Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce

Mikrobiální transplantace a její vliv na průběh ulcerózní kolitidy

MUDr. Jan Březina

Praha 2024

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor:	Fyziologie a patofyziologie člověka
Předseda oborové rady:	prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., MBA
Školicí pracoviště:	Klinika hepatogastroenterologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha
Školitel:	doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

OBSAH

ABSTRAKT 4
ABSTRACT 5
SEZNAM ZKRATEK 6
ÚVOD 7
HYPOTÉZY 9
CÍLE PRÁCE 9
METODY 10
1. **Design studie** 10
2. **Studijní populace** 10
3. **Randomizace** 10
4. **Intervence** 10
5. **Hodnocení klinických výsledků** 11
6. **Příprava klyzmat FMT** 11
7. **Hodnocení a analýza mikrobiomu** 11
8. **Statistická analýza** 12

VÝSLEDKY 13
1. **Klinické výsledky** 14
2. **Hodnocení bezpečnosti** 15
3. **Změny mikrobiomu** 15

DISKUSE 18
ZÁVĚR 20
LITERÁRNÍ REFERENCE 21
SEZNAM PUBLIKACÍ 24

ABSTRAKT

Komplexní etiopatogeneze idiopatických střevních zánětů (IBD) zůstává nejasná, přičemž jednou z hlavních příčin se jeví dysregulace slizniční imunity v reakci na specifické složky střevního mikrobiomu. Tato disertační práce zkoumá potenciál fekální mikrobiální transplantace (FMT) jako inovativní terapeutické intervence zaměřené na modifikaci mikrobiomu a ovlivnění průběhu IBD. FMT, spočívající v přenosu stolice od zdravého dárce k pacientovi, se ukázala jako vysoce účinná v léčbě rekurentní klostridiové kolitidy, kde je již považována za standardní léčebný postup. Ve vztahu k IBD však představuje FMT stále experimentální metodu, používanou převážně v rámci klinických studií. Současný systematický přehled uvádí, že účinek FMT na ulcerózní kolitidu (UC) je proměnlivý, jak z hlediska dosažení remise, tak klinické odpovědi. Nedávné randomizované kontrolované studie pro UC a s tím v souladu i námi prezentovaná data ukazují na mírný až střední efekt FMT v této indikaci. Účinnost FMT ovlivňuje celá řada faktorů, zejména správný výběr dárce či dárců, diverzita jeho mikrobiomu, metody aplikace i frekvence podávání. V případě Crohnovy choroby jsou data zatím velmi omezená, ale naznačují malý efekt FMT v této indikaci. FMT je považována za bezpečnou metodu s minimem závažných nežádoucích účinků za předpokladu striktního dodržování kritérií pro výběr a vyšetření dárců.

Na základě dosavadních výsledků lze konstatovat, že FMT představuje slibný a bezpečný terapeutický přístup léčby UC. Pro definitivní závěry jsou však nezbytné další rozsáhlé, dobře navržené studie, které se zaměří na efektivitu metody v různých indikacích, schopnost navodit remisi u IBD, počet nutných aplikací FMT pro dosažení tohoto cíle, dlouhodobou bezpečnost a optimální způsoby aplikace.

ABSTRACT

The complex etiopathogenesis of idiopathic inflammatory bowel diseases (IBD) remains unclear, with one of the main suspected causes being the dysregulation of mucosal immunity in response to specific components of the gut microbiome. This dissertation investigates the potential of faecal microbiota transplantation (FMT) as an innovative therapeutic intervention aimed at modifying the microbiome and influencing the course of IBD. FMT, involving the transfer of stool from a healthy donor to the patient, has proven highly effective in the treatment of recurrent *Clostridioides difficile* colitis, where it is already considered a standard therapeutic procedure. However, in relation to IBD, FMT remains an experimental method, predominantly used in clinical studies. Current systematic reviews indicate that the effect of FMT on ulcerative colitis (UC) is variable, both in terms of achieving remission and clinical response. Recent randomized controlled trials for UC, in accordance with our presented data, show a mild to moderate effect of FMT in this indication. The effectiveness of FMT is influenced by a range of factors, particularly the correct selection of donor or donors, the diversity of their microbiome, methods of application, and frequency of administration. In the case of Crohn's disease, the data are still very limited, but suggest a minimal effect of FMT in this indication. FMT is considered a safe method with minimal adverse effects, provided strict criteria for donor selection and examination are adhered to.

Based on the current results, it can be concluded that FMT represents a promising and safe therapeutic approach for the treatment of UC. However, further extensive, well-designed studies are necessary to provide definitive conclusions, focusing on the method's effectiveness in various indications, its ability to induce remission in IBD, the number of FMT applications needed to achieve this goal, long-term safety, and optimal methods of application.

SEZNAM ZKRATEK

5-ASA	5-aminosalicylát
6MP	6-merkaptopurin
16S rRNA	16S ribosomální ribonukleová kyselina
Anti-TNF	Anti- tumor necrosis factor
CD	Crohnova choroba
CDI	*Clostridioides difficile* infekce
CI	Confidence interval
CRP	C-reaktivní protein
EurFMT	Evropský registr FMT
FACTU	Fekální mikrobiální transplantace u levostranné ulcerózní kolitidy
FMT	Fekální mikrobiální transplantace
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IBD	Idiopatické střevní záněty
IL-10	Interleukin 10
LDA	Lineární diskriminační analýza
NOD2	Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2
RCT	Randomizovaná kontrolovaná studie
SCFA	Mastné kyseliny s krátkým řetězcem
SCCAI	Simple Clinical Colitis Activity Index
Ster	Kortikosteroidy
UC	Ulcerózní kolitida

ÚVOD

Lidské tělo, často považované za zázrak biologického inženýrství, není ostrovem izolovaným od okolního světa. Naopak, je domovem pro nespočet mikroorganismů, které s námi žijí v symbiotickém vztahu a ovlivňují naše zdraví, chování a mnoho dalších aspektů našeho života. Tento komplexní ekosystém mikroorganismů, označovaný jako lidský mikrobiom se v posledních desetiletích stal předmětem intenzivního vědeckého zkoumání.

Důvodem pro takový zájem je stále rostoucí důkaz o roli, jakou hraje mikrobiota v našem zdraví a onemocnění. Od trávicího systému až po kognitivní funkce, mikroorganismy, které s námi sdílejí naše tělo, ovlivňují naše fyziologické stavy, obranyschopnost a dokonce i naši psychiku. Ačkoli byla lidská mikrobiota po tisíce let součástí našeho bytí, teprve nedávno jsme začali rozkrývat její tajemství a důležitost.

Lidská mikrobiota může obsahovat až desetkrát více buněk, než naše vlastní lidské tělo. Největší zastoupení má v gastrointestinálním traktu, a to jak celkovým počtem, tak i počtem druhů bakterií, který dle Human Microbiom Project dosahuje 3000, z nichž většinu nejsme zatím schopni ani kultivovat [1, 2]. Nedávné metagenetické analýzy stanovily katalog genů lidské mikrobioty s celkovým počtem 3,3 mil. jedinečných genů, což je přibližně stokrát více, než z kolika se skládá lidský genom [3]. Kmeny *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* a *Actinobacteria* tvoří více než 99 % střevní mikroflóry. Kmen *Firmicutes* (včetně *Clostridia*) představuje více než 60 % druhů vázaných na sliznici tlustého střeva, zatímco *Enterobacteriaceae* jako *Escherichia coli* jsou relativně malou podskupinou, která představuje pouze 8 % všech bakterií střeva [4, 5]. Mikrobiota však nepředstavují jen bakterie, ale i archea, houby, řasy, viry a fágy [6]. Nejnověji je mikobiota definována tak, že se týká nejen společenství mikroorganismů, ale také celého spektra molekul produkovaných těmito mikroorganismy, včetně jejich strukturních prvků, metabolitů a molekul produkovaných koexistujícím hostitelem [6].

