Biliary Tract Microbiota and Its Clinical Significance in the Development of Biliary Diseases

Review Article

Parastoo Saniee[1*], Farinoosh Alidaee[1], Marzieh Raoofimanesh[1]

[1]Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University G.C, Tehran, Iran

ABSTRACT

Currently, the microbiota is considered an irreplaceable component in the human body, which has a crucial role in different physiological functions. The gallbladder and hepatobiliary ducts are of the most unknown environments in the human body due to difficulty in collecting samples. For a long time, the biliary system of healthy people has been considered sterile. One reason for this hypothesis is the presence of several defensive mechanisms in the biliary system. Intestinal and upper gastrointestinal tract microbiota as well as systemic bacteremia, are considered possible sources of biliary microbiota. Molecular studies demonstrated that changes in the bile microbiota population were associated with the formation of gallstones. Furthermore, changes in the components and contents of the biliary microbiota could be possible factors in the development of gallbladder inflammatory diseases, including primary sclerosis cholangitis and primary biliary cholangitis as well as biliary tract cancer. Clarifying the details of these relationships requires further studies. A detailed comprehension of the impact of the biliary microbiota on the development or progression of biliary diseases may facilitate the development of strategies for modulating the biliary microbiota in order to prevent the occurrence or treatment of such diseases.

Keywords: Microbiota; Biliary tract; Biliary diseases

Please cite this paper as:
Saniee P, Alidaee F, Raoofimanesh M. Biliary Tract Microbiota and Its Clinical Significance in the Development of Biliary Diseases. *Govaresh* 2022;27:6-16.

Corresponding author:
Parastoo Saniee , PhD
Address: Shahid Beheshti University, Velenjak, Tehran, Iran
Tel: + 98 21 29905940
Fax: + 98 21 22431664
Email: p_saniee@sbu.ac.ir
Received : 21 Jun. 2021
Edited : 01 Dec. 2021
Accepted: 02 Dec. 2021

مقاله مروری

میکروبیوتای صفرا و اهمیت بالینی آن در بروز بیماری های صفراوی

پرستو صنیعی[1*] ، فرینوش عالی داعی[1]، مرضیه رئوفی منش[1]

[1]بخش میکروبیولوژی و زیست فناوری میکروبی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

امروزه میکروبیوتا به عنوان جزئی غیر قابل جایگزین در بدن انسان در نظر گرفته می شود که حضور آن برای انجام عملکردهای فیزیولوژیکی مختلف ضروری است. کیسه صفرا و مجاری صفراوی-کبدی به علت روش های دشوار نمونه گیری، یکی از ناشناخته ترین محیط ها در بدن انسان هستند. مدتها اعتقاد براین بود که سیستم صفراوی افراد سالم، استریل است. یکی از دلایل این فرضیه، وجود ساز و کارهای ضد میکروبی در سیستم صفراوی است. میکروبیوتای روده و دستگاه گوارش فوقانی و همچنین باکتریمی سیستمیک از منشا های احتمالی میکروبیوتای صفراوی در نظر گرفته می شوند. مطالعات ملکولی نشان می دهد که تغییر جمعیت میکروبیوتای صفراوی با تشکیل سنگ های صفراوی مرتبط است. همچنین تغییر در اجزا و محتویات میکروبیوتای صفراوی به عنوان عامل احتمالی موثر در ایجاد بیماری های التهابی صفرا شامل کلانژیت اسکلروزان اولیه و کلانژیت صفرای اولیه و همچنین سرطان های صفراوی مطرح است که روشن شدن جزییات این ارتباط نیازمند مطالعات بیشتر در آینده است. درک این نکته که میکروبیوتای ساکن صفراوی در ایجاد و یا پیشرفت بیماری نقش دارند نوید بخش این است که شاید بتوان با تغییرات و مداخلات در میکروبیوتا در جهت پیشگیری و یا تسریع بهبود فرد گام برداشت.

کلیدواژه: میکروبیوتا، مجاری صفرا ، بیماری های صفراوی

گوارش/ دوره ۲۷، شماره ۱/ بهار ۱۴۰۱/۱۶-۶

***نویسنده مسئول:** پرستو صنیعی

ولنجک، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، بخش میکروبیولوژی

تلفن : ۰۲۱-۲۹۹۰۵۹۴۰

نمابر : ۰۲۱-۲۲۴۳۱۶۶۴

پست الکترونیک: p_saniee@sbu.ac.ir

تاریخ دریافت : ۱۴۰۰/۳/۳۱

تاریخ اصلاح نهایی : ۱۴۰۰/۹/۱۰

تاریخ پذیرش : ۱۴۰۰/۹/۱۱

زمینه و هدف:

میکروبیوتا مجموعه ای از میکروب ها از جمله باکتری ها، قارچ ها، آرکی ها و ویروس ها هستند که در بخش های مختلف بدن از جمله سطوح و لایه های عمقی پوست، دهان، ریه و به خصوص در روده انسان زندگی می کنند و تعداد آن ها به ده ها تریلیون می رسد. بررسی ها نشان می دهد که میکروبیوتا بیش از ۹۰٪ تعداد کل سلول های موجود در بدن انسان را شامل شده و تقریبا بیش از ۱۵۰ برابر ژنوم انسان دارای اطلاعات ژنتیکی هستند و به عنوان ژنوم دوم انسان قلمداد می شوند.(۱) بر این اساس انسان برخلاف دیدگاه قدیمی، ساختار پیچیده ای متشکل از تشکیلات ژنتیکی مختلف و رقابت و انتخاب پویا بین میکروب ها و انسان محسوب می شود. در دهه اخیر شواهد زیادی از نقش میکروبیوتا در سلامت و بیماری انسان به دست آمده است، به طوری که محققین از میکروبیوتا به عنوان یک اندام ضروری و فراموش شده بدن انسان نام می برند که در فرایند های پایه ای بدن انسان مانند تکامل سیستم ایمنی و دفاع بدن در برابر باکتری های بیماری زا، سوخت و ساز ، هضم ترکیبات غیرقابل استفاده، تولید ویتامین ها، تنظیم ترشح هورمون ها و به طور کلی در حفظ عملکرد فیزیولوژیک و همچنین بقاء و سلامت انسان نقش مهمی دارند و به هم خوردن تعادل آن با ایجاد بیماری های مختلفی مانند دیابت، چاقی، انواع آلرژی ها و بیماری های قلبی-عروقی مرتبط است.(۲) بخش عمده ای از مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته بر روی میکروبیوتای ساکن روده تمرکز دارند که شاید علت اصلی آن دسترسی آسان به نمونه های مدفوع می باشد. (۳) با این وجود بررسی های جدید نشان داده است که حتی بخش هایی از بدن که پیش از این استریل و عاری از میکروب در نظر گرفته می شدند، مانند معده، مجاری ادراری و جفت، دارای جمعیت میکروبی بوده و تغییر در اجزا و محتویات میکروبیوتا، حضور باکتری های مضر، تغییر در توزیع محلی جمعیت های میکروبی و نیز تغییر در فعالیت فیزیولوژیکی باکتری ها، بر احتمال بروز بیماری های مختلف از جمله انواع بدخیمی ها در انسان تاثیر گذارند.

کیسه صفرا و مجاری صفراوی-کبدی به دلیل روش های تهاجمی اکتشاف آن، یکی از ناشناخته ترین محیط ها در بدن انسان هستند. (۴) مدت ها اعتقاد براین بود که کیسه صفرا محیطی استریل است که مهمترین علت این فرضیه، وجود ساز و کارهای ضد میکروبی در سیستم صفراوی است. اما مطالعات صورت گرفته در سال های اخیر، انواع مختلفی از باکتریها و آرکی ها را شیره صفرا و همچنین لایه مخاطی سیستم صفراوی سالم شناسایی کرده اند. در مطالعه ای که توسط جیمنز[1] و همکاران انجام شد با روش های میکروسکوپی باکتری کامل در مخاط صفراوی خوک های سالم مشاهده شده و $۴/۸ \times ۱۰^{۴}$ باکتری قابل کشت از هر میلی لیتر صفرای خوک های سالم به دست آمد.

