

Шендеров Б.А.¹, Юдин С.М.¹, Шевырева М.П.^{1,2}, Бойко Е.А.^{1,2}

НАУЧНЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЧЕЛОВЕКА

¹ ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, Москва;² ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва

Антропогенные воздействия – физические, химические и биологические – на живые организмы объектов окружающей среды ведут к глубоким структурным и функциональным нарушениям и прежде всего в эволюционно сложившихся микробиоценозах человека. Это нередко сопровождается ухудшением его здоровья, увеличением риска инфекционных, хронических метаболических и психических заболеваний, что, в конечном счёте, может поставить под вопрос не только сохранение на нашей планете человека, но и всего существующего разнообразия живых организмов. Разработка криобиотехнологий и создание криобанков различной направленности является общей мировой тенденцией развития биологических, медицинских, сельскохозяйственных, экологических наук. Преимуществом предлагаемого приёма криоконсервирования симбиотических микробиоценозов является то, что хранение биоматериалов, взятых от людей, будет осуществляться в атмосфере жидкого азота (-196 °C) для длительного хранения. Фундаментально-прикладные исследования по криоконсервации микробиоты различных биотопов человека имеют социальную направленность, поскольку связаны непосредственно с экологией человека и здоровьем нации.

Ключевые слова: микробиота; криобиотехнологии; криобанк; симбиотическая микробиота; микробиоценозы.

Для цитирования: Шендеров Б.А., Юдин С.М., Шевырева М.П., Бойко Е.А. Научные предпосылки для создания криоконсервации микробиоценозов человека. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(5): 396-398. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-5-396-398>

Для корреспонденции: Шевырёва Марина Павловна, доктор мед. наук, проф., зам. директора по научной работе ФГБУ «ЦСП» Минздрава России. E-mail: shevirevamp@yandex.ru

Shenderov B.A.¹, Yudin S.M.¹, Shevyreva M.P.^{1,2}, Boyko E.A.^{1,2}

THE SCIENTIFIC BACKGROUNDS FOR THE CREATION OF A MICROECOLOGICAL CRYOPRESERVATION OF HUMAN RESOURCES

¹Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119992, Russian Federation;²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991, Russian Federation

Anthropogenic physical, chemical, and biological impacts of objects on living organisms in the environment lead to profound structural and functional disorders primarily in the evolutionary current microbiocenoses of a human. This is often accompanied by a deterioration in his health, an increase in the risk of infectious, chronic metabolic and mental diseases, which eventually can put a question for not only the preservation on our planet but also the entire existing diversity of living organisms. The development of cryobiotechnology and the creation of cryobanks of different directions is a common global trend in the development of Biological, Medical, Agricultural and Environmental Sciences. The advantage of the proposed technique of cryopreservation of symbiotic microbial associations is the storage of the biomaterials taken from the people will be carried out in an atmosphere of liquid nitrogen (-196°C) for the long-term storage. Fundamental and applied research on cryopreservation of microbiota of different human biotopes has a social orientation because they are directly related to human ecology and health of the nation.

Key words: microbiota; cryobiotechnology; cryobank; symbiotic microbiota; microbiocenoses.

For citation: Shenderov B.A., Yudin S.M., Shevyreva M.P., Boyko E.A. The scientific backgrounds for the creation of a microecological cryopreservation of human resources. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(5): 396-398. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-5-396-398>

For correspondence: Boris A. Shenderov, MD, Ph.D., DSci., main researcher of the Laboratory of Sanitary Bacteriology and Parasitology of the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119992, Russian Federation. E-mail: shenderof@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: 10 March 2018

Accepted: 24 April 2018

В природе нет ни одного биохимического процесса, ни одной функции, которые осуществлялись бы без прямого или опосредованного участия в них симбиотических микроорганизмов. Эти микроорганизмы являются не только определяющим звеном возникновения и эволюции биосферы на нашей планете, но и, применительно к человеку, являются главным биогенным фактором, контролирующим стабильность его генома и эпигенома, их сохранность в конкретных условиях обитания. Антропогенные негативные физические, химические и биологические воздействия на живые организмы ведут к особенно

