

Gut Microbiota in Hepatobiliary Diseases

Hanifah Oswari

Objektif:

1. Memahami sumbu usus-hati
2. Memahami peran mikrobiota usus dengan penyakit hepatobilier.
3. Memahami metabolit yang dihasilkan mikrobiota usus dan hubungannya dengan penyakit hepatobilier
4. Memahami peran asam empedu dalam hubungannya dengan mikrobiota usus b
5. Mengetahui peran probiotik tertentu untuk memodulasi mikrobiota usus pada penyakit hepatobilier

Mikrobiota usus manusia merupakan komunitas bakteri yang kompleks. Mikrobiota di saluran cerna manusia bermacam-macam jenisnya (archaea, fungi, yeast, bakteri, dan virus). Jumlah mikroba di saluran cerna manusia mencapai 1×10^{14} *clony-forming unit* bakteri.^{1, 2} Jumlah gen mikrobiota ini 10-100 kali lipat dari jumlah gen manusia sehingga disebut sebagai organ yang terlupakan.³ Terdapat 5 set *phyla* yang ditemukan pada feses orang dewasa yaitu: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Protobacteria*, dan *Verrucomicrobia*.⁴ Di antara mikrobiota saluran cerna ini, hanya ada beberapa utama yang mendominasi yaitu *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, dan *Peptostreptococcus*.⁵

Mikrobiota usus dan tubuh manusia memiliki hubungan simbiosis dan ketidakseimbangan homeostasis ini dapat mengarah pada penyakit. Penyakit hati berhubungan juga dengan perubahan mikrobiota usus. Penyakit hati kronis umumnya berhubungan dengan disfungsi *barrier* usus, tetapi kontribusi disbiosis dengan penyakit hati kronis ini jauh melampaui perubahan *barrier* usus. Metabolit mikroba juga penting untuk perkembangan penyakit hati. Pengetahuan yang lebih baik mengenai interaksi pejamu dan mikroba usus akan membawa kita pada penemuan terapi baru dengan target mikrobiota usus.

Mikrobiota usus ini dapat berfungsi penting di dalam usus manusia seperti sintesis nutrisi, digestif, absorpsi, stimulasi imun dan mengontrol patogen-patogen. Mikrobiota usus manusia ini berperan untuk mengatur respons imun pejamu dan juga berkontribusi untuk mempertahankan kesehatan manusia.⁶ Disregulasi mikrobiota usus dapat meningkatkan kerentanan pejamu untuk terjadinya penyakit atau kelainan-kelainan termasuk penyakit hepatobilier.⁶

Tujuan penulisan ini adalah untuk membahas peran perubahan mikrobiota usus dalam penyakit-penyakit hepatobilier yang telah diketahui sampai saat ini.

Sumbu usus-hati

Istilah *gut-liver axis* (sumbu usus-hati) digunakan untuk menyoroti hubungan anatomi dan fungsional yang erat antara usus dengan mikrobiotanya dan hati. Interaksi bolak balik ini terjadi melalui vena porta yang memungkinkan transpor produk turunan dari usus secara langsung ke hati.⁷ Usus memiliki membran epitelial yang sangat spesifik dalam mengatur transportasi melintasi mukosa. Akibat disbiosis, gangguan pada barier usus, dan perubahan status kekebalan, produk-produk bakteri dapat mencapai hati melalui vena porta, dan mereka dikenali oleh reseptor-reseptor khusus, yang kemudian akan mengaktifkan sistem kekebalan, dan menyebabkan respons peradangan. Mikrobiota usus dan translokasi bakteri memainkan peran penting dalam patogenesis penyakit hati kronis, termasuk penyakit hati berlemak alkoholik dan non-alkoholik, sirosis, serta komplikasinya seperti hipertensi portal, peritonitis bakterialis spontan, dan ensefalopati hepatic. Mikrobiota usus juga memainkan peran kritis sebagai pengatur metabolisme asam empedu yang juga dapat memengaruhi permeabilitas usus dan hipertensi portal melalui reseptor farnesoid-X.⁸

Asam empedu adalah molekul yang disintesis di dalam hati yang berasal dari kolesterol dan kemudian dilepaskan ke usus lalu dimetabolisme oleh mikrobiota. Asam empedu memiliki peran kunci dalam membentuk mikrobiota. *Crosstalk* antara asam empedu dan mikrobiota usus dapat terjadi pada berbagai tempat serta terjadi interaksi secara dua arah yaitu mikrobiota berefek pada metabolisme asam empedu dan asam empedu berefek pada komposisi mikrobiota.^{9, 10}

Hubungan penyakit hepatobilier dengan mikrobiota usus dan metabolitnya menjadi topik riset yang menarik karena terdapat aksis anatomi di antara hati, vena porta, saluran empedu dan saluran gastrointestinal.