۱ Jimenez

همچنین تمام خوک های مورد مطالعه دارای میکروبیوتای صفراوی بودند و از هر نمونه ۳ تا ۲۰ باکتری جدا شد که اکثر آنها متعلق به شاخه *Firmicutes*، *Actinobacteria* و *Proteobacteria* بودند. در سطح جنس بیشتر باکتری های *Streptococcus Kocuria*, *Rothia*, *Acinetobacter* و *Psychrobacter* جداسازی شدند. (۵) در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۵ در چین انجام شد، از طریق توالی یابی متاژنومیکس، ۱۳ باکتری جدید را در بیماران مبتلا به سنگ کیسه صفرا شناسایی کردند.(۶) پژوهش دیگری که بر روی مدفوع، صفرا و سنگهای صفراوی ۲۹ بیمار مبتلا به سنگ کیسه صفرا صورت گرفت، تنوع باکتریایی بیشتری را در سیستم صفراوی در مقایسه با مدفوع نشان داد و به طور متوسط بیش از ۵۰۰ گونه باکتریایی از صفرا و سنگ های صفراوی بیماران به دست آمد.(۷) بررسی ها نشان می دهد که بخش مهمی از باکتری های کیسه صفرا مانند باکتری های مدفوع غیر قابل کشت هستند.(۸) همچنین میکروبیوتای مجرای صفراوی بین افراد مختلف متفاوت است که علت اصلی آن تفاوت وضعیت فیزیولوژیکی بین میزبان های مختلف و همچنین تفاوت باکتری های ساکن در بخش های دیگر دستگاه گوارش مانند روده و دهان است.(۶) علاوه بر این، طیف گونه های میکروبی و تعداد آنها در سیستم صفراوی ممکن است تحت تاثیر حضور کرم های انگلی، سنگ کیسه صفرا و بیماری های زمینه ای غیر عفونی باشد. به عنوان مثال در پی آلودگی با کرم انگل *Opisthorchis felineus* بعضی گونه ها مانند باکتری نمک دوست *Jeotgalicoccus* در محیط صفرا کاهش یافته، درحالی که گونه های *Lactobacillus* افزایش پیدا می کنند.(۹) همچنین کلانژیت اسکلروزان اولیه (PSC)[۱]، منجر به کاهش تنوع میکروبی و تغییر فراوانی باکتری های خانواده *Staphylo*،*Pasteurellaceae* *coccaceae* ، *Xanthomonadaceae* و *Streptococcaceae* در میکروبیوتای صفراوی می شود.(۱۰)

ساز و کارهای ضد میکروبی سیستم صفراوی

محیط صفرا محیطی نامناسب برای اکثر باکتری ها به شمار می رود. اسفنکتر اُدی[۲] با تنظیم دفع شیره پانکراس و صفرا، فشار را در مجاری صفراوی تنظیم میکند و بنابراین، مانند یک سد از بازگشت باکتری ها در مسیر دوازدهه- صفرا جلوگیری میکند.(۱۱) مجاری صفراوی که شامل بخش های درون کبدی و خارج کبدی هستند، به وسیله یک لایه سلول تحت عنوان کلانژیوسیت[۳] پوشیده شده اند که با اتصال محکمی که دارند مانع نفوذ باکتری های از فضاهای بین سلولی به لایه های عمقی می شود. مانند اپی تلیال روده، سطح کلانژیوسیت ها از یک لایه مخاطی پوشیده شده که ورود ایمونوگلوبولین A را به مجاری صفراوی تسهیل می کند. اسید صفراوی که یک عنصر مهم در ترکیب نمک های صفراوی است، دارای خواص ضد میکروبی است که باعث آسیب به DNA و غشای باکتری می شود.(۱۲, ۱۳) علاوه بر این صفرا حاوی اجزایی است که دیواره سلولی باکتری مانند لیپوپلی ساکارید و لیپوتیکوئیک اسید را که به وسیله گیرنده های ایمنی ذاتی مستقر در مجاری صفراوی شناسایی می شوند تخریب می کند.(۱۴) مطالعات نشان می دهد که پپتیدهای ضد باکتریایی از جمله کتلیسیدین[۴] ، بتا دفنسین-۱ انسانی و بتا دفنسین-۲ انسانی در سیستم صفراوی داخل کبدی بیش از حد بیان شده و حضور دارند.(۱۵, ۱۶) همچنین در مجاری صفراوی تحمل ایمنی به واسطه سلول های عرضه کننده آنتی ژن[۵] وجود دارد.(۱۷).

منشا میکروبیوتای صفراوی

با گذشت چندین سال از اثبات حضور باکتری ها در سیستم صفرای همچنان این مسئله که باکتری های مجاری صفراوی دقیقا از کجا می آیند بی جواب مانده است. برگشت بالارونده باکتری های روده بخصوص از ناحیه دوازدهه، محتمل ترین منبع اولیه احتمالی باکتری های صفراوی در نظر گرفته شده است.(۱۸) بررسی ها نشان می دهد که سست شدن اسفنکتر اُدی، به علت افزایش بازگشت صعودی باکتری های رودهای و به دنبال آن تغییر در محیط صفراوی، با تشکیل سنگ در مجاری صفراوی مرتبط است.(۱۹) به علاوه، باکتری ها می توانند از طریق سیاه رگ باب کبدی موجب آلودگی سیستم صفراوی شوند.(۲۰) منشا احتمالی دیگر برای میکروبیوتای صفرا دستگاه گوارش فوقانی است. مطالعات صورت گرفته بر روی نمونه های انسانی گرفته شده از مجاری گوارشی فوقانی مانند بزاق، شباهت میکروبیوتای صفرا را با این مناطق نشان می دهد و این فرضیه با در نظر گرفتن فاصله کم مجاری صفراوی با مجاری گوارشی فوقانی محتمل به نظر می رسد.(۲۱) حضور باکتری ها در صفرا همچنین می تواند ناشی از باکتریمی سیستمیک مانند عفونت تیفوئید باشد.(۲۲) لازم به ذکر است که در صورتی که عفونت باکتریایی سیستم صفراوی نتیجه باکتریمی، به ویژه با باکتری های گرم منفی، اتفاق بیافتد، انتظار می رود حالتی گذرا باشد؛ هر چند احتمال تبدیل شدن به شکل مزمن هم وجود دارد.(۲۳)

روش های حفاظتی میکروبیوتا در مواجهه با سیستم صفراوی

با وجود خاصیت ضد میکروبی سیستم صفراوی، باکتری ها راهکارهای دفاعی قدرتمندی در مواجهه با این سیستم دارند . باکتریهای متعدد روده مانند *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Bacillus cereus* و *Listeria monocytogenes*، دارای قابلیت ترمیم هستند که آنها را در برابر آسیب وارد شده به غشاء و DNA محافظت می کند.(۲۴) مطالعات نشان می دهد که پمپ های افلاکس[۶] که به وسیله ی ژن های *arcAB* کد می شوند و در باکتری های مانند *Salmonella typhimurium*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Hemophilus influenza* ، *Vibrio Cholerae* و *Campylobacter jejuni* مشاهده شده اند.(۲۵) نمک های صفراوی وارد شده به باکتری را به خارج هدایت کرده و موثرترین راهکار برای تحمل صفرا به شمار می آیند(۲۶) آنزیم تجزیه کننده نمک صفراوی توسط بعضی باکتری ها مانند *Enterococcus*، *Listeria* ، *Clostridium* ، *Bacteroides* و *Bifidobacterium* ترشح می شود (۲۴) که علاوه بر نقش حفاظتی در آزاد سازی اسید های آمینه به عنوان منبع تغذیه باکتری نقش مهمی دارند. به عنوان مثال،

۱ Primary sclerosis cholangitis
۲ Oddi sphincter
۳ Cholangiocytes
٤ Cathelicidin
٥ Antigen-presenting cells
٦ Efflux pumps

برخی گونه های *Clostridium* از تائورین آزاد شده به عنوان یک گیرنده الکترون استفاده میکنند.(۲۷) تغییر پروتئین های غشا خارجی و لیپوپلی ساکارید در باکتری هایی مانند *Salmonella* می تواند نقش مهمی در محافظت باکتری های در برابر تاثیرات مخرب صفرا داشته باشد.(۲۸) از دیگر راهکارهای حفاظتی باکتری ها می توان به تشکیل بیوفیلم در پاسخ به صفرا اشاره کرد. به عنوان مثال مشاهده شده است که سویه هایی از *Bifidobacterium* که در ژن های دخیل در تشکیل بیوفیلم نقص دارند حساسیت بالایی به نمک های صفراوی نشان می دهند.(۲۹)

