

ORIGINAL RESEARCHES



DOI: 10.5281/zenodo.10429203

UDC: 616.34-008.87:616.721-002-007.274

IMPACTUL MICROBIOTEI INTESTINALE ASUPRA EVOLUȚIEI SPONDILITEI ANCHILOZANTE

IMPACT OF GUT MICROBIOTA ON ANKYLOSING SPONDYLITIS EVOLUTION

Lia Chișlari^{1,2}

¹ *Disciplina de Medicină Internă, Departamentul de Reumatologie și Nefrologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;*

² *Laboratorul de Reumatologie, Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”, Chișinău, Republica Moldova*

Rezumat

Introducere. Spondilita anchilozantă este prototipul cel mai bine studiat al spondiloartritelor, ce se caracterizează prin sacroiliită și spondilită, care pot duce la anchiloză osoasă.

Obiective. Aprecierea microbiotei intestinale la pacienții cu spondilita anchilozantă și identificarea caracteristicilor specifice ale microbiotei intestinale pentru fenotipurile spondilita anchilozantă.

Material și metode. În studiu au fost incluși 60 pacienți – 41 pacienți cu spondilita anchilozantă și 19 – lot martor. Pacienții cu spondilita anchilozantă au fost recrutați din secțiile de reumatologie și artrologie ale IMSP Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”, baza clinică a Disciplinei de reumatologie și nefrologie a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, pe parcursul anilor 2019-2022.

Rezultate. Au fost determinate 52 de specii bacteriene din materiile fecale ale pacienților. Genurile predominante au fost definite ca cuprinzând mai mult de 1% din totalul bacteriilor intestinale. În grupul cu spondilită anchilozantă au fost detectate 12 specii predominante, dintre ele doar 8 specii au fost detectate în lotul martor, inclusiv 7 genuri depistate în ambele grupuri. *Bacteroides* au fost speciile cele mai frecvent întâlnite în ambele grupuri, dar cu reducere semnificativă la pacienții cu spondilita anchilozantă.

Concluzii. Studiul nostru a evidențiat modificări specifice ale microbiomului intestinal la pacienții cu diferite fenotipuri ale spondilitei anchilozante, iar modelul de clasificare bazat pe caracteristicile microbiene intestinale ar putea oferi o nouă direcție pentru diagnosticul clinic precoce. Mai mult, descoperirea microbilor asociați spondilitei anchilozante în microbiomul intestinal ne poate ajuta să căutăm mai multe tratamente pentru această patologie severă și invalidizantă.

Cuvinte-cheie: spondilita anchilozantă, microbiota intestinală, fenotipurile spondilitei anchilozante

Summary

Introduction. Ankylosing spondylitis is the best-studied prototype of spondyloarthritis characterized by sacroiliitis and spondylitis, which can lead to bone ankylosis.

Objective. Predict their gut microbiota in patients with ankylosing spondylitis and identify their specific gut microbiota characteristics for ankylosing spondylitis phenotypes.

Material and methods. In this study, 60 patients were included in the study – 41 patients with ankylosing spondylitis and 19 – in control lot. Patients with ankylosing spondylitis were recruited from the rheumatology and arthrology departments of "Timofei Moșneaga" Republican Clinical Hospital, the clinical base of the Discipline of Rheumatology and Nephrology of "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, during 2019-2022.

Results. From patients' fecal samples, 52 bacterial species were identified. The predominant genera were defined as comprising more than 1% of all gut bacteria. In the ankylosing spondylitis group, 12 predominant species were detected, of which only 8 species were detected in the control group, including 7 genera detected in both groups. *Bacteroides* were the species most commonly found in both groups, but with significant reduction in patients with ankylosing spondylitis.

Conclusions. Our study revealed specific changes in the gut microbiome in patients with different phenotypes of ankylosing spondylitis, and the classification model based on gut microbial characteristics could provide a new direction for early clinical diagnosis. What's more, discovering ankylosing spondylitis - associated microbes in the gut microbiome may help us seek more treatments for this severe and disabling pathology.

Keywords: ankylosing spondylitis, intestinal microbiota, ankylosing spondylitis phenotypes

Introducere

Spondiloartritele (SpA) se referă la un grup de boli cu mecanisme patogenetice suprapuse, dar cu diferențe clinice și evolutive, inclusiv artrita psoriazică (APs), artrita din boala inflamatorie intestinală (BII), artrita reactivă, artrita idiopatică juvenilă (AIJ) și spondilita anchilozantă (SA) [1]. Mecanismele patogenetice exacte ale SpA rămân

necunoscute, cu toate acestea, tot mai multe dovezi implică faptul că SpA este consecința unei interacțiuni complexe între polimorfismele genetice și factorii de mediu [2].

