

Трансплантация фекальной микробиоты: возможные терапевтические подходы и вопросы правового регулирувания

А.Н. Васильев¹, Д.В. Горячев¹, Е.В. Гавришина¹, Р.Р. Ниязов¹, Ю.А. Селиверстов², А.В. Дигтярь¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр неврологии», Российской академии наук, Москва, Россия

Fecal microbiota transplantation: therapeutic approaches and regulatory framework

A.N. Vasilyev¹, D.V. Goryachev¹, E.V. Gavrishina¹, R.R. Niyazov¹, Yu.A. Seliverstov², A.V. Digtyar¹

¹Federal State Budgetary Institution
«Scientific Center on Expertise of Medical Application Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Federal State Budgetary Scientific Institution
«Research Center of Neurology», Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Начиная с работ Ильи Мечникова, в медицинской науке и практике накоплено большое количество доказательств влияния состояния кишечной микробиоты на здоровье человека. Однако лишь в последние годы в исследованиях в этой области произошел качественный перелом: мы стали понимать механизмы влияния микробиоты на гомеостаз, а также выявить все новые функции живущих в нас микроорганизмов. На этом фоне с 1958 г. развивается трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) от здоровых доноров пациентам с различными заболеваниями, которая восстанавливает нарушенный баланс кишечных микроорганизмов. Наибольшую эффективность данный метод проявляет при терапии тяжелых кишечных инфекций, вызываемых *Clostridium difficile*. Также ТФМ показала потенциальную эффективность при диарее и запоре различного генеза, рассеянном склерозе, болезни Крона и др. В США, Канаде и других странах ТФМ является предметом интереса не только врачей-клиницистов, но и с недавних пор – регуляторных органов. В статье также рассматривается возможность применения российского законодательства в сфере обращения лекарственных средств к этому новому методу.

Ключевые слова: кишечная микробиота; трансплантация кишечной микробиоты; *Clostridium difficile*; рассеянный склероз; пробиотик; эубиотик; антибиотик; законодательство в сфере обращения лекарственных средств.

Библиографическое описание: Васильев АН, Горячев ДВ, Гавришина ЕВ, Ниязов РР, Селиверстов ЮА, Дигтярь АВ. Трансплантация фекальной микробиоты: возможные терапевтические подходы и вопросы правового регулирования. Биопрепараты 2015; (2): 15–23.

Since Ilya Metchnikoff's studies, both medical science and clinical practice have accumulated a large amount of evidence that human intestinal microbiota possesses a unique characteristics for our existence. However, only recently, scientists have achieved the actual breakthrough in this field of human physiology, and we start to understand the precise mechanisms of the complex interplay of microbial activity with human homeostasis and discover numerous new functions of intestinal microbes. In this regard, a novel medical technology evolves since 1958, so called fecal microbiota transplantation (FMT), which is the administration of donor feces to the patients suffering from different kinds of diseases. Such infusion of donor feces restores the natural balance of gut commensal germs. FMT is most efficacious in severe or recurrent *Clostridium difficile* infection. FMT has been also reported to cure diarrhea and constipation caused by different conditions, such as multiple sclerosis, Crohn's disease etc. In the U.S. and Canada as well as in other countries FMT is of uttermost interest of not merely clinical practitioners but lately also of regulatory authorities. The paper also addresses the possibility of application the Russian pharmaceutical legislation to FMT.

Keywords: fecal microbiota transplantation; FMT; gut microbiota; *Clostridium difficile*; multiple sclerosis; probiotic; antibiotic; pharmaceutical legislation.

Bibliographic description: Vasilyev AN, Goryachev DV, Gavrishina EV, Niyazov RR, Seliverstov YuA, Digtyar AV. Fecal microbiota transplantation: therapeutic approaches and regulatory framework. Biopreparation (Biopharmaceuticals) 2015; (2): 15–23.

В последние годы в мире наблюдается неуклонный рост интереса к новой, многообещающей медицинской технологии. Это введение (трансплантация) кишечной микробиоты, полученной из собственных или донорских фекалий (англ. *fecal microbiota transplantation*), в желудочно-кишечный тракт пациента; при

этом чаще всего терапия направлена на лечение заболевания толстой кишки, обусловленных активностью патогенных или условно-патогенных микроорганизмов, однако в определенных случаях применяется и для лечения других заболеваний, например, нервной анорексии, болезни Крона, метаболического син-

дрома, угревой болезни, сахарного диабета и даже рассеянного склероза (то есть состояний, в генезе которых имеется иммунный компонент) [1].

Фундаментальная идея о прямой связи здоровья человека с активностью кишечных микроорганизмов — и том, что путем направленного воздействия на их качественный и количественный состав можно управлять всем организмом, сформулирована в начале XX века Илей Мечниковым [2]. Научное обоснование этой идеи было тесно связано с открытием в 1905 г. Стаменом Григоровым грамположительной бактерии, болгарской палочки, и ее ведущей роли в молочнокислом брожении (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) [3].

С 1990-х гг. интерес биологов и врачей к вопросам роли и возможности манипулирования микробиотой кишечника неуклонно стал повышаться [4]. Более того, производство йогуртов и иных продуктов, содержащих в той или иной форме микроорганизмы кишечника человека, достигло гигантских масштабов и является одной из самых быстроразвивающихся отраслей современной пищевой промышленности, в частности, в США [5].

Микробиота, или микробиом (*microbiome*) представляет собой совокупность микроорганизмов (в подавляющем большинстве бактерий), симбиотически сосуществующих с человеком с рождения. Отметим, что устоявшийся в литературе термин «микробиота человека» по существу ошибочен, поскольку корень «флора» означает принадлежность к царству растений, а среди микроорганизмов человека преобладают бактерии, а также, хотя и в существенно меньшей пропорции, встречаются археи, грибы и животные. Наибольшую известность, и вероятно, значение для гомеостаза имеет кишечный микробиом, однако кроме него, в нормальных условиях микроорганизмы также сопровождают нас на поверхности кожи, в носовой и ротовой полостях и урогенитальной области. Нельзя исключать, что роль этих микробиомов в жизнедеятельности человека также очень важна и ее понимание будет способствовать новым открытиям как в фундаментальной биологии, так и в прикладной медицине.

В настоящее время микробиота человека изучается в рамках специального проекта, финансируемого Национальным институтом здоровья США [6]. Продовольственная и сельскохозяйственная Организация Объединенных наций и ВОЗ определяют пробиотики как «живые микроорганизмы, введение которых в соответствующих количествах в организм-хозяина приносит пользу здоровью последнего» [7]. Пищевая и медицинская промышленность выпускают пробиотики в виде отдельных (например, *L. acidophilus*) видов бактерий или смесей нескольких видов или штаммов. Несмотря на отмеченный глобальный интерес к таким пробиотикам, согласно данным Кокрановского сотрудничества, достоверное подтверждение терапевтической эффективности пробиотиков, представляющих собой отдельные виды микроорганизмов, отсутствует. Эффективность таких пробиотиков ограничена определенными условиями, например, возрастом пациента, либо носит стохастический характер и не подтверждается в клинических исследованиях, проведенных в соответствии с принципами надлежащей клинической практики (GCP) [8].

В литературе описана потенциальная эффективность пробиотиков в педиатрической практике при диарее, вызванной применением антибиотиков, острой инфекционной диарее, хронической диарее, некротизирующем энтероколите у недоношенных детей, в терапии инфекций верхних дыхательных путей и бактериального вагиноза у взрослых. Однако подавляющая часть клинических исследований с положительными результатами применения пробиотиков проведена с использованием высоких доз лакто- и иных бактерий; при этом применяемые препараты отличались высокой гетерогенностью, а методология исследований не соответствовала принципам GCP [9]. Следовательно, пробиотики, представляющие собой чистую культуру бактерий (напр., *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) или смеси нескольких чистых культур, не подтвердили свою эффективность в терапии кишечных расстройств.

Следует подчеркнуть, что если в России в силу ряда причин про- и т.н. эубиотики (по сути, избыточный термин, практически не встречающийся в зарубежной литературе¹) занимают существенную нишу в амбулаторной медицинской практике и самолече-

¹ По запросу «eubiotics» за весь период индексирования в библиографической базе публикаций PubMed не нашлось ни одной статьи на английском языке, по одной — на немецком и итальянском языках.