تاثیر اسید های صفراوی بر میکروبیوتای کیسه ی صفرا

صفرا یک محلول حیاتی است که ۹۵٪ آن را آب تشکیل داده است و دارای اسیدهای صفراوی، کلسترول، فسفولیپید ها، بیلی روبین و اسید های آمینه است. از این میان، اسید های صفراوی فراوان ترین بوده و ۵۰٪ ترکیبات آلی صفرا را تشکیل می دهند. اسید های صفراوی ترکیبات ۲۴ کربنه محلول در آب و حاصل تجزیه کلسترول هستند. اسید های صفراوی اولیه به طور مستقیم و به صورت نو پدید [۱] از کلسترول در کبد ساخته می شوند و شامل کولیک اسید و کنوداکسی کولیک اسید هستند. این نمک ها سپس می توانند در محل زنجیره جانبی به گلایسین و یا تورین متصل شوند. باکتری های روده ای با حذف گروه هیدروکسیل از کربن شماره ۷ باعث تبدیل کولیک اسید به داکسی کولیک اسید و کنوداکسی کولیک اسید به لیتوکولیک اسید می شوند که به اسید های صفراوی ثانویه شناخته می شوند.(۱۲) باکتری های گرم مثبت روده ای مانند *Lactobacillus* ، *Enterococcus*، *Bifidobacterium* و *Clostridium* و گرم منفی مانند گونه های جنس *Bacteroides* و آرکی هایی مانند *Methanobrevibacter smithii* و *Manosphaera stadtmanae* می توانند با تولید آنزیم های تجزیه کننده نمک های صفراوی باعث حذف گلایسین و تورین شوند و در نهایت این ترکیبات آزاد در روده بازجذب شوند.(۳۰) تاکنون بیشتر مطالعات صورت گرفته به میاکنش باکتری های روده و صفرا پرداخته اند و مطالعات در این زمینه در رابطه با تعامل میکروبیوتای صفرا و اسیدهای صفراوی بسیار کم است. ولی به نظر می رسد که در حالی که ترکیب میکروبیوتای مدفوع با اسید های صفراوی ثانویه مرتبط است، میکروبیوتای کیسه صفرا ارتباط مستقیمی با اسید های صفراوی اولیه دارند. تغییر مشخصات اسیدهای صفراوی میتواند موجب تغییر در ترکیب جوامع میکروبی صفراوی شود و در عین حال تغییر در تنوع میکروبیوتا ناشی از بیماری می تواند منجر به تغییر ترکیب اسیدهای صفراوی شود.(۳۱, ۳۲) ارتباط مستقیمی بین تائوروکولیک اسید و تائورو داُکسی کولیک اسید (دو نشانگر اختلال عملکردی کبد) و تنوع آلفای میکروبیوتای صفرا و حضور باکتری های بیماریزای فرصت طلب مشاهده است. به عنوان مثال در یک مطالعه در سال ۲۰۲۰ بین غلظت تائوروکولیک اسید و حضور باکتری های خانواده *Actinomycetales* و *Bacteroidales* و گونه های *Jeotgalicoccus psychrophilus* و *Haemophilus parainfluenzae* و همچنین غلظت تائوروداُکسی کولیک اسید و حضور خانواده *Acetobacteraceae* و جنس *Sphingomonas* ارتباط معنی داری مشاهده شده است.(۳۱)

میکروبیوتای صفرا در سلامت

اطلاع از ترکیب میکروبیوتای صفرا در حالت سلامت اولین قدم در شناخت تاثیر میکروبیوتا در ایجاد بیماری های صفراوی به حساب می آید. اطلاعات در مورد میکروبیوتای صفرای انسان در حالت سلامت بسیار کم است، زیرا روش های نمونه گیری مانند ERCP [۲] روش های تهاجمی هستند که تنها در صورت بیماری صفراوی و یا شک به بیماری انجام می شوند. با این وجود مطالعات ملکولی اندکی که صورت گرفته نشان دهنده شباهت میکروبیوتای صفراوی با ناحیه دوازدهه است که فرضیه منشا گرفتن میکروبیوتای صفراوی از میکروبیوتای روده را تقویت می کند.(۳۳) مانند میکروبیوتای ساکن در بخش های دیگر بدن انسان، به طور معمول میکروبیوتای صفرا مانع استقرار میکروب های سایر بخش های دستگاه گوارش در کیسه صفرا و مجاری صفراوی می شود.(۳۴) میکروبیوتای صفراوی همچنین می تواند با میانکنش مستقیم و یا غیر مستقیم با سلول های اپی تلیال و ذرات ویروسی مانع عفونت روتاویروس ها و تحریک تکثیر انتروویروس ها و رئوویروس ها شود.(۳۵)

به نظر می رسد که مانند میکروبیوتای روده به هم ریختن توازن میکروبی بیش از حضور یک میکروب بیماریزا می تواند در ایجاد بیماری های مرتبط با مجاری صفراوی نقش داشته باشد. به عنوان مثال تغییر در ترکیب میکروبیوتا می تواند سوخت و ساز اسید های صفراوی را تحت تاثیر قرار دهد.(۳۶) اخیرا مطالعه تعیین توالی *16S rRNA* که بر روی ۲۷ اهدا کننده کبد صورت گرفت نشان داد که *Firmicutes*، *Actinobacteria* و *Bacteroidetes* در نمونه صفرا و بافت صفرا شایع بودند و همچنین میزان بالایی خانواده *Propionibacteriaceae* و جنس *Sphingomonas* در افراد سالم نسبت به افراد دارای سنگ صفرا وجود داشت.(۳۷)

ارتباط میکروبیوتای صفراوی با سنگ های صفرای قهوه ای

سنگ های صفرای قهوه ای بصورت عمده از نمک های کلسیم بیلی روبینات غیر متصل و آزاد، پالمیتات، کربنات، فسفات و استئارات تشکیل شده اند.(۳۸) علاوه براین، کریستال های کوچک کلسترول تک آبه ، اسید های چرب آزاد و برخی لسیتین های صفراوی از اجزای تایید شده این سنگ ها هستند. باکتری های صفراوی می توانند با تسهیل تولید اجزای سنگ های صفراوی به عنوان عامل اولیه در تشکیل این سنگ های صفراوی اثرگذار باشند.(۲۴) تجزیه صفرا توسط بتا گلوکورونیداز باکتریایی، متداول ترین مکانیسم مورد پذیرش برای تشکیل سنگ های صفراوی است.(۳۹) ماکی [۳] و همکاران نشان دادند که تلقیح بتا گلوکورونیداز باکتری به صفرا می تواند موجب تجزیه بیلی روبین گلوکورونیک به بیلی روبین و گلوکورونیک اسید شود که می تواند در حضور کلسیم به شکل کلسیم بیلی روبینات که عنصر اصلی سنگ های صفراوی قهوه ای است رسوب کند.(۴۰) باکتری های تولید کننده بتا گلوکورونیداز مانند گونه های جنس *Enterococcus*، *Klebsiella* و *Streptococcus* به دفعات در نمونه های افراد دارای سنگ های

۱ De novo

۲ Endoscopic retrograde cholangiopancreatography

۳ Maki

صفراوی رنگی شناسایی شده اند. در مطالعات مختلف باکتری ها در تمام لایه های سنگ های صفراوی، به ویژه لایه های کلسیم، وجود داشته اند که همین امر نشان دهنده ارتباط آنها با مراحل اولیه تشکیل سنگ می باشد.(۴۱, ۴۲) فسفولیپاز باکتریایی که در باکتری های مانند *Clostridium perfringens* و *Serratia marcescens* مشاهده شده است، می تواند در تجزیه فسفاتیدیل کولین و تولید مقدار زیادی اسید چرب اشباع و غیر اشباع، لیزولسیتین و اسیدهای چرب آزاد که از اجزای سنگ های صفراوی رنگی هستند نقش داشته باشد. به طوری که غلظت اسیدهای چرب آزاد در سنگ های صفراوی بیماران مبتلا به عفونت صفراوی بسیار بالاتر از غلظت آن در سنگ های بیماران بدون عفونت صفراوی است.(۴۳)

اسیدهای صفراوی معمولا به شکل متصل به گلایسین و تائورین هستند، اما تعداد قابل توجهی از اسیدهای صفراوی آزاد در سنگهای صفراوی وجود دارند. بررسی ها نشان می دهد که فعالیت آنزیمی بعضی از باکتری های صفراوی مانند *Streptococcus* ، *Clostridium* و *Bacteroides* موجب جداشدن شدن نمک های صفراوی از گلایسین و تائورین شده و اسیدهای صفراوی آزاد کافی برای تشکیل سنگ های صفراوی را فراهم می کنند.(۴۴) بعضی اکسی استرولها از جمله ۷- آلفا هیدروکسیل کلسترول در سنگ های کیسه صفرا شناسایی شده اند. (۴۵) مطالعات نشان می دهد که حضور این ترکیبات ممکن است با باکتری های موجود در سنگهای صفراوی قهوه ای مرتبط باشند. (۴۵, ۴۶) به نظر می رسد که حضور لیپوپلیساکارید باکتری هایی مانند *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae* و *pseudomonas aeruginosa* می تواند با فعال کردن لوکوسیت های انسانی و تولید رادیکال های فعال اکسیژن، زمینه را برای اکسید شدن کلسترول به انواع اکسی استرول ها فراهم کند.(۴۷) همچنین حضور پیلی p_1 و عدم وجود پیلی مخصوص مانوز در میکروبیوتای صفراوی ممکن است به تجمع باکتری ها و تشکیل سنگ کمک کند. (۴۸). (جدول ۱).