Střevní mikrobiota funguje jako samostatný orgán lidského těla. Ovlivňuje štěpení a vstřebávání živin, bariérovou funkci střevní sliznice, metabolismus, imunitní systém hostitele, produkuje vitamin K a biotin. Komenzální střevní mikrobiota metabolizuje nevstřebatelné sacharidy z potravy a produkuje mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které mohou představovat až 10 % denního energetického příjmu [4]. Zatímco mastné kyseliny acetát, propionát a butyrát tvoří hlavní zdroj energie pro kolonocyty, zlepšují také slizniční bariérovou funkci stimulací sekrece hlenu a udržováním integrity epitelu podporou těsného buněčného spojení [7]. Butyrát se také váže přímo na makrofágy a dendritické buňky, čímž zvyšuje produkci protizánětlivého cytokinu IL-10 a ovlivňuje diferenciaci a proliferaci regulačních T lymfocytů [8-10]. Mikrobiota se také podílí na metabolizaci xenobiotických sloučenin, čímž ovlivňuje metabolismus léčiv a karcinogenezi [11, 12]. Mikrobiální hydrolázy žlučových solí dekonjugují primární žlučové kyseliny a vedou k tvorbě sekundárních žlučových kyselin, které kromě jiných účinků ovlivňují růst dalších bakterií [13]. Komenzální mikroorganismy obývající lidský gastrointestinální trakt tedy hrají důležitou roli při metabolismu, imunitní adaptaci a zároveň potlačují růst konkurenčních invazních druhů [14].

U dysbiózy vede snížená koncentrace protektivních bakterií produkujících mastné kyseliny s krátkým řetězcem a akumulace toxických metabolitů střevních patogenů k zvýšené koncentraci prozánětlivých mediátorů a zvýšené permeabilitě sliznice [4, 5]. Zhoršená imunoregulace hostitele s neúčinnou regulací vrozené imunitní odpovědi vede ke ztrátě tolerance k nepatogenním mikrobiálním antigenům a rozvoji zkříženě reaktivní autoimunity [4].

Vztah zdravé mikrobioty a hostitele představuje symbiózu. Změny mikrobioty mohou vést k narušení této symbiózy, a tím ke vzniku některých onemocnění. Tento patofyziologický mechanismus lze popsat na klostridiové kolitidě, ale mezi choroby se vztahem ke střevnímu mikrobiomu patří i idiopatické střevní záněty (IBD), syndrom dráždivého tračníku, jaterní encefalopatie, diabetes 2. typu, metabolický syndrom, nealkoholická steatohepatitida, obezita, ateroskleróza, idiopatická trombocytopenická purpura, roztroušená skleróza, alergie, autismus a další [15].

Fekální mikrobiální transplantace (FMT) je léčebná metoda spočívající v přenosu stolice od zdravého dárce pacientovi. Lze jí obnovit mikrobiální homeostázu střeva, a ovlivnit tak výše zmíněná onemocnění. FMT je vysoce efektivní v léčbě rekurentní pseudomembranózní kolitidy [20]. V této indikaci se jedná o standardní, klinicky využitelnou metodu. Principem léčby je napravení „ekologické katastrofy“ způsobené většinou použitím antibiotik s následným přemnožením kmene *Clostridioides difficile*. Proto není překvapivé, že i jednorázové či dvojnásobné podání FMT vede k vysoké frekvenci vyléčení (81–94 %). Ostatní uvedené indikace, vč. IBD, jsou experimentální a jsou předmětem pouze klinických studií [21].

Vztah mikrobiomu a IBD není natolik objasněn jako u klostridiové kolitidy. I přes intenzivní výzkum není stále uspokojivě vysvětlena přesná etiopatogeneze IBD, nicméně jednou z teorií vzniku IBD je neadekvátní reakce imunitního systému na některé součásti střevního mikrobiomu. Tato souvislost byla doložena studiemi na zvířecích modelech, kdy absence mikrobiomu u geneticky predisponovaných myší zabránila rozvoji IBD. Je prokázáno, že u pacientů s IBD dochází ke snížení diverzity druhů i změnám zastoupení střevní mikroflóry. Existuje dostatek důkazů o úloze dysbiózy v patogenezi IBD [4, 22]. Několik známých predisponujících variant genů k IBD ovlivňuje způsoby interakce střeva s prostředím [23]. První identifikovaný predisponující gen pro Crohnovu chorobu (CD) NOD2 se účastní imunitní odpovědi na grampozitivní a gramnegativní bakterie [24]. Mutace NOD2 ovlivňují množství bakterií adherujících na sliznici [25] a transkripci protizánětlivého cytokinu IL-10 [26]. Mnoho studií zjistilo, že pacienti se zánětlivým onemocněním střev mají ve střevech méně bakterií produkujících mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA), zejména *Faecalibacterium prausnitzii*, symbiotickou bakterii s dobře zdokumentovanými příznivými účinky pro hostitele [27, 28]. Ke zvrácení tohoto stavu dysbiózy, a tím i k potenciální léčbě IBD, se nabízí použití FMT.

HYPOTÉZY

1) Fekální bakteriální transplantace příznivě ovlivňuje průběh ulcerózní kolitidy.

2) Fekální bakteriální transplantace vede k signifikantní změně mikrobiomu u pacientů s ulcerózní kolitidou.

CÍLE PRÁCE

1) Provedení randomizované kontrolované studie zaměřené na léčbu pacientů s ulcerózní kolitidou pomocí fekální bakteriální transplantace.

2) Hodnocení vlivu fekální bakteriální transplantace na průběh levostranné ulcerózní kolitidy.

3) Popis změn mikrobioty po fekální bakteriální transplantaci a jejich trvání v čase.

METODY

1. Design studie

Studie FACTU byla otevřenou randomizovanou noninferioritní studií srovnávající účinnost léčby klyzmaty FMT a standardními klyzmaty 5-ASA u pacientů s aktivní levostrannou UC. Pacienti byli zařazeni do studie ve čtyřech IBD centrech v České republice (IKEM, ISCARE, VFN, FN Plzeň).

2. Studijní populace

Do studie byli zařazeni dospělí pacienti mladší 70 let s klinicky a endoskopicky aktivní levostrannou UC (tj. rozsah větší než 15 cm a maximálně k lienální flexuře) trvající > 3 měsíce, s celkovým Mayo skóre 4-10 a endoskopickým subskóre ≥2. Bylo povoleno užívání perorálních 5-aminosalicylátů (stabilní dávka po dobu 8 týdnů, maximální dávka 4 g), thiopurinů (stabilní dávka po dobu 8 týdnů) a perorálního prednisonu (≤ 10 mg denně a stabilní dávka po dobu 4 týdnů). Po zařazení museli pacienti zůstat na stejné dávce po celou dobu studie. Vyloučeni byli jedinci s neurčitou kolitidou, Crohnovou chorobou, syndromem dráždivého tračníku, rakovinou střeva v anamnéze a pozitivitou na infekci *Clostridoides difficile* nebo jiným střevním patogenem, stejně jako těhotné nebo kojící ženy. Užívání rektálních kortikosteroidů nebo 5-ASA v období 4 týdnů před zařazením do studie, antibiotik nebo probiotik v období 8 týdnů před zařazením do studie, metotrexátu v období 8 týdnů před zařazením do studie nebo biologické léčby či inhibitorů kalcineurinu v období 12 týdnů před zařazením do studie nebylo povoleno. Při vstupu do studie podstoupili všichni potenciálně způsobilí pacienti kolonoskopii nebo sigmoideoskopii.

3. Randomizace

Vhodní pacienti byli randomizováni v poměru 1:1 pomocí počítačem vytvořeného randomizačního seznamu stratifikovaného podle pohlaví a užívání imunosupresivní léčby. Randomizace byla provedena centrálně v IKEM v Praze.

4. Intervence

Experimentální skupině jsme podali 10 studijních infuzí FMT, pět v prvním týdnu a jednou týdně v následujících 5 týdnech. Účastníci ve skupině s 5-ASA byli léčeni standardním režimem péče, který zahrnoval klyzmata s mesalaminem v dávce 4 g denně po dobu 2 týdnů a poté každý druhý den až do konce 6. týdne. Tolerance klyzmat byla definována jako zadržení klyzmatu po dobu alespoň 15 minut.

