

И.Д. Клабуков¹, А.В. Люндуп¹, Т.Г. Дюжева¹, А.В. Тяхт²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Институт регенеративной медицины, Москва, Российская Федерация

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Российская Федерация

Билиарная микробиота и заболевания желчных путей

Традиционно считалось, что желчный проток стерилен, а присутствие в желчи микроорганизмов является маркером патологического процесса. Подобное предположение подтверждалось безуспешностью выделения бактериальных штаммов из нормального желчного протока. В настоящей работе приводится обоснование феномена нормальной микробиоты желчевыводящих путей как отдельного слоя, который защищает желчные пути от колонизации экзогенными микроорганизмами. Раскрывается возможное использование метагеномных данных для профилактики инфекционных заболеваний и послеоперационных осложнений при реконструктивных вмешательствах. Методы сохранения гомеостаза экосистемы нормальной билиарной микробиоты могут быть использованы для предотвращения гепатобилиарных заболеваний и лечения воспалительных заболеваний желчевыводящих путей.

Ключевые слова: билиарная микробиота, билиарный микробиом, холангиты.

(Для цитирования: Клабуков И.Д., Люндуп А.В., Дюжева Т.Г., Тяхт А.В. Билиарная микробиота и заболевания желчных путей. Вестник РАМН. 2017; 72 (3):172–179. doi: 10.15690/vramn787)

Введение

Билиарный тракт представляет собой сложную систему желчевыведения, включающую общий печеночный проток, образующийся от слияния правого и левого долевого печеночных протоков, желчный пузырь со сфинктером Люткенса, общий желчный проток, начинающийся от места соединения общего печеночного и пузырного протоков, и ампулы большого сосочка двенадцатиперстной кишки со сфинктером Одди [1, 2].

Стенки желчного пузыря и протоков состоят из основных слоев — эпителиального, гладкомышечного и серозного, из сетей кровеносных и лимфатических сосудов, а также нервной сети [1]. Поскольку соли желчных кислот обладают антимикробными свойствами, вызывая повреждение бактериальной мембраны и бактериальной ДНК [3], то долгое время исследователи исходили из предположения, что желчные пути и желчь являются стерильными в нормальных условиях [4]. В то же время бактерии, выделенные из желчи больных острым холециститом или холангитом, оказывались вполне

жизнеспособными и культивировались. Эти бактерии обычно были представлены штаммами, населяющими кишечный тракт, — *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Citrobacter spp.*, и их обнаружение было связано с прогрессированием тяжести холангита и неблагоприятным прогнозом [5]. Отмечалось, что некоторые кишечные бактерии приобрели защитные механизмы, придающие устойчивость к воздействию желчных кислот [3]. Эти механизмы были изучены у патогенов *Salmonella spp.* и *Listeria monocytogenes*, которые в обычных условиях бессимптомно колонизируют желчный пузырь [3, 6]. Также было показано, что некоторые виды бактерий — грамположительные, но главным образом грамотрицательные энтеробактерии присутствуют в желчных камнях [3, 6].

С помощью новейших молекулярно-генетических методов, таких как высокопроизводительное метагеномное 16S рРНК секвенирование и полногеномное секвенирование, было обнаружено, что желчная система содержит в себе многокомпонентную микрофлору, которая проявляет активность не только при развитии определенных заболеваний, но и в норме. Т. Wu и соавт.

I.D. Klabukov¹, A.V. Lyundup¹, T.G. Dyuzheva¹, A.V. Tyakht²

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Institute for Regenerative Medicine, Moscow, Russian Federation

² Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Biliary Microbiota and Bile Duct Diseases

Traditionally, the biliary tract has been considered to be normally sterile, and the presence of microorganisms in bile is a marker of a pathological process. This assumption was confirmed by failure in allocation of bacterial strains from the normal bile duct. The paper provides rationale for a phenomenon of the normal biliary microbiota as a separate functional layer which protects a biliary tract from colonization by exogenous microorganisms. We revealed the potential of metagenomic data for prevention of infectious diseases, post-operative complications of reconstructive interventions including bile duct stenting and implantation the tissue-engineered structures exposed to the risks of colonization with pathogenic / exogenous microorganisms. The methods based on preserving homeostasis of normal biliary microbiota ecosystem can be used for prevention of hepatobiliary diseases and treatment of biliary tract inflammatory diseases.

Key words: biliary microbiota, biliary microbiome, cholangitis.

(For citation: Klabukov ID, Lyundup AV, Dyuzheva TG, Tyakht AV. Biliary Microbiota and Bile Duct Diseases. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017; 72 (3):172–179. doi: 10.15690/vramn787)

[7] изучали бактериальные сообщества в кале, желчи и камнях в желчном пузыре на выборке из 29 больных с желчнокаменной болезнью. Оказалось, что таксономическое разнообразие микробиоты билиарной системы было даже выше, чем в кишечнике. В среднем в желчи и желчных камнях каждого пациента были идентифицированы до 500 различных видов бактерий. Также было обнаружено большое сходство между микробиотой кишечника и желчевыводящих путей, хотя присутствовали и существенные различия: так, желчные пути содержали относительно низкий уровень концентрации бактерий отдела *Bacteroidetes*, которые вместе с представителями отдела *Firmicutes* составляют преобладающую долю микробного сообщества кишечника, а также более высокий уровень состава *Proteobacteria*, *TM7*, *Tenericutes*, *Actinobacteria*, *Thermi* и *Cyanobacteria*. Различий в составе конкретных представителей *Firmicutes* обнаружено не было [7]. У пациентов с дискинезией сфинктера Одди, способствующей поступлению микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), отмечено присутствие в желчи филоципов *Proteobacteria* и *Firmicutes*, особенно энтеробактерий, *Bilophila* и *Shewanella algae*, а количество безвредных бактерий было снижено [8].