ارتباط میکروبیوتای صفراوی با سنگ های صفراوی کلسترولی

حدود ۹۰٪ از سنگ های بدست آمده در جراحی کیسه صفرا [۱] از نوع کلسترولی هستند.(۴۹) تشکیل سنگ های کلسترولی فرایند پیچیده ای است و به نظر می رسد که اشباع بیش از اندازه کلسترول صفراوی و یا کاهش اسیدهای صفراوی مقدمه تشکیل سنگ های صفراوی کلسترولی باشد.(۵۰) در ابتدا عقیده بر این بود که تشکیل سنگ های کلسترولی وابسته به تغییرات ژنتیکی و فیزیولوژیکی میزبان است و ارتباطی با باکتری ها ندارد. تلاش های وابسته به کشت و میکروسکوپ الکترونی برای جداسازی و شناسایی باکتری ها از سنگ های کلسترولی نتیجه ای دربر نداشت. در مطالعه ای که در سال ۱۹۹۵ با استفاده از روش های ملکولی صورت گرفت، در ۹۴٪ از بیمارانی که دارای

۱ Cholecystectomy

جدول ۱: میکروبیوتای صفراوی که در مطالعات مختلف، ارتباط آنها با بیماری های مجاری صفراوی مطرح شده است. جهت مشاهده منابع به متن مراجعه شود

نوع بیماری صفراوی	باکتری های دخیل در بیماری	عامل بیماریزای احتمالی
تشکیل سنگ صفراوی قهوه ای	*Streptococcus- Enterococcus-Klebsiella- Clostridium perfringens- Serratia marcescens-Bacteroides- Escherichia coli-Pseudomonas aeruginosa*	تولید بتاگلوکورونیداز ، فسفولیپاز و آنزیم های مختلف موثر بر صفرا - لیپوپلی ساکارید- حضور پیلی P1 و عدم وجود پیلی مخصوص مانوز
تشکیل سنگ صفراوی کلسترولی	*Bacillus - Alcalilgenes- Propionibacterium - Clostridium -Enterobacter- Carnobacterium- Burkholderia- Proteobacteria- TM7- Tenericutes -Actinobacteria- Thermi- Cyanobacteria- Helicobacter- Pseudomonas aeruginosa*	تولید فسفولیپاز و موسین- گلیکوپروتئین- لیپوپلی ساکارید
سرطانهای صفراوی	*Helicobacter pylori- Helicobacter bilis-Salmonella typhi- Prevotella- Actinomyces- Novosphingobium- Campylobacter- Methylophilacea- Gemmatimonadete -Nitrospirae- Chloroflexi- Latescibacteria- Planctomycetes- Escherichia- Shigella- Staphylococcus-Klebsiella- Faecalibacterium- Enterobacteriaceae-Streptococcus-Enterococcus- Bacteroides- Pyramidobacter-Fusobacterium nucleatum – Enterobacter- Enterococcus faecalis - Pseudomonas*	تولید سموم آسیب زننده به DNA، آنزیم های مختلف موثر بر صفرا، کلی باکتین، میزان بیش از حد سوپر اکسید خارج سلولی - القای پاسخ التهابی خارج از تنظیم
کلانژیت اسکلروزان اولیه	*Streptococcus* افزایش باکتری های *Firmicutes* و کاهش *Proteobacteria*	الگوهای ملکولی وابسته به پاتوژن مانند لیپوپلی ساکارید، پپتیدو گلیکان و لیپوتیکوئیک اسید
کلانژیت صفراوی اولیه	*Escherichia coli -Mycobacterium gordonae - Mycoplasma pneumoniae -Lactobacillus delbruekii-Chlamydia-Helicobacter pylori-Haemophilus- Veillonella -Clostridium-Lactobacillus- Streptococcus- - Pseudomonas- Klebsiella -Enterobacteriaceae Enterococcus faecium-Lactobacillus plantarum -staphylococcus aureus- Streptococcus pneumonia*	شباهت ملکولی بین آنتی ژنهای خودی میزبان و آنتی ژنهای باکتریایی

سنگ های صفراوی حاوی ۷۰٪ تا ۹۰٪ کلسترول بودند حضور DNA باکتری های مرتبط با *Propionibacterium* ، *Clostridium* و *Enterobacter* مشاهده شد. در سنگ های صفراوی کلسترولی خالص (>۹۰٪ کلسترول) شواهدی از حضور باکتری به دست نیامد. (۵۱) مطالعه دیگری نشان داد که ۷۶٪ از سنگ های کلسترولی که کشت باکتری از آنها موفقیت آمیز نبوده است دارای غلظت پایین باکتری بودند که اکثرا به *Carnobacterium* ،*Bacillus Alcalilgenes* و *Burkholderia* تعلق داشتند.(۵۲) در سال ۲۰۱۳ در یک مطالعه با مقیاس وسیع با کمک توالی یابی پایرو[۱] هسته اصل میکروبیوتای موجود در سنگ و مایع صفرای بیماران مبتلا به سنگ صفراوی کلسترولی را شرح داده شد. بر این اساس ۱۶۰ گونه باکتری متعلق به شش شاخه *Tenericutes* ،*Actinobacteria* ،*Proteobacteria* ،*TM*[۷] *Thermi* و *Cyanobacteria* شناسایی شدند. همچنین بین جمعیت باکتریایی بین افراد مختلف تفاوت وجود داشت که نشان دهنده تاثیر تغذیه، عوامل ژنتیکی و سایر عوامل محیطی بود.(۷) نکته قابل توجه این که شاخه *Proteobacteria* شامل جنس هایی مانند *Escherichia* ،*Salmonella* ،*Vibrio* ،*Helicobacter* است که ارتباط آنها با انواع بیماری های گوارشی اثبات شده است.(۵۳) در مطالعه دیگر نقش گونه های روده ای-کبدی[۲] *Helicobacter* در تشکیل سنگ های صفراوی کلسترولی در مدل حیوانی نشان داد شد.(۵۴) تحقیقات مختلف نشان داده است که باکتری های موجود در سنگ های صفراوی متنوع تر از صفرا هستند و برخی باکتری هایی که در سنگ ها یافت می شوند در مایع صفرا وجود ندارد.(۵۵) بر این اساس به نظر می رسد که سنگ ها می توانند یک محیط مجزا و امن را جهت حفاظت باکتری ها از شرایط نامساعد و ضد میکروبی صفرا فراهم کنند. (۳۰) مطالعات مختلف به بررسی نقش میکروبیوتای صفرا در تشکیل سنگ های کلسترولی پرداخته اند. گلیکوپروتئین باکتریایی ممکن است با القای تشکیل رسوبات نامحلول، در شروع فرآیند تشکیل سنگ های کلسترولی شرکت داشته باشند.(۵۴) فسفولیپازهای باکتریایی نیز ممکن است بسته به نوع فسفولیپید موجود در صفرا نقش های متفاوتی در تشکیل سنگ های کلسترولی داشته باشد.(۵۶) به عنوان مثال افزایش فسفولیپاز A_2 ممکن است با القای التهاب مخاطی کیسه صفرا به همراه افزایش پروستاگلاندین E۲ و افزایش ترشح موسین به تشکیل سنگهای کلسترولی کمک کند.(۵۷) باکتری *P. aeruginosa* بیشترین فعالیت گلیکوپروتئین باکتریایی و بیشترین غلظت فسفولیپاز A۲ را دارد که میتواند بر نقش آن در تشکیل سنگ های کلسترولی دلالت داشته باشد. (۵۵) موسین نیز نقش مهمی در تشکیل سنگ های کلسترولی دارد و مشاهده شده است که باکتری های موجود در سنگ های کلسترولی نسبت به باکتری های سنگ های رنگی، موسین بیشتری ترشح میکنند همچنین لیپو پلی ساکارید باکتریمی تواند با فعال کردن واسطه های التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا(TNF-α [۳]) و تنظیم ژن های دخیل در تولید موسین در تشکیل سنگ های کلسترولی نقش داشته باشد.(۵۸) (جدول ۱).

۱ Pyrosequencing
۲ Enterohepatic
۳ Tumor necrosis factor-alpha

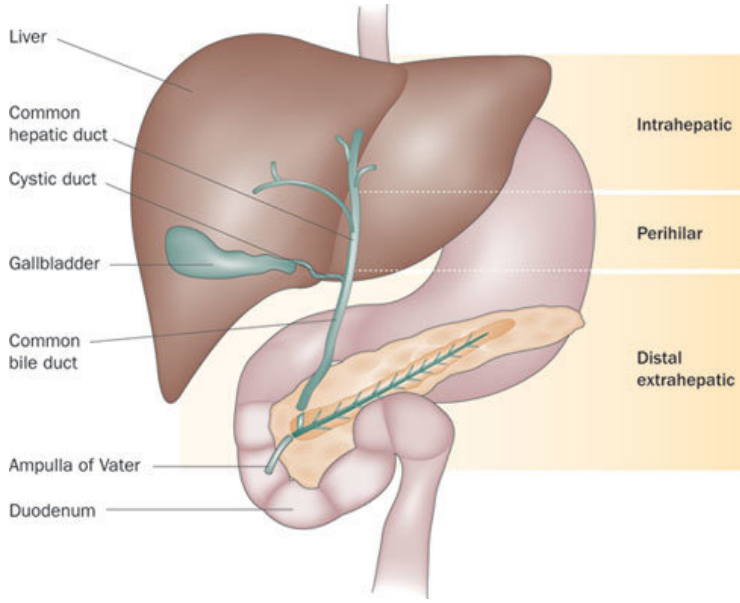
ارتباط میکروبیوتای صفراوی با سرطان های صفراوی