5. Hodnocení klinických výsledků

Primárním cílem studie byla klinická remise, která byla definována jako celkové skóre Mayo ≤2 bez podskóre >1 ve 12. týdnu. Sekundárními cíle byly klinická odpověď, definovaná jako snížení celkového Mayo skóre o ≥ 2 body, a endoskopická remise, definovaná jako endoskopické Mayo skóre 0 v 6. a 12. týdnu. Endoskopická aktivita onemocnění byla hodnocena pomocí sigmoideoskopie v týdnech 6 a 12 a bylo vypočítáno celkové Mayo skóre. Endoskopie byly prováděny a zaznamenávány v každém studijním centru a poté byly centrálně hodnoceny dvěma endoskopisty zaslepenými vůči podávané léčbě. Případné nesrovnalosti byly vyřešeny diskusí a dohodou. Nežádoucí příhody byly hodnoceny při každé návštěvě studie a hlášeny podle Common Terminology Criteria for Adverse Events, verze 5.0.

6. Příprava klyzmat FMT

V každém centru studie byly odebrány vzorky stolice od zdravých dárců mladších 60 let. Vyloučeni byli pokrevní příbuzní, osoby hospitalizované v předchozích 3 měsících nebo léčené antibiotiky či inhibitory protonové pumpy v předchozích 6 měsících, imunosuprimovaní jedinci a osoby s chronickými problémy gastrointestinálního traktu (např. IBD, zácpa, funkční dyspepsie), autoimunitními chorobami nebo obezitou v anamnéze. Vyloučeni byli také dárci, kteří v předchozích 3 měsících cestovali do rizikových oblastí. Všichni dárci prošli důkladným screeningem na infekční onemocnění. Každý vzorek stolice byl analyzován pomocí sekvenování 16S rRNA; v každém centru byl vybrán dárce s největší diverzitou mikrobiomu a náhradník. Tyto dárce jsme pak použili pro všechny pacienty účastnící se studie v jednom centru. Každý pacient dostával FMT od stejného dárce po celou dobu studie.

Vzorky stolice dárců byly hodnoceny pracovníky studie na přítomnost hlenu a krve a byla posouzena jejich konzistence. Vzorek byl zvážen, na každých 50 g stolice bylo přidáno 150 ml fyziologického roztoku a suspenze byla homogenizována standardním kuchyňským mixérem. Výsledný produkt byl dvakrát přefiltrován přes sterilní gázu, aby se odstranily velké zbytky stolice. Jako kryoprotektant byl přidán glycerol a roztok byl přelit do studijních nádob. Objem každé infuze byl 150-170 ml. Infuze byly uchovávány při -80 °C. V den podání byly studijní infuze rozmrazovány jednu hodinu při běžné pokojové teplotě a poté další hodinu v lázni o teplotě 37 ◦C. Studijní infuze byly pacientům podávány ihned po rozmrazení.

7. Hodnocení a analýza mikrobiomu

Vzorky stolice byly odebírány na začátku studie a při každé návštěvě studie v týdnech 2, 4, 6 a 12 u skupiny FMT, v týdnech 2 a 12 u skupiny 5-ASA a při ročním sledování u všech pacientů, pokud bylo dokončeno. Vzorky stolice od pacientů a dárců byly zmraženy a uloženy při -80 °C pro další analýzu. Genomová DNA byla ze zmrazených vzorků extrahována pomocí souprav pro izolaci DNA ze stolice Power Fecal DNA (QIAGEN, Hilden, Německo) s rozrušováním buněk pomocí kuliček v homogenizátoru FastPrep-24 (MP Biomedicals, Irvine, CA, USA). Izolovaná DNA byla zkontrolována pomocí UV/Vis spektrofotometru NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) a až do použití skladována při -20 °C. DNA byla použita k přípravě amplikonů V4-5 16S rDNA podle popisu Fliegerové a kol. [29]. Amplikony byly přečištěny pomocí soupravy Monarch DNA Clean up kit (New England

Biolabs, Ipswich, MA, USA) a použity pro vysokokapacitní sekvenování na platformě Ion Torrent podle protokolu výrobce.

Sekvence bakteriálního genu 16S rRNA byly získány ve formátu FASTQ pro analýzu pomocí pipeline QIIME 2 2020.2 [30]. Pro zajištění kvality sekvencí byl použit filtr DADA2 jako filtr šumu a k odstranění chimérických sekvencí [31]. Pro shlukování a taxonomickou klasifikaci filtrovaných sekvencí byl použit VSEARCH s využitím databáze SILVA. Shannonův index diverzity a hlavní souřadnicová analýza (PCoA) Brayovy-Curtisovy vzdálenosti byly vyhodnoceny po zředění vzorků na 5000 sekvencí každý. Pro identifikaci biomarkerů byla provedena lineární diskriminační analýza (LDA) s algoritmem velikosti efektu (LefSe) [32] v modulu Galaxy Web (http://huttenhower. sph.harvard.edu/galaxy/, přístup 24. března 2021). K detekci taxonů s významným rozdílem v relativní četnosti bakteriálních čeledí u respondérů a non-respondérů léčby byly použity faktorové Kruskal-Wallisovy a párové Wilcoxonovy testy. Hodnota alfa byla 0,05 s prahovou hodnotou 2,0 pro logaritmické skóre LDA diskriminačních znaků.

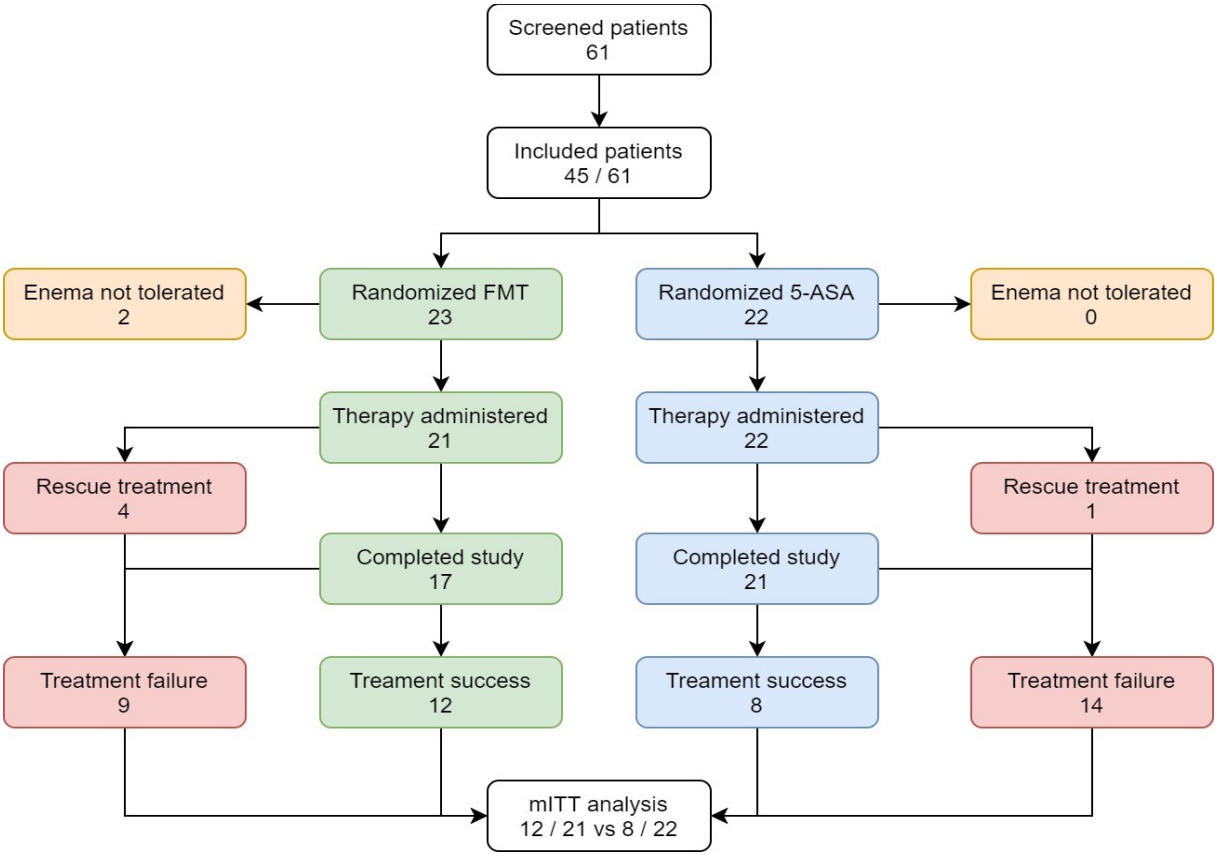
8. Statistická analýza

Cílem bylo získat 50 pacientů s aktivní UC (25 v každém rameni) na základě výpočtu velikosti vzorku, který předpokládal 30% míru remise v rameni s 5-ASA [33] a 60% míru remise v rameni s FMT [34], což vyžadovalo 80% sílu v designu noninferiority s 95% oboustranným intervalem spolehlivosti (CI) a 10% rozpětím noninferiority, a za předpokladu 5% míry úbytku. K popisu výsledků byla použita popisná statistika (medián, maximální a minimální hodnoty). 95% CI rozdílů v úspěšnosti léčby byl vypočten pomocí bootstrappingu se 106 iteracemi. U sekundárních výsledků byly rozdíly mezi léčbami testovány Fisherovým přesným testem. Analýza byla provedena u modifikované populace s léčebným záměrem (mITT), která pro zařazení vyžadovala toleranci léčby. Pro statistickou analýzu jsme použili Python 3.7.4 (numpy 1.16.5, scipy 1.3.1, matplotlib 3.1.1).