Spondilita anchilozantă (SA), un prototip și cel mai bine studiat subtip al SpA, se caracterizează prin sacroiliită și spondilită, care pot duce la anchiloză osoasă. Antigenul leucocitar uman (HLA)-B27 este factorul de risc genetic

dominant pentru SA și este prezent la 90% dintre persoanele cu SA, dar doar HLA-B27 nu este suficient pentru dezvoltarea SA [3]. Interesant este faptul că șobolanii cu HLA-B27 / β 2-microglobulin-transgenic (β 2m-Tg) rămân sănătoși într-un mediu complet lipsit de microbi cunoscuți, în timp ce reintroducerea bacteriilor intestinale comensale normale este suficientă pentru a declanșa artrita [4, 5]. Mai recent, șobolanii HLA-B27 / β 2m-Tg s-au dovedit a avea microbiota intestinală diferită, cu o creștere în abundență a *Prevotella spp.*, însoțită de imunitate mucoasă perturbată și o scădere a *Rikenellaceae* în comparație cu șobolanii obișnuiți [5].

La aproximativ 40-60% din pacienții cu SA a fost determinată o inflamație intestinală subclinică, iar 5-10% din ei vor progresa în BII stabilită clinic în timpul evoluției bolii. Studiile în dezvoltare au arătat dovezi pentru legătura dintre disbioza intestinală și BII [6]. Deci, din perspectivele de mai sus, este rezonabil să considerăm că disbioza intestinală poate fi unul dintre factorii importanți care contribuie la patogeneza SA.

În acest studiu, am caracterizat microbiota intestinală în probele fecale de la pacienții cu SA folosind metode PCR (*Polymerase Chain reaction*) și am identificat caracteristici specifice ale microbiotei intestinale care arată asocierea cu fenotipurile de SA.

Scopul studiului: aprecierea microbiotei intestinale la pacienții cu SA și identificarea caracteristicilor specifice ale microbiotei intestinale pentru fenotipurile SA.

Material și metode

În studiu au fost incluși 60 pacienți – 41 pacienți cu SA și 19 – lot martor (LM). Pacienții cu SA au fost recrutați din secțiile de reumatologie și artrologie ale IMSP Spitalului Clinic Republican "Timofei Moșneaga", baza clinică a Disciplinei de reumatologie și nefrologie a IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" pe parcursul anilor 2019-2022.

Criteriile de includere în studiu: vârsta peste 18 ani, corespunderea criteriilor modificate din New York din 1984 pentru SA, acordul pacientului de a participa la studiu.

Criteriile de excludere din studiu: administrarea tratamentului antireumatic convențional modificator de boală (DMARD), corticosteroizi sau agenți biologici timp de cel puțin 3 luni înainte de includerea în studiu; boli cardiovasculare, diabet zaharat, ciroză și boală infecțioasă; persoanele care au luat medicamente antibiotice sau suplimente probiotice în termen de 2 luni înainte de colectarea probei.

Datele demografice, indicele de masă corporală (IMC), manifestarea clinică, statusul HLA-B27, viteza de sedimentare a eritrocitelor (VSH), proteina C reactivă (CRP) și valorile activității bolii (ASDAS) au fost colectate de la pacienți în conformitate cu protocolul cercetării. În baza criteriilor de clasificare ASAS din 2009 pentru SpA, pacienții cu manifestări periferice în antecedente sau în prezent, inclusiv artrită periferică și/sau entezită și/sau dactilită, au fost clasificați ca SA periferic (pSA), iar alții au fost clasificați în subgrupul SA axial (axSA). Lotul martor (persoane fără boli inflamatorii articulare) au fost incluși dintre cei care au

manifestat osteoartrita și nu au fost niciodată diagnosticați cu SA, boli inflamatorii intestinale sau orice altă boală autoimună.

Toți participanții și-au dat consimțământul în scris în cunoștință de cauză, iar studiul a fost aprobat de comitetul de etică al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" cu aviz favorabil nr.5 din 03.03.2020.