чении, то в странах с развитым регулированием обращения лекарственных средств их применение не является общепринятым стандартом и относится, скорее, к сфере нетрадиционной медицины [10]. Это обусловлено тем, что результаты адекватных и строго контролируемых исследований, проведенных с соблюдением всех необходимых требований, отсутствуют. Мета-анализы проведенных исследований также не свидетельствуют о клинически значимом благоприятном влиянии чистых культур кишечной микробиоты на здоровье человека [11].

Функционирование кишечной микробиоты у человека

Кишечная микробиота человека включает в себя около 10¹⁴ микроорганизмов почти 1000 различных видов (при этом 99 % всей кишечной микробиоты представлены примерно 40 видами бактерий) [12]. Новые исследования показали, что видовое разнообразие кишечной микробиоты человека значительно сложнее, чем считалось ранее: в норме в ней сосуществуют организмы, принадлежащие к 7 основным типам: *Firmicutes* spp., *Bacteroides* spp., *Proteobacteria* spp., *Fusobacteria* spp., *Verrucomicrobia* spp., *Cyanobacteria* spp. и *Actinobacteria* spp. При этом на вариabельность состава кишечных микроорганизмов влияет множество факторов, включая диету, возраст, применение лекарственных препаратов, болезни, стресс и образ жизни в целом. Так, наши древние предки не имели хлорированной воды и холодильников, не применяли гигиенические противомикробных средств, ели главным образом сырую или ферментированную пищу без антибиотиков и рожали детей естественным путем, вскармливая их только грудью. В отличие от них, в современном обществе мы повсеместно применяем противомикробные и антисептические средства и антибиотики, пьем почти стерильную воду и едим ненатуральную еду, используем кесарево сечение, а недостаточность грудного вскармливания стало почти нормой. Как следствие, у современного человека наблюдается значительное снижение биологического разнообразия его микробиома [13].

Желудочно-кишечный тракт содержит как благоприятные для нас микроорганизмы, так и факультативно-патогенные, сосуществующие симбиотически. При этом грамположительные бактерии *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в количественном отношении составляют более 85 % всех микроорганизмов кишечника [14]. Разнообразные функции кишечной микробиоты могут быть объединены в 4 основных категории:

1. Защита от поступающих из внешней среды патогенов и ксенобиотиков и инактивация последних;
2. Иммуномодулирование человеческого организма — постоянное стимулирование иммунитета и поддержание его в «напряженном» состоянии;
3. Участие в пролиферации и дифференциации эпителиальных клеток кишечника;
4. Выполнение ряда функций, связанных с перевариванием пищи и обменом веществ, в частности микробиота участвует в синтезе некоторых витаминов, кишечно-печеночной циркуляции желчных кислот, регуляции кишечной моторики.

В настоящее время часто говорят о концепции «супер-организма», которая отражает физиологическую важность взаимовыгодного, двунаправленного взаимодействия «хозяин–микроорганизм» в кишечнике [15]. Эмпирическая важность кишечной микробиоты в гомеостазе организма давно не подвергается сомнению в медицине, хотя отдельные механизмы этого древнего симбиоза в рамках концепции «супер-организма» еще ждут своего исследователя. В частности, только недавно было открыто, что клетки слизистой оболочки толстой кишки нуждаются в масляной кислоте, которую они получают именно от кишечной микробиоты. Последняя ферментативно расщепляет пищевые волокна до бутирата и, в меньшей степени, — до других короткоцепочечных жирных кислот. Наиболее активны в этом отношении представители родов *Clostridium*, *Eubacterium* и *Butyrivibrio* [16]. При этом масляная кислота является для колонцитов преобладающим источником энергии, поэтому при нарушениях в составе или количестве кишечных бактерий энергетический статус колонцитов организма-хозяина существенно снижается; обнаруживается снижение экспрессии ферментов, катализирующих ключевые процессы энергетического метаболизма, включая цикл Кребса. В эксперименте на мышах показано, что это индуциро-

вало аутофагию этих клеток. Добавление же бутирата восстанавливало дефицит митохондриального дыхания и останавливало аутофагию, именно за счет энергетической функции данной молекулы в колонocyтах [17, 18]. Вероятно, этот механизм, наряду с другими, объясняет благоприятное действие пробиотиков как «хороших» микроорганизмов при кишечных заболеваниях и нарушениях всасывания нутриентов в кишечнике млекопитающих.

Кроме того, в другом исследовании было обнаружено, что микробиота продуцирует антипатогенные бактериоцины, в частности, недавно открытый турицин CD, синтезируемый *Bacillus thuringiensis* (выделенным из кала человека), обладающий мощной активностью в отношении патогенных для человека штаммов *C. difficile* [19]. Некоторые бактериоцины имеют широкий спектр ингибиторной активности, например, низин, продуцируемый *Lactococcus lactis* [20]. Его активность против широкого диапазона грамположительных бактерий столь высока, что он даже производится коммерчески и применяется в пищевой и винной промышленности как натуральный консервант.

Таким образом, кишечная микробиота человека выполняет многочисленные, специфические и важнейшие для гомеостаза и выживания функции. Если равновесие «хозяин–микроорганизм» по каким-либо причинам нарушается, то могут развиваться патологические состояния как в кишечнике (язвенный колит, *C. difficile*-ассоциированные заболевания и др.), так и в других системах организма (ожирение и иные гормональные нарушения, иммунные расстройства) [21]. В связи с этим, можно заключить, что гомеостаз человека и его здоровье в целом наряду с прочими факторами напрямую зависят от микробиоты в кишечнике.

Предпосылки и первые успехи трансплантации фекальной микробиоты

Несмотря на то что применение ТФМ является малоизвестной практикой, это не инновационная технология. Первые описания ТФМ документированы еще в XVII в.: «Я слышал о животных, которые утратили способность пережевывать жвачку, но если вложить в их рот куски изо рта другого жвачного животного, хорошо разжеванные, такие животные начинают вновь жевать, и их здоровье восстанавливается» (*Fabricius Acquapendente*, итальянский анатом) [22]. Такая пересадка жвачки применяется и поныне в ветеринарной практике у сельскохозяйственных животных, поврежденных нарушениями жевательной функции и коликам [23]. В птицеводстве (в частности, в выращивании цыплят) скормливание помета является рутинной практикой [24].

Первое формальное сообщение об успешной ТФМ у людей относится к 1958 г., когда в США Бен Эйзман с соавт. описали случай успешной трансплантации суспендированных фекалий с помощью клизмы четырем пациентам с псевдомембранозным колитом (ПМК), вызванным антибиотикотерапией, причем состояние пациентов было жизнеугрожающим. Терапия проявила быструю (несколько дней) эффективность, восстановив естественный баланс микробиоты в желудочно-кишечном тракте, нарушенный антибиотиками [25]. Следует отметить, что в 1958 г. о бактериальной природе ПМК не было известно. В 1978 г. была доказана связь между инфицированием *C. difficile* и ПМК, и усилия по разработке методологии его терапии ориентировались на применение соответствующих препаратов. Так, штаммы и споры *C. difficile* чувствительны к метронидазолу или ванкомицину (перорально или внутривенно) [26]. В последнее время для лечения ПМК применяют также рифаксимин [27].

У большинства пациентов в результате такой химиотерапии наблюдается положительная динамика, но в то же время приблизительно у 25 % из них возникают рецидивы [28]. После первого рецидива с вероятностью 35–45 % развиваются последующие (несмотря на химиотерапию), а для пациентов с неоднократными рецидивами уровень возникновения дальнейших рецидивов превосходит 50 % [29]. При этом таким пациентам с рецидивами показана ТФМ, поскольку медикаментозное лечение у них неэффективно, в то время как пересадка донорских или собственных фекалий в большинстве случаев ведет к излечению. Так, ТФМ приводила к излечению 92 % пациентов с рекуррентной инфекцией (в исследовании участвовало 300 человек), у которых антибиотикотерапия инфекции, вызванной *C. difficile*, оказалась неэффективной [30]. Всего с 1958 по 2012 гг. успешное применение

ТФМ для лечения кишечных инфекций, вызванных *C. difficile*, описано в 35 публикациях с кумулятивной частотой выздоровления, равной 95% (данные обобщены в работе [1]).