تحقیقات صورت گرفته در سال های اخیر اثبات کرده است که باکتری ها مستقیما و یا از طریق سموم خود با تحریک تولید واسطه های التهابی مانند TNF-α و اینترلوکین-۱ و یا فعال کردن NF-κB [۴] می توانند باعث تغییر در سوخت و ساز، تکثیر و مرگ سلول های میزبان شوند و به این ترتیب در ایجاد و یا پیشرفت سرطان نقش داشته باشند. (۵۹) در این رابطه نقش قطعی *Helicobacter pylori* در سرطان معده به اثبات رسیده است و احتمال نقش باکتری ها در سایر سرطان ها مانند سرطان روده، پستان و پروستات نیز مطرح شده است.(۶۰) تحقیقات نشان می دهد که در کنار باکتری های بیماری زا تغییر در ترکیب و فراوانی میکروبیوتا نیز می تواند در بروز سرطان نقش داشته باشد. در این راستا، ارتباط میکروبیوتا با سرطان کلون، دهان و ریه و مری مورد بررسی قرار گرفته است.(۶۱, ۶۲) به عنوان مثال دیده شده است که در سرطان کلون جمعیت باکتری های *Bacteroides*، *Prevotella* و *Fusobacterium* افزایش داشته و در برابر باکتری های تولید کننده بوتیرات کاهش چشمگیری داشته اند.(۶۳) به نظر می رسد که تغییر میکروبیوتا با تغییر مسیرهای پیام رسانی بین باکتری ها و سلول های اپی تلیال و یا سلول های ایمنی میزبان و فعال کردن TLRs [۵] باعث التهاب، تغییر در چرخه سلولی میزبان و تحریک تولید موسین می شوند . این تغییرات می توانند به نوبه خود با تغییر سلول میزبان و یا آسیب به DNA زمینه ساز بروز آسیب های پیش سرطانی و همچنین سرطان شوند.(۶۴)

سرطان دستگاه صفراوی شامل تومورهای بدخیم ایجاد شده در مجرای صفراوی (کلانژیوکارسینوما) [۶] و همچنین تومورهای کیسه صفرا و آمپول واتر[۷] می باشد و ششمین ضایعات بدخیم گوارشی در کشورهای غربی است. گزارش ها نشان می دهد که هر ساله ۷۵۰۰ مورد جدید ابتلا وجود دارد که از این میان ۵۰۰۰ مورد سرطان کیسه صفرا و بین ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ مورد مربوط به کلانژیوکارسینوما است. کلانژیوکارسینوما از نظر آناتومی شامل ۳ گروه داخل کبدی[۸] ، اطراف ناف کبد[۹] و خارج کبدی [۱۰] می باشد (شکل ۱).(۶۵) این بیماری معمولاً در مراحل آخر تشخیص داده می شود و دارای پیش آگاهی ضعیف و میزان بقای پایین است. علت ایجاد این نوع سرطان هنوز ناشناخته است، اگرچه به نظر می رسد که زمینه ژنتیکی، التهاب مزمن ، کیست های صفراوی, عفونت های ویروسی و عوامل محیطی در بروز آن نقش دارند.(۶۶, ۶۷)

تحقیقات صورت گرفته اثبات کرده است که سنگ های صفراوی قوی ترین عامل خطر برای ایجاد سرطان دستگاه صفراوی هستند. در این رابطه این فرضیه مطرح است که باکتری های دخیل در تشکیل سنگ صفرا ممکن است در سرطان زایی نقش داشته باشند. علاوه بر این تشکیل سنگ موجب انسداد مجاری صفراوی شده و با تحت

۴ Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
۵ Toll-like receptors
۶ Cholangiocarcinoma
۷ Vater ampulla
۸ Interahepatic
۹ Prehilar
۱۰ Diastal extrahepatic



شکل ۱: آناتومی دستگاه صفراوی به همراه طبقه بندی سرطان های مرتبط با آن.

تاثیر قرار دادن اسفنکتر ادی زمینه بازگشت باکتری ها از روده به مجاری صفراوی را فراهم می کند.(۵) مطالعات مبتنی بر کشت نشان می دهد که در نمونه های گرفته شده از بیماران مبتلا به سرطان کیسه صفرا باکتری های بیشتری نسبت به افراد دارای سنگ های صفراوی و همچنین کنترل جدا سازی شده است.(۶۸) حضور های باکتری های جنس *Helicobacter* ممکن است یک فاکتور خطر برای سرطان دستگاه صفراوی باشد. جزئیات مربوط به بیماری زایی احتمالی هنوز ناشناخته است، با این حال به نظر می رسد که جنس *Helicobacter* قادر به بقا و تکثیر در صفرا هستند و از طریق میانکنش با اسیدهای صفراوی می توانند در ایجاد بدخیمی نقش داشته باشند.(۶۹, ۷۰) همچنین ژن های حدت مرتبط با *Helicobacter pylori* ، مانند *cagA* و *vacA* در اکثر نمونه های گرفته از افراد مبتلا به سرطان مجاری صفراوی شناسایی شدند که این امر نشان دهنده نقش احتمالی این باکتری در ایجاد بیماری است.(۵) *Helicobacter bilis* در بیماران ژاپنی و مکزیکی مبتلا به سرطان کیسه صفرا شناسایی شده است.(۷۱) مطالعات زیادی به نقش عفونت مزمن *Salmonella typhi* در ایجاد کلانژیوکارسینومای داخل کبدی اشاره کرده اند. در این رابطه به نظر می رسد که سموم آسیب زننده به DNA سلول میزبان و همچنین آنزیم های باکتریایی که موجب تغییر ترکیبات صفرا می شوند می تواند در سرطان زایی باکتری نقش داشته باشند. (۷۲) در مقایسه ای که با استفاده از توالی یابی *16S rRNA* ، بین میکروبیوتای صفراوی ۱۰۰ بیمار مبتلا به کلانژیوکارسینومای خارج کبدی با ۱۰۰ بیمار مبتلا به تومور صفراوی خوش خیم صورت گرفت، در سطح شاخه *Proteobacteria* باکتری های غالب در دو گروه بودند و *Fusobacterium* ، *Prevotella*، *Actinomyces* ، *Helicobacter*، *Novosphingobium*، *Campylobacter* و *Methylophilaceae* در بیماران مبتلا به کلانژیوکارسینومای خارج کبدی نسبت به افراد دارای تومور خوش خیم افزایش داشت. (۵) در تحقیق دیگری، در بیماران مبتلا به کلانژیوکارسینومای خارج کبدی باکتری های *Nitrospirae*، *Gemmatimonadetes*، *Chloroflexi* ، *Latescibacteria* و *Planctomycetes* نسبت به بیماران دارای سنگ مجاری صفراوی شایع تر بودند. در سطح جنس *Staphylococcus*، *Shigella* ،*Escherichia*، *Klebsiella*و *Faecalibacterium* و باکتری های خانواده *Enterobacteriaceae* بالاترین فراوانی را نشان دادند. نتایج مطالعه ای که در سال ۲۰۲۱ و به روش متاژنومیکس انجام گرفت نشان داد که میکروبیوتای صفراوی بیماران مبتلا به کلانژیوکارسینوما نسبت به بیماران دارای سنگ کیسه صفرا که به عنوان کنترل انتخاب شده بودند، دارای باکتری های *Firmicutes* کمتر و *Bacteroidetes* بیشتر بود. همچنین در سطح جنس باکتری های جدا شده از بیماران کلانژیوکارسینوما متعلق به *Streptococcus* ،*Enterococcus* ، *Klebsiella Bacteroides* و *Pyramidobacter* بودند.(۷۳) نکته قابل توجه اینکه *Bacteroides* به عنوان باکتری های مرتبط با سرطان کلون شناخته می شوند (۷۴) و همچنین به نظر می رسد که افزایش آنها با تشکیل سنگ های صفراوی مرتبط است.(۳۷) در تحقیقی مشابه، *Fusobacterium nucleatum* ، *Escherichia coli* و گونه های *Enterobacter* باکتری های غالب در صفرای بیماران مبتلا به سرطان کیسه صفرا بودند و نکته قابلِ توجه اینکه بررسی های دیگر نشان می دهد که این باکتری ها احتمالاً با القای یک پاسخ التهابی تنظیم نشده با پیشرفت سرطان روده بزرگ نیز مرتبط هستند که می توانند شاهدی بر پتانسیل سرطان زایی ذاتی آنها باشد. (۷۵, ۷۶) آسیب به DNA یکی از مهمترین علل ایجاد انواع سرطان محسوب می شود. در مطالعه ای که اخیرا انجام گرفت حضور باکتری های جنس *Enterobacter* و *Pseudomonas* و *Escherichia*

coli های تولید کننده کلی باکتین [1] در شیره صفرا به عنوان نشانگر های زیستی در پیش بینی احتمال ابتلا فرد به سرطان کلانژیوکارسینوما مطرح شدند.(۷۷) *Enterococcus faecalis* ممکن با تحریک تولید بیش از حد سوپراکسید خارج سلولی منجر به شکست دورشته ای در DNA و ناپایداری کروموزومی شده و زمینه ساز ایجاد سرطان شود. (۷۸) همچنین مطالعات کشت سلولی نشان می دهد که کلی باکتین که نوعی ژنوتوکسین [2] است و در برخی باکتری های متعلق به خانواده *Enterobacteriaceae* توسط جزیره بیماریزایی به نام pks [3] کد می شود می تواند با آسیب ژنتیکی به سلول های پستانداران زمینه را برای جهش ژنتیکی و ایجاد سرطان فراهم کند.(۷۹) (جدول ۱). تحقیقات مختلفی به جهش های ژنتیکی مرتبط به سرطان دستگاه صفراوی مانند KRAS، BRAF، TP۵۳، SMAD اشاره کرده اند. (۸۰) با در نظر گرفتن نقشی که میکروب ها در ایجاد تنوع ژنتیکی دارند میزبان دارد، بررسی ارتباط احتمالی میکروبیوتای صفراوی با ژنتیک میزبان و نقش توام آنها در ایجاد بدخیمی ها بسیار ارزشمند خواهد بود. در نهایت اینکه با وجود اینکه مطالعات مختلفی به تفاوت میکروبیوتای صفراوی در وضعیت سرطان و غیر سرطان اشاره کرده اند، هنوز مشخص نیست که آیا این تفاوتها زمینه ساز بروز سرطان بوده اند و یا خود ناشی از تغییرات محیط صفرا به دنبال ایجاد سرطان هستند (۸۱) که روشن شدن این مطلب نیازمند مطالعات بیشتر در آینده است.

