

УДК 616.361-006.6:616.34-093/-098
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-105-113>

Исследование микробиоты кишечника у больных холангиокарциномой

Федорова О.С., Ковширина А.Е., Соколова Т.С., Куленич В.В., Огородова Л.М.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: проанализировать таксономический состав кишечной микробиоты у пациентов с холангиокарциномой (ХК) по сравнению с индивидуумами без онкопатологии.

Материалы и методы. В исследование включены пациенты с гистологически верифицированной холангиокарциномой ($n = 30$) и контрольная группа ($n = 27$). Для решения задач данного проекта использован комплексный подход, включающий клинико-анамнестические, лабораторные и инструментальные методы. Исследование микробиоты кишечника выполнено методом ампликонного секвенирования гена бактериальной 16S рРНК.

Результаты. При оценке альфа- и бета-разнообразия микробиоты у пациентов с ХК в сравнении с контрольной группой значимых различий не выявлено. Сравнительный анализ показал изменения в представленности ряда микроорганизмов на разных таксономических уровнях, в том числе более высокое содержание *Bacteroides* и *Lachnospiraceae_NK4A136_group* у пациентов с ХК. Также определены бактерии, оказывающие влияние на изменение глобального баланса микроорганизмов в образцах для пациентов с ХК (*[Ruminococcus]_torques_group*, *Subdoligranulum*, *Parasutterella*, неклассифицированные *Firmicutes*), и контроля (*Oscillospiraceae* и *Erysipelotrichaceae* UCG-006).

Заключение. В результате исследования выявлен ряд значимых различий в представленности бактерий у пациентов с холангиокарциномой в сравнении с участниками контрольной группы. Дальнейшие исследования кишечной микробиоты представляют перспективу для разработки неинвазивных инструментов ранней диагностики ХК.

Ключевые слова: холангиокарцинома, кишечная микробиота, ампликонное секвенирование бактериальной 16S рРНК, рак печени

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант «Изменение микробиоты кишечника как фактор прогрессирования перидуктального фиброза и развития холангиокарциномы» (№ 23-25-00432).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 9389 от 27.02.2023).

Для цитирования: Федорова О.С., Ковширина А.Е., Соколова Т.С., Куленич В.В., Огородова Л.М. Исследование микробиоты кишечника у больных холангиокарциномой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(1):105–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-105-113>.

Study of gut microbiota in cholangiocarcinoma patients

Fedorova O.S., Kovshirina A.E., Sokolova T.S., Kulenich V.V., Ogorodova L.M.

Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To analyze the taxonomic composition of the intestinal microbiota in patients with cholangiocarcinoma (CCA) and compare it to individuals without oncopathology.

Materials and methods. The study included patients with histologically verified cholangiocarcinoma ($n = 30$) and a control group ($n = 27$). An integrated approach was used, including clinical and anamnestic, laboratory, and instrumental methods. The intestinal microbiota was studied through amplicon sequencing of the bacterial 16S rRNA gene.

Results. The assessment of alpha- and beta-diversity of the microbiota in patients with CCA did not show any significant differences compared to the control group. However, a comparative analysis revealed changes in the representation of a number of microorganisms at different taxonomic levels, including a higher content of *Bacteroides* and *Lachnospiraceae_NK4A136_group* in patients with CCA. Additionally, bacteria that influence the change in the global balance of microorganisms were identified in both groups, such as *[Ruminococcus]_torques_group*, *Subdoligranulum*, *Parasutterella*, *unclassified Firmicutes* in samples of patients with CCA and *Oscillospiraceae* and *Erysipelotrichaceae UCG-006* in the control group.

Conclusion. The study found a number of significant differences in bacterial representation between patients with cholangiocarcinoma and control group participants. Further research on the intestinal microbiota has the potential to develop non-invasive tools for early diagnosis of CCA.

Keywords: cholangiocarcinoma, gut microbiota, amplicon sequencing of bacterial 16S rRNA, liver cancer

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation (Agreement No. 23-25-00432).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 9389 of 27.02.2023).

For citation: Fedorova O.S., Kovshirina A.E., Sokolova T.S., Kulenich V.V., Ogorodova L.M. Study of gut microbiota in cholangiocarcinoma patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(1):105–113. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-105-113>.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с мировой статистикой, рак печени занимает шестую позицию среди наиболее распространенных локализаций злокачественных новообразований. Заболеваемость онкопатологией гепатобилиарной системы растет во всем мире, в настоящее время на его долю приходится 15% всех первичных раков печени и 3% злокачественных новообразований пищеварительного тракта [1]. Холангиоцеллюлярный рак (холангиокарцинома, ХК) занимает лидирующие позиции по смертности в онкологии вследствие агрессивности, отсутствия специфических симптомов, длительного бессимптомного течения и способов доклинической диагностики, резистентности к терапии [2].