глубоким структурным и функциональным нарушениям и, прежде всего, в эволюционно сложившихся микробиоценозах человека. Это нередко сопровождается ухудшением его здоровья, увеличением риска инфекционных, хронических метаболических и психических заболеваний, что в конечном счёте может поставить под вопрос не только сохранение на нашей планете человека, но и всего существующего разнообразия живых организмов. С современных позиций организм человека рассматривают как сложнейший «суперорганизм», динамическое симбиотическое сообщество разнообразных эукарио-

тических, прокариотических клеток, включая архибактерии и вирусы. Организм человека представляет собой сообщество в большей степени прокариотических, чем эукариотических клеток. Этот вывод основывается на том, что количество различных видов эукариотических клеток тканей и органов человека немногим более 200, при этом общее содержание этих клеток находится в пределах 5–10 трлн. Напротив, количество различных видов бактерий, населяющих организм человека, достигает 10 тыс., а штаммов – до 50 тыс.; общее содержание бактерий находится в пределах сотен триллионов, а с вирусами – превышает квадриллион. Количество генов в хромосомах человека находится в пределах 25 000; его метамикробиом включает до 10 млн генов. До 80% всей энергии у человека образуется в митохондриях – древнейших микробных эндосимбионтах эукариотических клеток, 20% энергии дают кишечные микроорганизмы, 90% энергии для клеток пищеварительного тракта поступает за счёт метаболической активности кишечных бактерий. Микробиота человека имеет выраженный индивидуальный характер. Содержание бактерий (КОЕ/г) и количество видов между отдельными индивидуумами может различаться в 12–2 200 раз. Длительная индивидуальная стабильность симбиотической микробиоты человека позволяет идентифицировать до 80% лиц по составу их микробиоты. Это дало основание говорить о существовании уникальных микробных «отпечатков пальцев» (*microbial fingerprint*). Микроорганизмы-симбионты являются важнейшим адаптивным компонентом каждого конкретного человека, определяя взаимовыгодные отношения между метагеномом, метаэпигеномом, межклеточным обменом информацией всех участников суперорганизма, а также его взаимодействие с окружающей средой. Эти микроорганизмы напрямую или опосредованно участвуют в становлении и реализации практически всех физиологических функций: биохимических, сигнальных и поведенческих реакций человека, в поддержании его энергетического, иммунного и нейрогормонального гомеостаза. Все необходимые человеку пластические, энергетические, метаболические и сигнальные регуляторные соединения высвобождаются из пищевых продуктов за счёт полостного, мембранного, внутриклеточного пищеварения, а также микробного синтеза. Многоплановое участие микроорганизмов-симбионтов в становлении и реализации эпигеномной программы жизни человека обеспечивается эндогенной продукцией многочисленных низкомолекулярных микробных соединений, многие из которых по химической структуре, фармакологической и сигнальной активности являются аналогами или гомологами биологически активных молекул, образуемых эндогенно клетками тканей и органов человека или присутствуют в пищевых продуктах. Симбиотическая микробиота человека – это своеобразный обязательный экстракорпоральный орган, играющий фундаментальную роль в поддержании здоровья. Различные факторы и агенты (антибиотики и антисептические агенты, лекарственные средства, соли тяжёлых металлов, технологические пищевые добавки и другие ксенобиотики), а также процесс старения и образ жизни человека (голодание, диеты с повышенным содержанием сахаров, жиров или низким содержанием пищевых волокон, повышенное потребление алкоголя, радиация, космические полёты, длительная биоизоляция, смена географии местожительства, операционные вмешательства, бактериальные и вирусные инфекции и их комбинации) способны повреждать естественные симбиотические микробиоценозы и их взаимодействие с клетками тканей и органов человека. Это означает, что риск многих хронических метаболических заболеваний человека, их прогрессирование и исход зави-

сит от того, насколько полноценны и сбалансированы его питание и микробиота его пищеварительного тракта [1].