Interaksi antara mikrobiota usus dan penyakit hepatobilier anak

1. Atresia bilier

Atresia bilier (AB) ditata laksana dengan operasi Kasai portoenterostomi (KPE) untuk mencapai kondisi bebas kuning. Komposisi mikrobiota usus telah diketahui berhubungan dengan perjalanan penyakit hati kolestasis

yang berat. Komposisi mikrobiota usus pasien AB dibandingkan dengan pasien kontrol (pasien yang akan dioperasi hernia). Pasien AB memiliki jumlah *Bifidobacteriaceae* dan *Lachnospiraceae* yang lebih rendah, tetapi lebih tinggi untuk *Streptococcus* dibandingkan kontrol. Diversitas alfa sebelum KPE berhubungan negatif dengan kondisi bebas kuning. Diversitas alfa yang rendah sebelum KPE berhubungan dengan klirens ikterus. Pada kelompok yang mengalami klirens ikterus terlihat lebih banyak mengandung genus *Acinetobacter* dan famili *Clostridiaceae* dan lebih sedikit famili *Enterobacteriaceae* (genera *Klebsiella*, *Salmonella*) dibandingkan pasien yang tidak mengalami klirens ikterus. Dari hasil di atas, mikrobiota usus pasien AB sebelum operasi KPE berhubungan dengan luaran bebas kuning. Hal ini mengarah pada peran mekanistik komposisi mikrobiota usus dalam homeostasis empedu.¹¹

Penelitian pada tikus menunjukkan peran mikrobiota usus yang memengaruhi kerentanan neonatus terhadap cedera saluran bilier. Ibu yang diberi suplementasi butirir, asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid/SCFA*) yang diproduksi oleh bakteri di usus, memberikan proteksi untuk anak-anaknya terhadap cedera bilier pada model AB yang diinduksi virus. Neonatus yang diberikan butirir ini mempunyai feses yang kaya akan *Firmicutes* dan *Bacteroidetes*. Pemberian langsung glutamat pada neonatus sebelum dilakukan induksi virus untuk AB menekan aktivasi sel imun dan mencegah terbentuknya AB.^{12, 13}

Struktur mikrobiota usus terganggu pada tahap awal dan akhir AB. *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Veillonella*, dan *Enterococcus* selalu terlihat dominan. Banyaknya *V. atypica* menunjukkan perubahan signifikan antara tahap awal dan tahap lanjut dari AB. *Klebsiella* dan *Veillonella atypica* berkorelasi kuat dengan enzim hati. *Enterococcus faecium* memiliki hubungan positif yang besar dengan turunan asam lithokolat.¹⁴

Operasi Kasai sebelumnya memiliki beberapa efek pada mikrobiota usus dan asam empedu pada AB dengan penyakit hati tahap akhir. Operasi Kasai yang dilakukan pada pasien AB sebelumnya dapat meningkatkan mikrobiota usus dan asam empedu pada pasien dengan BA dan penyakit hati tahap akhir. *Veillonella atypica* mengalami peningkatan signifikan pada kelompok non-Kasai ($P < 0,05$). *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Barnesiella* spp., *Parabacteroides* spp., *Helibacterium* spp., *Erysipelatoclostridium* spp., dan *Diaporthe* spp. meningkat pada kelompok pasca-Kasai ($P < 0,05$). *V. atypica* memiliki korelasi positif yang sangat besar dengan enzim hati. *Faecalibacterium prausnitzii* dan *Escherichia coli* berkaitan dengan turunan jalur alternatif metabolisme asam empedu.¹⁵