Наиболее высокая заболеваемость ХК в мире регистрируется в странах Юго-Восточной Азии и Северной Африки – более 20 случаев на 100 тыс. населения ежегодно [2]. В Российской Федерации наиболее высокая заболеваемость ХК отмечается в регионах Западной Сибири, где данный показатель более чем вдвое превышает средние значения по всему миру (более 9 случаев на 100 тыс. населения ежегодно) и является значимым социально-экономическим бременем [2, 3].

ХК относится к мультифакторным заболеваниям, в развитии которого принимают участие генетические, инфекционные, экологические, эпидемиологические факторы риска. Наиболее значимыми являются первичный склерозирующий холангит и (или) язвенный колит, хронические вирусные гепатиты С

и В, печеночные трематодозы, носительство вируса Эпштейна – Барра, неалкогольная жировая болезнь печени, холелитиаз и (или) мальформации билиарной системы, пищевые канцерогены (N-динитрозодиметиламин), отложения рентгеноконтрастных веществ (торотраст) в желчных протоках [4–6]. Важную роль в канцерогенезе играют иммунные механизмы: хроническое воспаление приводит к усилению воздействия на холангиоциты провоспалительных медиаторов – интерлейкина-6, фактора некроза опухоли, циклооксигеназы-2 и активации сигнального пути Wnt с прогрессированием мутаций в генах-супрессорах опухолей, прото-онкогенах и генах репарации ДНК и повышением риска канцерогенеза [7].

Согласно данным клинических и экспериментальных исследований, кишечная микробиота является важнейшим фактором развития заболеваний печени по оси «кишечник – печень» [8, 9]. Воспалительные реакции, возникающие вследствие изменения микробиома кишечника, ассоциированы с развитием ряда хронических неинфекционных заболеваний, а также рассматриваются в качестве потенциального канцерогенного механизма [10–13]. Однако фундаментальные механизмы, которые обуславливают эту взаимосвязь, остаются до сих пор неясными. Таким образом, представляет интерес охарактеризовать таксономический состав кишечной микробиоты у пациентов с ХК и индивидуумов без онкопатологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленных задач проведено исследование в дизайне «случай – контроль» в параллельных группах. Сформированы следующие группы: пациенты с гистологически верифицированным холангиоцеллюлярным раком ($n = 30$) и контрольная группа – участники, не имеющие онкопатологии и без клинически значимых изменений гепатобилиарной системы ($n = 27$). Среди включенных пациентов с холангиокарциномой 16,6% получали химиотерапию, 13,3% – короткий курс антибиотикотерапии (до 7 дней), а 33,3% перенесли хирургическое вмешательство на органах гепатобилиарной системы в течение 2–4 нед до момента включения в исследование. Участники контрольной группы данных видов лечения в указанные сроки не получали.

Диагноз «холангиокарцинома» выставляли на основании результатов гистологического и (или) иммуногистохимического исследования биопсийного или послеоперационного материала печени в соответствии со следующими кодами МКБ-10: C22.1 – рак внутрипеченочного желчного протока; C24 – злокачественное новообразование других и неуточненных частей желчевыводящих путей ($n =$

29); C24.0 – злокачественное новообразование внепеченочного желчного протока ($n = 1$). Критерием включения для участников всех групп являлось наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

В ходе исследования были проанализированы данные историй болезней и физикального осмотра участников, включая витальные показатели, антропометрические данные, а также данные обследования систем и органов.

Всем участникам исследования выполнено ультразвуковое исследование (УЗИ) гепатобилиарной системы с использованием мобильного ультразвукового сканнера высокого разрешения (Mindray M7, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. Ltd., КНР) в соответствии с протоколом, предложенным в рамках ранее проведенных в Юго-Восточной Азии эпидемиологических исследований описторхоза [14]. Проведена оценка размеров печени, структурных особенности паренхимы печени: эхопризнаки ХК и перидуктального фиброза (увеличение перипортальной эхогенности более 3 мм вокруг внутрипеченочных желчных протоков второго порядка), а также расширение и утолщение стенки желчных протоков. Наличие образований в печени было верифицировано методами компьютерной (КТ) и (или) магнитно-резонансной томографии (МРТ) у пациентов с ХК.

Для оценки состава микробиоты кишечника проводили сбор образцов стула в специальные стерильные контейнеры, хранили при температуре -80°C до проведения анализа. Дополнительно проводили оценку образцов стула на наличие инвазии *O. felineus* (микроскопия двух образцов стула с использованием концентраторов Parasap (DiaSys Ltd., Великобритания)).

Для выделения ДНК из образцов стула у рекрутированных участников исследования использовали набор Nobias DNA Extraction Kit (ООО «Нобиа Технолоджис», Россия) с протоколом выделения, включающим в себя этап гомогенизации образца кала с помощью твердых частиц (бидбитинг) и осаждения ингибиторов.

