

Роль микробиома в развитии болезней пищевода*

Ю.В. Евсютина², В.Т. Ивашкин^{1,2}

¹ НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

² Кафедра пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

Microbiome in development of esophageal diseases

Yu.V. Yevsyutina², V.T. Ivashkin^{1,2}

¹ Scientific and educational clinical center of innovative therapy, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Moscow, Russian Federation

² Chair of internal diseases propedeutics, medical faculty, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Moscow, Russian Federation

Цель обзора. Представить современные данные о роли микробиома в развитии различных заболеваний пищевода и возможностях его коррекции с помощью пробиотиков.

Основные положения. Микробиом желудочно-кишечного тракта представляет собой невидимый орган нашего организма, объединяющий порядка 10¹⁴ микроорганизмов. Основными типами бактерий пищевода являются *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и TM7. Микробиом нормальной слизистой пищевода представлен грамположительными бактериями типа *Firmicutes*, микробиом у пациентов с пищеводом Баррета и эзофагитом — преимущественно грамотрицательными анаэробами из типа *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Spirochaete*, у больных с эозинофильным эзофагитом — *Proteobacteria*. Экспрессия опухолевых и воспалительных медиаторов (толл-подобные рецепторы, интерлейкины, ядерный фактор κ B, циклооксигеназа-2) может быть обусловлена составом микробиома.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют об изменении микробио-

Aim of review. To present up-to-date data on microbiome role in development of various esophageal diseases and options of probiotics application in esophageal diseases treatment.

Summary. Gastro-intestinal microbiome is an invisible organ of our body integrating about 10¹⁴ microorganisms. Main bacteria types for the esophagus are *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* and TM7. The microbiome of the normal esophageal mucosa is represented by gram-positive bacteria like *Firmicutes*; microbiome in patients with Barret's esophagus and esophagitis is constituted mainly by gram-negative anaerobe bacteria: *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* and *Spirochaete*; patients with eosinophilic esophagitis have *Proteobacteria*. Expression of tumor and inflammatory mediators (toll-like receptors, interleukins, nuclear factor κ B, cyclooxygenase-2) can be determined by microbiome pattern.

Conclusion. Results of original studies demonstrate microbiome changes of the esophagus at gastroesophageal reflux disease, Barret's esophagus, adenocarcinoma of the esophagus and eosinophilic esophagitis.

Евсютина Юлия Викторовна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: uselina@mail.ru; 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1. Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ПМГМУ им. И.М. Сеченова

Yevsyutina Yuliya V. — MD, research associate, Scientific and educational clinical center of innovative therapy, Sechenov PMG MU. Contact information: uselina@mail.ru; 119991, Moscow, Pogodinskaya str., 1, bld. 1.

Ивашкин Владимир Трофимович — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», директор НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»



*Статья подготовлена Рабочей группой по изучению микробиома Российской гастроэнтерологической ассоциации

ма пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, пищеводом Баррета, аденокарциномой пищевода и эозинофильным эзофагитом. Потенциальными медиаторами воспаления и канцерогенеза выступают толл-подобные рецепторы, цитокины, ядерный фактор κB , циклооксигеназа-2, экспрессия которых может модифицироваться в зависимости от состава микробиома. Приоритетным направлением в лечении пациентов с заболеваниями пищевода могут стать пробиотики.

Ключевые слова: микробиом, эзофагит, пищевод Баррета, аденокарцинома пищевода, эозинофильный эзофагит, пробиотики.

Toll-like receptors, cytokines, nuclear factor κB , cyclooxygenase-2 can be potential mediators of inflammation and carcinogenesis which expression can be modified by microbiome spectrum. Probiotics can become the priority trend in treatment of diseases of the esophagus.

Key words: microbiome, esophagitis, Barret's esophagus, esophagus adenocarcinoma, eosinophilic esophagitis, probiotics.