На сегодняшний день исследование метагенома кишечника человека является одной из центральных тем биомедицинских исследований. Таксономический состав микробиоты кишечника человека значительно варьирует на индивидуальном уровне, при этом он играет важную роль в жизнедеятельности организма человека, образуя жизненно важный «виртуальный орган» [9]. Имеются данные, указывающие на роль микробиоты в изменении функции кишечника и последующего развития заболеваний, при этом нарушается равновесие провоспалительных и противовоспалительных процессов не только на локальном, но и системном уровне [10].

Последние результаты свидетельствуют о том, что по аналогии с ЖКТ слизистая оболочка желчевыводящих путей выполняет функции химического, механического и иммунологического барьера [11], который обеспечивает толерантность к симбионтам. В рамках данной парадигмы большое значение имеет количественная оценка дисфункционализации микробиоты желчных путей, которая по аналогии с микробиотой ЖКТ может быть выполнена методами метагеномного профилирования.

Учитывая тот факт, что значительное количество видов желчной микрофлоры (также по аналогии с бактериями ЖКТ) предположительно не поддаются культивированию с помощью имеющихся методов, бактериальная плотность в желчных путях может быть сравнима с микрофлорой в проксимальных отделах тонкой кишки [10]. Наличие бактерий в желчи и желчных камнях может объяснить, почему желчь при попадании в брюшную полость во время холецистэктомии часто вызывает тяжелые инфекционные осложнения [12]. Описанные выше исследования методами метагеномного секвенирования касаются исключительно изучения образцов желчи, слизи или ткани, полученной из желчного пузыря.

Состояние микробиоты кишечника может являться основной причиной (или же одной из причин) таких заболеваний, как метаболические расстройства, аутоиммунные заболевания и заболевания ЖКТ [13, 14]. Баланс состава кишечного микробного сообщества, наличие или отсутствие в нем ключевых видов, способных осуществлять конкретные функции, играет важную роль в обеспечении гомеостаза или развитии дисбаланса в слизистой оболочке кишечника и за ее пределами. Механизмы, через которые микробиота, в том числе комменсальная,

оказывает свое благотворное или патогенное влияние, остаются до настоящего времени в значительной степени неизвестными. Установлено, что эти механизмы включают в себя выработку сигнальных молекул и узнавание бактериальных эпитопов как клетками кишечного эпителия, так и иммунными клетками слизистой оболочки [15].

В настоящее время взаимодействие микробиоты с организмом хозяина исследуется на примере колоректального рака [16], хронической обструктивной болезни легких, связанной с изменением как микробиоты дыхательных путей, так и микробиоты кишечника [17], а также ассоциации офтальмологических заболеваний с изменениями микробиоты поверхности глазного яблока [18]. Однако мало внимания уделяется взаимосвязи микробиоты кишечника с заболеваниями других систем и органов. Например, еще совсем недавно хеликобактерная инфекция была ассоциирована только с возникновением язвы и гастрита, а впоследствии и рака желудка, однако современными исследованиями была показана ее ключевая роль в развитии аутоиммунных заболеваний, в частности бронхиальной астмы при эрадикации данной бактерии [19], а также желчнокаменной болезни [20].

В нашей работе рассматриваются возможности обособления микробиотного слоя в качестве совершенно отдельной симбиотической составляющей с диагностическим и терапевтическим потенциалом.

Микробиотный слой желчных путей

Морфологически слой в организме представляет собой совокупность клеток определенного типа тканей [21]. В отношении стенки желчного протока, как правило, выделяют субсерозный, мышечный, субэпителиальный и эпителиальный слои [22]. Внутренняя поверхность протока выстлана однослойным цилиндрическим (призматическим, столбчатым) эпителием. Мышечный слой очень тонкий и представлен отдельными пучками миоцитов, ориентированных спирально. Между мышечными волокнами много соединительной ткани. Наружная (адвентициальная) оболочка образована рыхлой соединительной тканью и содержит кровеносные сосуды. В стенках протоков располагаются железы, секретирующие слизь.

Использование термина «слой» в отношении микробиоты ЖКТ употребляется повсеместно [23–28], аналогично микрофлора желчного протока составляет отдельный слой (микробиотный слой желчных путей), основу которого образуют микробиотные сообщества, способные в норме противостоять распространению билиарных инфекций и поддерживать нормальный функционал холангиоцитов в стенке желчного протока (рис. 1).

Микробиотный слой, как и гистологические слои тканей, имеет четкую характеристику, образуя агрегаты бактериальных клеток с белками и полисахаридами [24], толщиной примерно 2–40 мкм [29], и в некоторых случаях может представлять биопленку [30]. Пристеночная микробиота непосредственно прилегает к мукозному слою [31], и в большинстве известных на сегодня работ включается в его состав [11, 32, 33].

С точки зрения современных представлений, микробиота желчных путей представляет собой совокупность микроорганизмов, в норме препятствующих заселению желчного протока экзогенными микроорганизмами из ЖКТ и сдерживающих распространение вирусных инфекций [34].

