktivnih spojeva FMT-a kako bi se stvorile prilagođene i personalizirane strategije liječenja bolesti (84).

## 7. Zaključak

Podaci o sigurnosti i učinkovitosti FMT-a u liječenju infekcija *C. difficile* su iznimni i FMT bi trebao biti standard skrbi za pacijente koji ne uspijevaju konvencionalnom antibiotskom terapijom za liječenje infekcija *C. difficile*. FMT je postao zanimljiva i obećavajuća opcija za istraživanje kako bi se pomoglo bolesnicima s drugim kroničnim i idiopatskim bolestima u prvom redu sindroma iritabilnog crijeva i upalnih bolesti crijeva, gdje su neka istraživanja već pokazala pozitivne ishode. FMT u liječenju drugih stanja još je u eksperimentalnoj fazi i potrebno je više istraživanja kako bi se otkrila potencijalna korist.

Kako se postigne bolje razumijevanje same uloge mikrobiote u ljudskom tijelu, a i bolje razumijevanje utjecaja bakterija mikrobiote pojedinačno, budući razvoj će vjerojatno



promijeniti FMT od transplantacije cijele stolice na profinjeniji i individualiziraniji pristup koji koristi definirane mikrobnе ekosustave s preciznim mješavinama mikroba iz stolice potrebne za postizanje specifičnog kliničkog ishoda.

## 8. Sažetak

Crijevna mikrobiota sastoji se od milijardi mikroba koji žive u strukturiranom ekosustavu kojim dominiraju obligatno i fakultativno anaerobne bakterije. U ljudi crijevna mikrobiota sudjeluje u različitim ulogama koje reguliraju fiziološku, metaboličku, nutritivnu i imunološku funkciju. Disbioza, promjena ili neravnoteža ovih bakterija, povezana je s ekstraintestinalnim i gastrointestinalnim bolestima.

Transplantacija fekalne mikrobiote (FMT) je prijenos fecesa od zdravog darivatelja u debelo crijevo bolesnika čija je bolest uzrokovana promijenjenom mikrobiotom kako bi se obnovila normalna mikrobiota i tako izliječila bolest. Za FMT se koriste različiti puteva primjene pripravka koji uključuju gornje gastrointestinalne puteve tj. nazogastričnu/nazojejunalnu sondu, endoskopiju, oralne kapsule i donje gastrointestinalne puteve kao što su retencijska klizma, sigmoidoskopija ili najčešće kolonoskopija. S oko 95% uspješnosti, najučinkovitija i najbolje proučena indikacija za FMT je *Clostridioides difficile* infekcija. Prema preliminarnim studijama, FMT može imati i terapijski potencijal za druge bolesti kao što su metabolički sindrom, upalna bolest crijeva, pretilost i funkcionalni gastrointestinalni poremećaji. Međutim, još uvijek nema dovoljno znanstvenih i kliničkih podataka koji bi podržali korištenje FMT-a za druge bolesti.

Ključne riječi: transplantacija fekalne mikrobiote; *Clostridioides difficile* infekcija

## 9. Summary

The intestinal microbiota consists of billions of microbes living in a structured ecosystem dominated by strict and facultative anaerobic bacteria. In humans, the intestinal microbiota participates in a variety of roles that regulate physiology, metabolic, nutritive, and immune function. Dysbiosis, a change or imbalance of these bacteria, is associated with extraintestinal and gastrointestinal diseases.

Fecal microbiota transplantation (FMT) is the transfer of feces from a healthy donor to the colon of a patient whose disease is caused by an altered microbiome in order to restore the normal microbiota variety and thus treat the illness. Various routes of administration are used for FMT, including the upper gastrointestinal tract, ie the nasogastric / nasojejunal tube, endoscopy, oral capsules, and the lower gastrointestinal tract, such as retention enema, sigmoidoscopy, or most commonly colonoscopy. With about 95% success rate, the most effective and well-studied indication for FMT is *Clostridioides difficile* infection. According to preliminary studies, FMT may also have therapeutic potential for other diseases such metabolic syndrome, inflammatory bowel disease, obesity, and functional gastrointestinal disorders. However, there is not yet enough scientific or clinical data to support the use of FMT for other diseases.