Микробиом *желудочно-кишечного тракта* (ЖКТ) представляет собой невидимый орган нашего организма, объединяющий порядка 10^{14} микроорганизмов. Несмотря на то, что общая масса микробов в 20 раз меньше массы человека, содержание активных микробных генов в 350 раз выше такового в организме «хозяина». При этом более 99% генов принадлежит бактериям. Мощный генетический аппарат и многообразие функций микробов с полным правом дает основание рассматривать микробиом как особый орган [1–3].

Ранние исследования, в которых пытались охарактеризовать микробиом пищевода, были выполнены хирургами, надеявшимися найти способы профилактики инфекции после торакотомии [4]. В этих работах использовались обычные бактериальные культуры, и поэтому большинство бактерий, заселяющих пищевод, находящихся в жизне-способном, но не культивируемом состоянии, описаны не были [5]. В более поздних исследованиях для обнаружения бактерий пищевода стала применяться полимеразная цепная реакция 16S рибосомальной РНК. Так, при использовании биоптатов нормальной слизистой пищевода Z. Pei и соавт. идентифицировали 95 видов, включая представителей 6 типов: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и TM7. При этом два типа бактерий, представленных в ротовой полости — *Spirochaetes* и в слизистой пищевода — *Deferribacteres*, не были выявлены. Самыми часто встречающимися микроорганизмами оказались: *Streptococcus* (39%), *Prevotella* (17%) и *Veillonella* (14%) [6].

Одно из наиболее масштабных исследований, посвященных изучению микробиома пищевода и его взаимосвязи с заболеваниями, проведено L. Yang и соавт. [7]. В анализ были включены 6800 клонов генов 16S рРНК. В ходе работы продемонстрировано, что существуют два основных типа пищеводных микробиомов. I тип ассоциирован с нормальной слизистой пищевода и представлен главным образом грамположительными бактериями типа *Firmicutes*, самым

часто встречающимся представителем которых являлся *Streptococcus*. II тип микробиома составляли преимущественно грамотрицательные анаэробы/микроаэрофилы из типа *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Spirochaete*. Данный тип микробиома обнаруживался достоверно чаще у лиц с рефлюкс-эзофагитом (отношение шансов 15,4) и *пищеводом Баррета* — ПБ (отношение шансов 16,5). Микробиом у пациентов с *гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью* (ГЭРБ) и ПБ не различался.

В исследовании N. Liu и соавт., опубликованном в 2013 г. и включавшем пациентов с рефлюкс-эзофагитом и ПБ, а также лиц с нормальной слизистой пищевода (контрольная группа), также наблюдалось различие в составе микробиома. У пациентов с ГЭРБ и ПБ преобладали: *Veillonella* (19%), *Prevotella* (12%), *Neisseria* (4%) и *Fusobacterium* (9%), которые не были представлены в биоптатах нормальной слизистой оболочки [8].

Следует обратить внимание, что применение *ингибиторов протонной помпы* (ИПП) может влиять на состав микробиома пищевода. Подтверждением этому служат результаты исследований I. Amir и соавт. [9]. Назначение антисекреторной терапии было ассоциировано с достоверным увеличением в дистальном отделе пищевода *Lachnospiraceae*, *Comamonadaceae* и неклассифицируемых клостридиальных семейств, тогда как содержание *Methylobacteriaceae*, которые в большом числе *колониобразующих единиц* (КоЕ) были представлены у лиц с эзофагитом и ПБ, после лечения значительно уменьшилось. При этом необходимо отметить, что то же самое семейство бактерий ассоциировано с развитием тканевого воспаления у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и синдромом раздраженной кишки [10]. Это может свидетельствовать как о том, что вследствие действия ИПП уменьшается воспаление, а следовательно, и количество *Methylobacteriaceae*, так и о том, что эти бактерии встречаются только в измененной слизистой оболочке.