Выполнено исследование микробиоты образцов стула у пациентов с ХК и группой контроля методом ампликонного секвенирования по фрагменту V3-V4 гена *16S* рРНК. В результате проведенной пробоподготовки и секвенирования были исключены шесть образцов из-за несоответствия качества для анализа, в анализ данных исследования микробиоты включены данные по образцам 51 пациента. Секвенирование региона V4 гена бактериальной *16S* рРНК выполнено на приборе Illumina MiSeq.

Биоинформатический анализ полученных прочтений выполнен с использованием программного

обеспечения Qiime 2. Данные агрегированы в ASVs (amplicon sequence variants) с использованием плагина DADA2, таксономический анализ выполнен с применением плагина RDP classifier и базы данных таксономий Silva. Статистический анализ проведен с использованием R 4.3.3. Альфа-разнообразие оценивалось с помощью общего числа оперативных таксономических единиц (OTU), индексов разнообразия Шеннона, Chao1 и Симпсона (rbiom 1.0.3). Сравнение альфа-разнообразия между группами проводилось при помощи непараметрического теста Манна – Уитни.

Бета-разнообразие анализировалось методом непараметрического перестановочного дисперсионного анализа (PERMANOVA) при помощи матриц расстояний на основе расстояния Эйтчисона и меры Жаккара. Различия бета-разнообразия анализировались при помощи теста adonis (vegan 2.6-4). Сравнение представленности микроорганизмов между группами проводилось при помощи непараметрического теста Манна – Уитни и композиционного анализа методом выбора балансов (selbal 0.1.0) для двух групп, а также критерия Краскела – Уоллиса с последующим тестом Данна (dunn.test 1.3.6) для трех и более групп. Корреляционный анализ проводился с помощью ранговой корреляции Спирмена (Hmisc 5.1-2). Для всех статистических тестов применялась поправка на множественные сравнения Бенджамини – Хохберга. Уровень статистической значимости был выбран на уровне 0,05.

ни – Хохберга. Уровень статистической значимости был выбран на уровне 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования сформированы клинические группы пациентов: пациенты с гистологически верифицированной ХК ($n = 30$) и контрольная группа ($n = 27$). В группе пациентов с ХК в 96,7% случаев была диагностирована внутриспеченочная локализация холангиокарциномы и только у 1 пациента – внепеченочная опухоль Клацкина. У 46,7% пациентов ХК диагностирована на I–II стадии и у 53,3% – на III–IV стадии по классификации TNM. Химиотерапия проводилась 16,7% пациентов, а хирургическое лечение – 30%. Только паллиативную помощь получали 53,3% участников исследования.

Наиболее часто встречающимися симптомами у пациентов с ХК являлись боль в животе, вздутие, положительные пузырьные симптомы Кера и Ортнера, болезненность печени при пальпации, а также значимо более высокие уровни билирубина, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и признаки гепатомегалии, перидуктального фиброза, дилатации желчных протоков на УЗИ.

Новообразования выявлялись на УЗИ, а также верифицировались при помощи МРТ или КТ органов брюшной полости. Все клинические данные исследуемых групп представлены в таблице.

Таблица

Клиническая характеристика исследуемых групп

Показатель	Пациенты с ХК, $n = 30$	Контрольная группа, $n = 27$	p
Демографические и анамнестические характеристики, n (%)			
Пол:			
– мужчины	18 (60,0)	14 (51,8)	>0,05
– женщины	12 (40,0)	13 (48,2)	
Возраст, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	59,96 (54,0; 67,0)	62,8 (58,0; 68,0)	>0,05
Курение	21 (70,0)	11 (36,7)	<0,05
Средний стаж курения, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	12,2 (0,0; 20,0)	10,8 (0,0; 20,0)	>0,05
Употребление алкоголя	15 (50,0)	11 (36,7)	>0,05
Язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки	8 (26,7)	4 (14,8)	<0,05
Гипертоническая болезнь	15 (50,0)	19 (70,4)	>0,05
Хроническая сердечная недостаточность	4 (13,3)	9 (33,3)	<0,05
Сахарный диабет 2-го типа	3 (10,0)	4 (14,8)	>0,05
Холелитиаз	8 (26,7)	2 (7,4)	<0,05
Клинические характеристики, n (%)			
Индекс массы тела, кг/см ² , $Me (Q_1; Q_3)$	26,6 (21,0; 28,4)	29,1 (23,0; 33,5)	>0,05
Лихорадка	4 (6,7)	–	–
Желтушность кожи и видимых слизистых	11 (36,7)	–	–
Гепатомегалия (пальпация печени)	14 (43,3)	4 (15,4)	<0,05
Положительные пузырьные симптомы	10 (33,3)	–	–
Биохимические маркеры, $Me (Q_1; Q_3)$			
Общий белок, г/л	67,2 (62,0; 73,0)	68,7 (63,0; 75,0)	>0,05