VÝSLEDKY

Od dubna 2017 do října 2020 bylo do studie FACTU zařazeno 61 pacientů. Po screeningu bylo 45 pacientů randomizováno do FMT skupiny (n = 23), nebo do skupiny léčené klyzmaty 5-ASA (n = 22). Dva pacienti ve skupině FMT, kteří první klyzma netolerovali, nebyli do závěrečné analýzy zahrnuti. Čtyřicet tři pacientů, 21 ve skupině FMT a 22 ve skupině 5-ASA, dokončilo alespoň návštěvu ve 4. týdnu a bylo zahrnuto do analýzy mITT (**obrázek 1**). Základní demografické a klinické charakteristiky obou skupin byly podobné s výjimkou delšího trvání onemocnění ve skupině FMT, přičemž tento rozdíl nebyl významný (p = 0,07, **tabulka 1**).

Obrázek 1. Profil studie. 5-ASA, kyselina 5-aminosalicylová; FMT, fekální mikrobiální transplantace; mITT, modified intention-to-treat.



Tabulka 1. Charakteristika souboru.

	FMT (*n* = 23)	**5–ASA Enema (*n* = 22)**
Muži	12 (52%)	11 (50%)
Ženy	11 (48%)	11 (50%)
Věk	39 (25–63)	39.5 (27–70)
Trvání choroby (roky)	9 (1–20)	4.5 (0.6–20)
Předchozí biologická léčba	0 (0%)	0 (0%)
Konkomitantní terapie		
5-aminosalicyláty	19 (83%)	18 (82%)
Kortikosteroidy	3 (13%)	2 (9%)
Imunomodulátory	5 (22%)	4 (18%)
Celkové Mayo skore	6 (4–10)	6 (4–10)
Endoskopické Mayo = 2	19 (83%)	18 (82%)
Endoskopické Mayo = 3	4 (17%)	4 (18%)
Fekální kalprotektin (μg/g)	1817.5 (166–6000)	1220 (80–6000)
C-reaktivní protein (mg/L)	2.3 (0.3–25)	2.1 (0.4–32.8)
Bílé krvinky ($\times 10^9$/L)	7.9 (5.4–11.7)	6.3 (3.9–12.3)
Hemoglobin (g/L)	141 (107–163)	142 (104–161)

1. Klinické výsledky

Tabulka 2 uvádí výsledky v 6. a 12. týdnu. Dvanáct z 21 pacientů s FMT (57 %) a osm z 22 pacientů s klyzmatem 5ASA (36 %) úspěšně dosáhlo primárního cíle studie ve 12. týdnu. Byla potvrzena noninferiorita FMT s 10% rozpětím (95% CI: -7,6 %, 48,9 %). Pouze jeden respondér v každé skupině byl ve 12. týdnu na léčbě kortikosteroidy. Nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly mezi skupinami v sekundárních výsledcích. Klinické odpovědi dosáhlo v 6. týdnu 14 pacientů s FMT (64 %) a 12 pacientů s 5-ASA (55 %, p = 0,53) a ve 12. týdnu 15 pacientů s FMT (71 %) a 12 pacientů s 5-ASA (55 %, p = 0,35). Endoskopické remise dosáhli v 6. týdnu tři pacienti s FMT (14 %) a jeden pacient s 5-ASA (5 %), p = 0,34) a ve 12. týdnu tři pacienti s FMT (14 %) a tři pacienti s 5-ASA (14 %, p = 1,0).

Table 2. Primární a sekundární výsledky v týdnu 6 a 12.

	Fecal Microbiota Transplantation (*n* = 21)	**5-ASA Enema (*n* = 22)**	**95% CI for Difference**
Primary outcome			
Clinical remission (week 12)	12 (57%)	8 (36%)	(−7.6%, 48.9%)
Secondary outcome			***p*-value**
Clinical response (week 6)	14 (64%)	12 (55%)	0.53
Clinical response (week 12)	15 (71%)	12 (55%)	0.35
Endoscopic remission (week 6)	3 (14%)	1 (5%)	0.34
Endoscopic remission (week 12)	3 (14%)	3 (14%)	1.0

2. Hodnocení bezpečnosti

Dvanáct pacientů s FMT (57 %) a 13 pacientů s 5-ASA (59 %) mělo během 12týdenního sledování alespoň jednu nežádoucí příhodu. Rozdíly mezi skupinami v počtu nebo typu nežádoucích příhod nebyly významné (**tabulka 3**). Nejčastějšími nežádoucími příhodami byly mírné gastrointestinální obtíže. Během léčby ve studii se vyskytlo pět závažných nežádoucích příhod, čtyři u pacientů s FMT a jedna u pacienta, kterému byly podávány klyzmata s 5-ASA. Ve všech případech se jednalo o zhoršení kolitidy s nutností intenzifikace léčby (tj. zvýšení perorálních kortikoidů ve dvou případech, intravenózní kortikoidy v jednom případě a biologická léčba ve dvou případech). Žádný pacient nevyžadoval kolektomii během období studie ani během ročního sledování, pokud bylo dokončeno. Tolerance klyzmat byla obecně dobrá, pouze u dvou pacientů ve skupině FMT se vyskytla intolerance.

Tabulka 3. Nežádoucí účinky

	Fekální mikrobiální transplantace (*n* = 21)	**5-ASA klyzma (*n* = 22)**
Celkové nežádoucí účinky	22	21
Počet pacientů s nežádoucími účinky	12 (57%)	13 (59%)
Pacienti se závažnými nežádoucími účinky	4 (19%)	1 (5%)
Infekce	1 (5%)	0 (0%)
Zhoršení ulcerózní kolitidy	8	9
Bolest břicha	5	8
Nadýmání	2	1
Vyrážka	0	1
Horečka	2	1

3. Změny mikrobiomu

Celkem 135 vzorků stolice od 35 pacientů bylo analyzováno vysokokapacitním sekvenováním. Čtyřicet sedm vzorků pocházelo od 17 pacientů, kterým bylo podáváno klyzma s 5-ASA, a 88 vzorků od 18 pacientů s FMT. Ve vzorcích stolice od pacientů s UC ve skupině s FMT bylo zjištěno celkem 13 kmenů bakterií. Ve všech vzorcích byly nalezeny dva dominantní kmeny, *Firmicutes* (54,4-67,7 %) a *Bacteroidetes* (15,5-27,1 %), které byly zastoupeny především řády *Clostridiales* a *Bacteroidales*. Mezi aktinobakteriemi (7,6-16,6 %) převažovaly *Bifidobacteriales* a *Coriobacteriales*. Mezi proteobakteriemi převládaly (1,8-6 %) gammaproteobakterie. Relativní zastoupení ostatních kmenů včetně *Fusobacteria*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Tenericutes*, *Patescibacteria*, *Epsilonbacteraeota*, *Cyanobacteria*, *Cloacimonetes* a *Acidobacteria* bylo velmi nízké (všechny ≤ 0,5 %).