Несмотря на то, что *Helicobacter pylori* не являются преобладающими микроорганизмами в пищевode, они «осуществляют контроль» за дистальным отделом его микробиома. Предыдущие исследования продемонстрировали сильную обратную корреляцию между наличием *H. pylori* (в особенности *cagA* позитивных штаммов) и ПБ и *аденокарциномой пищевода* (АКП). Например, в работе L.A. Fischbach и соавт. изучалась взаимосвязь между кислотосупрессией, инфекцией *H. pylori* и пищеводом Баррета [11]. Результаты анализа показали, что отношение шансов ассоциации между *H. pylori* и ПБ было равно 0,56 у пациентов, которые получали ИПП, по сравнению с 0,90 у лиц, которым антисекреторная терапия не назначалась, что указывало на повышение протективной роли *H. pylori* в отношении ПБ в условиях подавления продукции соляной кислоты. Такие результаты кажутся удивительными, ведь ИПП обладают высокой антигеликобактерной активностью и инфекция *H. pylori* является защитой от развития пищеводной неоплазии. Наиболее вероятным объяснением этому факту служит прямое протективное действие ИПП на пищевод Баррета (значительное снижение экспозиции кислоты в пищевode), которое перевешивает косвенный и менее значимый эффект *H. pylori*.

За последние 35–50 лет в большинстве экономически развитых стран наблюдаются огромные темпы роста заболеваемости и смертности от *аденокарциномы пищевода*. Так, по данным H. Pohl и H.G. Welch, заболеваемость АКП в США в период с 1975 по 2001 г. возросла в 7 раз (с 5 до 35 случаев на 100 тыс. населения в год) [12]. В России, согласно отчету о состоянии онкологической помощи населению за 2012 г., распространенность рака пищевода в последние 10 лет возросла и составила 8,2 по сравнению с 7,1 на 100 тыс. населения в 2002 г. Причем в 2012 г. среди всех больных с впервые в жизни установленным диагнозом рака пищевода опухоли I и II стадий были диагностированы только в 28,6% наблюдений [13, 14]. АКП обычно развивается в дистальном отделе пищевода в ответ на повреждение слизистой, обусловленное гастроэзофагеальным и дуоденогастроэзофагеальным рефлюксами. В большинстве случаев она формируется на фоне ПБ (метаплазии многослойного плоского эпителия пищевода специализированным цилиндрическим эпителием с бокаловидными клетками).

Толл-подобные рецепторы — *toll-like receptors* (TLRs) экспрессируются микроокружением слизистой оболочки пищевода и содействуют взаимодействию иммунной системы с микробиомом. TLRs стали объектом интереса как потенциальные медиаторы воспалительно-опосредованного канцерогенеза. В частности, TLR3, TLR4, TLR5 и TLR9 были идентифицированы как возможные медиаторы прогрессии ГЭРБ в АКП.

TLR3 и TLR4 известны как рецепторы, играющие важную роль в патогенезе ГЭРБ-ассоциированных заболеваний. Результатом их активации является синтез *циклоксигеназы-2* (ЦОГ-2), *интерлейкина 8* (ИЛ-8), *ядерного фактора κB* (NF- κB) и *оксида азота* (NO). Так, в экспериментах на мышах ингибирование ЦОГ-2 приводит к снижению прогрессии ПБ в АКП [15, 16]. У пациентов же с ГЭРБ высокий уровень ИЛ-8 в слизистой оболочке пищевода по одним данным ассоциирован с развитием дисплазии и АКП, а по другим — с рецидивом эрозивного эзофагита после прекращения антисекреторной терапии [17, 18]. Результаты нашего исследования говорят о том, что высокий уровень ИЛ-8 в системном кровотоке коррелирует с частотой рецидивирования эрозивного эзофагита в течение 2 лет несмотря на проводимую терапию. Так, при концентрации ИЛ-8 от 5 до 10 пг/мл рецидив наблюдался в 10–40% случаев, тогда как при уровне от 15 до 20 пг/мл частота рецидивирования достигала 80–90% [19].