Показатель	Пациенты с ХК, <i>n</i> = 30	Контрольная группа, <i>n</i> = 27	<i>p</i>
Билирубин общий, мкмоль/л	54,2 (8,9; 41,0)	11,7 (6,0; 14,2)	<0,05
Билирубин прямой, мкмоль/л	28,4 (2,3; 32,0)	1,8 (0,0; 2,3)	<0,05
АЛТ, ЕД/л	61,8 (25,0; 73,0)	30,2 (14,0; 33,0)	<0,05
АСТ, ЕД/л	58,2 (32,0; 73,0)	30,5 (17,0; 42,0)	<0,05
Ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы, <i>n</i> (%)			
Гепатомегалия	8 (26,7)	2 (7,4)	<0,05
Расширение желчных протоков	14 (46,7)	–	–
Утолщение, неровные стенки желчных протоков	7 (23,3)	1 (3,7)	<0,05
Перидуктальный фиброз	12 (40,0)	–	–

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ И СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ СОСТАВА КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Наиболее представленными типами в микробиоте образцов стула пациентов с ХК были Firmicutes (70,1%), Bacteroidota (18,9%), Proteobacteria (5,1%), Patescibacteria (2,9%) и Actinobacteriota (1,6%). В контрольной группе преобладали Firmicutes (72,6%), Bacteroidota (13,4%), Proteobacteria (4,7%), Patescibacteria (3,6%) и Verrucomicrobiota (2,5%, рис.1, *a*). На уровне семейств у пациентов с ХК преобладали Ruminococcaceae (38,0%), Lachnospiraceae (12,5%), Bacteroidaceae (10,7%), Prevotellaceae (5,9%) и Peptostreptococcaceae (4,1%). В контрольной груп-

пе наиболее представленными семействами микроорганизмов оказались Ruminococcaceae (42,9%), Bacteroidaceae (8,3%), Lachnospiraceae (7,3%), Peptostreptococcaceae (4,7%), Oscillospiraceae (4,5%, рис. 1, *b*).

На уровне родов у пациентов с холангиокарциномой преобладали *Faecalibacterium* (34,7%), *Bacteroides* (10,7%), *Prevotella* (5,2%), неклассифицированные рода семейств Lachnospiraceae (3,1%) и Peptostreptococcaceae (2,3%). В контрольной группе наиболее представленными родами микроорганизмов оказались *Faecalibacterium* (40,5%), *Bacteroides* (8,3%), *Prevotella* (3,0%), UCG-002 (2,7%) и неклассифицированные рода семейства Peptostreptococcaceae (2,7%, рис.1, *c*).

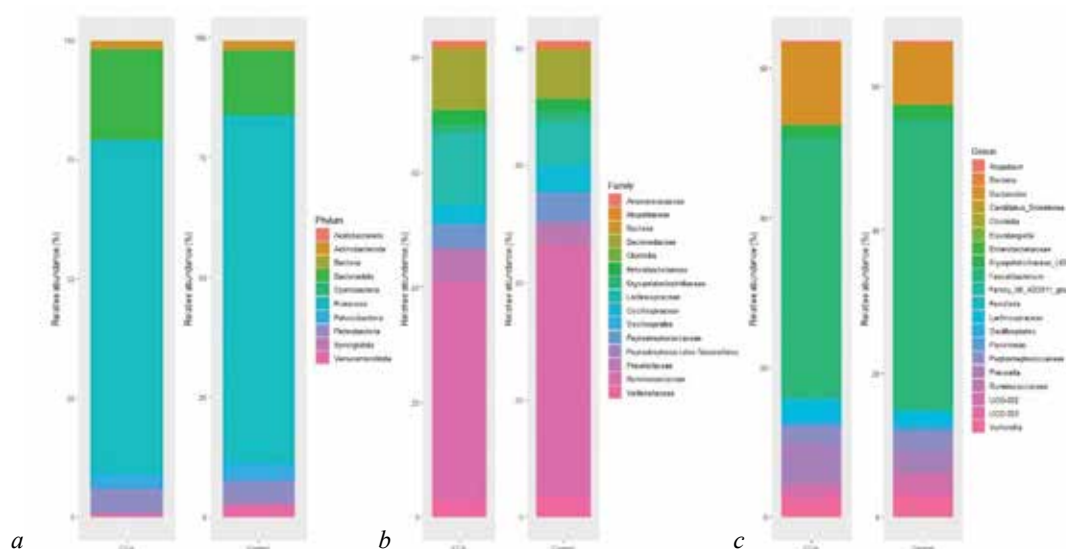


Рис. 1. Наиболее представленные таксоны микроорганизмов в образцах стула пациентов с холангиокарциномой (ССА) и в контрольной группе (Control): *a* – на уровне порядков, *b* – на уровне семейств, *c* – на уровне родов

В результате сравнительного анализа альфа-разнообразия микробиоты образцов стула не выявлено статистически значимых различий между группой

пациентов с ХК по сравнению с контрольной группой (рис. 2). При оценке бета-разнообразия различий между группами не обнаружено.