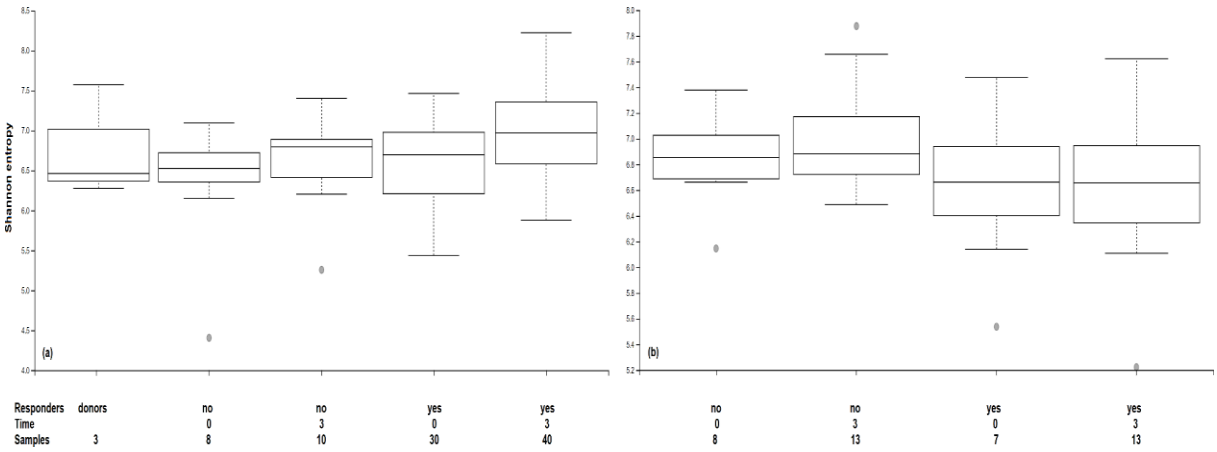
Tři měsíce po léčbě FMT byl u respondentů zjištěn pokles relativního zastoupení řádu *Bacteroidales* a čeledi *Bacteroidaceae*. U respondérů FMT bylo po léčbě pozorováno částečné shlukování mikrobioty a zvýšení indexů diverzity (**obrázek 2**). To potvrdila i metoda LDA, která odhalila 31 taxonů s významně odlišnou abundancí (skóre LDA > 2) u respondérů a non-respondérů (**obrázek 3**). *Bacteroidales*, *Prevotellaceae*, *Veillonellaceae* a *Desulfobacteria* byly

významně vyšší u respondérů. *Staphylococcaceae*, *Lactobacillaceae* a *Bifidobacteriaceae* byly významně vyšší u non-respondérů.

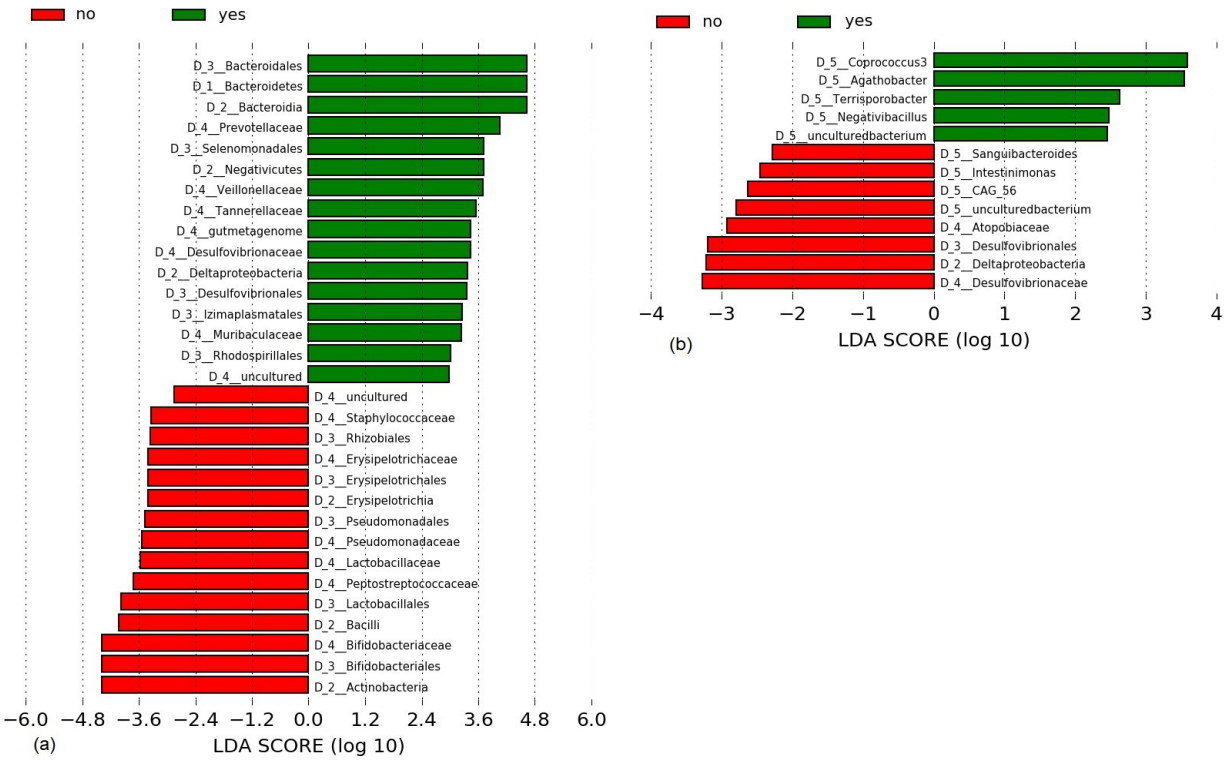
Ve vzorcích pacientů s UC ve skupině 5-ASA bylo identifikováno celkem osm kmenů. Dominantními kmeny ve všech vzorcích bez ohledu na dobu odběru byly *Firmicutes* (59,3-65,8 %) a *Bacteroidetes* (19-30,7 %). *Actinobacteria* (5,7-9,1 %), *Proteobacteria* (1-4,1 %) a *Tenericutes* (0,1-2,1 %) byly přítomny ve všech vzorcích. Kmen *Firmicutes* byl zastoupen především příslušníky řádu *Clostridiales*, kmen *Bacteroidetes* byl zastoupen především řádem *Bacteroidales* a řád *Bifidobacteriales* byl predominantním zástupcem kmenu *Actinobacteria*. Ostatní kmeny, včetně *Fusobacteria*, *Lentisphaerae* a *Verrucomicrobia*, byly zjištěny s nízkou frekvencí (všechny ≤ 0,5 %). Tři měsíce po léčbě byla u respondérů na léčbu 5-ASA stále zjištěna zvýšená relativní četnost řádu *Bacteroidales*, především čeledí *Bacteroidaceae* a *Prevotellaceae*.

Významné změny mikrobiálních taxonů po léčbě 5-ASA nebyly u pacientů, kteří byli testováni, pozorovány. Lineární velikost efektu LDA však odhalila diference v relativní četnosti 13 taxonů mezi respondéry a non-respondéry (**obrázek 3**). Hlavními rozdíly byla zvýšená přítomnost rodů *Coprococcus* a *Agathobacter* u respondérů a čeledi *Desulfovibrionaceae* a třídy *Deltaproteobacteria* u non-respondérů.

Obrázek 2 - Mikrobiální diverzita vyjádřená jako Shannonův entropický index u respondérů a non-respondérů léčby pro (a) skupinu 5-ASA a (b) skupinu s FMT. Vzorky jsou seskupeny na základě odpovědi na léčbu (ano/ne) a časového bodu odběru vzorku 0 (před léčbou) a 3 (týdny 1-12), symbol kruhu představuje odlehlé hodnoty.



Obr. 3 - Lineární diskriminační analýza (LDA) mikrobiálních taxonů reagujících (ano) a nereagujících (ne) na (a) transplantaci stolice a (b) léčbu 5-aminosalicylovou kyselinou u pacientů s levostrannou ulcerózní kolitidou.



DISKUSE

Hlavní publikace disertační práce hodnotila klinickou účinnost FMT klyzmatu u pacientů s mírně až středně aktivní levostrannou UC v randomizované kontrolované studii FACTU. Výsledky studie poskytují důkaz, že klyzma FMT není inferiorní v navození klinické remise vůči klyzmatu 5-ASA. U více než poloviny pacientů léčených FMT došlo ve 12. týdnu ke klinické remisi. Rozdíly v ostatních sekundárních cílech studie (klinická odpověď a endoskopická remise) nebyly mezi porovnávanými skupinami statisticky signifikantní. Léčba klyzmaty FMT měla dobrý bezpečnostní profil a byla obecně dobře snášena. V obou skupinách jsme pozorovali zvýšenou diverzitu střevních mikroorganismů. Toto zvýšení si však ve 3. měsíci studie zachovala jen skupina pacientů po úspěšné FMT.