Предполагается, что системный дисбаланс микробной популяции билиарной и кишечной микробиоты может

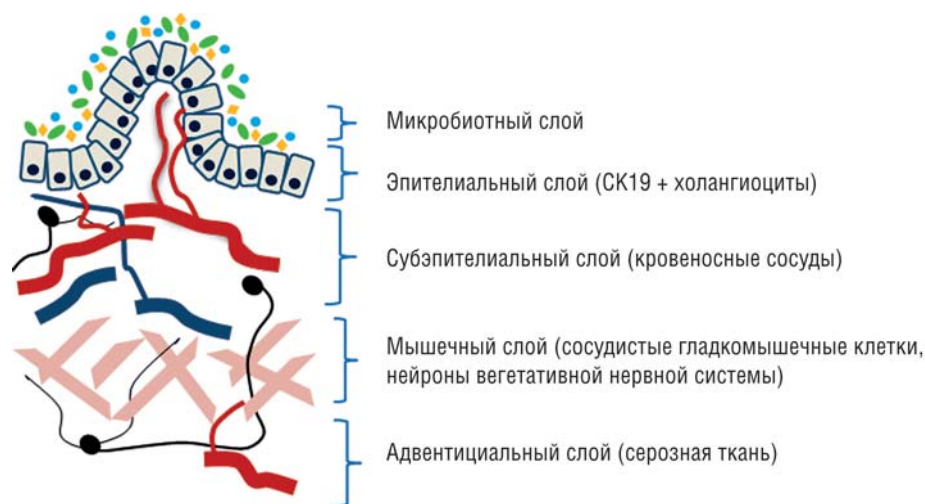


Рис. 1. Многослойная структура стенки желчного протока: выделены слои билиарной микробиоты, эпителиоцитов желчного протока, сосудистой сети, гладкомышечных и нервных клеток, а также серозной ткани

оказывать более выраженное влияние на прогрессирование хронических воспалительных заболеваний, чем влияние патогенных микроорганизмов [11]. Например, нарушения трансдукции сигнала паттернраспознающих рецепторов холангиоцитов, отвечающих за толерантность к билиарной микробиоте в норме, могут быть ассоциированы с хроническим холангитом [35].

Таким образом, состав микробиоты может влиять на риск возникновения и течения острых и хронических воспалительных заболеваний билиарной системы и печени, а в отношении микробиотного слоя стенки желчного протока возможна и важна не только диагностика его дисфункционализации, но и разработка методов ее коррекции, направленных на лечение больных.

Микробиота билиарного тракта

Выявление точной природы микробов в желчных путях в физиологических и патологических условиях, а также их роли в патогенезе заболеваний находится только в начальной стадии своего исследования. В норме микробиота желчных путей представлена штаммами, которые имеют большое сходство с микробиотой верхних отделов пищеварительного тракта, и в частности двенадцатиперстной кишки [36]. Антимикробная активность желчных кислот и иммуноглобулины слизистой оболочки оказывают селективное давление при отборе устойчивых к агрессивной среде штаммов [36, 37], формируя уникальную микрофлору билиарного тракта.

Воспалительные заболевания желчевыводящей системы охватывают различные клинические состояния, обусловленные как генетическими, так и экологическими факторами риска [11]. В то время как генетические факторы риска, связанные с воспалением желчного протока, указывают на важность транспорта метаболитов и иммунных реакций, основные экологические факторы, как правило, рассматриваются в свете воздействия микроорганизмов, проникающих в желчный проток из ЖКТ [38, 39]. Например, у пациентов с дискинезией сфинктера Одди наблюдалось присутствие разнообразных энтеробактерий, а также патогенной микрофлоры [8].

Ранее были описаны микроорганизмы, которые могут являться этиологическими агентами воспалительных заболеваний желчных путей [11], выявлен ряд конкретных

бактериальных видов, ассоциированных с заболеваниями желчных путей [40], однако их идентификация у пациента в настоящий момент не используется для улучшения терапии. Подобно воспалительным заболеваниям кишечника [41], дисбиоз может играть важную роль при воспалении желчных путей. Изменение состава микробиоты может влиять на регуляцию метаболизма желчных кислот [39]. Многочисленные исследования показали влияние микрофлоры кишечника на процессы не только в кишечнике, но и вне его [42] (например, заболевания органов мочеотделения и половой сферы [43], ВИЧ [44], неалкогольная жировая болезнь печени [45], а также нейродегенеративные расстройства [46]). Показана важная роль дисбиоза в целом как системного биомаркера вместо идентификации одиночных видов микроорганизмов в качестве возбудителей.

Исследования билиарной микробиоты, проведенные с помощью секвенирования 16S рРНК, указывают на сходство билиарной микробиоты с микробиотой двенадцатиперстной кишки [36], что подтверждает гипотезу о происхождении билиарной микробиоты из микрофлоры кишечника. Подобное родство позволяет предположить возможные функции билиарной микробиоты.

Используя сравнение с функционалом микрофлоры кишечника [47], можно сделать предположение о метаболической активности и функциях билиарной микробиоты (рис. 2), таких как гидролиз желчных кислот до составных компонентов, расщепление ароматических колец экзогенов, деконъюгация комплексов желчных кислот гидролитическими ферментами и образование свободных желчных кислот, эндогенная метаболическая толерантность к желчным кислотам и их конъюгатам, параметры которых в норме обеспечивают предотвращение колонизации желчных путей экзогенными микроорганизмами и иммунологическую толерантность.

Микробиота может как ингибировать инфицирование эпителиальных клеток ротавирусами [48], так и способствовать репликации энтеро- и реовирусов [49]. Предполагается, что это возможно за счет прямых или косвенных взаимодействий микробиоты (или ее метаболитов) с эпителиальными клетками и вирусными частицами [34]. Таким образом, выбор определенной антибактериальной терапии способен опосредованно снижать или увеличивать риски холангиовирусной инфекции в желчных путях.