Необходимо сказать о том, что при изменении состава микробиома пищевода повышается экспрессия некоторых провоспалительных цитокинов. Подтверждением этому служат результаты исследования K.L. Blackett и соавт., которые изучали микробиом у пациентов с ГЭРБ и ПБ [20]. Проведенный анализ показал, что у обследованных больных, по сравнению со здоровыми добровольцами, было значительно снижено число основных видов бактерий (к примеру, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*), но при этом достоверно повышено число *Campylobacter* (вид *Campylobacter* являлся доминирующим). Авторам удалось выявить интересную особенность — у пациентов с ГЭРБ и ПБ, у которых обнаружено большее число колоний *Campylobacter*, была значительно повышена продукция ИЛ-18. Этот цитокин известен как ИФН- γ индуцирующий фактор, который стимулирует развитие как Th1, так и Th2 иммунного ответа, повышает активность естественных киллеров и стимулирует апоптоз. ИЛ-18 играет важную роль в клеточной пролиферации, инвазии и метастазировании у больных раком желудка, меланомой, колоректальным раком, и недавно был идентифицирован однонуклеотидный полиморфизм гена ИЛ-18 (IL-18RAP SNP rs917997), ассоциированный с развитием АКП [21].

NF- κB сигнальный путь может активироваться под действием липополисахаридов грамотрицательных бактерий, пептидогликана грамположительных бактерий, провоспалительных цитокинов (таких как ФНО- α , ИЛ-1 β). Микробные компоненты активируют NF- κB путь через толл-подобные рецепторы — так называемый классический путь активации, в то время как провоспалительные цитокины действуют через свои собственные рецепторы (ИЛ-1-рецептор,

ФНО- α -рецептор), включая альтернативный путь активации [22]. NF- κ B занимает существенное место в патогенезе ГЭРБ, так как регулирует экспрессию генов, вовлеченных в воспаление, иннатный и адаптивный иммунный ответ, подавление апоптоза, пролиферацию и дифференцировку клеток. В частности, ядерный фактор κ B регулирует продукцию основных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-8, которые, как было описано выше, ассоциированы с эрозивным эзофагитом, а также продукцию ИЛ-4 и ИЛ-6, уровень которых повышен у больных с ПБ. NF- κ B регулирует экспрессию генов ЦОГ-2 и индуцибельной синтазы NO.

Необходимо отметить, что протеин ЦОГ-2 продуцируется метаплазированными эпителиальными клетками у больных с ПБ и его уровень значительно повышен у пациентов с аденокарциномой [22]. NF- κ B также представляет собой промотор ассоциированного с воспалением канцерогенеза и ответственен за первичные метапластические изменения, которые заканчиваются развитием ПБ. Блокирование активности NF- κ B в мышинных моделях показало уменьшение воспалительного ответа в клеточных линиях, полученных из АКП [23].

Возвращаясь к роли TLR3 и TLR4 в развитии АКП, надо сказать, что одним из экзогенных лигандов TLR4 является липополисахарид — компонент клеточной мембраны грамотрицательных бактерий. Именно этот факт может объяснять изменение состава микробиома у пациентов с ГЭРБ, выражающееся в преобладании грамотрицательных бактерий, а непосредственно стимуляция TLR4 — приводить к каскаду воспалительных опухолевых реакций [6].

Представляет большой интерес и работа А.Н. Zaidi и соавт., опубликованная в феврале 2016 г. [24]. В исследовании, выполненном на крысах, хирургическим путем вызывали развитие желчного и кислого рефлюксов, которые оказывали повреждающее действие на пищевод и обуславливали формирование АКП. Анализ экспрессии генов показал, что у крыс с АКП имела место гиперэкспрессия TLRs 1–3, 6, 7 и 9 по сравнению с нормальным эпителием. При исследовании состава микробиома было выявлено, что *Escherichia coli* встречалась с частотой 60% при ПБ и в 100% случаев при АКП.