V době publikování naší studie bylo publikováno pět RCT o použití FMT u UC. Čtyři hodnotily dosažení remise u aktivní UC [35-38] a jedna hodnotila udržení remise [39]. Dvě byly publikovány v roce 2015 a byly předčasně ukončeny pro předpokládanou nedostatečnou účinnost [35, 36]. V jedné z těchto studií Moayyediho a kol. však závěrečná analýza zjistila, že remise s celkovým Mayo skóre <3 dosáhlo v 7. týdnu 25 % účastníků, kteří dostávali klyzmata FMT jednou týdně po dobu 6 týdnů [35]. Studie Paramsothyho a kol. odhalila, že velmi intenzivní režim FMT zahrnující jednorázové kolonoskopické podání s klyzmaty podávanými 5 dní v týdnu po dobu 8 týdnů dosáhl klinické remise bez steroidů u 27 % pacientů ve srovnání s 8 % u placeba [37]. Podobných výsledků dosáhla i australská studie, která zaznamenala 32% remisi bez steroidů, a to navzdory mnohem méně intenzivnímu léčebnému režimu zahrnujícímu jednu kolonoskopickou infuzi následovanou dvěma klyzmaty během 7 dnů [38]. V naší studii dosáhlo 57 % pacientů léčených FMT klinické remise ve 12. týdnu. Míra remise je vyšší, než uváděly předchozí studie, a nezdá se, že by byla ovlivněna užíváním kortikoidů, které bylo v naší studii minimální. Klinické remise dosáhl pouze jeden pacient užívající kortikosteroidy při FMT, takže hypotetická míra klinické remise bez steroidů činila 52 %. Výsledky mohly být ovlivněny naší studijní populací, která zahrnovala pouze pacienty s mírnou až středně aktivní UC ve srovnání se středně těžkou až těžkou UC v předchozích studiích. Domníváme se také, že pacienti v naší skupině FMT profitovali z intervenčního režimu, kdy pět po sobě jdoucích podání v prvním týdnu následovalo jedno klyzma za týden po dobu pěti týdnů, což mohlo podpořit a udržet změny mikrobioty.

Klíčovými rysy, které odlišují naši studii od předchozích studií FMT u UC, byl výběr dárců pomocí sekvenování 16S rRNA a zaměření na levostrannou UC. Předchozí studie uváděly, že FMT s použitím materiálu od dárců s vysokou diverzitou mikrobiomu byla spojena s lepšími klinickými výsledky při léčbě UC [35]. Screening dárců za účelem výběru dárců s nejvyšší diverzitou mikrobiomu by mohl zlepšit účinnost FMT, toto tvrzení je však třeba ověřit v budoucích studiích.

Předchozí studie účinnosti FMT při léčbě UC nezohledňovaly rozsah UC. Zařazením pacientů s pankolitidou, levostrannou kolitidou a proktitidou mohlo dojít k přehlédnutí topického účinku FMT. Moayyedi a kol. charakterizovali UC jako onemocnění, které vzniká v rektu, přičemž rektum je místem největší dysbiózy [40]. Pankolitida při infekci *Clostridoides difficile* byla účinně léčena retenčními klyzmaty FMT [41], ale UC je charakterizována komplexní interakcí genetiky, mikrobiomu a prostředí, což může vést ke zvýšené rezistenci vůči terapeutickému účinku FMT u rozsáhlého onemocnění [42]. Proto jsme předpokládali, že

zaměření na levostrannou UC by mohlo vést k lepší účinnosti léčby. K zhodnocení tohoto předpokladu budou zapotřebí další studie srovnávající účinnost FMT u různých rozsahů onemocnění.

Cílem naší studie bylo ověřit non-inferioritu FMT oproti klyzmatu 5-ASA při léčbě UC. Bylo již prokázáno, že FMT je v léčbě UC lepší než placebo [35, 37, 38]. To byl důležitý krok k dosažení jejího klinického uplatnění, ale i studie srovnávající FMT se standardními léčebnými postupy jsou důležité. Protože studie superiority by vyžadovala počet pacientů přesahující možnosti našich čtyř center, rozhodli jsme se pro design non-inferiority. Důkaz o non-inferioritě umožňuje aplikovat alternativní léčbu s některými potenciálně prospěšnými vlastnostmi odlišnými od standardní léčby. Naše studie usnadní další výzkum superiority, protože budoucí pacienti nebudou vystaveni riziku, že obdrží neefektivní léčbu.

Recentně bylo uvedeno, že diverzita a složení mikrobiomu ve vzorcích sliznic pacientů s UC byly po léčbě 5-ASA změněny [43]. V naší studii byl Shannonův index diverzity fekální mikrobioty u pacientů s UC před léčbou FMT a u non-respondérů nižší než u zdravých dárců. U pacientů, kteří reagovali na FMT, se index diverzity zvýšil a složení mikrobioty se změnilo tak, že se podobalo složení pozorovanému u zdravého dárce.

Podobnými výsledky se zabývali Khanna a kol. v přehledovém článku publikovaném v roce 2017 [44]. V této studii se relativní početnost *Lachnospirceae* a *Ruminococcaceae* postupně zvyšovala a četnost *Bacteroidaceae* se postupně snižovala, až se přiblížila četnosti u zdravých dárců. U pacientů bez odpovědi byl zaznamenán opak. Nárůst čeledi *Lachnospiraceae* byl pozorován i v naší předchozí studii [45]. Na úrovni rodů se po léčbě FMT zvýšil počet *Blautia* a *Fecalibacterium* a snížil počet *Bacteroides*, ale jejich abundance zůstala odlišná od abundance u zdravých dárců. V souladu s naším zjištěním byl u pacientů s mírnou až středně aktivní UC zaznamenán významný nárůst *F. prausnitzii* po FMT [46]. Podobně jako v našem případě byla ve studii FMT u pacientů s infekcí *Clostridoides difficile* zjištěna významně zvýšená relativní abundance *Faecalibacterium* u pacientů s IBD a zvýšená abundance *Blautia* u pacientů bez IBD. Po FMT byla u pacientů s IBD zvýšena abundance *Bacteroides* [44].

Ve studii FACTU lineární diskriminační analýza (LDA) ukázala, že po léčbě FMT existují rozdíly ve střevní mikrobiotě mezi pacienty s odpovědí a bez odpovědi. Sokol a kol. naznačili, že úspěšnost léčby FMT a kolonizace mikrobioty dárce mohou být ovlivněny výchozími charakteristikami příjemce [47]. U našich pacientů měly klyzmata FMT od všech čtyř dárců pozitivní účinky na mikrobiotu příjemců a zdraví hostitele navzdory rozdílům v bakteriálních profilech před léčbou. Léčba 5-ASA způsobila měsíc po léčbě nárůst fyla *Firmicutes* a *Actinobacteria* a pokles fyla *Proteobacteria*, což pozorovali také Olaisen a kol. v roce 2019 [48]. Průběžným sledováním však bylo zjištěno, že změny ve složení mikrobioty byly do 3 měsíců zvráceny, což naznačuje, že původní jádro sliznice bylo schopno obnovit své složení. U našich pacientů po FMT se po 3 měsících od léčby udržel nárůst *Firmicutes*, především čeledi *Lachnospiraceae*, a pokles *Bacteroidaceae* a *Enterobacteriaceae*. Přetrvávající posun mikrobioty směrem k dárcovskému složení je v souladu s předchozími studiemi, které testovaly dlouhodobou transplantaci fekální mikrobioty u pacientů s infekcí *Clostridoides difficile* [49] a u zdravých dobrovolníků [50]. Toto je však první studie, která uvádí tento přínos FMT u pacientů s UC.

ZÁVĚR

Disertační práce přináší komplexní pohled na využití fekální mikrobiální transplantace u idiopatických střevních zánětů, především ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby. Disertační práce splnila všechny vytyčené cíle doktorského studia.