ارتباط میکروبیوتای صفراوی با کلانژیت اسکلروزان اولیه (PSC)

PSC نوعی بیماری خودایمنی مربوطه کبد و کیسه صفراست است که با تحت تاثیر قرار دادن مجاری صفراوی موجب التهاب و فساد الیاف [4] می شود.(۸۲) شواهد نشان می دهد که این عارضه با افزایش تکثیر سلول های اپی تلیالی صفرا و افزایش ریسک پیشرفت دیسپلازی صفرا و کلانژیوکارسینوما همراه است.(۸۳) علت ایجاد PCS ناشناخته است، اما این بیماری به عنوان اختلالی که ناشی از عوامل ژنتیکی، ایمونولوژیکی و محیطی است، در نظر گرفته می شود. با توجه به شواهدی که ارتباط PSC را با بیماری التهابی روده (IBD) [5] نشان می دهند.(۸۴) مطالعات زیادی به نقش میکروبیوتای روده در ایجاد PSC اشاره کرده اند. در این رابطه به نظر می رسد که الگوهای ملکولی وابسته به پاتوژن (PAMPs) [6] از جمله لیپوپلی ساکارید، پپتیدوگلیکان و لیپوتیکوئیک اسید میکروبیوتای روده ، نقش مهمی را در ایجاد بیماری ایفا می کنند.(۸۴, ۸۵) به طوری که بررسی ها نشان می دهد که افزایش گردش داخل کبدی PAMPs غیر طبیعی که ناشی از تغییرات جمعیت باکتریایی روده در IBD هستند و در پی آن پاسخ ایمنی ذاتی نامناسب به آنها می تواند یکی از علل PSC باشد.(۸۶, ۸۷) تحقیقات صورت گرفته در سال های اخیر به نقش میکروبیوتای صفرا در ایجاد و پیشرفت PSC اشاره کرده اند. در یک مطالعه مبتنی بر کشت بر روی بیماران مبتلا به PSC که تحت پیوند کبد قرار گرفته بودند، از صفرا و اپی تلیوم صفراوی ۵۵٪ بیماران باکتری جدا شد که گونه های آلفا همولیتیک [7] *Streptococcus* شایع ترین باکتری ها بودند.(۸۸) در مطالعات ملکولی که به منظور ارزیابی نقش میکروبیوتای صفراوی در شروع PSC و پیشرفت به آن دیسپلازی [8] صورت گرفته است، بین جمعیت میکروبی افرادی که در مراحل ابتدایی بیماری بودند و افراد کنترل تفاوتی وجود نداشته، ولی در افرادی که در مراحل پیشرفته بیماری بودند تنوع جمعیت میکروبی کاهش و فراوانی جنس *Streptococcus* افزایش معنی داری داشته است. مشابه این الگو در میکروبیوتای روده این بیماران نیز گزارش شده است.(۸۹, ۹۰) نکته قابل توجه اینکه این تغییر الگوی میکروبی در میکروبیوتای صفراوی بیماران مبتلا به دیسپلازی و سرطان هم مشاهده شد که شاید تاییدی بر نقش باکتری ها در پیشرفت PSC به بدخیمی های صفراوی باشد. (۱۰) در یک مطالعه همخوانی سراسر ژنوم [9] به منظور بررسی نقش ژنتیک میزبان در PSC، مشاهده شد که جهش در ژن کد کننده آنزیم گالاکتوزید -۲-آلفا- ال-فوکوزیل ترانسفراز [10] (آنزیمی که در گلیکوزیله کردن پروتئین های مخاطی نقش دارد) با ایجاد PSC مرتبط است و در بیماران دارای این جهش افزایش معنی دار باکتری های *Firmicutes* و کاهش *Proteobacteria* دیده شد که بر نقش پیچیده فاکتورهای ژنتیکی و میکروبی بر ایجاد و توسعه PSC دلالت دارد.(۹۱) (جدول ۱).

ارتباط میکروبیوتای صفراوی با کلانژیت صفراوی اولیه (PBC) [11]

کلانژیت صفراوی اولیه (PBC)یک بیماری خود ایمنی است که علت آن پاسخ ایمنی بیش از حد به آنتی ژن های خودی در مجاری صفراوی است. این فرضیه مطرح است که شباهت ملکولی بین آنتی ژن های خودی میزبان و آنتی ژن های باکتریایی مانند دی هیدروليپوآميل در *Escherichia coli* (۸۶) ، پروتئین های شوک حرارتی در *Mycobacterium gordonae* (۹۲)کمپلکس پیرووات دهیدروژناز در *Mycoplasma pneumoniae* (۹۲) و بتا-گالاکتوزیداز در *Lactobacillus delbruekii* (۹۳) از علل شروع کننده بیماری هستند . علاوه بر این به نظر می رسد که PBC در بیمارانی که دارای عفونت های ادراری با *Escherichia coli* و یا عفونت با *Mycobacterium*، *Chlamydia* و *Helicobacter pylori* هستند شایع تر است که نشان دهنده نقش احتمالی این باکتری ها در ایجاد PBC است.(۳۰) در طی سال های اخیر و به کمک روش های نوین ملکولی ارتباط میکروبیوتای ساکن روده و PBC بررسی شده است. نتیجه تحقیقات نشان می دهد که در بیماران مبتلا به PBC فراوانی باکتری های روده ای *Haemophilus* ، *Veillonella*، *Clostridium*، *Lactobacillus*، *Streptococcus* ، *Pseudomonas*، *Klebsiella* و *Enterobacteriaceae* بیشتر و فراوانی باکتری های *Faecalibacterium* ، *Bacteroides* ، *Sutterella* و *Oscillospira* کمتر از افراد کنترل است.(۸۷)

---

۱ Colibactin
۲ Genotoxin
۳ Polyketide synthase
٤ Fibrosis
٥ Inflammatory bowel disease
٦ Pathogen-associated molecular patterns
۷ Alpha-hemolytic
۸ Dysplasia
۹ Genome-wide association study
۱۰ Galactoside 2-alpha-l-fucosyltransferase
۱۱ Primary biliary cholangitis

محققین معتقدند که این احتمال وجود دارد که پاسخ ایمنی نامناسب مستقیما در مجاری صفراوی و در نتیجه میانکنش بین میزبان و باکتری های ساکن صفرا رخ دهد. در این رابطه در مطالعه ای که بر روی نمونه شیره صفرا ۱۵ بیمار مبتلا به PBC انجام شد، در ۱۰ بیمار شواهدی از حضور *Enterococcus faecium*، *Lactobacillus plantarum*، *staphylococcus aureus*، *Streptococcus pneumonia* و *Helicobacter pylori* به دست آمد.(۹۴) (جدول ۱). با این وجود به علت محدود بودن مطالعات در این زمینه اطلاعات کمی وجود دارد و مطالعات متاژنومیکس آینده برای بررسی ارتباط میکروبیوتای صفرا با بیماری PBC و تاثیر آن در مراحل مختلف بیماری مورد نیاز است.

نتیجه گیری

مطالعات ملکولی در سال های اخیر حضور جمعیت میکروبی را در سیستم صفراوی به اثبات رسانده اند. در مورد منشا و فاکتورهای تعیین کننده این جمعیت میکروبی اطلاعات کاملی وجود ندارند که شاید یکی از مهمترین علل آن عدم امکان مطالعه بر روی افراد سالم به علت ملاحظات اخلاقی است. با این وجود مطالعات صورت گرفته بر روی مدل های حیوانی و همچنین مقایسه افراد مبتلا به بیماری های مختلف صفراوی نشان می دهد که بین جمعیت میکروبیوتای صفراوی در بیماری های مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد که نشان دهنده نقش احتمالی میکروبیوتا در کنار عوامل میزبانی در ایجاد و یا پیشرفت بیماری های مرتبط با سیستم صفراوی است. با وجود این هنوز مشخص نیست که آیا این تفاوت ها زمینه ساز ایجاد بیماری هستند و یا خود ناشی از تغییرات محیط صفرا به دنبال بروز بیماری هستند که روشن شدن این مطلب نیازمند مطالعات بیشتر در آینده است. به نظر می رسد که اطلاعات در مورد میکروبیوتای صفراوی هر فرد میتواند به عنوان یک نشانگر زیستی در سنجش خطر ابتلا و یا تشخیص زود هنگام و غربالگری بیماری های مرتبط به کار رود. همچنین درک این نکته که جمعیت خاصی از میکروارگانیسم صفراوی در ایجاد و یا پیشرفت بیماری نقش دارند نوید بخش این است که شاید بتوان با تغییرات و مداخلات در میکروبیوتای فرد در جهت پیشگیری و یا تسریع بهبود گام برداشت.