Во многих развитых странах существуют большие государственные программы, связанные с исследованием роли симбиотической микробиоты для поддержания здоровья и риска хронических заболеваний (Human Microbiome Project-USA, 2006; MetaHIT Project- European Commission, 2008, в которую вовлечены исследователи из Китая; Canadian Microbiome Initiative (CMI), 2008). В последнем американском проекте (Human Microbiome Project DACC-USA, 2010) из 40 подпроектов 15 полностью посвящены медицинским аспектам (Микробиом кожи и псориаз; Микробиомом влажной: болезни, генетика и окружающая среда; Диета, Генетические факторы и микробиом толстой кишки при болезни Крона; Роль кишечного микробиома при язвенном колите; Микробиом уретры взрослых мужчин; Роль кишечной микробиоты при ожирении; Метагеномный анализ структуры и функций кишечной микробиоты человека при болезни Крона; Эффекты аллельных генов риска болезни Крона на кишечную микробиоту; Метагеномные исследования микробиома кожи человека при акне; Роль микробиты верхних отделов пищевода в развитии эзофагальной аденокарциномы; Микробная экология бактериального вагиноза: возможности метагеномного анализа; Кожный микробиом при различных заболеваниях: атопический дерматит и иммунодефициты; Виром человека у детей и его связь с заболеваниями, сопровождающимися повышением температуры тела; Микробиом новорожденных и некротизирующий энтероколит; Микробиом человека при абдоминальных болях и кишечном воспалении в педиатрии). В Чикагском медицинском колледже реализуется проект «Микробиом кишечника человека и болезнь Паркинсона». В Ирландии ведётся международный проект «Метагеномные исследования микробиоты пожилого человека» и так далее.

Для поддержания и восстановления симбиотической микробиоты человека в последние 50 лет как в мире, так и в нашей стране активно используют различные неспецифические и целевые микробиологические технологии. В 2015 г. мировой рынок препаратов, пищевых добавок и кисломолочных продуктов на основе некоторых симбиотических бактерий животного происхождения достиг 30 млрд долл. США, вплотную приблизившись к стоимости рынка антибиотиков. В США, Западной Европе, Японии и Австралии для лечения хронических воспалительных заболеваний в последние 5–7 лет стали применять трансплантацию микробиоты толстого кишечника непосредственно у постели больного. Количество подобных трансплантаций в мире уже превысило 7 000 случаев [2–11], однако её значимость в последнее время подвергается всё большей критике из-за нередко возникающих осложнений подобных манипуляций [12]. Эти негативные последствия достаточно предсказуемы, поскольку совершаемые трансплантационные манипуляции с фекальным содержимым не учитывают строгую индивидуальность симбиотической микробиоты кишечника каждого человека [13, 14]. Россия была одной из первых стран мира, начавших использовать традиционные пробиотические средства на основе штаммов человеческого происхождения для коррекции микробной экологии человека. В нашей стране также была предложена принципиально новая технология сохранения природных микробиоценозов человека путём их криоконсервации. Криоконсервация многокомпонентных микробиоценозов считается достаточно сложной технологической задачей из-за гетерогенности морфологических, биохимических, функциональных особенностей отдельных популяций клеток, а отсюда и разной их устойчивости к повреждающим факторам сверхнизких температур. В РФ впервые в мире