Zatímco etiopatogeneze IBD zůstává neúplně pochopená, FMT se ukazuje jako slibný terapeutický přístup vzhledem k potenciálu modifikovat střevní mikrobiotu a ovlivnit tak průběh četných onemocnění. Výzkum ukázal, že FMT je vysoce účinná v léčbě rekurentní klostridiové kolitidy a nabízí nové možnosti pro léčbu UC. V případě Crohnovy choroby jsou data o účinnosti FMT méně konkrétní, ale naznačují možný pozitivní vliv. Naše data o účinnosti klyzmat FMT u levostranné UC doplňují již publikované mezinárodní studie a prokazují mírný až střední efekt FMT v této indikaci. Důležitým faktorem efektivity FMT je výběr vhodného dárce, diverzita jeho mikrobioty, metody aplikace a frekvence podávání FMT.

Přestože dosavadní výsledky ukazují na FMT jako na slibnou a bezpečnou metodu v léčbě onemocnění gastrointestinálního traktu, zůstává mnoho otázek nezodpovězených. Pro definitivní závěry o efektivitě FMT v jednotlivých indikacích, počtu nutných aplikací, dlouhodobé bezpečnosti a optimálním způsobu podání jsou nezbytné další rozsáhlé a dobře navržené studie. Významná je rovněž potřeba standardizace metodiky a postupů, která umožní přesnější hodnocení a srovnání výsledků mezi různými centry a studiemi.

Naše práce přináší důležité poznatky a otevírá cestu k dalšímu výzkumu v této dynamicky se rozvíjející oblasti medicíny, s potenciálem významně ovlivnit léčbu IBD a dalších onemocnění spojených se střevním mikrobiomem.

LITERÁRNÍ REFERENCE

1. Frank, D.N. and N.R. Pace, *Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era.* Curr Opin Gastroenterol, 2008. **24**(1): p. 4-10.
2. *Structure, function and diversity of the healthy human microbiome.* Nature, 2012. **486**(7402): p. 207-14.
3. Qin, J., et al., *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing.* Nature, 2010. **464**(7285): p. 59-65.
4. Sartor, R.B., *Microbial influences in inflammatory bowel diseases.* Gastroenterology, 2008. **134**(2): p. 577-94.
5. Kriss, M., et al., *Low diversity gut microbiota dysbiosis: drivers, functional implications and recovery.* Curr Opin Microbiol, 2018. **44**: p. 34-40.
6. Berg, G., et al., *Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges.* Microbiome, 2020. **8**(1): p. 103.
7. Sugihara, K. and N. Kamada, *Diet-Microbiota Interactions in Inflammatory Bowel Disease.* Nutrients, 2021. **13**(5).
8. Furusawa, Y., et al., *Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells.* Nature, 2013. **504**(7480): p. 446-50.
9. Nishida, A., et al., *Can control of gut microbiota be a future therapeutic option for inflammatory bowel disease?* World J Gastroenterol, 2021. **27**(23): p. 3317-3326.
10. Kim, C.H., *Control of lymphocyte functions by gut microbiota-derived short-chain fatty acids.* Cell Mol Immunol, 2021. **18**(5): p. 1161-1171.
11. Li, H., J. He, and W. Jia, *The influence of gut microbiota on drug metabolism and toxicity.* Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2016. **12**(1): p. 31-40.
12. Dzutsev, A., et al., *The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy.* Eur J Immunol, 2015. **45**(1): p. 17-31.
13. Foley, M.H., et al., *Bile salt hydrolases: Gatekeepers of bile acid metabolism and host-microbiome crosstalk in the gastrointestinal tract.* PLoS Pathog, 2019. **15**(3): p. e1007581.
14. O'Hara, A.M. and F. Shanahan, *The gut flora as a forgotten organ.* EMBO Rep, 2006. **7**(7): p. 688-93.
15. Ooijevaar, R.E., et al., *Clinical Application and Potential of Fecal Microbiota Transplantation.* Annu Rev Med, 2019. **70**: p. 335-351.
16. Zhang, F., et al., *Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation?* Am J Gastroenterol, 2012. **107**(11): p. 1755; author reply p 1755-6.
17. Smits, L.P., et al., *Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation.* Gastroenterology, 2013. **145**(5): p. 946-53.
18. de Groot, P.F., et al., *Fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: History, present and future.* Gut Microbes, 2017. **8**(3): p. 253-267.
19. Eiseman, B., et al., *Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis.* Surgery, 1958. **44**(5): p. 854-9.
20. van Nood, E., et al., *Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile.* N Engl J Med, 2013. **368**(5): p. 407-15.
21. Cammarota, G., et al., *European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice.* Gut, 2017. **66**(4): p. 569-580.
22. Eckburg, P.B. and D.A. Relman, *The role of microbes in Crohn's disease.* Clin Infect Dis, 2007. **44**(2): p. 256-62.
23. Kostic, A.D., R.J. Xavier, and D. Gevers, *The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead.* Gastroenterology, 2014. **146**(6): p. 1489-99.

24. Ogura, Y., et al., *A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease.* Nature, 2001. **411**(6837): p. 603-6.
25. Swidsinski, A., et al., *Mucosal flora in inflammatory bowel disease.* Gastroenterology, 2002. **122**(1): p. 44-54.
26. Philpott, D.J. and S.E. Girardin, *Crohn's disease-associated Nod2 mutants reduce IL10 transcription.* Nat Immunol, 2009. **10**(5): p. 455-7.
27. Deleu, S., et al., *Short chain fatty acids and its producing organisms: An overlooked therapy for IBD?* EBioMedicine, 2021. **66**: p. 103293.
28. He, X., S. Zhao, and Y. Li, *Faecalibacterium prausnitzii: A Next-Generation Probiotic in Gut Disease Improvement.* Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2021. **2021**: p. 6666114.
29. Fliegerova, K., et al., *Effect of DNA extraction and sample preservation method on rumen bacterial population.* Anaerobe, 2014. **29**: p. 80-4.
30. Bolyen, E., et al., *Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2.* Nat Biotechnol, 2019. **37**(8): p. 852-857.
31. Callahan, B.J., et al., *DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data.* Nat Methods, 2016. **13**(7): p. 581-3.
32. Segata, N., et al., *Metagenomic biomarker discovery and explanation.* Genome Biology, 2011. **12**(6): p. R60.
33. Biancone, L., et al., *Beclomethasone dipropionate versus mesalazine in distal ulcerative colitis: a multicenter, randomized, double-blind study.* Dig Liver Dis, 2007. **39**(4): p. 329-37.
34. Anderson, J.L., R.J. Edney, and K. Whelan, *Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease.* Aliment Pharmacol Ther, 2012. **36**(6): p. 503-16.
35. Moayyedi, P., et al., *Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial.* Gastroenterology, 2015. **149**(1): p. 102-109 e6.
36. Rossen, N.G., et al., *Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis.* Gastroenterology, 2015. **149**(1): p. 110-118 e4.
37. Paramsothy, S., et al., *Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial.* Lancet, 2017. **389**(10075): p. 1218-1228.
38. Costello, S.P., et al., *Effect of Fecal Microbiota Transplantation on 8-Week Remission in Patients With Ulcerative Colitis: A Randomized Clinical Trial.* JAMA, 2019. **321**(2): p. 156-164.
39. Sood, A., et al., *Role of Faecal Microbiota Transplantation for Maintenance of Remission in Patients With Ulcerative Colitis: A Pilot Study.* J Crohns Colitis, 2019. **13**(10): p. 1311-1317.
40. Rajilić-Stojanović, M., et al., *Phylogenetic Analysis of Dysbiosis in Ulcerative Colitis During Remission.* Inflammatory Bowel Diseases, 2013. **19**(3): p. 481-488.
41. Kassam, Z., et al., *Fecal Transplant via Retention Enema for Refractory or Recurrent Clostridium difficile Infection.* Archives of Internal Medicine, 2012. **172**(2): p. 191-193.
42. Shen, Z.H., et al., *Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation.* World J Gastroenterol, 2018. **24**(1): p. 5-14.
43. Xu, J., et al., *5-Aminosalicylic Acid Alters the Gut Bacterial Microbiota in Patients With Ulcerative Colitis.* Frontiers in Microbiology, 2018. **9**.