В связи с тем, что наблюдается большая эффективность ТФМ при терапии кишечных инфекций, сопровождающихся тяжелой диареей и вызываемых *C. difficile*, возникает разумный вопрос — почему же этот метод не стал рутинной практикой еще с 1958 г.? Между тем, *C. difficile*, которая в последние годы все более распространяется как возбудитель в США, устойчива к антибиотикам и фторхинолонам; от этой инфекции в стране погибает около 14 000 человек в год. Возбудитель, и особенно его новые периверулетные токсинообразующие штаммы, например, NAP1/BI/027, распространяется и в Европе, и в Австралии, но в США уровень *C. difficile*-ассоциированных инфекций достиг эпидемиологического порога: по оценкам, ежегодно в США диагностируются около 3 млн. новых случаев острого заболевания; из них у 35 % (то есть у более чем 1 млн. человек) химиотерапия не приводит к полному излечению, и в последующем наблюдаются рецидивы [31]. Можно выделить три причины, объясняющие столь непропорциональное применение ТФМ в клинике: эстетическая непривлекательность, проблемы логистического характера (связанные со сбором и обработкой образцов донорских фекалий) и недостаточность данных об эффективности этого метода, полученных в рандомизированных и контролируемых клинических исследованиях [29]. Добавим также, что преубежденно и неприятие подобного метода терапии способствует бытовательское отношение и общее невежество [32]. В связи с этим ТФМ в этом контексте *a priori* оказывается несколько дискредитированной.

Трансплантации фекальной микробиоты на современном этапе

К 2013 г. стали появляться публикации об эффективности ТФМ, подтвержденной методами доказательной медицины. Так, ван Ноод и соавт. провели рандомизированное открытое контролируемое клиническое исследование, в котором пациентов с рекуррентной *C. difficile*-инфекцией рандомизировали в одну из трех групп: 1) стартовая терапия ванкомицином (перорально, 500 мг 4 раза в день, 4 дня), с последующим промыванием кишечника и вливанием раствора донорских суспендированных фекалий через назоудоанальный катетер; 2) стандартный курс терапии ванкомицином (500 мг перорально 4 раза в день, 14 дней); 3) стандартный курс терапии ванкомицином с промыванием кишечника. Первичной конечной точкой являлось стойкое (на протяжении 10-недельного наблюдения) исчезновение диареи, вызванной бактериальной инфекцией.

Исследование было преждевременно прекращено, поскольку из 16 пациентов в группе, которой проводили ТФМ, у 13 (то есть у 81 %) наблюдалось исчезновение диареи уже после первого введения препарата. Тремя оставшимися пациентам из этой группы провели повторную инфузию препарата (от другого донора), при этом диарея исчезла у 2 из них. Подобный эффект (то есть исчезновение диареи наблюдалось лишь у 4 из 13 (31 %, $P < 0,001$) пациентов, получавших только ванкомицин, и 3 из 13 (23 %, $P < 0,001$) пациентов, получавших ванкомицин совместно с промыванием кишечника. Серьезные нежелательные явления во всех трех исследуемых группах не отмечались, за исключением легкой диареи и абдоминальных спазмов в группе ТФМ, отмеченных в день введения препарата. Таким образом, ТФМ по эффективности существенно превосходила ванкомицин при лечении рекуррентной *C. difficile*-инфекции [33]. При этом почти у всех пациентов контрольных групп возникали рецидивы диареи.

Учитывая, что ТФМ имеет значительные перспективы, но принимая во внимание как эстетическое неприятие самой процедуры пациентами, так и возможную передачу патогенных микроорганизмов, группа канадских врачей разработала новый оригинальный подход. Они создали своего рода искусственную фекальную микробиоту, названную ими «Re-POOPulate» (в оригинале игра слов, «роор» — вульгарное название экскрементов, «repopulate» — восстанавливать популяцию) [34]. Из фекалий 41-летней здоровой женщины-донора, не принимавшей антибиотиков и иные лекарственные препараты, было выделено 33 вида микроорганизмов, которые затем были выращены в чистой культуре, воссоединены друг с другом в специальном растворе, причем в соотношениях, которые строго соответствуют таковым в естественных

условиях [35]. В результате, применив Re-POOPulate в качестве трансплантата, канадские врачи вылечили двух пациентов с тяжелой, жизнеугрожающей *C. difficile*-инфекцией, у которых три или более курса фармакотерапии ванкомицином и метронидазолом не дали положительного результата.

Оба пациента были инфицированы гипервирулентным штаммом *C. difficile* — риботипом 078. После терапии искусственной микробиотой у обоих в течение 3 дней восстановилась нормальная картина кишечной микробиоты, а симптомы бактериальной инфекции отсутствовали в течение 6 месяцев. Секвенирование переменных участков гена 16S-rPHK (V6 в соответствии с номенклатурой кишечной палочки) показало, что до лечения кал пациентов содержал весьма скудные количества представителей нормальной кишечной микробиоты (исходя из состава Re-POOPulate, как «эталона» [35]), но после терапии соответствующая 16S-rPHK составляла более 25 % последовательностей, и эта пропорция сохранялась более 6 месяцев после лечения). Таким образом, терапия «синтетической» микробиотой показала очевидную и доказанную эффективность в терапии жизнеугрожающего заболевания, и авторы [34] планируют подтвердить эффективность такой терапии в начавшемся клиническом исследовании с участием, по меньшей мере, 30 человек [36].

Как было отмечено выше, в настоящее время данных об эффективности ТФМ, полученных в рандомизированных контролируемых клинических исследованиях, недостаточно. Однако, по данным на январь 2014 г., в официальном реестре клинических исследований, проводимых в США (*ClinicalTrials.gov*), при поиске по термину «*fecal microbiota transplantation*» обнаруживаются 22 клинических исследования, в которых включены 703 субъекта, включая детей. В шести исследованиях (N = 222) изучается эффективность ТФМ при язвенном колите, в других 13 (N = 371) — ее эффективность при различных вариантах *C. difficile*-инфекции. Кроме того, изучается трансплантация стандартизированной фекальной микробиоты при болезни Крона (N = 30), влияние пектина на колонизацию и стабильность кишечной микробиоты после ее трансплантации (N = 30), ТФМ при сахарном диабете 2 типа (N = 30) и направленное изменение микробиома при синдроме раздраженной кишки комбинацией антибиотиков и ТФМ (N = 20) [36].

Описаны отдельные случаи высокой эффективности ТФМ в лечении аутоиммунных и неврологических заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, рассеянный склероз и миастения, что не удивительно, поскольку появляется все больше доказательств, что кишечный микробиом влияет практически на все процессы, происходящие в организме человека, включая деятельность центральной нервной системы (ЦНС) [37].

Клинический случай: пациент А., мужчина 30 лет, с жалобами на запор, головокружение и нарушение концентрации внимания, с тяжелыми нарушениями ходьбы (передвигался в инвалидном кресле); наблюдался по поводу рассеянного склероза и невралгии тройничного нерва. Лечение месилетином, триптанолом и интерфероном бета не давало приемлемых результатов. Пациенту в целях купирования запора провели 5 процедур ТФМ путем прямокишечной инфузии, что привело к полному исчезновению проблем со стулом. В то же время было отмечено значимое уменьшение выраженности неврологического дефицита вследствие рассеянного склероза, включая восстановление способности к самостоятельной ходьбе. Первоначально это было расценено как ремиссия, однако спустя 15 лет после ТФМ периодов обострения у пациента не возникало. У пациента Б., 29-летнего мужчины, инвалида, с атипичным рассеянным склерозом, отмечался тяжелый хронический запор. У него также отмечались парастезии и слабость мышечных конечностей. После 10-дневного курса с применением ТФМ запор регрессировал. Как и в случае с пациентом А., у пациента Б. отмечался частичный регресс неврологического дефицита — больной начал самостоятельно ходить, а впоследствии исчезли и парастезии в ногах. В течение трех лет наблюдения этого пациента у него сохранялись нормальные двигательные функции и функция кишечника [38].