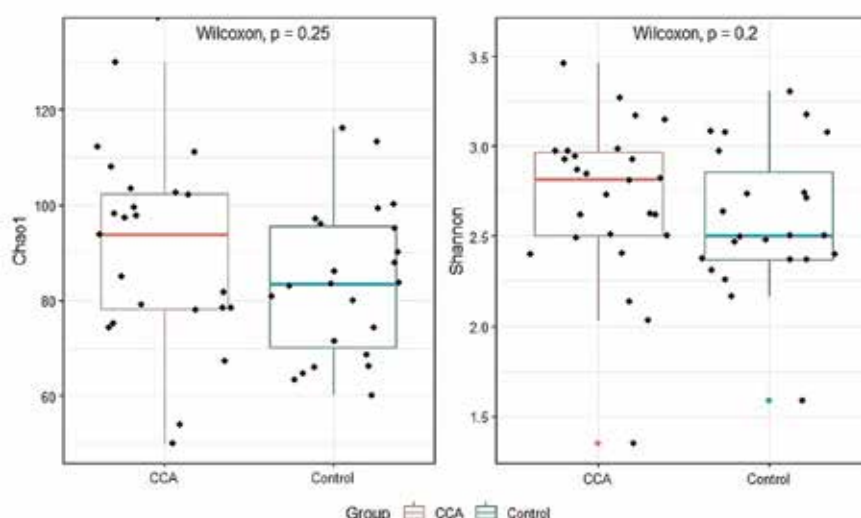


Рис. 2. Сравнения альфа-разнообразия между группами пациентов с холангиокарциномой (CCA) и контрольной группой (Control) по числу оперативных таксономических единиц (OTUs), индексов разнообразия Шеннона (Shannon), Chao1 и Симпсона (Simpson): p рассчитано с помощью непараметрического теста Манна – Уитни

С помощью теста Манна – Уитни были определены бактерии (28 таксонов), представленность которых статистически значимо отличалась в группе пациентов с ХК относительно контрольной группы. Выявлено, что ХК ассоциирована с увеличением представленности бактерий порядков Lachnospirales, Clostridiales, Rhodospirillales, семейств Lachnospiraceae, Tannerellaceae, Clostridiaceae, неклассифицированных Rhodospirillales и Bacteroidales в сравнении с контролем. Кишечная микробиота участников контрольной группы характеризовалась более высоким содержанием бактерий семейства Staphylococcaceae и родов *Staphylococcus*, *Finegoldia*. На уровне родов в образцах микробиоты пациентов с ХК отме-

чено более высокое содержание [*Ruminococcus*] *torques* group, *Dorea*, *unclassified Lachnospiraceae*, *CAG-56*, *Agathobacter*, *Clostridium sensu stricto 1*, *uncultured Rhodospirillales*, *Subdoligranulum*, *CAG-352*, *Anaerostipes*, *Parabacteroides*, *uncultured Bacteroidales*, *Anaerovoracaceae Family XIII AD3011 group*, *Oscillospiraceae NK4A214 group*, *Lachnospiraceae NK4A136 group*.

Также мы использовали метод выбора балансов с признаком пола в качестве ковариаты для снижения обнаружения ложноположительных результатов. Мы считали значимыми только те бактерии, которые находились в глобальном балансе ($R^2 = 0,726$; $p = 0,006$, рис. 3).