REFERENCES

1. Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2012;13:151-70.
2. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;7(7):688-93.
3. Tang Q, Jin G, Wang G, Liu T, Liu X, Wang B, et al. Current sampling methods for gut microbiota: a call for more precise devices. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:151.
4. Verdier J, Luedde T, Sellge G. Biliary mucosal barrier and microbiome. Viszeralmedizin 2015;31(3):156-61.
5. Jiménez E, Sánchez B, Farina A, Margolles A, Rodríguez JM. Characterization of the bile and gall bladder microbiota of healthy pigs. Microbiologyopen. 2014;3(6):937-49.
6. Shen H, Ye F, Xie L, Yang J, Li Z, Xu P, et al. Metagenomic sequencing of bile from gallstone patients to identify different microbial community patterns and novel biliary bacteria. Sci Rep 2015;5(1):1-13.
7. Wu T, Zhang Z, Liu B, Hou D, Liang Y, Zhang J, et al. Gut microbiota dysbiosis and bacterial community assembly associated with cholesterol gallstones in large-scale study. BMC Genomics. 2013;14(1):669.
8. Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. Nat Rev Immunol. 2014;14(10):667-85.
9. Saltykova IV, Petrov VA, Logacheva MD, Ivanova PG, Merzlikin NV, Sazonov AE, et al. Biliary microbiota, gallstone disease and infection with Opisthorchis felineus. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10(7):e0004809.
10. Pereira P, Aho V, Arola J, Boyd S, Jokelainen K, Paulin L, et al. Bile microbiota in primary sclerosing cholangitis: Impact on disease progression and development of biliary dysplasia. PloS One. 2017;12(8).
11. Schneider J, De Waha P, Hapfelmeier A, Feihl S, Römmler F, Schlag C, et al. Risk factors for increased antimicrobial resistance: a retrospective analysis of 309 acute cholangitis episodes. J Antimicrob Chemother 2014;69(2):519-25.
12. Begley M, Gahan CG, Hill C. The interaction between bacteria and bile. FEMS Microbiol Rev 2005;29(4):625-51.
13. Merritt ME, Donaldson JR. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. J Med Microbiol 2009;58(12):1533-41.
14. Tsuneyama K, Harada K, Kono N, Hiramatsu K, Zen Y, Sudo Y, et al. Scavenger cells with gram-positive bacterial lipoteichoic acid infiltrate around the damaged interlobular bile ducts of primary biliary cirrhosis. J Hepatol 2001;35(2):156-63.
15. D'Aldebert E, Mve MJBB, Mergey M, Wendum D, Firrincieli D, Coilly A, et al. Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. Gastroenterology 2009;136(4):1435-43.
16. Harada K, Ohba K, Ozaki S, Isse K, Hirayama T, Wada A, et al. Peptide antibiotic human beta-defensin-1 and− 2 contribute to antimicrobial defense of the intrahepatic biliary tree. Hepatology. 2004;40(4):925-32.
17. Thomson AW, Knolle PA. Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment. Nat Rev Immunol 2010;10(11):753.
18. Sung J, Leung J, Shaffer E, Lam K, Olson M, Costerton J. Ascending infection of the biliary tract after surgical sphincterotomy and biliary stenting. J Gastroenterol Hepatol 1992;7(3):240-5.
19. Liang T, Su W, Zhang Q, Li G, Gao S, Lou J, 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):269-80.
20. Sung J, Costerton J, Shaffer E. Defense system in the biliary tract against bacterial infection. Dig Dis Sci. 1992;37(5):689-96.
21. Ipek S, Alper E, Cekic C, Cerrah S, Arabul M, Aslan F, et al. Evaluation of the effectiveness of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with perihilar cholangiocarcinoma and its effect on development of cholangitis. Gastroenterol Res Pract 2014;2014:508286.
22. Menendez A, Arena ET, Guttman JA, Thorson L, Vallance BA, Vogl W, et al. Salmonella infection of gallbladder epithelial cells drives local inflammation and injury in a model of acute typhoid fever. J Infect Dis. 2009;200(11):1703-13.

23. Flemma RJ, Flint LM, Osterhout S, Shingleton WW. Bacteriologic studies of biliary tract infection. Ann Surg. 1967;166(4):563.
24. Wang Y, Qi M, Qin C, Hong J. Role of the biliary microbiome in gallstone disease. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2018;12(12):1193-205.
25. Ma D, Cook DN, Hearst JE, Nikaido H. Efflux pumps and drug resistance in gram-negative bacteria. Trends Microbiol 1994;2(12):489-93.
26. Nikaido H. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. Clin Infect Dis.1998;27(Supplement_1):S32-S41.
27. Huijghebaert SM, Mertens J, Eyssen HJ. Isolation of a bile salt sulfatase-producing Clostridium strain from rat intestinal microflora. Appl Environ Microbiol. 1982;43(1):185-92.
28. Tsai MH, Liang YH, Chen CL, Chiu CH. Characterization of Salmonella resistance to bile during biofilm formation. J Microbiol Immunol Infect. 2020;53(4):518-24.
29. Kelly SM, Lanigan N, O'Neill IJ, Bottacini F, Lugli GA, Viappiani A, et al. Bifidobacterial biofilm formation is a multifactorial adaptive phenomenon in response to bile exposure. Sci Rep. 2020;10(1):11598.
30. Nicoletti A, Ponziani FR, Nardella E, Ianiro G, Gasbarrini A, Zileri Dal Verme L. Biliary tract microbiota: a new kid on the block of liver diseases? Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020;24(5):2750-75.
31. Petrov VA, Fernández-Peralbo MA, Derks R, Knyazeva EM, Merzlikin NV, Sazonov AE, et al. Biliary microbiota and bile acids composition in cholelithiasis. BioRxiv. 2018:469825.
32. Ridlon JM, Wolf PG, Gaskins HR. Taurocholic acid metabolism by gut microbes and colon cancer. Gut Microbes. 2016;7(3):201-15.
33. Ye F, Shen H, Li Z, Meng F, Li L, Yang J, 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.
34. Robinson CM, Pfeiffer JK. Viruses and the Microbiota. Annu Rev Virol. 2014;1:55-69.
35. Kuss SK, Best GT, Etheredge CA, Pruijssers AJ, Frierson JM, Hooper LV, et al. Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. Science. 2011;334(6053):249-52.
36. Miyake Y, Yamamoto K. Role of gut microbiota in liver diseases. Hepatol Res. 2013;43(2):139-46.
37. Molinero N, Ruiz L, Milani C, Gutierrez-Diaz I, Sanchez B, Mangifesta M, et al. The human gallbladder microbiome is related to the physiological state and the biliary metabolic profile. Microbiome. 2019;7(1):100.
38. Malet PF, Takabayashi A, Trotman BW, Soloway RD, Weston NE. Black and brown pigment gallstones differ in microstructure and microcomposition. Hepatology. 1984;4(2):227-34.
39. Swidsinski A, Lee SP. The role of bacteria in gallstone pathogenesis. Front Biosci. 2001;6(1):93-103.
40. Maki T. Pathogenesis of calcium bilirubinate gallstone: role of E. coli, beta-glucuronidase and coagulation by inorganic ions, polyelectrolytes and agitation. Ann Surg. 1966;164(1):90.
41. Leung JW, Liu YL, Leung PS, Chan RC, Inciardi JF, Cheng AF. Expression of bacterial beta-glucuronidase in human bile: an in vitro study. Gastrointest Endosc. 2001;54(3):346-50.
42. Maluenda F, Csendes A, Burdiles P, Diaz J. Bacteriological study of choledochal bile in patients with common bile duct stones, with or without acute suppurative cholangitis. Hepato-gastroenterology. 1989;36(3):132-5.
43. Nakano T, Yanagisawa J, Nakayama F. Phospholipase activity in human bile. Hepatology. 1988;8(6):1560-4.
44. Julka K, Ko CW. Infectious diseases and the gallbladder. Infect Dis Clin. 2010;24(4):885-98.
45. Yoshida T, Matsuzaki Y, Haigh WG, Fukushima S, Ikezawa K, Tanaka N, et al. Origin of oxysterols in hepatic bile of patients with biliary infection. Am J Gastroenterol 2003;98(10):2275-80.
46. Lee DK, Tarr PI, Haigh WG, Lee SP. Bacterial DNA in mixed cholesterol gallstones. The Am J Gastroenterol 1999 Dec;94(12):3502-6.
47. Haigh WG, Wong T, Lee SP. The production of oxysterols in bile by activated human leukocytes. Biochem Biophys Res Commun. 2006;343(2):467-9.
48. Wetter L, Hamadeh R, Griffis JM, Oesterie A, Aagaard B, Way L. Differences in outer membrane characteristics between gallstone-associated bacteria and normal bacterial flora. Lancet. 1994;343(8895):444-8.
49. Diehl A. Epidemiology and natural history of gallstone disease. Gastroenterol Clin North Am 1991;20(1):1-19.
50. Van Erpecum K, Van Berge-Henegouwen G. Gallstones: an intestinal disease? Gut. 1999;44(3):435-8.
51. Swidsinski A, Ludwig W, Pahlig H, Priem F. Molecular genetic evidence of bacterial colonization of cholesterol gallstones. Gastroenterology. 1995;108(3):860-4.
52. Swidsinski A, Khilkin M, Pahlig H, Swidsinski S, Priem F. Time dependent changes in the concentration and type of bacterial sequences found in cholesterol gallstones. Hepatology. 1998;27(3):662-5.
53. Nardone G, Compare D, Rocco A. A microbiota-centric view of diseases of the upper gastrointestinal tract. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017;2(4):298-312.
54. Vitetta L, Best SP, Sali A. Single and multiple cholesterol gallstones and the influence of bacteria. Med Hypotheses. 2000;55(6):502-6.
55. Peng Y, Yang Y, Liu Y, Nie Y, Xu P, Xia B, et al. Cholesterol gallstones and bile host diverse bacterial communities with potential to promote the formation of gallstones. Microb Pathog. 2015;83-84:57-63.
56. Sunami Y, Tazuma S, Chayama K. Is a role of phospholipase A(2) in cholesterol gallstone formation phospholipid species-dependent? Biochim Biophys Acta. 2001;1532(1-2):51-9.
57. Shoda J, Ueda T, Ikegami T, Matsuzaki Y, Satoh S, Kano M, et al. Increased biliary group II phospholipase A2 and altered gallbladder bile in patients with multiple cholesterol stones. Gastroenterology. 1997;112(6):2036-47.
58. Stewart L, Griffiss JM, Jarvis GA, Way LW. Bacteria entombed in the center of cholesterol gallstones induce fewer infectious manifestations than bacteria in the matrix of pigment stones. J Gastrointest Surg. 2007;11(10):1298-308.
59. Karin M, Greten FR. NF-kappaB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. Nat Rev Immunol. 2005;5(10):749-59.
60. Dzutsev A, Badger JH, Perez-Chanona E, Roy S, Salcedo R, Smith CK, et al. Microbes and cancer. Ann Rev Immunol.2017;35:199-228.
61. Hosgood HD, 3rd, Sapkota AR, Rothman N, Rohan T, Hu W, Xu J, et al. The potential role of lung microbiota in lung cancer attributed to household coal burning exposures. Environ Mol Mutagen. 2014;55(8):643-51.
62. Schmidt BL, Kuczynski J, Bhattacharya A, Huey B, Corby PM, Queiroz EL, et al. Changes in abundance of oral microbiota associated with oral cancer. PLoS One. 2014;9(6):e98741.
63. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota disbiosis is