Пациентка В., женщина 80 лет, с хроническим запором, *proctalgia fugax* (леватор-синдром) и сильной мышечной слабостью, затруднявшей ходьбу. Был диагностирован атипичный рассеянный склероз. После 5 процедур инфузий донорской фекальной микробиоты у женщины нормализовалась кишечная функция и

наросла сила мышц. В течение 9 месяцев было отмечено полное восстановление нормальной работы кишечника и существенное улучшение со стороны двигательной сферы — пациентка смогла ходить на большие расстояния без посторонней помощи. В течение двух лет симптомы заболевания не отмечались [39, 40].

Таким образом, представлены три случая с уменьшением выраженности неврологических нарушений после ТФМ с целью терапии желудочно-кишечных нарушений. При этом во всех случаях после улучшения состояния здоровья пациентов время наблюдения за больными было достаточно длительным, чтобы подтвердить ремиссию рассеянного склероза. Теоретически можно предположить, что фекальная микробиота модулирует иммунную систему кишечника, но данных пока недостаточно [39].

Наконец, в ряду последних исследований обращают на себя внимание работы, свидетельствующие о влиянии микробиоты на эффективность противоопухолевых лекарственных средств. Так, эксперименты на животных показывают потенциальную возможность применения ТФМ в терапии рака [40, 41].

Поскольку кишечная микробиота влияет на иммунный статус человека, и, тем самым, на воспалительные процессы в организме, группа исследователей из США изучила, влияет ли активность бактерий-комменсалов на злокачественное перерождение в тканях человека. Известно, что малигнизующий потенциал клетки напрямую связан с активностью воспалительных процессов [42], однако до сих пор не было изучено влияние кишечной микробиоты на раковые клетки и ткани в других системах организма. Для изучения этого вопроса мышам линии C57BL/6 давали смесь ванкомицина, имипенема и неомицина. Через три недели после начала введения такой смеси, мышам подкожно инокулировали раковые клетки одного из трех типов (лимфома EL4, рак кишечника MC38 и меланома B16).

Напомним, что иммунотерапия основана на стимулировании иммунной системы, после которой макрофаги, моноциты и дендритные клетки начинают секретировать различные противоопухолевые факторы (например, фактор некроза опухоли, ФНО). Мышей с развившимися опухолями MC38 и B16 лечили комбинацией *SrG*-олигодезоксинуклеотида — лиганда Толл-подобных рецепторов 9 типа (TLR9), и антителами к рецептору интерлейкина-10 [43].

Показано, что у мышей с дезорганизованной антибиотиками кишечной микробиотой достоверно снижалась продукция ФНО; как следствие, противоопухолевая иммунотерапия развившегося рака и химиотерапия препаратами платины оказались существенно менее эффективными (в отношении числа гибели злокачественно перерожденных клеток), чем у мышей с нормальной микробиотой. Аналогичный эффект наблюдался у мышей, искусственно лишенных микробиоты и выращенных в стерильных условиях. Чтобы установить, что кишечная микробиота также влияет на эффективность противоопухолевых препаратов, действующих посредством других механизмов, — не влияющих напрямую на воспалительные процессы, в других группах мыши были пролечены химиопрепаратами из группы соединений платины: оксалиплатином и цисплатином. Эти препараты обладают противоопухолевой цитотоксичностью за счет образования ДНК-аддуктов и внутримолекулярных сшивок в хромосомах, а также активных форм кислорода, разрушающих ДНК [44]. И у мышей, получавших антибиотики, у мышей, лишенных кишечной микробиоты, клетки иммунной системы синтезировали существенно меньше ферментов, катализирующих образование активных форм кислорода. Таким образом, потеря микробиоты у мышей ведет к подавлению противовоспалительного и противоопухолевого потенциала организма. Эффективная противоопухолевая терапия требует нормального состояния кишечной микробиоты, которая посредством полиангентной стимуляции иммунных клеток и, возможно, каким-то иным образом регулирует и повышает эффективность противоопухолевых препаратов у мышей [41].

В том же журнале *Science* опубликованы результаты исследования влияния бактерий-комменсалов на эффективность циклофосфамида (алкилирующий агент, эффективность которого также обусловлена стимуляцией противоопухолевого иммунного ответа за счет повышения количества T-хелперов T_H17/T_H1) [42]. Группа французских исследователей обратила внимание, что терапия циклофосфамидом вызывает повреждение слизи-

стой оболочки кишечника, что ведет к проникновению некоторых грамположительных бактерий (*Lactobacillus johnsonii*, *L. murinus* и *Enterococcus hirae*) из кишечника в лимфатические узлы и селезенку. Дальнейшие исследования показали, что эта миграция может играть важнейшую роль в эффективности циклофосамида. *In vitro* эти бактерии вызывали дифференцировку незрелых Т-лимфоцитов в Т_H17-хелперы, которые ответственны за распознавание и уничтожение опухолевых клеток. В опытах *in vivo* было показано, что скормливание указанных бактерий мышам способствует повышению содержания Т_H2-лимфоцитов, в частности клеток рТ_H17 [45]. В исследовании также показано, что у мышей, чья микробиота была нарушена антибиотиками, и у мышей, искусственно выращенных в стерильных условиях без кишечной микробиоты, продукция рТ_H17-клеток была снижена, и размер опухоли у них при терапии циклофосамидом не уменьшался. Таким образом, результаты этого исследования показывают важную роль кишечной микробиоты в формировании противоопухолевого иммунитета [42].

Пока рано говорить об экстраполяции полученных данных на человека. Вместе с тем, возможно, что в будущем врачи будут основываться на результатах типирования бактерий-комменсалов для выбора наиболее благоприятного режима фармакотерапии своих пациентов [46]. Но уже сейчас авторы [42] обращают внимание на необходимость соблюдения особой осторожности при назначении антибиотиков в рамках химиотерапии.

Позиция зарубежных регуляторов: настоящее и будущее

В июле 2013 г. Администрация по пищевым продуктам и лекарственным средствам США (FDA) официально подтвердила, что будет регулировать вопросы применения препаратов, полученных на основе фекалий человека, в клинической практике [46]. В связи с нарастающим интересом к ТФМ вопрос о такой необходимости поднимался в США и других странах уже в течение последних нескольких лет [47]. Так, только за период 2008–2013 гг., по данным библиографической базы публикаций PubMed Национальной медицинской библиотеки США, в международной научной литературе опубликовано 374 статьи о ТФМ, из них 318 — об экспериментальном опыте применения этой методики у человека [48]. Об эффективности и методологии ТФМ уже издаются книги [49, 50]. Возможно, поэтому FDA пытается упорядочить деятельность и в этом вопросе. Отметим здесь, что Европейское агентство по лекарственным средствам к настоящему моменту никак не регулирует трансплантацию кишечной микробиоты. Единственные условия, которым должен следовать врач — это получить информированное согласие пациента и соблюдать протокол отбора доноров [51]. Аналогичные нестрогие требования установлены в Австралии: так, гастроэнтеролог Thomas Borody выполнил уже более тысячи ТФМ [51].

Однако в связи с тем, что утвержденными полномоченными органами отдельных стран или ВОЗ протокола надлежащий ТФМ человека, разработанного на основе принципов доказательной медицины, в настоящее время нет, в исследовательских кругах идут дискуссии относительно методик ее проведения. Так, некоторые врачи предпочитают предварительно замораживать фекалии и вводить их в организм пациента через какое-то время, в то время как другие воздерживаются от хранения во избежание гибели микробиоты. Кроме того, предполагается целесообразно применять донорские фекалии от генетически ближайших родственников, поскольку фенотип, несомненно, оказывает влияние на биологическое разнообразие кишечной микробиоты (в то же время некоторые пациенты предпочитают получать приготовленный препарат от анонимных доноров, что объясняется эстетической стороной вопроса). Наконец, остается открытым вопрос о растворителе (точнее, среде) для суспендирования фекалий: эффективнее ли применять физиологический раствор, молоко или просто воду [48]. Для суспендирования фекалий предпочтительно использовать специальную аппаратуру; при этом количество материала, используемого для одной процедуры лечения, составляет 50–100 г в объеме жидкой среды от 0,05 до 1 л и более [52]. Наиболее часто применяют 50 г необходимого субстрата, суспендированного в 250 мл среды, вводимую *per rectum* [52]. Способ доставки фекальной суспензии может быть как клизмный, так и колоноскопический, который, хотя и является более инвазивным, но гарантирует более адрес-

ную доставку препарата. Некоторые врачи, однако, используют назо-гастральный зонд, вводимый в тонкую кишку [53], объясняя это тем, что пораженные стенки кишечника могут быть повреждены клизмой или колоноскопом. Наконец, Thomas Louie, Канада, провел ТФМ 33 пациентам, давая им соответствующую суспензию перорально в трехслойных желатиновых капсулах [48].