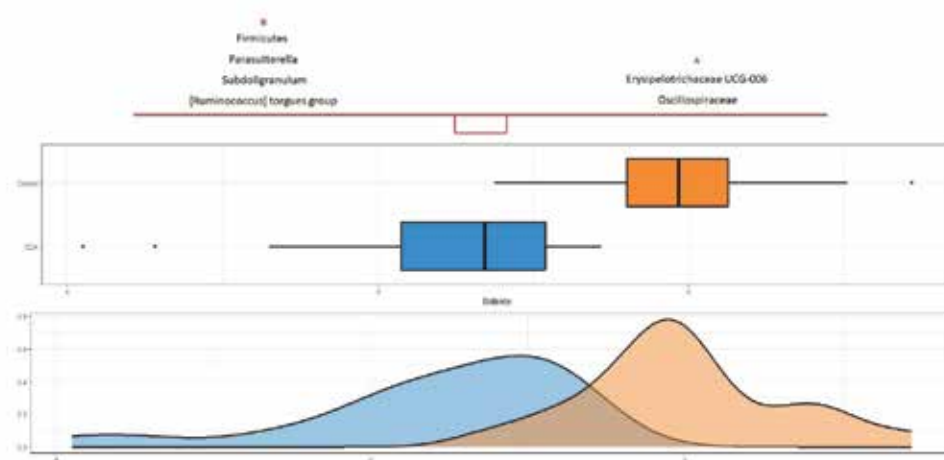


Рис. 3. Выбор балансов микроорганизмов в образцах на уровне родов. Представленные в верхней части графика бактерии оказывают влияние на изменение глобального баланса микроорганизмов в образцах. На средней и нижней частях представлены графики типа «ящики-с-усами» и кривые плотности распределения балансов для групп пациентов с ХК (CCA, синий цвет) и контрольной группой (Control, оранжевый цвет)

Также, предполагая совместное влияние нескольких бактериальных родов на баланс микроорганизмов в образцах, мы провели корреляционный анализ между бактериями, попавшими в глобальный баланс. Статистически значимая средняя корреляционная связь была обнаружена между бактериями родов [*Ruminococcus*] *torques* group и *Subdoligranulum* ($r = 0,56$; $p < 0,0001$), которые изменяли баланс микроорганизмов в меньшую сторону.

Внутри группы пациентов с ХК мы исследовали различия относительной представленности бактерий в зависимости от клинических признаков (наличие вредных привычек, сопутствующие заболевания, проводимое лечение, локализация и гистологическая характеристика опухоли, макроскопические характеристики печени и желчных протоков). Так, у пациентов с внутривенной локализацией опухоли наблюдалось значимое повышение представленности бактерий рода *Clostridia* UCG-014 ($p = 0,023$), у пациентов с III–IV стадией заболевания значимо снижалось содержание бактерий рода *Odoribacter* ($p = 0,012$). У пациентов с анапластическим раком, подтвержденным с помощью гистологического исследования, значимо повышалось содержание представителей рода *Saccharimonadaceae* ($p = 0,029$), неклассифицированных родов семейства *Rhizobiaceae* ($p = 0,036$) и рода *Faecalibacterium* ($p = 0,043$) относительно пациентов с другими типами рака. Также значимое повышение представленности бактерий рода *Agathobacter* наблюдалось у пациентов с расширением печеночных протоков ($p = 0,022$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые выполнено исследование состава кишечной микробиоты с использованием метода секвенирования бактериальной 16S рРНК с участием российской популяции пациентов с холангиокарциномой. В исследуемой нами выборке в большинстве случаев была диагностирована внутривенная локализация холангиокарциномы, у более половины пациентов диагноз установлен на III–IV стадии по TNM. Клинические симптомы соответствовали течению заболевания.

В результате исследования выявлено, что состав микробиоты кишечника у пациентов с ХК в сравнении с контрольной группой характеризуется изменениями количественной представленности отдельных сообществ микроорганизмов без значимых различий альфа- и бета-разнообразия.

Результаты зарубежных исследований демонстрируют различия в составе микробиоты кишечника пациентов с раком желчевыводящих путей и

здоровыми участниками. Однако при обобщении данных результатов в настоящее время не выявлено общей тенденции к изменению определенных групп микроорганизмов и относительно характерного микробного профиля при ХК, что, вероятно, связано с различием методологических подходов. Следует отметить, что в нашем исследовании выявлены некоторые модификации представленности микроорганизмов, сопоставимые с результатами аналогичных предыдущих исследований. Так, в двух исследованиях отмечено изменение представленности рода *Bacteroides* у пациентов с ХК и ГЦК [15, 16]. Бактерии рода *Bacteroides* являются доминирующими представителями нормальной кишечной микробиоты и выполняют различные функции, направленные на поддержание гомеостаза кишечника [17]. Однако отдельные виды рода *Bacteroides*, например *Bacteroides fragilis*, могут играть роль в патогенезе различных заболеваний и канцерогенеза [18, 19]. В исследовании Т. Deng и соавт. (2022) также выявлена ассоциация с увеличением представленности неклассифицированной группы *Lachnospiraceae* NK4A136 [15].

В другом исследовании также отмечено увеличение *Parabacteroides* в образцах кишечной микробиоты у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой [20]. Микробиота кишечника пациентов на ранних стадиях ГЦК характеризовалась снижением бактерий, продуцирующих бутират, и увеличением продуцирующих липополисахариды микроорганизмов в сравнении с образцами контрольной группы [20]. Показано, что высокие уровни липополисахаридов активируют путь NF-κB, продуцируют провоспалительные цитокины (TNFα, IL-6 и IL-1) и приводят к воспалительному и окислительному повреждению печени, способствуя развитию онкологических заболеваний гепатобилиарной системы [21–23].