associated with colorectal cancer. Front Microbiol. 2015;6:20.
64. Tozun N, Vardareli E. Gut Microbiome and Gastrointestinal Cancer: Les liaisons Dangereuses. J Clin Gastroenterol. 2016;50 Suppl 2, Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health meeting held in Rome, Italy on September 13-15, 2015:S191-S6.
65. Razumilava N, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. Lancet. 2014;383(9935):2168-79.
66. Kawarada Y, Yamagiwa K, Das BC. Analysis of the relationships between clinicopathologic factors and survival time in intrahepatic cholangiocarcinoma. Am J Surg. 2002;183(6):679-85.
67. Khan SA, Tavolari S, Brandi G. Cholangiocarcinoma: Epidemiology and risk factors. Liver Int. 2019;39 Suppl 1:19-31.
68. Sharma V, Chauhan VS, Nath G, Kumar A, Shukla VK. Role of bile bacteria in gallbladder carcinoma. Hepatogastroenterology. 2007;54(78):1622-5.
69. Xiao M, Gao Y, Wang Y. Helicobacter species infection may be associated with cholangiocarcinoma: a meta-analysis. Int J Clin Pract. 2014;68(2):262-70.
70. Zhou D, Wang JD, Weng MZ, Zhang Y, Wang XF, Gong W, et al. Infections of Helicobacter spp. in the biliary system are associated with biliary tract cancer: a meta-analysis. Eur J Gastroenterol Hepatol 2013;25(4):447-54.
71. Murata H, Tsuji S, Tsujii M, Fu HY, Tanimura H, Tsujimoto M, et al. Helicobacter bilis infection in biliary tract cancer. Aliment Pharmacol Ther. 2004;20 Suppl 1:90-4.
72. Lara-Tejero M, Galan JE. A bacterial toxin that controls cell cycle progression as a deoxyribonuclease I-like protein. Science. 2000;290(5490):354-7.
73. Saab M, Mestivier D, Sohrabi M, Rodriguez C, Khonsari MR, Faraji A, et al. Characterization of biliary microbiota dysbiosis in extrahepatic cholangiocarcinoma. PLoS One. 2021;16(3):e0247798.
74. Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, Roperch JP, Letulle S, Langella P, et al. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. PLoS One. 2011;6(1):e16393.
75. Gagnaire A, Nadel B, Raoult D, Neefjes J, Gorvel J-P. Collateral damage: insights into bacterial mechanisms that predispose host cells to cancer. Nat Rev Microbiol 2017;15(2):109-28.
76. Tsuchiya Y, Loza E, Villa-Gomez G, Trujillo CC, Baez S, Asai T, et al. Metagenomics of microbial communities in gallbladder bile from patients with gallbladder cancer or cholelithiasis. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(4):961-967.
77. Dangtakot R, Intuyod K, Ahooja A, Wongwiwatchai J, Hanpanich P, Lulitanond A, et al. Profiling of Bile Microbiome Identifies District Microbial Population between Choledocholithiasis and Cholangiocarcinoma Patients. Asian Pac J Cancer Prev. 2021;22(1):233-40.
78. Huycke MM, Abrams V, Moore DR. Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. Carcinogenesis. 2002;23(3):529-36.
79. Cougnoux A, Dalmasso G, Martinez R, Buc E, Delmas J, Gibold L, et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype. Gut. 2014;63(12):1932-42.
80. Tian W, Hu W, Shi X, Liu P, Ma X, Zhao W, et al. Comprehensive genomic profile of cholangiocarcinomas in China. Oncol Lett. 2020;19(4):3101-10.
81. Chen B, Fu SW, Lu L, Zhao H. A Preliminary Study of Biliary Microbiota in Patients with Bile Duct Stones or Distal Cholangiocarcinoma. BioMed Res Int. 2019;2019.
82. Hirschfield GM, Karlsen TH, Lindor KD, Adams DH. Primary sclerosing cholangitis. Lancet. 2013;382(9904):1587-99.
83. Bergquist A, Ekbom A, Olsson R, Kornfeldt D, Lööf L, Danielsson Å, et al. Hepatic and extrahepatic malignancies in primary sclerosing cholangitis. J Hepatol.2002;36(3):321-7.
84. 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.
85. 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):901-8.
86. Bogdanos DP, Baum H, Grasso A, Okamoto M, Butler P, Ma Y, et al. Microbial mimics are major targets of crossreactivity with human pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis. J Hepatol. 2004;40(1):31-9.
87. Tang R, Wei Y, Li Y, Chen W, Chen H, Wang Q, et al. Gut microbial profile is altered in primary biliary cholangitis and partially restored after UDCA therapy. Gut. 2018;67(3):534-41.
88. Olsson R, Bjornsson E, Backman L, Friman S, Hockerstedt K, Kaijser B, et al. Bile duct bacterial isolates in primary sclerosing cholangitis: a study of explanted livers. J Hepatol. 1998;28(3):426-32.
89. Kummen M, Holm K, Anmarkrud JA, Nygård S, Vesterhus M, Høivik ML, et al. The gut microbial profile in patients with primary sclerosing cholangitis is distinct from patients with ulcerative colitis without biliary disease and healthy controls. Gut. 2017;66(4):611-9.
90. Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K, Joossens M, Falony G, Ballet V, et al. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD. Gut. 2016;65(10):1681-9.
91. Maroni L, van de Graaf SF, Hohenester SD, Oude Elferink RP, Beuers U. Fucosyltransferase 2: a genetic risk factor for primary sclerosing cholangitis and Crohn's disease--a comprehensive review. Clin Rev Allergy Immunol. 2015;48(2-3):182-91.
92. .Bogdanos DP, Pares A, Baum H, Caballeria L, Rigopoulou EI, Ma Y, et al. Disease-specific cross-reactivity between mimicking peptides of heat shock protein of Mycobacterium gordonae and dominant epitope of E2 subunit of pyruvate dehydrogenase is common in Spanish but not British patients with primary biliary cirrhosis. J Autoimmun. 2004;22(4):353-62.
93. Bogdanos DP, Baum H, Okamoto M, Montalto P, Sharma UC, Rigopoulou EI, et al. Primary biliary cirrhosis is characterized by IgG3 antibodies cross-reactive with the major mitochondrial autoepitope and its Lactobacillus mimic. Hepatology. 2005;42(2):458-65.
94. Hiramatsu K, Harada K, Tsuneyama K, Sasaki M, Fujita S, Hashimoto T, et al. Amplification and sequence analysis of partial bacterial 16S ribosomal RNA gene in gallbladder bile from patients with primary biliary cirrhosis. J Hepatol. 2000;33(1):9-18.