Рассмотрим, как вопрос о возможности и необходимости регулирования применения ТФМ обсуждается в FDA [54].

Во-первых, отметим, что согласно федеральному законодательству США, лекарственные средства — это «...вещества, применяемые с целью диагностики, лечения, уменьшения выраженности симптомов или профилактики заболеваний у человека и иных животных» и «вещества (отличные от пищи), применяемые с целью влияния на структуру или функцию человеческого организма или иных животных...» [55]. В контексте рассматриваемой темы необходимо также упомянуть определение биологического лекарственного препарата в США: «вирус, терапевтическая сыворотка, токсин, антитоксин, вакцина, кровь, компонент крови или препарат, полученный из нее, аллерген, белок (за исключением любых искусственно синтезированных полипептидов), либо подобный препарат, ... пригодный для предупреждения, лечения или купирования заболевания или состояния у человека» [56].

Соответственно, трансплантат фекальной микробиоты, применяемый для лечения, облегчения состояния или предупреждения заболевания, подпадает под действующие в США определения лекарственного препарата (небиологического) и биологического лекарственного препарата.

В США — это требование было введено только в 2013 г.: врачи, применяющие ТФМ, должны представить на рассмотрение в FDA заявление о новом исследуемом препарате (англ. *Investigative New Drug application (IND)*), что эквивалентно подаче заявления о проведении клинического исследования в России) с подробным протоколом клинического исследования. В составе IND, подаваемом в FDA, помимо стандартных сведений, необходимо включить:

- Описание процедур, ограничивающих передачу патогенов вовлеченным субъектам
- Процедуры скрининга доноров кишечной микробиоты
- Описание методов фармацевтических и биологических испытаний свойств фекального трансплантата
- Описание процедуры введения фекальной микробиоты
- Количество вводимого продукта (доза) и частота введения
- Описание процесса получения донорского материала и его хранения (напр., свежий/замороженный)
- Описание метода приготовления фекального трансплантата (напр., добавление солевого раствора или стабилизаторов), качество добавляемых компонентов
- Характеристику физико-химических и биологических свойств фармацевтической субстанции [57].

Необходимо отметить, что сложные вопросы, связанные с описанием свойств биологических материалов, ранее уже были успешно разрешены в отношении цельной крови, клеток и тканей человека, использующихся для получения лекарственных препаратов [58].

В этой связи можно говорить о том, что сейчас, с одной стороны, накоплены многочисленные опубликованные результаты успешности ТФМ, побуждающие исследователей и клиницистов способствовать ее применению и в дальнейшем, прежде всего, для терапии рецидивирующего колита, вызванного *C. difficile*. С другой стороны, в целях всесторонней оценки терапевтического потенциала ТФМ как метода лечения *C. difficile*-ассоциированного колита и прочих заболеваний требуется проведение более масштабных и строго контролируемых клинических исследований.

FDA прямо высказывает решимость продолжать регулировать все вопросы, связанные с ТФМ, потому что во главу угла Агентством ставится не только безопасность пациентов, но и прогресс медицинской науки (действующий девиз FDA: «Защита и улучшение вашего здоровья» [55]).

Как мы отметили выше, в Канаде достигнуты большие успехи в развитии ТФМ [13, 34, 53], поэтому целесообразно рассмотреть позицию канадского регулятора в отношении этой новой технологии. Согласно определению Министерства здравоохра-

нения Канады (*Health Canada*), лекарственный препарат (или терапевтический агент) — это вещество, или смесь веществ, в отношении которого заявляется наличие диагностической, профилактической или терапевтической эффективности. При этом биологические препараты (получаемые в биологических системах и живых организмах или с их помощью) рассматриваются отдельно от терапевтических (производимых с помощью химического синтеза), поскольку их досье в части качества является более сложным с точки зрения регуляторных требований.

В отношении трансплантатов на основе кишечной микробиоты было предложено использовать специальный термин «препарат для терапии микробной экосистемы» (англ. *microbial ecosystem therapeutics* — MET). При этом получение заключения, что MET соответствует регуляторной практике Канады, является достаточно трудоемким. Применение термина «трансплантация» в отношении фекального материала привело к затруднениям, поскольку он подразумевает подход с позиций стандартов других, более традиционных видов трансплантации (например, тканевой). В Канаде определены отдельные регуляторные требования для трансплантации клеток, тканей и органов, включающие высочайший скрининг доноров и прохождение ряда лабораторных тестов. Для трансплантатов кишечной микробиоты эти и другие жесткие требования регулятора, вероятно, не являются обязательными, но в то же время часть из них, все же, представляется актуальной [53]. Поскольку материал для ТФМ получают от донора, то такая терапия может обладать рисками, реальными и пока неизвестными, что не позволяет относить применяемый материал к разряду натуральных и здоровых продуктов. Путь введения препарата, а именно в кишку, не позволяет, в то же время, отнестись последний к продуктам питания — хотя высказывались предположения о возможности регулирования ТФМ по принципам, которые применяются в отношении сбора женского молока. Таким образом, *Health Canada* отнесло материалы для ТФМ к классу «новых биологических лекарственных средств». В рамках подачи документов на рассмотрение в это ведомство, протоколы по ТФМ попадают на рассмотрение в Директорат по биологической и геномной терапии (*Biologic and Genetics Therapies Directorate*, BGTD). Экспертиза документов является достаточно стандартной, в том числе проводится выездная проверка с целью установления, соблюдаются ли на производственной площадке правила и руководства надлежащей производственной практики. Кроме того, *Health Canada* требует, чтобы доноры подвергались скринингу на наличие инфекций, входящих в протоколы скрининга при трансплантации органов, а также кишечных инфекций.

Валидированные бактериальные смеси, экстрагированные из человеческого фекального материала, должны подвергаться мониторингу контаминации и стабильности образующих культур. В настоящее время отдельные успехи ТФМ весьма обнадеживающие, однако необходимы ее строгие и развернутые клинические исследования, и *Health Canada* готово выступать в качестве партнера и консультанта в содействии решению этих вопросов [53].

В то же время в США некоторые исследователи выступают против заявленного FDA стремления начать регулирование ТФМ в качестве лекарственных препаратов. Так, известный инфекционист Trevor Van Schooneveld, который с 2011 г. провел около 20 ТФМ, летом 2013 г. был вынужден отказать нескольким новым пациентам, желающим пройти эту процедуру, поскольку с того момента этот материал подпал под строгое регулирование.

Возможность применения действующего и обсуждаемого российского законодательства в сфере здравоохранения к вопросам, связанным с трансплантацией фекальной микробиоты

Напомним, что Федеральным законом от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» дано следующее определение лекарственному средству — вещества или их комбинации, вступающие в контакт с организмом человека или животного, проникающие в органы, ткани организма человека или животного, применяемые для профилактики, диагностики (за исключением веществ или их комбинаций, не контактирующих с организмом человека или животного), лечения заболеваний, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности и полученные из крови, плазмы крови, из орга-

нов, тканей организма человека или животного, растений, минералов методами синтеза или с применением биологических технологий [58]. Трансплантат кишечной микробиоты в целом подпадает под такое определение и требует соответствующего регулирования.

В то же время, учитывая, что с января 2013 г. в России ведется дискуссия о проекте федерального закона «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов» (он доступен по *web*-адресу [59]), следует отметить, что образцы фекалий подпадают под определение, данное в ст. 3 указанного проекта закона: «Донорский биологический материал — биологические жидкости, ткани, клетки, секреты и продукты жизнедеятельности человека, физиологические и патологические выделения, мази, соскобы, смывы, биопсийный материал, полученные от человека». Таким образом, рассматривая вопрос о ТФМ с точки зрения отечественного регулятора, можно сделать заключение, что для придания ей легитимного статуса в рамках системы охраны здоровья граждан в нашей стране, в случае принятия указанного федерального закона, необходимо либо стандартизировать применяемый фекальный материал с точки зрения однородности и содержащихся в нем штаммов микроорганизмов, либо использовать, например, подход канадских исследователей, поскольку популяции микроорганизмов в *Re-POOPulate* «стандартизированы» качественно и в определенной мере количественно [34].