44. Khanna, S. and L.E. Raffals, *The Microbiome in Crohn's Disease: Role in Pathogenesis and Role of Microbiome Replacement Therapies.* Gastroenterology Clinics of North America, 2017. **46**(3): p. 481-492.
45. Schierová, D., et al., *Gut Microbiome Changes in Patients with Active Left-Sided Ulcerative Colitis after Fecal Microbiome Transplantation and Topical 5-aminosalicylic Acid Therapy.* Cells, 2020. **9**(10): p. 2283.
46. Chen, H.T., et al., *Fecal microbiota transplantation ameliorates active ulcerative colitis.* Exp Ther Med, 2020. **19**(4): p. 2650-2660.
47. Sokol, H., et al., *Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study.* Microbiome, 2020. **8**(1): p. 12.
48. Olaisen, M., et al., *Mucosal 5-aminosalicylic acid concentration, drug formulation and mucosal microbiome in patients with quiescent ulcerative colitis.* Aliment Pharmacol Ther, 2019. **49**(10): p. 1301-1313.
49. Jalanka, J., et al., *The long-term effects of faecal microbiota transplantation for gastrointestinal symptoms and general health in patients with recurrent Clostridium difficile infection.* Aliment Pharmacol Ther, 2018. **47**(3): p. 371-379.
50. Goloshchapov, O.V., et al., *Long-term impact of fecal transplantation in healthy volunteers.* BMC Microbiol, 2019. **19**(1): p. 312.

SEZNAM PUBLIKACÍ

Publikace in extenso, které jsou podkladem disertace:

A. Publikace s impakt faktorem

BAUNWALL, Simon Mark Dahl; TERVEER, Elisabeth M; DAHLERUP, Jens Frederik; ERIKSTRUP, Christian; ARKKILA, Perttu; VEHRESCHILD, Maria J. G. T; IANIRO, Gianluca; GASBARRINI, Antonio; SOKOL, Harry; KUMP, Patrizia K; SATOKARI, Reetta; DE LOOZE, Danny; VERMEIRE, Severine; NAKOV, Radislav; BŘEZINA, Jan; HELMS, Morten; KJELDSEN, Jens; RODE, Anne A; KOUSGAARD, Sabrina Just; ALRIC, Laurent; TRANG-POISSON, Caroline; SCANZI, Julien; LINK, Alexander; STALLMACH, Andreas; KUPCINSKAS, Juozas; JOHNSEN, Peter Holger; GARBORG, Kjetil; RODRIGUEZ, Eugenia Sanchez; SERRANDER, Lena; BRUMMER, Robert J. The use of Faecal Microbiota Transplantation (FMT) in Europe: A Europe-wide survey. *Lancet regional health - Europe*. 2021, **9**(October), art. no. 100181. e-ISSN 2666-7762. ISSN 2666-7762. **IF: 20.900** (2022).

BŘEZINA, Jan; BAJER, Lukáš; WOHL, Pavel; DURICOVA, Dana; HRABAK, Pavel; NOVOTNY, Ales; KOZELUHOVA, Jana; LUKAS, Milan; MRAZEK, Jakub; OLSA FLIEGEROVA, Katerina; KVASNOVA, Simona; CHAHRAZED, Mekadim; MAREŠ, Jan; ŠPIČÁK, Julius; DRASTICH, Pavel. Fecal Microbial Transplantation versus Mesalamine Enema for Treatment of Active Left-Sided Ulcerative Colitis-Results of a Randomized Controlled Trial. *Journal of clinical medicine*. 2021, **10**(13), art. no. 2753. e-ISSN 2077-0383. ISSN 2077-0383. **IF: 4.964** (2021).

SCHIEROVA, Dagmar; BŘEZINA, Jan; MRAZEK, Jakub; FLIEGEROVA, Katerina Olsa; KVASNOVA, Simona; BAJER, Lukáš; DRASTICH, Pavel. Gut microbiome changes in patients with active left-sided ulcerative colitis after fecal microbiome transplantation and topical 5-aminosalicylic acid therapy. *Cells*. 2020, **9**(10), art. no. 2283. e-ISSN 2073-4409. ISSN 2073-4409. **IF: 6.600** (2020).

B. Publikace bez impakt faktoru

BŘEZINA, Jan; BAJER, Lukáš; ŠPIČÁK, Julius; DRASTICH, Pavel. Fekální mikrobiální transplantace u idiopatických střevních zánětů. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2016, **70**(1), 51-56. ISSN 1804-7874.

Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace:

A. Publikace s impakt faktorem

MITROVA, Katarina; PIPEK, Barbora; BORTLIK, Martin; BOUCHNER, Ludek; BŘEZINA, Jan; DOUDA, Tomas; DRASAR, Tomas; KLVANA, Pavel; KOHOUT, Pavel; LEKSA, Vaclav; MINARIKOVA, Petra; NOVOTNY, Ales; SVOBODA, Pavel; SKORPIK, Jan; ULBRYCH, Jan; VEINFURT, Marek; ZBORILOVA, Blanka; LUKAS, Milan; DURICOVA, Dana. Safety of ustekinumab and vedolizumab during pregnancy-pregnancy, neonatal, and infant outcome : a prospective multicentre study. *Journal of Crohn's and colitis*. 2022, **16**(12), 1808-1815. e-ISSN 1876-4479. ISSN 1873-9946. **IF: 8.000** (2022).

MITROVA, Katarina; PIPEK, Barbora; BORTLIK, Martin; BOUCHNER, Ludek; BŘEZINA, Jan; DOUDA, Tomas; DRASAR, Tomas; DRASTICH, Pavel; FALT, Premysl; KLVANA, Pavel; LEKSA, Vaclav; NOVOTNY, Ales; SVOBODA, Pavel; SKORPIK, Jan; ULBRYCH, Jan; VEINFURT, Marek; ZBORILOVA, Blanka; LUKAS, Milan; DURICOVA, Dana. Differences in the placental pharmacokinetics of vedolizumab and ustekinumab during pregnancy in women with inflammatory bowel disease: a prospective multicentre study. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2021, **14**(August 2021), art. no. 17562848211032790. e-ISSN 1756-2848. ISSN 1756-283X. **IF: 4.802** (2021).

BAJER, Lukáš; SLAVČEV, Antonij; MAČINGA, Peter; STICOVÁ, Eva; BŘEZINA, Jan; RÖDER, Matěj; JANOUŠEK, Radim; TRUNEČKA, Pavel; ŠPIČÁK, Julius; DRASTICH, Pavel. Risk of recurrence of primary sclerosing cholangitis after liver transplantation is associated with de novo inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology*. 2018, **24**(43), 4939-4949. e-ISSN 2219-2840. ISSN 1007-9327. **IF: 3.411** (2018).

BAJER, Lukáš; KVERKA, Miloslav; KOSTOVCIK, Martin; MAČINGA, Peter; DVORAK, Jiri; STEHLIKOVA, Zuzana; BŘEZINA, Jan; WOHL, Pavel; ŠPIČÁK, Julius; DRASTICH, Pavel. Distinct gut microbiota profiles in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *World journal of gastroenterology*. 2017, **23**(25), 4548-4558. e-ISSN 2219-2840. ISSN 1007-9327. **IF: 3.300** (2017).

B. Publikace bez impakt faktoru

PIPEK, B; ĎURICOVÁ, D; MITROVÁ, K; BORTLÍK, M; BOUCHNER, L; BŘEZINA, Jan; DOUDA, T; DRAŠAR, T; DRASTICH, Pavel; FALT, P; KLVAŇA, P; KOHOUT, P; LEKSA, V; NOVOTNÝ, A; SVOBODA, P; ŠKORPÍK, J; ULBRYCH, J; VEINFURT, M; ZBOŘILOVÁ, B; LUKÁŠ, M. Bezpečnost biologické léčby vedolizumabem a ustekinumabem podávané v průběhu gravidity pro idiopatický střevní zánět matek - multicentrická retrospektivně-prospektivní observační studie. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2022, **76**(1), 46-54. e-ISSN 1804-803X. ISSN 1804-7874.

DRASTICH, Pavel; BŘEZINA, Jan. Fekální mikrobiální transplantace a idiopatické střevní záněty. *Postgraduální gastroenterologie a hepatologie*. 2016, **2**(4), 282-284. ISSN 2336-4998.