Keywords: Fecal microbiota transplantation; *Clostridioides difficile* infection

## 10. Literatura

1. Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59-65.
2. Jethwani P, Grover K. Gut microbiota in health and diseases—a review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2019;8(8):1586–1599
3. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Ley RE. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108:4578–4585.
4. Marques TM, Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Ryan CA, Stanton C. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol*. 2010;21(2):149-156
5. Robinson CJ, Bohannan BJ, Young VB. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010;74(3):453-476.
6. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105-108.
7. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174–180.
8. Cheng M, Ning K. Stereotypes About Enterotype: the Old and New Ideas. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2019;17(1):4-12.
9. Liu H, Han M, Li SC, et al. Resilience of human gut microbial communities for the long stay with multiple dietary shifts. *Gut*. 2019;68(12):2254-2255.

10. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8787-8803.
11. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*. 2018;555(7695):210-215.
12. Mills S, Stanton C, Lane JA, Smith GJ, Ross RP. Precision Nutrition and the Microbiome, Part I: Current State of the Science. *Nutrients*. 2019;11(4):923.
13. Wiley NC, Dinan TG, Ross RP, Stanton C, Clarke G, Cryan JF. The microbiota-gut-brain axis as a key regulator of neural function and the stress response: Implications for human and animal health. *J Anim Sci*. 2017;95(7):3225-3246.
14. Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*. 2013;62(10):3341-3349.
15. Nishino K, Nishida A, Inoue R, et al. Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. 2018;53(1):95-106.
16. Shu SA, Yuen AWT, Woo E, et al. Microbiota and Food Allergy. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;57(1):83-97.
17. Jiao Y, Wu L, Huntington ND, Zhang X. Crosstalk Between Gut Microbiota and Innate Immunity and Its Implication in Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2020;11:282.
18. Zhou W, Cheng Y, Zhu P, Nasser MI, Zhang X, Zhao M. Implication of Gut Microbiota in Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:5394096.
19. Lin L, Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunol*. 2017;18(1):2.

20. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.* 2017;19(1):29-41.
21. Canani RB, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol.* 2011;17(12):1519-1528..
22. Louis P, Young P, Holtrop G, Flint HJ. Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene. *Environ Microbiol.* 2010;12(2):304–314.
23. Magwira CA, Kullin B, Lewandowski S, Rodgers A, Reid SJ, Abratt VR. Diversity of faecal oxalatedegrading bacteria in black and white South African study groups: insights into understanding the rarity of urolithiasis in the black group. *J Appl Microbiol.* 2012;113(2):418-428
24. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol.* 2013;24(2):160-168.
25. Schwalfenberg GK. Vitamins K1 and K2: The Emerging Group of Vitamins Required for Human Health. *J Nutr Metab.* 2017;2017:6254836.
26. Windey K, De Preter V, Verbeke K. Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol Nutr Food Res.* 2012;56(1):184-196.
27. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab.* 2016;24(1):41-50
28. Francino MP. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens.* 2014;3(3):769-790.

29. Thomas CM, Versalovic J. Probiotics-host communication modulation of signaling pathways in the intestine. *Gut Microbes*. 2010;1(3):148-163
30. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*. 2004;118:229–241.
31. Tanoue T, Atarashi K, Honda K. Development and maintenance of intestinal regulatory T cells. *Nat Rev Immunol*. 2016;16:295–309.
32. Kosiewicz MM, Zirnheld AL, Alard P. Gut microbiota, immunity, and disease: a complex relationship. *Front Microbiol*. 2011;2:180.
33. Lazar V, Ditu LM, Pircalabioru GG, et al. Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Front Immunol*. 2018;9:1830.
34. Khosravi A, Yáñez A, Price JG, et al. Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection. *Cell Host Microbe*. 2014;15(3):374-381.
35. Heiss CN, Olofsson LE. The role of the gut microbiota in development, function and disorders of the central nervous system and the enteric nervous system. *J Neuroendocrinol*. 2019;31:e12684.
36. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9:286–294.
37. Mukhtar K, Nawaz H, Abid S. Functional gastrointestinal disorders and gut-brain axis: What does the future hold? *World J Gastroenterol*. 2019;25:552–566.
38. Mohajeri MH, La Fata G, Steinert RE, Weber P. Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutr Rev*. 2018;76(7):481-496.