Кроме того, следует отметить, что распоряжением Правительства России от 18.07.2013 г. № 1247-р утвержден план мероприятий («дорожная карта») «Развитие биотехнологий и геномной инженерии» [60], который, в целом, призван сократить отставание России в развитии биотехнологий от стран-лидеров, а также снизить импортозависимость за счет увеличения объемов собственного производства. Как отмечается в пояснительных документах к плану мероприятий, мировой рынок биотехнологий интенсивно развивается, но при этом на долю России в настоящее время приходится менее 0,1 %. По ряду сегментов продукция вообще не производится, а более 80 % биотехнологической продукции импортируется. Представляется, однако, что высокая эффективность ТФМ, ее актуальность в купе с естественным путем получения материала и весьма низкой себестоимостью позволяют надеяться, что в рамках внедрения этой новой технологии Россия займет одно из лидирующих мест. В связи с этим особо отметим, что в Приложении № 5 к «Комплексной программе развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года» — «Плане первоочередных мероприятий по реализации Программы» предусмотрено направление «Биомедицина», включающее раздел «Подготовка предложений по совершенствованию регулирования и стандартизации процедур создания и ведения банков биологических образцов» [61]. Мероприятия по подбору и скринингу доноров фекалий, их сбору и решению логистических вопросов, выявлению эффективных стратегий ТФМ в рамках оценки клинической эффективности и безопасности этого нового перспективного метода в определенной мере соответствуют логике и цели вышеуказанного документа, однако пока не реализованы в нашей стране.

Заключение

Несмотря на то что с момента первого сообщения Эйзема-на с соавт. о терапевтической эффективности ТФМ [25] прошло более полувека, только в последние годы в этом направлении сделаны фундаментальные открытия, объясняющие эффективность эмпирических успехов и позволяющие разработать новые медицинские технологии на этой основе. Выявление определяющего влияния кишечной микробиоты на практически все нормальные и патологические процессы, происходящие в организме человека, было включено американским журналом *Science* в топ-10 наиболее значительных научных достижений (во всех областях исследований) 2013 г. [62]. Это определяющее влияние находят все новые подтверждения: и в биохимических экспериментах *in vivo*, и в отдельных эмпирических случаях излечения пациентов с различными заболеваниями в рецидивирующей форме, и в клинических исследованиях.

Несомненно, что фекалии человека, как доступная и высокоэффективная, но высоковариабельная и несущая потенциальную возможность трансмиссии патогенных возбудителей субстанция, должна подвергаться валидированной и одобренной регу-

лятором процедуре нормирования, но разработка такой процедуры и ее валидация — есть дело, пусть недалекого, но будущего. Вместе с тем, не подлежит сомнению, что ТФМ займет заслуженное место в сфере новых медицинских технологий, поэтому изучение становления норм ее регламентирования и стандартизации требований к качеству донорского материала, так же как и международного опыта оценки безопасности и эффективности этой процедуры, на наш взгляд, актуально и целесообразно как для медицинского сообщества, так и для всех интересующихся передовыми технологиями в клинической медицине.

Известное предубеждение к материалу, на котором основана практика ТФМ — донорским фекалиям человека — не должно становиться препятствием для масштабного и основанного на современных принципах доказательной медицины внедрения этой методики в клиническую практику. В вопросе оценки безопасности и эффективности ТФМ ключевая роль полномочных органов в сфере регулирования обращения лекарственных препаратов, как нам представляется, должна быть особенно взвешенной и адекватной передовым достижениям медицины, поскольку как соблюдение, так и защита интересов пациента здесь проявляются достаточно явно.

В связи с этим уместно напомнить, что «Дермо художника» (итал. *Merda d'artista*), работа итальянского концептуалиста Пьеро Мандзони, еще в 1961 г. постулировавшего непреходящую ценность фекалий [63], было продано по цене, равной цене золота той же массы (Мандзони собрал собственные фекалии в 90 консервированных баночек по 30 граммов). Более того, в 2003 г. *Merda d'artista* был продан на аукционе в Лондоне за 27 000 долл. США [64].

Это далеко не единственный, хотя и, вероятно, самый известный пример высокой оценки человеческих фекалий не только в медицинской науке. И также как концептуальное искусство обращается не к эмоциональному восприятию произведения, а к интеллектуальному его осмыслению, разработка критериев оценки ТФМ должна основываться только на фактах. В настоящее время описанных случаев успешного и во многих случаях единственно терапевтически эффективного применения ТФМ уже накоплено достаточно, чтобы с оптимизмом смотреть на многообещающие перспективы этой терапии.

Литература:

- Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation. Techniques, applications and issues. *Gastroenterol Clin N Am.* 2012; (41): 781–803.
- Metchnikoff E. Probiotics, the Intestinal Microbiome and the Quest for Long Life. In: Mitchell PC, editor. *The Prolongation of Life. Optimistic Studies.* New York: GP Putnam's Sons; 1910. P. 96.
- Grigoroff S. *Revue Medicale de la Suisse Romande.* Geneve: Georg&G; 1905.
- Mackowiak PA. Recycling Metchnikoff: Probiotics, the Intestinal Microbiome and the Quest for Long Life. *Frontiers in Public Health* 2013; (1): 52.
- Угодников К. Хорошо забытое новое. *Итоги* 2013; 31(895): 26–27. Available from: <http://www.itogi.ru/startup/2013/31/192451.html>.
- The International Human Microbiome Consortium [Internet]. The International Human Microbiome Consortium; 2014 [cited 2014 Aug 20]. Available from: <http://www.human-microbiome.org/>.
- World Health Organization report of a joint FAO/WHO expert consultation of evaluations of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk and live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 2001.
- Cochrane Summaries [Internet]. Systematic reviews on probiotics; 2014 [cited 2014 Jan 01]. Available from: <http://summaries.cochrane.org/search/site/probiotics/systematic>.
- Mastromarino P, Vitali B, Mosca L. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiol.* 2013; 36(3): 229–238.
- Bertazzoni E, Donelli G, Midtvedt T, Nicoli J, Sanz YJ. Probiotics and clinical effects: is the number what counts? *Chemother.* 2013; 25(4): 193–212.
- Szajewska H, Urbanska M, Chmielewska A, Weizman Z, Shamir R. Meta-analysis: *Lactobacillus reuteri* strain DSM 17938 (and the original strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. *Benef Microbes.* 2014; (24): 1–9.
- Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009; (136): 65–80.
- Petrof EO, Claud EC, Gloor GB, Allen-Vercoe E. Microbial ecosystems therapeutics: a new paradigm in medicine? *Benef Microbes.* 2013; 4(1): 53–65.
- Purchiaroni F, Tortora A, Gabrielli M, Bertucci F, Gigante G, Ianiro G, et al. The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur Rev Med Pharm Sci.* 2013; (17): 323–333.
- MacPherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2004; (4): 478–485.
- Barcenilla A, Pryde SE, Martin JC, Duncan SH, Stewart CS, Henderson C, Flint HJ. Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Appl Environ Microbiol.* 2000; (66): 1654–61.
- Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, Hurley RL, Witters LA, DePinho RA, Cantley LC. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 3329–35.
- Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunker MK, Bultman SJ. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab.* 2011; 13(5): 517–526.
- Rea MC, Sit CS, Clayton E, O'Connor PM, Whittall RM, Zheng J, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107(20): 9352–57.
- Le Blay G, Lacroix C, Zihler A, Fliss I. In vitro inhibition activity of nisin A, nisin Z, pediocin PA-1 and antibiotics against common intestinal bacteria. *Appl Microbiol.* 2007; 45(3): 252–257.
- Olivares M, Laparra JM, Sanz Y. Host genotype, intestinal microbiota and inflammatory disorders. *Br J Nutr.* 2013; 109(Suppl. 2): S76–S80.
- Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol.* 2004; (38): 475–483.
- Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *Clin Gastroenterol.* 2003; 37(1): 42–47.
- Science Magazine Podcast [Internet]. 2 013 Aug 30 [cited 2013 Aug 30]. Available from: http://www.sciencemag.org/content/suppl/2013/08/29/341.6149.1021-b.DC1/SciencePodcast_130830.pdf.
- Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; (44): 854–9.
- Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; (31): 431–55.
- Guslandi M. Rifaximin in the treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2011; 17(42): 4643–46.
- Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile* – more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008; (359): 1932–40.
- Kelly CP. Fecal Microbiota Transplantation – An old therapy comes of age. *N Engl J Med.* 2013; 368(5): 474–475.
- Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2011; 53(10): 994–1002.
- Pepin J. Improving the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: where should we start? *Clin Infect Dis.* 2006; (43): 553–5.
- DIY Fecal Transplants to cure yourself of digestive disease [Internet]. 2013 Jun 3 [cited 2013 Oct 28]. Available from YouTube: <https://www.youtube.com/watch?v=WEMnRC22oOs>.
- van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 2013; 368(5): 407–15.
- Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome.* 2013; 1(3): 1–12.
- Turrone F, Foroni E, Pizzetti P, Giubellini V, Ribbera A, Merusi P, et al. Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol.* 2009; (75): 1534–45.
- ClinicalTrials.gov [Internet]. [Place unknown]. 2014 [cited 2014 Jan 17]. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=fecal+microbiota+transplantation&Search=Search>.
- Tillisch K, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology* 2013; 144(7): 1394–1401.
- Borody TJ, Leis SM, Campbell JL, Torres M, Nowak A. Could multiple sclerosis be caused by bacteria? [Internet]. [Place unknown]. 2012 [cited 2013 Dec 31]. Available from: <http://www.fecalmicrobiotatransplant.com/2012/08/could-multiple-sclerosis-be-caused-by.html>.
- Smits LP, Bouter KE, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology* 2013; 145(5): 946–53.
- Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013; 342(6161): 967–70.
- Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; 342(6161): 971–6.
- Grivnenkov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883–99.
- Vicari AP, Chiodoni C, Vaure C, Ait-Yahia S, Dercamp C, Matsos F, et al. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J Exp Med.* 2002; 196(4): 541–49.
- Ozben TJ. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *Pharm Sci.* 2007; 96(9): 2181–96.