Проведенный этими же авторами анализ состава микробиома пищевода у 54 обследованных продемонстрировал, что самыми часто встречающимися микроорганизмами оказались *Candida* sp. (у 16 из 54), *Gemella* sp. (у 10 из 54), *Haemophilus* sp. (у 12 из 54), *Streptococcus* sp. (у 36 из 54). *Streptococcus pneumoniae* был обнаружен в большом количестве у пациентов с желудочной метаплазией и ПБ (50–70%) в сравнении с больными с дисплазией и АКП (20–30%). Любопытно, что *E. coli* была выявлена у пациентов с ПБ и АКП,

но отсутствовала в биоптатах больных с диспластическими изменениями и у индивидуумов, имеющих нормальную слизистую. Также было отмечено, что *Candida albicans* и *Candida glabrata* обнаруживались у более чем половины пациентов с АКП [24].

В последнюю декаду наблюдается рост заболеваемости *эозинофильным эзофагитом* (ЭоЭ), что диктует необходимость понимания звеньев патогенеза данного заболевания. ЭоЭ представляет собой хроническое, Th2-опосредованное аллергическое заболевание, характеризующееся эозинофильной инфильтрацией пищевода. Проведенные исследования продемонстрировали, что изменение микробиома вносит вклад в развитие ЭоЭ. Так, гиперплазия базальной зоны в ответ на ИЛ-13 может способствовать снижению барьерной функции слизистой (как основной фактор), в то время как эозинофилы способны изменять микроокружение в пищеводе, тем самым надолго сохраняя симптомы заболевания и выступая как вторичный фактор [25].

Эозинофилы являются большими резервуарами антимикробных продуктов, таких как гранулы катионных белков, дефензины и ДНК-содержащие внеклеточные ловушки (EETs), высвобождение которых может изменять микробиом [26]. Помимо этого пациенты с ЭоЭ значительно ограничивают свой рацион из-за пищевой аллергии, тем самым потенциально изменяя субстраты для бактерий пищевода. Гипотезу об изменении микробиома как важном звене патогенеза ЭоЭ поддерживают результаты нескольких исследований. В одном из них, включавшем 70 детей и взрослых с ЭоЭ и ГЭРБ, было выявлено, что род *Haemophilus* преобладает у больных с нелеченным эозинофильным эзофагитом в сравнении со здоровыми лицами, тогда как род *Streptococcus* встречается достоверно реже у пациентов с ГЭРБ, получающих ИПП [27].

Взаимосвязь между диетой, микрофлорой ЖКТ и ЭоЭ была исследована в нескольких работах. Так, А.Т. Stefka и соавт. показали на животных моделях, что существует группа специфических комменсалов (*Clostridium* кластеры XIVa, XIVb и IV), которые защищают от развития пищевой аллергии — вероятнее всего через повышение барьерной функции эпителия и расширение Foxp3+ регуляторных Т-клеток (Tregs) [28, 29]. В другое исследование, выполненное А.Ж. Benitez и соавт., были включены 68 детей в возрасте от 2 до 18 лет (66 из 68 пациентов получали терапию ИПП за 4–6 недель до выполнения эндоскопического исследования). Из 68 человек у 33 был диагностирован ЭоЭ: у 18 — активный (более 15 эозинофилов в поле зрения) и у 15 — неактивный (менее 15 эозинофилов в поле зрения).

При помощи 16S rRNA секвенирования у детей сравнивали состав микробиома рото-

вой полости и пищевода [30]. Установлено, что у пациентов с ЭоЭ преобладали *Proteobacteria*, включая *Neisseria* и *Corynebacterium*, тогда как у детей, не имеющих ЭоЭ, чаще других встречались *Firmicutes* (*Streptococcus*). Назначение диеты (исключение из рациона: молока, яиц, пшеницы, сои, орехов, морепродуктов) не изменило значительно микробиом ротовой полости и пищевода, тогда как возобновление рациона с высокоаллергенными продуктами увеличивало количество *Ganulicatella* и *Campylobacter* в пищеводе.