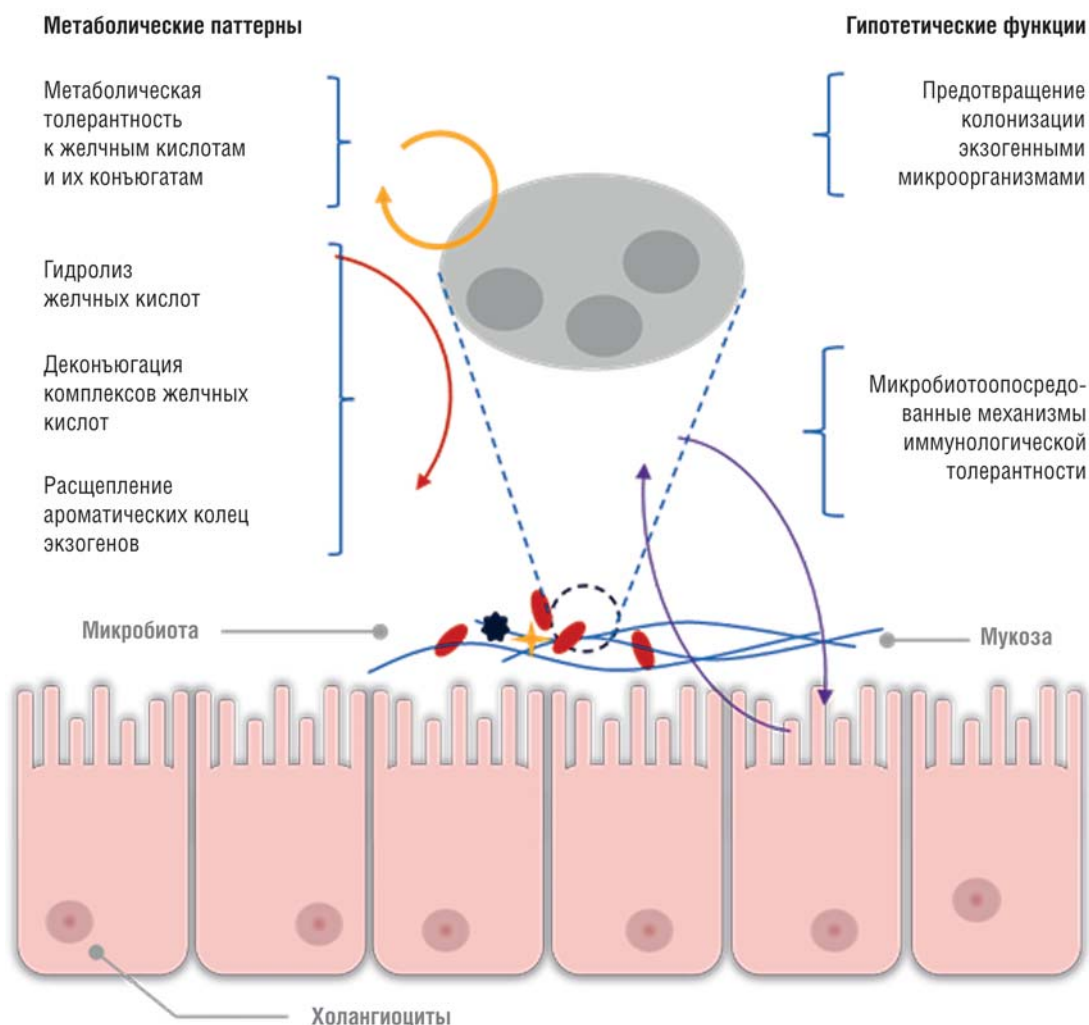


Рис. 2. Предполагаемый метаболический функционал билиарной микробиоты

Диагностика и терапия холангиопатий

Значительный рост уровня заболеваемости населения экономически развитых стран желчнокаменной болезнью закономерно привел к увеличению числа пациентов, перенесших холецистэктомию [50]. По различным оценкам, до 10% взрослого населения земного шара страдает желчнокаменной болезнью [51].

Нарушения гомеостаза и дисфункционализация билиарной микробиоты могут приводить к билиарным патологиям. Среди заболеваний желчных путей (холангиопатий) выделяют иммуноопосредованные, инфекционные, генетически обусловленные, ишемические, лекарственно- или токсининдуцированные [52]. Нарушение нормальной структуры и состава каждого слоя стенки желчных путей приводит к развитию соответствующих поражений. Например, повреждение эпителиального слоя (холангиоцитов) приводит к фиброзу, стенозам, образованию стриктур желчного протока и холангиокарциномы; нарушения субэпителиального слоя (сосудистой сети) способствуют ишемии и стриктурам; повреждение гладкомышечных клеток и нервной сети обуславливают дискинезию желчных путей, а дисфункция микробиоты способствует воспалению и инфекции (холециститы и холангиты).

Метагеномное профилирование образцов позволяет оценить состав микробиоты на полуколичественном уровне — в виде относительной представленности таксонов, генов или групп генов. Основными эксперименталь-

ными форматами являются **секвенирование последовательностей гена 16S рРНК** (или другого маркерного гена) и **полногеномное секвенирование**.

Первый метод позволяет оценить только таксономический состав микробиоты, то есть качественно определить присутствие в образце видов, родов, семейств и более высоких уровней таксономии и соотношение их долей среди общей бактериальной представленности. Однако бактериальные виды, имеющие сходные последовательности 16S рРНК секвенирования, могут обладать различными наборами генов, включая имеющие клиническое значение группы, например доминанты антибиотикорезистентности и факторы вирулентности [53], и вносить ошибки в результаты исследования.

Второй метод позволяет охарактеризовать микробиоту не только таксономически, но и комплексно — определив относительную представленность генов, их групп, а также метаболических путей, включающих ферменты, кодируемые детектируемыми генами. Такой метод дает оценку полного метаболического потенциала микробного сообщества (микробиом), но при этом не позволяет оценить функциональную активность сообщества, поскольку наличие гена вовсе не означает, что данный ген транскрибируется или что соответствующий РНК-продукт транслируется.