Результаты оценки индексов разнообразия кишечной микробиоты по данным различных исследований неоднородны. Так, по результатам систематического обзора исследований, направленных на изучение кишечной микробиоты у пациентов с холангиокарциномой, показано, что в большинстве публикаций индекс альфа-разнообразия значимо не различался в сравнении с контролем, в двух исследованиях отмечено снижение и в одном – увеличение таксономического разнообразия [24]. При исследовании биоптатов печени показано, что образцы околоопухолевых участков и ткани ГЦК имели более высокое бактериальное разнообразие в сравнении с непораженными участками печени [25].

В результате оценки микробиоты кишечника с использованием метода выбора балансов нами

выявлен ряд бактерий, оказывающих влияние на изменение глобального баланса микроорганизмов в образцах. Для пациентов с ХК характерным являлся профиль микробиоты с увеличением представленности [*Ruminococcus*] *torques* group, *Subdoligranulum*, *Parasutterella*, *unclassified Firmicutes*. В предыдущих исследованиях отмечено, что представленность бактерий рода *Subdoligranulum*, напротив, у пациентов с заболеваниями печени снижена в сравнении со здоровыми участниками [26–28]. Бактерии рода *Parasutterella* участвуют в метаболизме желчных кислот [29].

Исследование микробиоты кишечника является сложной задачей, что связано со множеством внутренних и внешних факторов, влияющих на состав сообществ микроорганизмов, и требует тщательного планирования исследований. К ограничениям нашего исследования следует отнести небольшой размер выборки, а также однократную оценку микробиоты в образце стула.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования выявлен ряд значимых различий в представленности бактерий у пациентов с холангиокарциномой в сравнении с участниками контрольной группы. Учитывая результаты предыдущих исследований, такие микроорганизмы, как *Bacteroides* и *Lachnospiraceae* *NK4A136* group, могут являться потенциальными микробными маркерами развития ХК. Таким образом, дальнейшие исследования кишечной микробиоты представляют перспективу для разработки неинвазивных инструментов ранней диагностики ХК.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Banales J.M., Cardinale V., Carpino G., Marzioni M., Andersen J.B., Invernizzi P. et al. Expert consensus document: Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA). *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016;13(5):261–280. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.51
2. WHO's Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability. 2020. URL: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>
3. Fedorova O.S., Kovshirina Y.V., Kovshirina A.E., Fedotova M.M., Deev I.A., Petrovskiy F.I. et al. Opisthorchis felinus infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics. *Parasitol. Int.* 2017;66(4):365–371. DOI: 10.1016/j.parint.2016.07.010.
4. Palmer W.C., Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J. Hepatol.* 2012;57(1):69–76. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.022.
5. Uddin M.H., Li S., Jin Y., Choi M.H., Jang J.J., Hong S.T. C3H/He mice as an incompatible cholangiocarcinoma model by clonorchis sinensis, Dicyclanil and N-Nitrosodimethylamine. *Korean J. Parasitol.* 2016;54(3):281–289. DOI: 10.3347/kjp.2016.54.3.281.
6. Woo H., Han J.K., Kim J.H., Hong S.T., Uddin M.H., Jang J.J. In vivo monitoring of development of cholangiocarcinoma induced with C. sinensis and N-nitrosodimethylamine in Syrian golden hamsters using ultrasonography and magnetic resonance imaging: a preliminary study. *Eur. Radiol.* 2017;27(4):1740–1747. DOI: 10.1007/s00330-016-4510-4.
7. Meng C., Bai C., Brown T.D., Hood L.E., Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2018;16(1):33–49. DOI: 10.1016/j.gpb.2017.06.002.
8. Adolph T.E., Grander C., Moschen A.R., Tilg H. Liver-microbiome axis in health and disease. *Trends Immunol.* 2018;39(9):712–723. DOI: 10.1016/j.it.2018.05.002.
9. 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):534–541. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313332.
10. Ni J., Huang R., Zhou H., Xu X., Li Y., Cao P. et al. Analysis of the relationship between the degree of dysbiosis in gut microbiota and prognosis at different stages of primary hepatocellular carcinoma. *Front. Microbiol.* 2019;10:1458. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01458.
11. Imhann F., Vich Vila A., Bonder M.J., Fu J., Gevers D., Visschedijk M.C. et al. Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease. *Gut.* 2018;67(1):108–119. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312135.
12. Sripa B., Deenonpoe R., Brindley P.J. Co-infections with liver fluke and Helicobacter species: A paradigm change in pathogenesis of opisthorchiasis and cholangiocarcinoma? *Parasitol. Int.* 2017;66(4):383–389. DOI: 10.1016/j.parint.2016.11.016.
13. Chng K.R., Chan S.H., Ng A.H.Q., Li C., Jusakul A., Bertrand D. et al. Tissue microbiome profiling identifies an enrichment of specific enteric bacteria in *Opisthorchis viverrini* associated cholangiocarcinoma. *EBio Medicine.* 2016;8:195–202. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.04.034.
14. Sripa B., Bethony J.M., Sithithaworn P., Kaewkes S., Mairiang E., Loukas A. et al. Opisthorchiasis and opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos. *Acta Trop.* 2011;120:S158–S168. DOI: 10.1016/j.actatropica.2010.07.006.
15. Deng T., Li J., He B., Chen B., Liu F., Chen Z. et al. Gut microbiome alteration as a diagnostic tool and associated with inflammatory response marker in primary liver cancer. *Hepatol. Int.* 2022;16(1):99–111. DOI: 10.1007/s12072-021-10279-3.
16. Zhang T., Zhang S., Jin C., Lin Z., Deng T., Xie X. et al. A Predictive model based on the gut microbiota improves the diagnostic effect in patients with cholangiocarcinoma. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2021;11:751795. DOI: 10.3389/fcimb.2021.751795.
17. Zafar H., Saier M.H. Jr. Gut bacteroides species in health and disease. *Gut Microbes.* 2021;13(1):1–20. DOI: 10.1080/19490976.2020.1848158.