Pasien AB diketahui memiliki komposisi mikrobiota usus dan asam empedu yang berbeda dengan anak normal. Interaksi antara mikrobiota usus dan asam empedu ini berperan dalam proses kerusakan hati pada AB dan juga

mungkin berhubungan dengan terjadinya kolangitis pascaoperasi dan klirens ikterus. Pada kelompok AB, *Actinobacillus*, *Monoglobus*, dan *Agathobacter* lebih melimpah pada pasien tanpa kolangitis ($p < 0,05$). *Selenomonadaceae* dan *Megamonas* lebih melimpah pada pasien tanpa episode kolangitis berulang ($p < 0,05$), sementara *Lachnospiraceae* dan *Ruminococcaceae* lebih melimpah pada pasien dengan episode kolangitis berulang ($p < 0,05$). Klirens ikterus pascaoperasi terkait dengan *Campylobacter* dan *Rikenellaceae* ($p < 0,05$), dan asam tauroursodeoksikolat terkait dengan klirens ikterus ($p < 0,001$).¹⁶

Penelitian lain juga mendapatkan hal yang mirip. Komposisi mikrobiota usus berbeda antara AB dengan kolangitis dan AB tanpa kolangitis. *Bifidobacterium* adalah genus paling melimpah dalam kelompok AB yang tidak mengalami kolangitis, proporsinya mencapai 22,14%. Pada kelompok AB dengan kolangitis ditemukan banyak *Klebsiella* (22,74%). Dibandingkan dengan kelompok AB tanpa kolangitis, *Bacteroides* secara signifikan berkurang dalam kelompok AB dengan kolangitis ($p = 0,037$).¹⁷

Terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik dalam jumlah gen antara kelompok sebelum transplantasi hati (TH) karena AB dan kelompok kontrol (anak sehat), kelompok sebelum TH dan kelompok setelah TH ($P < 0,05$), tetapi tidak ada perbedaan statistik antara kelompok setelah TH dan kelompok kontrol. Analisis komposisi mikrobiota usus menunjukkan penurunan signifikan *Serratia*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Skunlikevirus*, dan *Phiflikevirus* sementara bakteri penghasil asam lemak rantai pendek (SCFA) seperti *Roseburia*, *Blautia*, *Clostridium*, *Akkermansia*, dan *Ruminococcus* meningkat setelah TH. Transplantasi hati meningkatkan mikrobiota usus pada pasien dengan AB.¹⁸

2. Non-alcoholic fatty liver disease

Diperkirakan 25% populasi dunia mengalami *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD).¹⁹ Sekitar 10-25% pasien NAFLD dapat berlanjut ke bentuk yang lebih berat yaitu *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH) yang lebih besar risikonya memburuk menjadi sirosis hati dan kanker hati (*hepatocellular carcinoma*).²⁰ Pada anak, dengan meningkatnya obesitas dan kelainan metabolik di negara berkembang, terjadi peningkatan NAFLD anak dan menjadi penyakit hati kronis yang tersering pada anak. Prevalensi NAFLD pada anak berkisar antara 5-10% secara global.²¹

Banyak penelitian yang menyokong peran disbiosis usus dalam perkembangan atau peningkatan disfungsi metabolik, hal ini terjadi dengan perubahan flora usus dan metabolitnya dan menyebabkan peningkatan resistensi terhadap insulin, peningkatan jaringan adiposit, serta peningkatan deposit lemak di hati.²²

Diet, mikrobiota, dan mukosa usus saling berhubungan. Ketiga hal ini terkoneksi ke pejamu melalui aksis usus-hati. Produk intestinal meregulasi sintesis asam empedu, glukosa hati dan metabolisme lemak, termasuk komposisi mikrobiota dan fungsi *barrier* usus.^{23, 24}

Pada penelitian kasus-kelola di Finlandia yang mengikuti 25 bayi menemukan bahwa anak-anak yang menjadi *overweight* pada usia 7 tahun mempunyai lebih banyak *Staphylococcus aureus* yang diketahui sebagai bakteri yang cenderung pro-inflamasi dan lebih rendah tingkat *Bifidobacteria*, genus anti-inflamasi klasik pada tinjanya pada saat bayi dibandingkan anak yang tidak *overweight*.²⁵