Функционал микробиоты может быть определен как активность конкретных микробных генов, регулирующих клеточный метаболизм [54], нормализованная на

активность генов домашнего хозяйства. Исследованиям данных вопросов посвящены метатранскриптомика и метапротеомика — области молекулярной генетики, лишь набирающие по сравнению с метагеномикой ход [55].

В работе консорциума «Микробиом человека» (The Human Microbiome Project Consortium) [54] используется термин «нормальная микробиота» (*normal microbiota*) как синоним термина «микробиом/микробиота здорового человека» (*healthy human microbiome*). В работе [47] приводится модель, согласно которой микробиота здорового человека может быть охарактеризована наличием специфических метаболических путей и функций. При этом сбору образцов предшествовал выбор критериев и подбор когорты здоровых участников [56] с целью исключения из выборки участников с микробиотоассоциированными патологиями внутренних органов.

В контексте изучения билиарной микробиоты важной целью является определение статистически значимых различий в уровне относительной представленности тех или иных генов, групп генов или микробных видов у здоровых и больных людей, и выявление межгрупповых различий, ассоциаций состава с клиническими факторами, а также идентификация образцов с аномальным составом микробиоты [57]. Идентификация таких различий в будущем позволит корректно провести биологическую интерпретацию и впоследствии подобрать антимикробную терапию.

Однако забор образцов билиарной микробиоты трудноосуществим с инструментальной точки зрения, поскольку билиарные штаммы в основном облигатны и присутствуют в пристеночных слоях, не попадая массово в желчь [8, 58]. Напротив, распространение инфекции стимулирует инфекцию в просвете протока и обогащение желчи бактериальной флорой. Забор билиарной микробиоты у здорового человека возможен лишь в редких случаях, например при ятрогенной травме или выполнении биопсии, что осложняет процедуру лабораторного исследования внутреннего содержимого желчного протока. В связи с этим выявленные корреляции между составом кишечной микробиоты и заболеваниями желчных путей позволят установить косвенные ассоциации, тем самым будут способствовать диагностике заболеваний желчных путей на ранней стадии [59].

Опыт выполнения трансплантации микробиоты при воспалительных заболеваниях ЖКТ [60] говорит о потенциальной возможности использования подобного метода для терапии холангитов различной этиологии. Речь идет о методах трансплантации в просвет протока нормальной микрофлоры для предотвращения колонизации эпителиоцитов патогенными штаммами, поступающими через сфинктер Одди из двенадцатиперстной кишки. Развитие технологий биобанкирования микробиоты для использования в качестве альтернативы антимикробной терапии при заболеваниях ЖКТ [61] потенциально позволит использовать трансплантацию билиарной микробиоты здоровых доноров для предотвращения развития ближайших и отдаленных осложнений при лечении заболеваний желчных протоков и выполнения реконструктивных операций с минимальными послеоперационными осложнениями.

Первичный склерозирующий холангит. Данные клинических исследований предполагают потенциально центральную роль микробиоты в этиопатогенезе и перспективной мишени фармакотерапии первичного склерозирующего холангита [62], а недавние исследования объяснили молекулярные механизмы микробиотоассоциированного патогенеза этого заболевания [63]. Можно

предположить, что ранняя диагностика первичного склерозирующего холангита возможна путем выявления специфических сигнатур в образцах фекальной микробиоты.

Холелитиаз. Состав микробиоты может иметь большое значение в профилактике холелитиаза и выборе методов комплексной терапии после удаления конкрементов из желчных протоков с целью предотвращения рецидивов [8, 11]. Так, продукты бактериального метаболизма и ферменты, особенно β -глюкуронидаза, вызывают осаждение билирубина из раствора, что приводит к образованию коричневых камней и рецидивному холедохолитиазу [64, 65]. Поэтому состав микробиоты желчного пузыря может являться одной из причин, а также ранним диагностическим маркером образования желчных камней [66].

Калькулезный холецистит, холангиты. Терапия бактериальных холангитов в настоящее время заключается в подборе антибактериальных препаратов и дренировании желчных протоков [67]. На сегодня данные по антибактериальной терапии при выполнении операций на желчных путях еще остаются предметом исследований. В работе В. Darkahi и соавт. [68] определялась резистентность выделенных из образцов желчи штаммов к ампициллину, триметроприму/сульфаметоксазолу, фторхинолонам, цефалоспорином. Многофакторный статистический анализ показал, что выделение микроорганизмов было единственным фактором, достоверно связанным с повышенным риском послеоперационных инфекционных осложнений [68]. Однако антибактериальная терапия, направленная против инфекции, также воздействует и на представителей комменсальной микробиоты кишечника, изменяя ее состав. При этом происходят различные функциональные сдвиги [69–71], оказывающие влияние на здоровье пациента и провоцирующие развитие других заболеваний, вероятно, ассоциированных с изменением состава микробиоты кишечника.

Осложнения при стентировании желчных протоков

Дренирование и стентирование желчных протоков — необходимые методы лечения целого ряда доброкачественных и злокачественных заболеваний органов гепатопанкреатодуоденальной зоны — могут использоваться как в качестве окончательного метода лечения, так и в виде этапа перед проведением радикальной операции [72]. Колонизация билиарных стентов с образованием полимикробной биопленки наблюдается уже через 1 нед после имплантации стента. Микробная колонизация начинается с дистального конца билиарного стента, обращенного в просвет двенадцатиперстной кишки, и проксимально распространяется по всему стенту, в основном по внутренней поверхности [73]. Быстрый рост биопленки на внутренней поверхности билиарного стента показывает, что лишь одна желчь и панкреатический сок не в состоянии предотвратить рост бактериальных биопленок на поверхности инородных тел [32]. Инфицирование может происходить как аэробными, так и анаэробными бактериями, которые обычно встречаются в кишечнике.