были предложены и запатентованы в 1998 г. технологии сохранения природных микробиоценозов млекопитающих, включая человека, путём помещения содержимого толстого кишечника в жидкий азот (патент РФ № 2123044 «Способ длительного хранения естественных ассоциаций микроорганизмов человека и животных»). В 1996 г. в Институте биофизики клетки РАН (ИБК РАН) с использованием этой технологии был создан первый в мире лабораторный криогенный банк, в котором до настоящего времени сохраняются природные микробиоценозы 10 детей сотрудников этого института. К сожалению, за последние двадцать лет данное научно-практическое направление в России не получило должного развития. Разработка криобиотехнологий и создание криобанков различной направленности является общей мировой тенденцией развития биологических, медицинских, сельскохозяйственных, экологических наук. В качестве примера масштабного проекта можно привести создание криогенного банка микробиоценозов кишечника человека в 2010 г. во Франции. Предполагается к 2018 г. заложить на хранение (при -80 °C) более 1 млн образцов содержимого толстого кишечника жителей Франции. Возможные общие затраты на развитие проекта, связанного с этим криобанком, превысят 100 млн долл. США (S. Dusko Ehrlich, Science, Vol. 336, 2012; www.sciencemag.org, February 24, 2013).

В Москве предлагается организовать первую в России лабораторию «Криоконсервации микрoэкологических ресурсов человека» с криобанком биоматериала, взятого с поверхности слизистых и кожи. Преимуществом предлагаемого приёма криоконсервирования симбиотических микробиоценозов является то, что хранение биоматериалов, взятых от людей, будет осуществляться в атмосфере жидкого азота (при минус 196 °C). Эта технология запатентована российскими исследователями ещё в середине 90-х годов прошлого века. Зарубежные криогенные банки вынуждены использовать для сохранения сложных микробиоценозов, получаемых от человека, электрические морозильные шкафы (при температуре -40 – -80 °C). Это создаёт огромные сложности сохранения огромного массива биоматериала в течение многих лет в случае нарушения своевременной подачи электроэнергии. Кроме того, технико-экономическая эффективность хранения биоматериалов в жидком азоте многократно более высокая, чем при использовании электрических морозильников. Почти 20-летний опыт работы лабораторного криобанка в ИБК РАН показал высокую технологическую эффективность криоконсервирования сложных симбиотических микробиоценозов при их сохранении в жидком азоте. Наша технология позволяет в течение длительного времени сохранять генетический потенциал всего эволюционно сложившегося естественного микробиоценоза, содержащего десятки и сотни жизнеспособных симбиотических микроорганизмов человека. Активизация биоматериала из криобанков быстро и полноценно восстанавливает микробиоту за счёт использования стратегического запаса тех микроорганизмов, которые отвечают за их специфический структурный и функциональный гомеостаз. Среди категорий людей, симбиотические микробиоценозы которых предполагается сохранять в подобных криобанках, следует назвать всех здоровых детей в возрасте 2–6 лет, молодых (и прежде всего первородящих) женщин, лиц, работающих в экстремальных условиях в течение длительного времени (сотрудников силовых структур, лётчиков, подводников, космонавтов, журналистов, водителей общественного транспорта, бизнесменов и др.), людей, живущих или работающих в неблагоприятных экологических условиях (работников химических предприятий, атомных электростанций, участников полярных

экспедиций и т. д.) и всех других, желающих сохранить свою естественную микробиоту в течение длительного времени и использовать её для осуществления микробной аутоотрансплантации [14, 15]. Так, с биотехнологической точки зрения, открывается уникальная возможность использования криоконсервированных природных микробиоценозов для конструирования новых разнообразных лекарств, биологически активных добавок, пробиотиков, продуктов функционального питания, другой биотехнологической продукции индивидуального и массового использования медицинского, а в последующем сельскохозяйственного, ветеринарного и иного назначения (Патент РФ № 2139070, 1999) г.). Фундаментально-прикладные исследования по криоконсервации микробиоты различных биотопов человека имеют социальную направленность, поскольку связаны непосредственно с экологией человека и здоровьем нации.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература (пп. 2–12 см. References)