Penelitian pada pasien anak dengan NAFLD terlihat perbedaan bermakna kelimpahan genera multipel di dalam ususnya dibandingkan kontrol. Pada NAFLD awal terdapat penurunan *Oscillospira* dan peningkatan *2-butanone*. Pada NAFLD yang sedang berkembang terdapat peningkatan *Ruminococcus* dan *Dorea*.²⁶

Pada mencit yang mendapat diet tinggi serat dan manusia dengan NAFLD, terjadi gangguan sinyal asam empedu akibat dari tidak normalnya mikrobiota usus. Mikrobiota yang terlihat melimpah adalah bakteri penghasil asam empedu sekunder seperti asam deoksikolat, suatu asam empedu antagonis FXR, yang akan menekan sinyal yang dimediasi FXR- dan FGFR4.²⁷ Akibatnya akan terjadi sintesis yang asam empedu meningkat dengan peningkatan konsentrasi asam empedu primer dan sekunder.²⁸

Pada penelitian *randomized controlled trial* yang melibatkan 65 anak dengan obesitas dan dibuktikan dengan USG terdapat NAFLD, anak yang diberikan probiotik yang mengandung 2 strain *Lactobacillus* dan 2 strain *Bifidobacterium* selama 3 bulan mengalami penurunan kadar ALT dan AST, kolesterol, LDL C, trigliserida dan lingkaran perut dibandingkan anak yang mendapat plasebo.²⁹

Penelitian pada tikus yang mendapat diet tinggi lemak selama 12 minggu dan diberikan vitamin D 2 kali seminggu selama 12 minggu, ternyata vitamin D dapat menghambat terjadinya NAFLD yang disertai disbiosis mikrobiota usus dan metabolitnya. Terjadi penurunan rasio *phylum Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) tetapi terjadi peningkatan diversitas alfa. Selain itu terjadi peningkatan *Prevotella* dan *Porphyromonadaceae* dan penurunan *Mucispirillum* pada tikus yang diberikan vitamin D. Vitamin D berpotensi untuk digunakan sebagai terapi NAFLD dengan cara menargetkannya pada mikrobiota spesifik.³⁰

3. Primary sclerosing cholangitis

Primary sclerosing cholangitis (PSC) adalah penyakit hati progresif dan sering kali bersamaan dengan *inflammatory bowel disease* (IBD). PSC dapat berlanjut menjadi sirosis dan penyakit hati tahap akhir. Pada pasien PSC ditemukan kelimpahan *Veillonella*, *Streptococcus*, dan *Enterococcus* di usus pasien dengan

PSC. Perubahan diversitas mikrobiota tidak berbeda pada pasien PSC dengan atau tanpa IBD.³¹

Pada penelitian anak dengan PSC ditemukan kelimpahan genera *Veilonella* dan *Megasphaera*. *Veilonella* juga ditemukan meningkat pada pasien PSC yang aktif.³² Pada penelitian lain ditemukan *Veilonella* 4,8 kali lebih tinggi pada PSC dibandingkan orang sehat, tetapi *Veillonella* tidak hanya spesifik untuk PSC saja, tetapi juga ditemukan pada *primary biliary cirrhosis* (PBC), sirosis akibat hepatitis B dan ensfalopati hepaticum.³³

4. Penyakit Wilson

Penelitian klinis yang membandingkan mikrobiota usus pasien muda dengan penyakit Wilson (PW) dan kontrol sehat menemukan perbedaan bermakna komposisi bakteri feces dan diversitasnya. Pada pasien PW, terdapat penurunan *Shannon diversity index* dan *ACE richness index* dan peningkatan berlimpah *Bacteroidetes* dan lebih rendahnya *Firmicutes*, *Proteobacteria*, dan *Fusobacteria* dibandingkan kontrol.³⁴

Pada penelitian lain juga terbukti ada perubahan mikrobiota usus pada pasien PW. Pasien PW secara bermakna memiliki penurunan jumlah *Firmicutes* dibandingkan kontrol sehat dan peningkatan jumlah patogen oportunistik *Proteobacteria*. *Firmicutes* memegang peran kunci memecahkan karbohidrat yang tidak dapat dicerna dan menghasilkan SCFA yang mempunyai efek anti-inflamasi dan meningkatkan diferensiasi sel T regulator.³⁵