Заключение

В настоящее время имеется достаточно научных данных, обосновывающих актуальность исследования билиарной микробиоты на уровне метагенома (билиарного микробиома).

Обосновано выделение дополнительного слоя билиарной стенки как микробиотного слоя, покрывающего эпителиальный слой желчного протока и тесно с ним

связанного, при этом его морфологическая структура представляет собой агрегаты преимущественно некультивируемых бактериальных штаммов с белками и полисахаридами.

Билиарная микробиота несет ряд функций, связанных как с местными, так и системными проявлениями. Предполагается, что такими функциями являются защита эпителиальных стенок от колонизации патогенной и условно-патогенной микробиотой, поступающей из ЖКТ, и предотвращение распространения вирусных инфекций желчных путей.

Имеются обоснованные данные о связи нарушений в составе билиарной микробиоты с нозологическими характеристиками заболеваний желчных протоков. Патологии билиарной микробиоты могут представлять собой кофакторы в патогенезе некоторых холангиопатий, в том числе бактериального холангита, холецистита и, возможно, первичного склерозирующего холангита.

Существующие методы количественной оценки состава микробиоты с использованием метагеномного секвенирования, последующей биоинформатической обработки и анализа функционала микробиома билиарной системы позволяют выявлять разнообразие микробного

сообщества, населяющего желчные пути в норме, а также характерные микробиомные биомаркеры при наличии патологии. Такие результаты потенциально могут быть использованы для профилактики и терапии микробиотоассоциированных заболеваний желчевыводящей системы.

Все эти данные являются основой для рассмотрения влияния микробиоты на лечение заболеваний не только желчных протоков, но и других органов.

Источник финансирования

Настоящая работа выполнена при поддержке соглашения о субсидии № 14.604.21.0133 Минобрнауки РФ (уникальный идентификатор RFMEFI60414X0133) с использованием центра коллективного пользования «Регенеративная медицина» (ID310020).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Keplinger KM, Bloomston M. Anatomy and embryology of the biliary tract. *Surg Clin North Am.* 2014;94(2):203–217. doi: 10.1016/j.suc.2014.01.001.
2. Лоранская И.Д., Ракитская Л.Г., Малахова Е.В., Мамедова Л.Д. Лечение хронических холециститов // *Лечащий врач.* — 2006. — №6 — С. 12–17. [Loranskaya ID, Rakitskaya LG, Malakhova EV, Mamedova LD. Management of chronic cholecystitis. *Practitioner.* 2006;(6):12–17. (In Russ).]
3. Merritt ME, Donaldson JR. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. *J Med Microbiol.* 2009;58(12):1533–1541. doi: 10.1099/jmm.0.014092-0.
4. Ljungh A, Wadstrom T. The role of microorganisms in biliary tract disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2002;4(2):167–171. doi: 10.1007/s11894-002-0055-6.
5. Csendes A, Burdiles P, Maluenda F, et al. Simultaneous bacteriologic assessment of bile from gallbladder and common bile duct in control subjects and patients with gallstones and common duct stones. *Arch Surg.* 1996;131(4):389–394. doi: 10.1001/archsurg.1996.01430160047008.
6. Hardy J, Francis KP, DeBoer M, et al. Extracellular replication of *Listeria monocytogenes* in the murine gall bladder. *Science.* 2004;303(5659):851–853. doi: 10.1126/science.1092712.
7. Wu T, Zhang Z, Liu B, et al. Gut microbiota dysbiosis and bacterial community assembly associated with cholesterol gallstones in large-scale study. *BMC Genomics.* 2013;14:669. doi: 10.1186/1471-2164-14-669.
8. Liang T, Su W, Zhang Q, et al. Roles of sphincter of oddi laxity in bile duct microenvironment in patients with cholangiolithiasis: from the perspective of the microbiome and metabolome. *J Am Coll Surg.* 2016;222(3):269–280 e210. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.009.
9. Jeffery IB, Claesson MJ, O'Toole PW, Shanahan F. Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(9):591–592. doi: 10.1038/nrmicro2859.
10. Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews Immunology.* 2014;14(10):667–685.
11. Verdier J, Luedde T, Sellge G. Biliary mucosal barrier and microbiome. *Viszeralmedizin.* 2015;31(3):156–161. doi: 10.1159/000431071.
12. Hazrah P, Oahn KT, Tewari M, et al. The frequency of live bacteria in gallstones. *HPB (Oxford).* 2004;6(1):28–32. doi: 10.1080/13651820310025192.
13. Manichanh C, Borrueil N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(10):599–608. doi: 10.1038/nrgastro.2012.152.
14. Zhao LP. The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. *Nature Reviews Microbiology.* 2013;11(9):639–647. doi: 10.1038/nrmicro3089.
15. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90(3):859–904. doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
16. Zeller G, Tap J, Voigt AY, et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol.* 2014;10(11):766. doi: 10.15252/msb.20145645.
17. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 2012;148(6):1258–1270. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035.
18. Lu LJ, Liu J. Human microbiota and ophthalmic disease. *Yale J Biol Med.* 2016;89(3):325–330.
19. Josefowicz SZ, Niec RE, Kim HY, et al. Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. *Nature.* 2012;482(7385):395–399. doi: 10.1038/nature10772.
20. Zhang FM, Yu CH, Chen HT, et al. *Helicobacter pylori* infection is associated with gallstones: epidemiological survey in China. *World J Gastroenterol.* 2015;21(29):8912–8919. doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8912.
21. Marieb EN, Hoehn K. *Human anatomy and physiology.* 7th ed. Pearson; 2007. P. 498–499.
22. Balemba OB, Salter MJ, Mawe GM. Innervation of the extrahepatic biliary tract. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2004;280(1):836–847. doi: 10.1002/ar.a.20089.
23. Hendrickx AP, Top J, Bayjanov JR, et al. Antibiotic-driven dysbiosis mediates intraluminal agglutination and alternative segregation of *Enterococcus faecium* from the intestinal epithelium. *MBio.* 2015;6(6):e01346–01345. doi: 10.1128/mBio.01346-15.
24. Li H, Limenitakis JP, Fuhrer T, et al. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche. *Nat Commun.* 2015;6:8292. doi: 10.1038/ncomms9292.