Учитывая четко прослеживаемую взаимосвязь между заболеваниями пищевода и изменением состава микробиома, исследователи задались вопросом, можно ли назначением пробиотиков добиться уменьшения тяжести поражения пищевода и замедления прогрессии ПБ в аденокарциному. Пробиотики — это живые микроорганизмы, которые могут быть включены в состав пищевых продуктов, а также в лекарственные препараты и пищевые добавки, оказывающие положительное влияние на функции микрофлоры.

В 2015 г. были опубликованы результаты первого исследования *in vitro*, пролившего свет на способность пробиотиков изменять экспрессию опухолевых медиаторов [31]. На линии клеток (кишечная метаплазия без дисплазии и дисплазия высокой степени) воздействовали *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus acidophilus* и затем определяли их влияние на экспрессию ИЛ-18, ФНО- α , p53, ЦОГ-2 и CDX1 (*caudal type homeobox 1*). Помимо этого на культуры клеток дополнительно воздействовали патогеном *Campylobacter concisus*: его роль в развитии аденокарциномы пищевода была определена ранее в исследовании *in vitro* В. Mozaffari и соавт. [31]. Проведенный анализ показал, что *B. longum* значительно подавляет экспрессию ФНО- α , p53, ЦОГ-2 и блокирует продукцию CDX1 в метаплазированном эпителии без дисплазии, тогда как *L. acidophilus* снижает экспрессию всех вышеперечисленных молекул кроме ИЛ-18, уровень которого он слегка повышает. При воздействии *B. longum* на метаплази-

рованные эпителиальные клетки с высокой степенью дисплазии значительно снижалась экспрессия ФНО- α , ИЛ-18, ЦОГ-2 и происходило полное подавление продукции CDX1. Похожие данные получены при воздействии на данные культуры клеток *L. acidophilus* — достоверное снижение продукции p53, ИЛ-18 и ФНО- α . Таким образом, исследуемые пробиотические штаммы продемонстрировали свою способность подавлять продукцию опухолевых биомаркеров.

На настоящий момент точный механизм, описывающий, каким же путем пробиотики подавляют опухолевую прогрессию, не известен. Однако в ходе исследований установлено, что они могут блокировать рецепторы адгезии, повышать уровень IgA в слизистой, усиливать продукцию белков плотных контактов, выделять бактериоцины (специфические белки, вырабатываемые некоторыми бактериями и подавляющие жизнедеятельность клеток других штаммов того же вида или родственных видов бактерий), ограничивать бактериальную транслокацию, увеличивать барьерную функцию эпителия [32–34]. Из этого следует, что применение пробиотиков может стать важным этапом лечения пациентов с заболеваниями пищевода, но необходимо проведение более масштабных исследований в этой области.

Заключение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об изменении микробиома пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, пищеводом Баррета, аденокарциномой пищевода и эозинофильным эзофагитом. Потенциальными медиаторами воспаления и канцерогенеза выступают толл-подобные рецепторы, цитокины, ядерный фактор κ B, циклооксигеназа-2, экспрессия которых может модифицироваться в зависимости от состава микробиома. Приоритетным направлением в лечении пациентов с заболеваниями пищевода могут стать пробиотики.