18. Bartolini I., Risaliti M., Ringressi M.N., Melli F., Nannini G., Amedei A. et al. Role of gut microbiota-immunity axis in patients undergoing surgery for colorectal cancer: Focus on short and long-term outcomes. *World J. Gastroenterol.* 2020;26(20):2498–2513. DOI: 10.3748/wjg.v26.i20.2498.
19. Mármol I., Sánchez-de-Diego C., Pradilla Dieste A., Cerrada E., Rodríguez Yoldi M.J. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(1):197. DOI: 10.3390/ijms18010197.
20. Ren Z., Li A., Jiang J., Zhou L., Yu Z., Lu H. et al. Gut microbiome analysis as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for early hepatocellular carcinoma. *Gut.* 2019;68(6):1014–1023. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-315084.
21. Dapito D.H., Mencin A., Gwak G.Y., Pradere J.P., Jang M.K., Mederacke I. et al. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell.* 2012;21(4):504–516. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.007.
22. Darnaud M., Faivre J., Moniaux N. Targeting gut flora to prevent progression of hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* 2013;58(2):385–387. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.08.019.
23. Nolan J.P. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history. *Hepatology.* 2010;52(5):1829–1835. DOI: 10.1002/hep.23917.
24. Lederer A.K., Rasel H., Kohnert E., Kreutz C., Huber R., Badr M.T. et al. Gut Microbiota in Diagnosis, Therapy and Prognosis of Cholangiocarcinoma and Gallbladder Carcinoma-A Scoping Review. *Microorganisms.* 2023;11(9):2363. DOI: 10.3390/microorganisms11092363.
25. Huang J.H., Wang J., Chai X.Q., Li Z.C., Jiang Y.H., Li J. et al. The Intratumoral bacterial metataxonomic signature of hepatocellular carcinoma. *Microbiol. Spectr.* 2022;10(5):e0098322. DOI: 10.1128/spectrum.00983-22.
26. Bajaj J.S., Hylemon P.B., Ridlon J.M., Heuman D.M., Daita K., White M.B. et al. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2012;303(6):G675–G685. DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012.
27. Qin N., Yang F., Li A., Prifti E., Chen Y., Shao L. et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature.* 2014;513(7516):59–64. DOI: 10.1038/nature13568.
28. Louis S., Tappu R.M., Damms-Machado A., Huson D.H., Bischoff S.C. Characterization of the gut microbial community of obese patients following a weight-loss intervention using whole metagenome shotgun sequencing. *PLoS One.* 2016;11(2):e0149564. DOI: 10.1371/journal.pone.0149564.
29. Ju T., Kong J.Y., Stothard P., Willing B.P. Defining the role of *Parasutterella*, a previously uncharacterized member of the core gut microbiota. *ISME. J.* 2019;13:1520–1534. DOI: 10.1038/s41396-019-0364-5.

Вклад авторов

Федорова О.С. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Ковширина А.Е. – обоснование рукописи, разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Соколова Т.С. – разработка концепции и дизайна. Куленич В.В. – анализ и интерпретация данных. Огородова Л.М. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

Ковширина Анна Евгеньевна – ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, anna.evgenjevna.kovshirina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6116-8323>

Соколова Татьяна Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, sokolova.ts@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1085-0733>

Куленич Виктория Владимировна – лаборант-исследователь, научно-образовательная лаборатория «Живая лаборатория популяционных исследований», СибГМУ, г. Томск, kulenich.vv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0009-0000-7416-5017>

Огородова Людмила Михайловна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск, ogorodova.lm@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2962-1076>

(✉) **Федорова Ольга Сергеевна**, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com.

Поступила в редакцию 15.10.2024;
одобрена после рецензирования 23.10.2024;
принята к публикации 28.11.2024