25. Savage DC, Dubos R, Schaedler RW. The gastrointestinal epithelium and its autochthonous bacterial flora. *J Exp Med.* 1968;127(1):67–76. doi: 10.1084/jem.127.1.67.
26. McFarland LV. Update on the changing epidemiology of Clostridium difficile-associated disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2008;5(1):40–48. doi: 10.1038/ncpgasthep1029.
27. Cohen MB. Clostridium difficile infections: emerging epidemiology and new treatments. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48 Suppl 2:S63–65. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181a118c6.
28. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol.* 2005;11(8):1131–1140. doi: 10.3748/wjg.v11.i8.1131.
29. Limoli DH, Jones CJ, Wozniak DJ. Bacterial extracellular polysaccharides in biofilm formation and function. *Microbiol Spectr.* 2015;3(3). doi: 10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014.
30. de Vos WM. Microbial biofilms and the human intestinal microbiome. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2015;1(1):15005. doi: 10.1038/npjbiofilms.2015.5.
31. Chen WG, Liu FL, Ling ZX, et al. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One.* 2012;7(6):e39743. doi: 10.1371/journal.pone.0039743.
32. Swidsinski A, Loening-Baucke V. *Functional structure of intestinal microbiota in health and disease.* In: Fredricks DN, editor. *Human microbiota: how microbial communities affect health and disease.* Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2013. P. 211–253. doi: 10.1002/9781118409855.
33. Sung JY, Costerton JW, Shaffer EA. Defense system in the biliary tract against bacterial infection. *Dig Dis Sci.* 1992;37(5):689–696. doi: 10.1007/Bf01296423.
34. Robinson CM, Pfeiffer JK. Viruses and the Microbiota. *Annu Rev Virol.* 2014;1:55–69. doi: 10.1146/annurev-virology-031413-085550.
35. Mueller T, Beutler C, Pico AH, et al. Enhanced innate immune responsiveness and intolerance to intestinal endotoxins in human biliary epithelial cells contributes to chronic cholangitis. *Liver Int.* 2011;31(10):1574–1588. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02635.x.
36. Ye F, Shen H, Li Z, et al. Influence of the biliary system on biliary bacteria revealed by bacterial communities of the human biliary and upper digestive tracts. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150519. doi: 10.1371/journal.pone.0150519.
37. Gunn JS. Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. *Microbes Infect.* 2000;2(8):907–913. doi: 10.1016/s1286-4579(00)00392-0.
38. Giannelli V, Di Gregorio V, Iebba V, et al. Microbiota and the gut-liver axis: bacterial translocation, inflammation and infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(45):16795–16810. doi: 10.3748/wjg.v20.i45.16795.
39. Miyake Y, Yamamoto K. Role of gut microbiota in liver diseases. *Hepatol Res.* 2013;43(2):139–146. doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01088.x.
40. Govorun VM, Momynaliev KT, Chelishcheva VV, Isakov VA. Helicobacter spp. found in gallbladder stones. *Gut.* 2002;51(Suppl 2):A74.
41. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe.* 2014;15(3):382–392. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.005.
42. Pflughoeft KJ, Versalovic J. Human microbiome in health and disease. *Annu Rev Pathol.* 2012;7:99–122. doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132421.
43. Markland SM, LeStrange KJ, Sharma M, Knitel KE. Old friends in new places: exploring the role of extraintestinal E. coli in intestinal disease and foodborne illness. *Zoonoses Public Health.* 2015;62(7):491–496. doi: 10.1111/zph.12194.
44. Lozupone CA, Li M, Campbell TB, et al. Alterations in the gut microbiota associated with HIV-1 infection. *Cell Host Microbe.* 2013;14(3):329–339. doi: 10.1016/j.chom.2013.08.006.
45. Compare D, Coccoli P, Rocco A, et al. Gut-liver axis: The impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(6):471–476. doi: 10.1016/j.numecd.2012.02.007.
46. Hoban A, Stilling R, Desbonnet L, et al. Regulation of myelination in the prefrontal cortex by the gut microbiota: implications for health and disease. *FASEB J.* 2015;29(1 Suppl):672.4.
47. Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe.* 2012;12(5):611–622. doi: 10.1016/j.chom.2012.10.012.
48. Varyukhina S, Freitas M, Bardin S, et al. Glycan-modifying bacteria-derived soluble factors from Bacteroides thetaiotaomicron and Lactobacillus casei inhibit rotavirus infection in human intestinal cells. *Microbes Infect.* 2012;14(3):273–278. doi: 10.1016/j.micinf.2011.10.007.
49. Kuss SK, Best GT, Etheredge CA, et al. Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. *Science.* 2011;334(6053):249–252. doi: 10.1126/science.1211057.
50. Гибадулина И.О., Гибадулин Н.В. Диагностические аспекты хронического холангита после холецистэктомии // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* — 2011. — №6 — С. 68–72. [Gibadulina IO, Gibadulin NV. Diagnostic aspects of chronic cholangitis after cholecystectomy. *Eksp Klin Gastroenterol.* 2011;(6):68–72. (In Russ).]
51. Shaffer EA. Epidemiology and risk factors for gallstone disease: has the paradigm changed in the 21st century? *Curr Gastroenterol Rep.* 2005;7(2):132–140. doi: 10.1007/s11894-005-0051-8.
52. Nakanuma Y. Tutorial review for understanding of cholangiopathy. *Int J Hepatol.* 2012;2012:547840. doi: 10.1155/2012/547840.
53. Welch RA, Burland V, Plunkett G 3rd, et al. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(26):17020–17024. doi: 10.1073/pnas.252529799.
54. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486(7402):207–214. doi: 10.1038/nature11234.
55. Simon C, Daniel R. Metagenomic analyses: past and future trends. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(4):1153–1161. doi: 10.1128/AEM.02345-10.
56. Aagaard K, Petrosino J, Keitel W, et al. The Human Microbiome Project strategy for comprehensive sampling of the human microbiome and why it matters. *FASEB J.* 2013;27(3):1012–1022. doi: 10.1096/fj.12-220806.
57. Dubinkina VB, Ischenko DS, Ulyantsev VI, et al. Assessment of k-mer spectrum applicability for metagenomic dissimilarity analysis. *BMC Bioinformatics.* 2016;17:38. doi: 10.1186/s12859-015-0875-7.
58. Scott AJ, Khan GA. Origin of bacteria in bile duct bile. *Lancet.* 1967;2(7520):790–792. doi: 10.1016/S0140-6736(67)92231-3.
59. Hov JR. *The microbiome and human disease: a new organ of interest in biliary disease.* In: Hirschfield G, Adams D, Liaskou E, editors. *Biliary disease: from science to clinic.* Cham: Springer International Publishing; 2017. P. 85–96. doi: 10.1007/978-3-319-50168-0_5.
60. Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis.* 2014;8(12):1569–1581. doi: 10.1016/j.crohns.2014.08.006.
61. Bolan S, Seshadri B, Talley NJ, Naidu R. Bio-banking gut microbiome samples. *EMBO Rep.* 2016;17(7):929–930. doi: 10.15252/embr.201642572.
62. Tabibian JH, O'Hara SP, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis and the microbiota: current knowledge and perspectives on etiopathogenesis and emerging therapies. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49(8):901–908. doi: 10.3109/00365521.2014.913189.