45. Pennisi E. Cancer therapies use a little help from microbial friends. *Science* 2013; 342(6161): 921.
46. The U.S. Food and Drug Administration [Internet]. Maryland: Enforcement policy regarding investigational new drug requirements for use of fecal microbiota for transplantation to treat CDI not responsive to standard therapies – Guidance for Industry; 2013 [cited 2014 Feb 12]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/ biologics/BloodVaccines/Guidance/ComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/UCM361393.pdf>.
47. Mole B. FDA gets to grips with faeces. *Nature* 2013; 498(7453): 147–148.
48. U.S. National Library of Medicine [Internet]. Bethesda. 2014 [cited 2014 Jan 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.
49. Curtis S. The Fecal Transplant Guidebook: Treatment for Crohn's disease, ulcerative colitis, C. difficile, irritable bowel disease, constipation, diarrhea, and more. Eagle Bay Publishing; 2013.
50. Curtis S. A gut reaction: a true story about a mother's struggle to save her son's life and his amazing recovery from Crohn's disease. Inanna Publications; 2013.
51. de Vrieze J. The promise of poop. *Science* 2013; 341(6149): 954–7.
52. Allen-Vercoe E, Reid G, Viner N, Gloor GB, Hota S, Kim P, et al. A Canadian working group report on fecal microbial therapy: Microbial ecosystems therapeutics. *Can J Gastroenterol*. 2012; 26(7): 457–62.
53. Rubin TA, Gessert CE, Aas J, Bakken JS. Fecal microbiome transplantation for recurrent Clostridium difficile infection: report on a case series. *Anaerobe* 2013; 19: 22–26.
54. U.S. Food and Drug Administration [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2013 [cited 2013 Sep 1]. Available from: <http://www.fda.gov/>.
55. The United States of America. Federal Food, Drug, and Cosmetic, Sec 201. Washington, D.C.: The Congress; 2014.
56. The United States of America. Public Health Service Act, Sec 351. Washington, D.C.: The Congress; 2014.
57. U.S. Food and Drug Administration [Internet]. U.S. Food and Drug Administration: FDA's Public Workshop: Fecal microbiota for transplantation. Slater JE. Fecal microbiota for transplantation (presentation). 2013 [cited 2013 Dec 27]. Available from: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/NewsEvents/WorkshopsMeetingsConferences/ucm352636.htm>.
58. Об обращении лекарственных средств. Федеральный закон. М.: Проспект; 2010.
59. Об обращении биомедицинских клеточных продуктов. Проект Федерального закона от 18.01.2013 г. Available from: <http://www.rosminzdrav.ru/documents/6472-proekt-federalnogo-zakona-ot-18-yanvarya-2013-g>.
60. Распоряжение Правительства России от 18.07.2013 г. № 1247-п. Available from: <http://government.ru/media/files/41d47b5e0ae078ee508b.pdf>.
61. Приложение № 5 к Комплексной программе развития биотехнологий в России на период до 2020 г. План первоочередных мероприятий по реализации Программы (утв. Правительством России от 24.04.2012 г. № 1853п-П8). Available from: http://base.garant.ru/70168244/#block_3000.
62. Jennifer C-F. Cancer Immunotherapy. *Science* 2013; 342(6155):1432–33.
63. John Miller. Excremental value by John Miller. Tate [Internet]. 2007 May 1 [cited 2014 Jan]. Available from: <http://www.tate.org.uk/context-comment/articles/excremental-value>.
64. Galenson DW. Conceptual revolutions in twentieth-century art. New York: Cambridge University Press; 2009.
- strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. *Benef Microbes*. 2014; (24): 1–9.
12. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009; (136): 65–80.
13. Petrof EO, Claud EC, Gloor GB, Allen-Vercoe E. Microbial ecosystems therapeutics: a new paradigm in medicine? *Benef Microbes*. 2013; 4(1): 53–65.
14. Purchiaroni F, Tortora A, Gabrielli M, Bertucci F, Gigante G, Ianiro G, et al. The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur Rev Med Pharm Sci*. 2013; (17): 323–333.
15. MacPherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2004; (4): 478–485.
16. Barcenilla A, Pryde SE, Martin JC, Duncan SH, Stewart CS, Henderson C, Flint HJ. Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Appl Environ Microbiol*. 2000; (66): 1654–61.
17. Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, Hurley RL, Witters LA, DePinho RA, Cantley LC. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 3329–35.
18. Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunker MK, Bultman SJ. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab*. 2011; 13(5): 517–526.
19. Rea MC, Sit CS, Clayton E, O'Connor PM, Whittall RM, Zheng J, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against Clostridium difficile. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107(20): 9352–57.
20. Le Blay G, Lacroix C, Zihler A, Fliss I. In vitro inhibition activity of nisin A, nisin Z, pediocin PA-1 and antibiotics against common intestinal bacteria. *Appl Microbiol*. 2007; 45(3): 252–257.
21. Olivares M, Laparra JM, Sanz Y. Host genotype, intestinal microbiota and inflammatory disorders. *Br J Nutr*. 2013; 109(Suppl. 2): S76–S80.
22. Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol*. 2004; (38): 475–483.
23. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *Clin Gastroenterol*. 2003; 37(1): 42–47.
24. Science Magazine Podcast [Internet]. 2013 Aug 30 [cited 2013 Aug 30]. Available from: http://www.sciencemag.org/content/suppl/2013/08/29/341.6149.1021-b.DC1/SciencePodcast_130830.pdf.
25. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; (44): 854–9.
26. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010; (31): 431–55.
27. Guslandi M. Rifaximin in the treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2011; 17(42): 4643–46.
28. Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile – more difficult than ever. *N Engl J Med*. 2008; (359): 1932–40.
29. Kelly CP. Fecal Microbiota Transplantation – An old therapy comes of age. *N Engl J Med*. 2013; 368(5): 474–475.
30. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis*. 2011; 53(10): 994–1002.
31. Pepin J. Improving the treatment of Clostridium difficile-associated disease: where should we start? *Clin Infect Dis*. 2006; (43): 553–5.
32. DIY Fecal Transplants to cure yourself of digestive disease [Internet]. 2013 Jun 3 [cited 2013 Oct 28]. Available from YouTube: <https://www.youtube.com/watch?v=WEMnRC22oOs>.
33. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med*. 2013; 368(5): 407–15.
34. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of Clostridium difficile infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome*. 2013; 1(3): 1–12.
35. Turroni F, Foroni E, Pizzetti P, Giubellini V, Ribbera A, Merusi P, et al. Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. 2009; (75): 1534–45.
36. ClinicalTrials.gov [Internet]. [Place unknown]. 2014 [cited 2014 Jan 17]. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=fecal+microbiota+a+transplantation&Search=Search>.
37. Tillich K, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology* 2013; 144(7): 1394–1401.
38. Borody TJ, Leis SM, Campbell JL, Torres M, Nowak A. Could multiple sclerosis be caused by bacteria? [Internet]. [Place unknown]. 2012 [cited 2013 Dec 31]. Available from: <http://www.fecalmicrobiotatransplant.com/2012/08/could-multiple-sclerosis-be-caused-by.html>.
39. Smits LP, Bouter KE, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology* 2013; 145(5): 946–53.
40. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013; 342(6161): 967–70.