1. Шендеров Б.А. Микробная экология человека и ее роль в поддержании здоровья. *Метаморфозы*. 2014(3): 72-80.
13. Шендеров Б.А., Гахова Э.Н., Каурова С.А., Утешев В.К., Шишова Р.В. Криобанки природных симбиотических микробиоценозов и их значение в медицине и биотехнологии. *Биофизика живой клетки*. 2014(10): 221-223.
14. Безродный С.Л., Шендеров Б.А. Кишечная микробиота как источник новых биомаркеров старения. *Вестник восстановительной медицины*. 2015(2): 40-47.
15. Шендеров Б.А. Микрoэкологическая эпигенетика стресса, заболеваний, здоровья и долголетия. *Вестник восстановительной медицины*. 2016(1): 21-28.

References

1. Shenderov B.A. Microbial ecology of man and its role in maintaining health. *Metamorphoses*. 2014(3): 72-80.
2. Khachatryan R., Khachatryan A. Bank of autochthonous strains of microorganisms and methods of its use for recovery of intestinal microbiocenosis of the men. US Patent 6428783 C12N 1/04, 2002
3. Borody T., Warren E., Leis S., Surace R., Ashman O., Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toping with human motions. *J. Clin. Gastroenterol.* 2004; 38(6): 475-83.
4. Debast S.B, Bauer M.P, Kuijper E.J. On behalf of the Committee. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update for the treatment guidance document for Clostridium difficile infection. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 (Suppl 2): 1-26.
5. Bakken J.S. Feces transplantation for recurrent Clostridium difficile infection: US experience and recommendations. *Microb. Ecol. Health Dis.* 2015, 26: 27657.
6. Carlucci C., Petrof E.O., Allen-Vercos E. Fecal Microbiota-based Therapeutics for Recurrent Clostridium difficile infection, Ulcerative Colitis and Obesity. *EBioMedicine*. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.09.029>
7. Hyun Ho Choi, Young-Seok Cho. Fecal Microbiota translation: Current Applications, Effectiveness, and Future Perspectives. *Clin. Endosc.* 2016; 49: 257-265.
8. Nibali L., Henderson B. *The Human Microbiota and Chronic Disease: Dysbiosis as a cause of Human Pathology*. First Edition. 2016 John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA, 520 pages.
9. Fak F. The gut microbiota: a predisposing factor in vanity, diabetes and atherosclerosis. Chapter 23. In: *The Human Microbiota and Chronic Disease: Dysbiosis as a cause of Human Pathology*. First Edition. 2016. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA; 351-359.
10. Lo Vecchio A., Guarino A. The microbiota as target for therapeutic intervention in pediatric intestinal diseases. Chapter 31. In: *The Human Microbiota and Chronic Disease: Dysbiosis as a cause of Human Pathology*. First Edition. 2016. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA; 483-496.
11. Bruzzese E., Buccigrossi V., Ranucci G., Guarino A. Microbial therapy for cystic fibrosis. Chapter 32. In: *The Human Microbiota and Chronic Disease: Dysbiosis as a cause of Human Pathology*. First Edition. 2016. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, USA; 497-506.
12. Kazerouni A., Burgess J., Burns L.J., Wein L.M. Optimal screening and donor management in a public stool bank. *Microbiome* 2015; 3: 75. doi 10.1186/s40168-015-0140-3
13. Shenderov B.A., Gakhova E.N., Kaurova S.A., Uteshev V.K., Shishova R.V. Cryobanks natural simbioticheskoi of microbial associations and their importance in medicine and biotechnology. *Biophysics of living cells*. 2014(10): 221-223.
14. Bezrodny S.L., Shenderov B.A. Intestinal microbiota as a source of new biomarkers of aging. *Journal of restorative medicine & rehabilitation*. 2015(2): 40-47.
15. Shenderov B.A. Microecological epigenetics of stress, diseases, health and longevity. *Journal of restorative medicine & rehabilitation*. 2016(1): 21-28.

Поступила 10.03.2018
Принята к печати 24.04.2018