63. Mattner J. Impact of microbes on the pathogenesis of primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). *Int J Mol Sci.* 2016;17(11):1864. doi: 10.3390/ijms17111864.
64. Vitek L, Carey MC. New pathophysiological concepts underlying pathogenesis of pigment gallstones. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2012;36(2):122–129. doi: 10.1016/j.clinre.2011.08.010.
65. Stinton LM, Myers RP, Shaffer EA. Epidemiology of gallstones. *Gastroenterol Clin North Am.* 2010;39(2):157–169. doi: 10.1016/j.gtc.2010.02.003.
66. Keren N, Konikoff FM, Paitan Y, et al. Interactions between the intestinal microbiota and bile acids in gallstones patients. *Environ Microbiol Rep.* 2015;7(6):874–880. doi: 10.1111/1758-2229.12319.
67. Krastev Z, Vladimirov B, Mateva L, Alexiev A. Quantitative assessment of severity of biliary tract infection. *Hepatogastroenterology.* 1996;43(10):792–795.
68. Darkahi B, Sandblom G, Liljeholm H, et al. Biliary microflora in patients undergoing cholecystectomy. *Surg Infect (Larchmt).* 2014;15(3):262–265. doi: 10.1089/sur.2012.125.
69. Cotter PD, Stanton C, Ross RP, Hill C. The impact of antibiotics on the gut microbiota as revealed by high throughput DNA sequencing. *Discov Med.* 2012;13(70):193–199.
70. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4212–4218. doi: 10.1172/Jci72333.
71. Ecological modeling from time-series inference: insight into dynamics and stability of intestinal microbiota. *PLoS Comput Biol.* 2013;9(12):e1003388. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003388.
72. Глебов К.Г., Котовский А.Е., Дюжева Т.Г. Критерии выбора конструкции эндопротеза для эндоскопического стентирования желчных протоков // *Анналы хирургической гепатологии.* — 2014. — Т.19. — №2 — С. 55–65. [Glebov KG, Kotovskiy AE, Dyuzheva TG. Criteria for the choice of construction of endoprosthesis for endoscopic biliary stenting. *Annaly khirurgicheskoi gepatologii.* 2014;19(2):55–65. (In Russ.)]
73. Swidsinski A, Schlien P, Pernthaler A, et al. Bacterial biofilm within diseased pancreatic and biliary tracts. *Gut.* 2005;54(3):388–395. doi: 10.1136/gut.2004.043059.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Клабуков Илья Дмитриевич, научный сотрудник отдела передовых клеточных технологий Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** ilya.klabukov@gmail.com, **SPIN-код:** 3388-8859, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-2888-7999>

Людуп Алексей Валерьевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделом передовых клеточных технологий Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** lyundup@gmail.com, **SPIN-код:** 4954-3004, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>

Дюжева Татьяна Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом регенеративной хирургии печени и поджелудочной железы Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** dtg679@gmail.com, **SPIN-код:** 7325-2086, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-0573-7573>

Тягт Александр Викторович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоинформатики Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины ФМБА России
Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, **тел.:** +7 (499) 245-94-59, **e-mail:** a.tyakht@gmail.com, **SPIN-код:** 6183-5445, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-7358-2537>