5. Sirosis hati

Terjadi perubahan mikrobiota usus yang mengakibatkan gangguan sumbu usus-hati pada sirosis hati. Perubahan komposisi mikrobiota usus pada sirosis hati terjadi karena gangguan pada pengontrolan mikrobiota yaitu pertama, penurunan motilitas usus halus dan *transit time*, terutama pada fase terdapat asites dan kedua, ketidaknormalan asam empedu termasuk penurunan asam empedu primer dan dan peningkatan asam empedu sekunder di usus dan ketiga, gangguan imunitas usus.⁷

Mikrobiota di tinja pada sirosis ditemukan adanya penurunan diversitas dan peningkatan relatif pertumbuhan berlebihan dari potensial *pathogenic taxa* (seperti *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae*, dan terutama *Enterobacteriaceae*), dan penurunan relatif *taxa* yang bermanfaat (misalnya *Lachnospiraceae* and *Ruminococcaceae*).^{36, 37}

6. Hepatocellular carcinoma (HCC)

Perubahan bermakna mikrobiota usus terlihat pada pasien dengan HCC awal.

Ren dkk menemukan peningkatan yang jelas spesies *Actinobacteria*, *Gemmiger*, dan *Parabacteroides* pada pasien HCC awal dibandingkan dengan pasien sirosis hati.³⁸ Romana-Ponziani dkk meneliti mikrobiota usus yang berhubungan dengan HCC pada pasien NAFLD dengan sirosis hati.

Pasien sirosis hati memiliki jumlah mikrobiota *Enterobacteriaceae* dan *Streptococcus* yang lebih tinggi dan *Akkermansia* yang lebih rendah dibandingkan kontrol sehat. Pada pasien yang pertama didiagnosis HCC memiliki mikrobiota yang berlimpah seperti *Bacteroidetes*, *Ruminococcaceae*, *Enterococcus*, *Phascolarctobacterium*, dan *Oscillospira*.³⁹

Simpulan

Terdapat bukti-bukti yang terus bertambah bahwa gangguan sumbu usus-hati dapat mengarah pada penyakit hati kronis. Pengenalan yang terus bertambah tentang peran mikrobiota usus dalam patogenesis perjalanan penyakit hati membuka kesempatan untuk membuat alat berbasis mikrobiom untuk secara efektif melakukan diagnosis dan terapi penyakit hati.

Daftar pustaka

1. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol. 1996;4:430-5.
2. Zboril V. [Physiology of microflora in the digestive tract]. Vnitr Lek. 2002;48:17-21.
3. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006;7:688-93.
4. Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet JP, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. Environ Microbiol. 2009;11:2574-84.
5. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. Overview of gut flora and probiotics. Int J Food Microbiol. 1998;41:85-101.
6. Guo X, Jiao Y, Song J, Wang FS. Gut microbiota alteration in hepatobiliary diseases: cause-and-effect relationship. Hepatol Int. 2021;15:1305-8.
7. Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. J Hepatol. 2020;72:558-77.
8. Arab JP, Martin-Mateos RM, Shah VH. Gut-liver axis, cirrhosis and portal hypertension: the chicken and the egg. Hepatol Int. 2018;12:24-33.
9. Wahlstrom A, Sayin SI, Marschall HU, Backhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. Cell Metab. 2016;24:41-50.
10. Sayin SI, Wahlstrom A, Felin J, Jantti S, Marschall HU, Bamberg K, et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. Cell Metab. 2013;17:225-35.