References

1. Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation. *Techniques, applications and issues*. *Gastroenterol Clin N Am*. 2012; (41): 781–803.
2. Metchnikoff E. Probiotics, the Intestinal Microbiome and the Quest for Long Life. In: Mitchell PC, editor. *The Prolongation of Life. Optimistic Studies*. New York: GP Putnam's Sons; 1910. P. 96.
3. Grigoroff S. *Revue Medicale de la Suisse Romande*. Geneve: Georg&G; 1905.
4. Mackowiak PA. Recycling Metchnikoff: Probiotics, the Intestinal Microbiome and the Quest for Long Life. *Frontiers in Public Health* 2013; (1): 52.
5. Ugodnikov K. Well forgotten new. *Itogi* 2013; 31(895): 26–27. Available from: <http://www.itogi.ru/startup/2013/31/192451.html> (in Russian).
6. The International Human Microbiome Consortium [Internet]. The International Human Microbiome Consortium; 2014 [cited 2014 Aug 20]. Available from: <http://www.human-microbiome.org/>.
7. World Health Organization report of a joint FAO/WHO expert consultation of evaluations of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk and live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 2001.
8. *Cochrane Summaries* [Internet]. Systematic reviews on probiotics; 2014 [cited 2014 Jan 01]. Available from: <http://summaries.cochrane.org/search/site/probiotics/systematic>.
9. Mastromarino P, Vitali B, Mosca L. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiol*. 2013; 36(3): 229–238.
10. Bertazzoni E, Donelli G, Midtvedt T, Nicoli J, Sanz YJ. Probiotics and clinical effects: is the number what counts? *Chemother*. 2013; 25(4): 193–212.
11. Szajewska H, Urbanska M, Chmielewska A, Weizman Z, Shamir R. Meta-analysis: Lactobacillus reuteri strain DSM 17938 (and the original

41. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; 342(6161): 971–6.
42. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883–99.
43. Vicari AP, Chiodoni C, Vaure C, Ait-Yahia S, Dercamp C, Matsos F, et al. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J Exp Med*. 2002; 196(4): 541–49.
44. Ozben TJ. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *Pharm Sci*. 2007; 96(9): 2181–96.
45. Pennisi E. Cancer therapies use a little help from microbial friends. *Science* 2013; 342(6161): 921.
46. The U.S. Food and Drug Administration [Internet]. Maryland: Enforcement policy regarding investigational new drug requirements for use of fecal microbiota for transplantation to treat CDI not responsive to standard therapies – Guidance for Industry; 2013 [cited 2014 Feb 12]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/UCM361393.pdf>.
47. Mole B. FDA gets to grips with faeces. *Nature* 2013; 498(7453): 147–148.
48. U.S. National Library of Medicine [Internet]. Bethesda. 2014 [cited 2014 Jan 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.
49. Curtis S. The Fecal Transplant Guidebook: Treatment for Crohn's disease, ulcerative colitis, C. difficile, irritable bowel disease, constipation, diarrhea, and more. Eagle Bay Publishing; 2013.
50. Curtis S. A gut reaction: a true story about a mother's struggle to save her son's life and his amazing recovery from Crohn's disease. Inanna Publications; 2013.
51. de Vrieze J. The promise of poop. *Science* 2013; 341(6149): 954–7.
52. Allen-Vercoe E, Reid G, Viner N, Gloor GB, Hota S, Kim P, et al. A canadian working group report on fecal microbial therapy: Microbial ecosystems therapeutics. *Can J Gastroenterol*. 2012; 26(7): 457–62.
53. Rubin TA, Gessert CE, Aas J, Bakken JS. Fecal microbiome transplantation for recurrent Clostridium difficile infection: report on a case series. *Anaerobe* 2013; 19: 22–26.
54. U.S. Food and Drug Administration [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2013 [cited 2013 Sep 1]. Available from: <http://www.fda.gov/>.
55. The United States of America. Federal Food, Drug, and Cosmetic, Sec 201. Washington, D.C.: The Congress; 2014.
56. The United States of America. Public Health Service Act, Sec 351. Washington, D.C.: The Congress; 2014.
57. U.S. Food and Drug Administration [Internet]. U.S. Food and Drug Administration: FDA's Public Workshop: Fecal microbiota for transplantation. Slater JE. Fecal microbiota for transplantation (presentation). 2013 [cited 2013 Dec 27]. Available from: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/NewsEvents/WorkshopsMeetingsConferences/ucm352636.htm>.
58. On circulation of medicines. Federal law. Moscow: Prospekt; 2010 (in Russian).
59. On circulation of medicines of biomedical cell products. Draft Federal law by 18.01.2013. Available from: <http://www.rosminzdrav.ru/documents/6472-proekt-federalnogo-zakona-ot-18-yanvarya-2013-g> (in Russian).
60. Order of the Government of Russia by 18.07.2013 № 1247-p. Available from: <http://government.ru/media/files/41d47b5e0ae078ee508b.pdf> (in Russian).
61. Appendix № 5 to comprehensive development of biotechnology in Russia for the period up to 2020. Priority Action Plan for the implementation of the Program (approved by Government of the Russian Federation of 24.04.2012, № 1853p-P8). Available from: http://base.garant.ru/70168244/#block_3000 (in Russian).
62. Jennifer C-F. Cancer Immunotherapy. *Science* 2013; 342(6155):1432–33.
63. John Miller. Excremental value by John Miller. Tate [Internet]. 2007 May 1 [cited 2014 Jan]. Available from: <http://www.tate.org.uk/context-comment/articles/excremental-value>.
64. Galenson DW. Conceptual revolutions in twentieth-century art. New York: Cambridge University Press; 2009.

Authors:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre on Expert Evaluation of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Vasilyev AN. Director of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Doctor of Biological Sciences.

Goryachev DV. Head of expertise office № 3 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Doctor of Medical Sciences.

Gavriushina EV. Chief expert of expertise office № 3 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Candidate of Medical Sciences.

Niyazov RR. 1st category expert of expertise office № 2 of Center of expertise and control of finished pharmaceutical products. Candidate of Medical Sciences.

Digtyar AV. Leading expert of Work coordination department of Center for pharmacopoeia and international cooperation. Candidate of Biological Sciences.

Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Centre of Neurology» Russian Academy of Sciences, 5 Obuha bystreet, Moscow, 105064, Russian Federation.

Seliverstov YuA. Neurologist, Junior Researcher.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Васильев Андрей Никифорович. Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р биол. наук.

Горячев Дмитрий Владимирович. Начальник управления экспертизы № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук.

Гавришина Елена Валериевна. Главный эксперт управления экспертизы № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.

Ниязов Равиль Рашидович. Эксперт 1-й категории управления экспертизы № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук.

Дигтярь Антон Васильевич. Ведущий эксперт отдела координационных работ Центра фармакопеи и международного сотрудничества, канд. биол. наук.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» Российской академии наук. Российская Федерация, 105064, Москва, пер. Обуха, 5.

Селиверстов Юрий Александрович. Врач-невролог, младший научный сотрудник.

Адрес для переписки: Васильев Андрей Никифорович; Vasiliev@exrmed.ru

Поступила 07.04.2014 г.
Принята 20.05.2015 г.