39. Gupta S, Allen-Vercoe E, Petrof EO. Fecal microbiota transplantation: in perspective. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016;9(2):229-239.
40. Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, et al. Fecal microbiota transplantation: Review and update. *J Formos Med Assoc*. 2019;118(Suppl1):S23-S31.
41. Riječki gastroenterolozi prvi u Hrvatskoj izveli transplantaciju fekalne mikrobiote. KBC Rijeka.  
<https://kbc-rijeka.hr/rijecki-gastroenterolozi-prvi-hrvatskoj-izveli-transplantaciju-fekalne-mikrobiote/>
42. Mikolašević I, Hauser G, Abram M, Filipec Kanižaj T, Radić M, Krznarić Zrnić I. Fecal microbiota transplantation - where are we?. *Croat Med J*. 2021;62(1):52-58.
43. Tang G, Yin W, Liu W. Is frozen fecal microbiota transplantation as effective as fresh fecal microbiota transplantation in patients with recurrent or refractory *Clostridium difficile* infection: A meta-analysis? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017;88(4):322-329.
44. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017;66(4):569-580.
45. Cammarota G, Ianiro G, Kelly CR, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2019;68(12):2111–2121
46. Kim KO, Gluck M. Fecal Microbiota Transplantation: An Update on Clinical Practice. *Clin Endosc*. 2019;52(2):137-143.
47. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:500–508.

48. Allegretti JR, Kassam Z, Osman M, Budree S, Fischer M, Kelly CR. The 5D framework: a clinical primer for fecal microbiota transplantation to treat *Clostridium difficile* infection. *Gastrointest Endosc*. 2018;87:18–29.
49. Kao D, Roach B, Silva M, et al. Effect of oral capsule- vs colonoscopy-delivered fecal microbiota transplantation on recurrent *Clostridium difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2017;318:1985–1993.
50. Zipursky JS, Sidorsky TI, Freedman CA, Sidorsky MN, Kirkland KB. Patient attitudes toward the use of fecal microbiota transplantation in the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2012;55:1652–1658.
51. Postigo R, Kim JH. Colonoscopic versus nasogastric fecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a review and pooled analysis. *Infection*. 2012;40:643–648
52. Allegretti JR, Fischer M, Papa E, et al. Fecal microbiota transplantation delivered via oral capsules achieves microbial engraftment similar to traditional delivery modalities: safety, efficacy and engraftment results from a multi-center cluster randomized dose-finding study. *Gastroenterology*. 2016;150(4 Suppl 1):S540.
53. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, et al.. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41:835–43.
54. Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol*. 2022;20(5):285-298
55. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med*. 2015;372(16):1539-1548.



56. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet*. 2001;357(9251):189-193.
57. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(4):478-499.
58. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med*. 2011;365(18):1693-1703.
59. Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI et al. Risk of *Clostridium difficile* infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1011–1019
60. Britton RA, Young VB. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1547-1553.
61. Pépin J, Saheb N, Coulombe MA, et al. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec. *Clin Infect Dis*. 2005;41(9):1254-1260.
62. Brown KA, Khanafer N, Daneman N, Fisman DN. Meta-analysis of antibiotics and the risk of community-associated *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(5):2326-2332.
63. Mamo Y, Woodworth MH, Wang T, Dhere T, Kraft CS. Durability and Long-term Clinical Outcomes of Fecal Microbiota Transplant Treatment in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis*. 2018;66(11):1705-1711.
64. Baxter M, Colville A. Adverse events in faecal microbiota transplant: a review of the literature. *J Hosp Infect*. 2016;92(2):117–127.