11. van Wessel D, Nomden M, Bruggink J, de Kleine R, Kurilshikov A, Verkade H, et al. Gut Microbiota Composition of Biliary Atresia Patients Before Kasai Portoenterostomy Associates With Long-term Outcome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2021;73:485-90.
12. Siddiqui MT, Cresci GAM. The Immunomodulatory Functions of Butyrate. *J Inflamm Res.* 2021;14:6025-41.
13. Jee JJ, Yang L, Shivakumar P, Xu PP, Mourya R, Thanekar U, et al. Maternal regulation of biliary disease in neonates via gut microbial metabolites. *Nat Commun.* 2022;13:18.
14. Song W, Sun LY, Zhu ZJ, Wei L, Qu W, Zeng ZG, et al. Association of Gut Microbiota and Metabolites With Disease Progression in Children With Biliary Atresia. *Front Immunol.* 2021;12:698900.
15. Song W, Sun LY, Zhu ZJ. Effects of Previous Kasai Surgery on Gut Microbiota and Bile Acid in Biliary Atresia With End-Stage Liver Disease. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:704328.
16. Yang T, Yang S, Zhao J, Wang P, Li S, Jin Y, et al. Comprehensive Analysis of Gut Microbiota and Fecal Bile Acid Profiles in Children With Biliary Atresia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:914247.
17. Zheng L, Wu Y, Gong Z, Lv Z, Xu W, Sheng Q, et al. The composition of the gut microbiota is altered in biliary atresia with cholangitis. *Front Surg.* 2022;9:990101.
18. Song W, Sun LY, Zhu ZJ, Wei L, Qu W, Zeng ZG, et al. Characteristics of Gut Microbiota in Children With Biliary Atresia After Liver Transplantation. *Front Physiol.* 2021;12:704313.
19. Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18:223-38.
20. Rodriguez-Lara A, Rueda-Robles A, Saez-Lara MJ, Plaza-Diaz J, Alvarez-Mercado AI. From Non-Alcoholic Fatty Liver Disease to Liver Cancer: Microbiota and Inflammation as Key Players. *Pathogens.* 2023;12.
21. Yu EL, Schwimmer JB. Epidemiology of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2021;17:196-9.
22. Dabke K, Hendrick G, Devkota S. The gut microbiome and metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2019;129:4050-7.
23. Wishart DS. Metabolomics for Investigating Physiological and Pathophysiological Processes. *Physiol Rev.* 2019;99:1819-75.
24. Giannelli V, Di Gregorio V, Iebba V, Giusto M, Schippa S, Merli M, et al. Microbiota and the gut-liver axis: bacterial translocation, inflammation and infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014;20:16795-810.
25. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:534-8.
26. Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS, Ratcliffe NM, Smith S, et al. Fecal microbiome and volatile organic compound metabolome in obese humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11:868-75 e1-3.

27. Jiao N, Baker SS, Chapa-Rodriguez A, Liu W, Nugent CA, Tsompana M, et al. Suppressed hepatic bile acid signalling despite elevated production of primary and secondary bile acids in NAFLD. *Gut*. 2018;67:1881-91.
28. Ferslew BC, Xie G, Johnston CK, Su M, Stewart PW, Jia W, et al. Altered Bile Acid Metabolome in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Dig Dis Sci*. 2015;60:3318-28.
29. Famouri F, Shariat Z, Hashemipour M, Keikha M, Kelishadi R. Effects of Probiotics on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Obese Children and Adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64:413-7.
30. Zhang XL, Chen L, Yang J, Zhao SS, Jin S, Ao N, et al. Vitamin D alleviates non-alcoholic fatty liver disease via restoring gut microbiota and metabolism. *Front Microbiol*. 2023;14:1117644.
31. Lapidot Y, Amir A, Ben-Simon S, Veitsman E, Cohen-Ezra O, Davidov Y, et al. Alterations of the salivary and fecal microbiome in patients with primary sclerosing cholangitis. *Hepatol Int*. 2021;15:191-201.
32. Cortez RV, Moreira LN, Padilha M, Bibas MD, Toma RK, Porta G, et al. Gut Microbiome of Children and Adolescents With Primary Sclerosing Cholangitis in Association With Ulcerative Colitis. *Front Immunol*. 2020;11:598152.
33. Little R, Wine E, Kamath BM, Griffiths AM, Ricciuto A. Gut microbiome in primary sclerosing cholangitis: A review. *World J Gastroenterol*. 2020;26:2768-80.
34. Geng H, Shu S, Dong J, Li H, Xu C, Han Y, et al. Association study of gut flora in Wilson's disease through high-throughput sequencing. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97:e11743.
35. Cai X, Deng L, Ma X, Guo Y, Feng Z, Liu M, et al. Altered diversity and composition of gut microbiota in Wilson's disease. *Sci Rep*. 2020;10:21825.
36. 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;513:59-64.
37. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol*. 2014;60:940-7.
38. 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;68:1014-23.
39. Ponziani FR, Bhoori S, Castelli C, Putignani L, Rivoltini L, Del Chierico F, et al. Hepatocellular Carcinoma Is Associated With Gut Microbiota Profile and Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2019;69:107-20.