Список литературы

1. Шулпекова Ю.О. Кишечный микробиом как особый орган. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2014; 24(6):82-8.
1. Shulpekova Yu.O. Intestinal microbiome as an independent organ. Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol 2014; 24(6):82-8.
2. Полуэктова Е.А., Ляшенко О.С., Шифрин О.С., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2014; 24(5):85-91.
2. Poluektova Ye.A., Lyashenko O.S., Shifrin O.S., Sheptulin A.A., Ivashkin V.T. Modern methods of human gastro-intestinal microflora studying. Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol 2014; 24(5):85-91.
3. Ivashkin V., Drapkina O., Poluektova Ye., Kuchumova S., Sheptulin A., Shifrin O. The effect of a multi-strain probiotic on the symptoms and small intestinal bacterial overgrowth in constipation-predominant irritable bowel syndrome: A randomized, simple-blind, placebo-controlled trial. Am J Clin Med Res 2015; 3(2):18-23.
4. Gagliardi D., Makihara S., Corsi P.R., et al. Microbial flora of the normal esophagus. Diseases of the esophagus: official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus / ISDE1998; 11:248-50.
5. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. FEMS microbiology reviews 2010; 34:415-25.
6. Pei Z., Bini E.J., Yang L., Zhou M., Francois F., Blaser M.J. Bacterial biota in the human distal esophagus. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101:4250-5.
7. Yang L., Lu X., Nossa C.W., Francois F., Peek R.M.,

- Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology* 2009; 137:588-97.
8. Liu N., Ando T., Ishiguro K., et al. Characterization of bacterial biota in the distal esophagus of Japanese patients with reflux esophagitis and Barrett's esophagus. *BMC Infect Dis* 2013; 13:130-5.
 9. Amir I., Konikoff F.M., Oppenheim M., Gophna U., Half E.E. Gastric microbiota is altered in esophagitis and Barrett's esophagus and further modified by proton pump inhibitors. *Environ Microbiol* 2013; 20:141-7.
 10. Rajilic-Stojanovic M., Biagi E., Heilig H.G., et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011; 141(5):1792-801.
 11. Fischbach L.A., Graham D.Y., Kramer J.R., et al. Association between *Helicobacter pylori* and Barrett's Esophagus: A Case-Control Study. *Am J Gastroenterol* 2014; 109(3):357-68.
 12. Pohl H., Welch H.G. The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:142-6.
 13. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году. М.:ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Минздравсоцразвития России» 2014. 260 с.
 13. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The state of the oncologic aid to the population of Russia in 2012. М.: Gertsen Moscow oncological research institute. Ministry of health and social development of the Russian Federation. 2014. 260 p.
 14. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Трухманов А.С., Соколов В.В., Пирогов С.С., Зайратьянц О.В., Шептулин А.А., Лапина Т.Л., Зайратьянц Г.О., Кайбышева В.О. Пищевод Баррета. Клинические рекомендации. Российская гастроэнтерологическая ассоциация 2014. М., 31 с.
 14. Ivashkin V.T., Mayev I.V., Trukhmanov A.S., Sokolov V.V., Pirogov S.S., Zayratyants O.V., Sheptulin A.A., Lapina T.L., Zayratyants G.O., Kaybysheva V.O. Barret's esophagus. Clinical guidelines. Russian gastroenterological association 2014. М., 31 p.
 15. Baghdadi J., Chaudhary N., Pei Z., Yang L. Microbiome, innate immunity, and esophageal adenocarcinoma. *Clin Lab Med* 2014; 34(4):721-32.
 16. Oh D.S., DeMeester S.R., Vallbohmer D., et al. Reduction of interleukin 8 gene expression in reflux esophagitis and Barrett's esophagus with antireflux surgery. *Arch Surg* 2007; 142:554-9.
 17. O'Riordan J.M., Abdel-latif M.M., Ravi N., et al. Proinflammatory cytokine and nuclear factor kappa-B expression along the inflammation-metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:1257-64.
 18. Isomoto H., Inoue K., Kohno S. Interleukin-8 levels in esophageal mucosa and long-term clinical outcome of patients with reflux esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42:410-1.
 19. Ivashkin V., Evsyutina Y., Trukhmanov A., Lyamina S., Malyshev I. Systemic inflammatory response in patients with gastroesophageal reflux disease. *Am J Clin Med Res* 2015; 3(4):64-9.
 20. Blackett K.L., Siddhi S.S., Cleary S., Steed H., Miller M.H., Macfarlane S., Macfarlane G.T., Dillon J.F. Esophageal bacterial biofilm changes in gastroesophageal reflux disease, Barrett's and esophageal carcinoma: association or causality? *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37(11):1084-92.
 21. Babar M., Ryan A.W., Anderson L.A., Segurado R., Turner G., Murray L.J., Murphy S.J., Johnston B.T., Comber H., Reynolds J.V., McManus R. Genes of the interleukin-18 pathway are associated with susceptibility to Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107(9):1331-41.
 22. Yang L., Francois F., Pei Z. Molecular Pathways: Pathogenesis and clinical implications of microbiome alteration in esophagitis and Barrett's esophagus. *Clin Cancer Res* 2012; 18(8):2138-44.
 23. Zhou X., Li D., Resnick M.B., Wands J., Cao W. NADPH oxidase NOX5-S and nuclear factor kappaB1 mediate acid-induced microsomal prostaglandin E synthase-1 expression in Barrett's esophageal adenocarcinoma cells. *Mol Pharmacol* 2013; 83:978-90.
 24. Zaidi A.H., Kelly L.A., Kreft R.E., Barlek M., Omstead A.N., Matsui D., Boyd N.H., Gazarik K.E., Heit M.I., Nistico L., Kasi P.M., Spirk T.L., Byers B., Lloyd E.J., Landreneau R.J., Jobe B.A. Associations of microbiota and toll-like receptor signaling pathway in esophageal adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2016; 16(1):52.
 25. Sherrill J.D., Kc K., Wu D., Djukic Z., Caldwell J.M., Stucke E.M., et al. Desmoglein-1 regulates esophageal epithelial barrier function and immune responses in eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunol* 2014; 7(3):718-29.
 26. Yousefi S., Gold J.A., Andina N., Lee J.J., Kelly A.M., Kozłowski E., et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Natl Med* 2008; 14(9):949-53.
 27. Harris K.J., Fang R., Wagner D., Choe H.N., Kelly C.J., Schroeder S., et al. Esophageal microbiome in eosinophilic esophagitis. *PLoS One* 2015; 10(5):e0128346.
 28. Stefka A.T., Feehley T., Tripathi P., Qiu J., McCoy K., Mazmanian S.K., et al. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(36):13145-50.
 29. Cao A.T., Yao S., Stefka A.T., Liu Z., Qin H., Liu H., et al. TLR4 regulates IFN-gamma and IL-17 production by both thymic and induced Foxp3+ Tregs during intestinal inflammation. *J Leukoc Biol* 2014; 96:895-905.
 30. Benitez A.J., Hoffmann C.M., Muir A.B., Dods K.K., Spergel J.M., et al. Inflammation-associated microbiota in pediatric eosinophilic esophagitis. *Microbiome* 2015; 3:23.
 31. Mozaffari N.B., Daryani N.E., Mirshafiey A., Yazdi M.K., Dallal M.M. Effect of probiotics on the expression of Barrett's esophagus biomarkers. *J Med Microbiol* 2015; 64(4):348-54.
 32. Madsen, K.L. Enhancement of epithelial barrier function by probiotics. *J Epithel Biol Pharmacol* 2012; 5:55-9.
 33. Smith A.R., Macfarlane G.T., Reynolds N., O'May G.A., Bahrami B., Macfarlane S. Effect of a synbiotic on microbial community structure in a continuous culture model of the gastric microbiota in enteral nutrition patients. *FEMS Microbiol Ecol* 2012; 80:135-45.
 34. Quigley E.M. Prebiotics and probiotics: their role in the management of gastrointestinal disorders in adults. *Nutr Clin Pract* 2012; 27:195-200.