65. Chen C, Chen L, Sun D, et al. Adverse events of intestinal microbiota transplantation in randomized controlled trials: a systematic review and meta-analysis. *Gut Pathog.* 2022;14(1):20..
66. Tontini GE, Vecchi M, Pastorelli L, Neurath MF, Neumann H. Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: State of the art and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2015;21:21–46.
67. Banfi D, Moro E, Bosi A, et al. Impact of Microbial Metabolites on Microbiota-Gut-Brain Axis in Inflammatory Bowel Disease. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1623.
68. Tan P, Li X, Shen J, Feng Q. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease: An Update. *Front Pharmacol.* 2020;11:574533.
69. Stojek M, Jabłońska A, Adrych K. The Role of Fecal Microbiota Transplantation in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Med.* 2021;10(18):4055.
70. Caldeira LF, Borba HH, Tonin FS, Wiens A, Fernandez-Llimos F, Pontarolo R. Fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(9):e0238910.
71. Pinn DM, Aroniadis OC, Brandt LJ. Is fecal microbiota transplantation (FMT) an effective treatment for patients with functional gastrointestinal disorders (FGID)? *Neurogastroenterol Motil.* 2015;27(1):19-29.
72. Tkach S, Dorofeyev A, Kuzenko I, et al. Current Status and Future Therapeutic Options for Fecal Microbiota Transplantation. *Medicina (Kaunas).* 2022;58(1):84.
73. El-Salhy M, Patcharatrakul T, Gonlachanvit S. Fecal microbiota transplantation for irritable bowel syndrome: An intervention for the 21st century. *World J Gastroenterol.* 2021;27(22):2921-2943.

74. Hoffman EL, VonWald T, Hansen K. The metabolic syndrome. *S D Med.* 2015;Spec No:24-28.
75. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022-1023.
76. Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, et al. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology.* 2015;149(1):223-237.
77. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology.* 2012;143(4):913–916.
78. Proença IM, Allegretti JR, Bernardo WM, et al. Fecal microbiota transplantation improves metabolic syndrome parameters: systematic review with meta-analysis based on randomized clinical trials. *Nutr Res.* 2020;83:1-14.
79. Pusceddu MM, Del Bas JM. The role of the gut microbiota in the pathophysiology of mental and neurological disorders. *Psychiatr Genet.* 2020;30(4):87-100.
80. Xu HM, Huang HL, Zhou YL, et al. Fecal Microbiota Transplantation: A New Therapeutic Attempt from the Gut to the Brain. *Gastroenterol Res Pract.* 2021;2021:6699268.
81. Vendrik KEW, Ooijselaar RE, de Jong PRC, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Neurological Disorders. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:98.
82. Wilson BC, Vatanen T, Cutfield WS, O'Sullivan JM. The Super-Donor Phenomenon in Fecal Microbiota Transplantation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:2.
83. Smits LP, Bouter KE, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology.* 2013;145(5):946-953.

84. de Vos WM, Nieuwdorp M. Genomics: A gut prediction. *Nature*. 2013;498(7452):48-49.

## 11. Životopis

Danijel Lugonjić rođen je u Zagrebu 21. veljače 1996. godine. Osnovnoškolsko obrazovanje završava u II. OŠ Vrbovec, a srednjoškolsko obrazovanje u Školi za medicinske sestre Mlinarska. Medicinski fakultet u Rijeci upisuje 2015. godine. Tijekom studija sudjelovao je u projektu Hrvatskog mikrobiološkog društva „U društvu mikroba“ sufinanciranog od strane Europske unije iz Europskog socijalnog fonda (<http://www.hmd-cms.hr/projekt-u-drustvu-mikroba/>) i na projektu Hrvatske lige za hipertenziju „Lov na tihog ubojicu“.