Pentru analiza statistică a fost utilizat pachetul analitic StatSoft 9.0, cu utilizarea testelor Mann-Whitney și X^2 pentru a compara factorii demografici / clinici, cât și pentru a compara indicii Pearson între grupuri. Diferențele statistice au fost determinate prin metodologia ANOVA și criteriul t-Student. Matricele analitice completate au fost evaluate pentru similitudine dintre grupuri utilizând analiza multivariată permutațională a variației și analiza coordonatelor principale pentru diversitatea β . Diferențele microbiomului intestinal au fost analizate utilizând testul Kruskal-Wallis pentru comparație univariată; iar valoarea $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultatele

În studiul nostru au fost incluși în total 60 de persoane – 41 pacienți cu SA și 19 – lot martor (LM) (Tabelul 1). Pacienții cu SA și LM au fost comparabili potrivit vârstei, sexului și IMC ($p > 0,05$). Dintre pacienții cu SA, 20 de pacienți au fost definiți ca axSA, în timp ce 21 au fost definiți ca pSA. Vârsta medie a pacienților cu axSA a fost de $28,30 \pm 10,03$ comparativ cu $27,93 \pm 10,01$ pentru pacienții cu pSA ($p > 0,05$). Pacienții cu pSA au avut un debut precoce al bolii [18,0 (7,00) ani] comparativ cu pacienții cu axSA [25,5 (11,75) ani, $p < 0,01$]. Cele două subgrupuri de pacienți au avut activitate similară a bolii, conform valorilor CRP, VSH și indicele de activitate a bolii Bath SA (BASDAI).

Pentru a evalua structura generală a microbiotei intestinale, a fost construit graficul analizei coordonatelor principale, iar rezultatele au arătat că structura și compoziția microbiotei diferă semnificativ între SA și LM (Figura 1). Măsurarea diversității în cadrul eșantionului (diversitatea alfa) nu a evidențiat diferențe semnificative între subiecții LM și pacienții cu SA, iar acest lucru ar putea indica faptul că diferențele de microbiotă intestinală dintre SA și LM au fost determinate în principal de diversitatea bacteriilor în loc de cantitatea de specii bacteriene.

Speciile *Bacteroidetes*, *Firmicutes* și *Proteobacteria* au fost cele mai frecvent identificate specii în cele două grupuri, contribuind cu 97,46% și 97,51% din bacteriile intestinale din grupul SA și, respectiv, grupul LM (Figura 2).

Astfel, 52 de specii au fost clasificate din materiile fecale. Genurile predominante au fost definite ca cuprinzând mai mult de 1% din totalul bacteriilor intestinale. În grupul SA au fost detectate 12 specii predominante, dintre ele doar 8 specii au fost detectate în grupul LM, inclusiv 7 genuri găsite în ambele grupuri (Tabelul 2, Tabelul 3).

Aceste genuri predominante au reprezentat 81,39% și 77,53% din totalul speciilor din grupul SA și, respectiv, grupul LM. *Bacteroides* au fost speciile cele mai predominante în ambele grupuri, dar au scăzut semnificativ la pacienții cu SA. În plus, *Prevotella* a fost a doua specie predominantă,

Tabelul 1

Caracteristicile persoanelor incluse în studiu

Indicele	axSA (n=20)	pSA (n=21)	LM (n=19)
Vârsta, ani [§]	28,30±10,03	27,93±10,01	30,79±10,61
Bărbați ^a	15 (80,0)	18 (80,5)	12 (78,4)
IMC, kg/m ² [§]	21,32±2,55	20,96±1,89	22,15±2,48
HLA-B27 pozitiv ^a	18 [95]	22 [100]	–
Vârsta de debut, ani ⁺	25,5 (11,75)	18,0 (7,00)**	–
Durata, ani ⁺	2,7 [8]	4,8 [13]	–
CRP, mg/L ⁺	7,3 (17,2)	5,8 (16,0)	–
VSH, mm/oră ⁺	13 [33]	21 [28]	–
ASDAS ⁺	1,65 (1,85)	1,80 (1,01)	–

Notă: Variabilele continue, distribuite în mod normal între două grupuri, au fost analizate prin testul t-Student. Testul Mann-Whitney a fost aplicat pentru date care au fost continue, dar cu distribuție anormală.

Variabilele categoriei au fost testate prin testul χ^2 . § - media \pm DS; ^a - n (%); ⁺ - mediana IQR; ** - $p < 0,01$ între axSA și pSA. SA - spondilită anchilozantă; axSA - SA axială; pSA - SA periferică; LM - lotul martor; IMC - indicele masei corporale; HLA - antigen leucocitar uman; CRP - proteină C reactivă; VSH - viteză de sedimentare a eritrocitelor; ASDAS - scorul activității bolii spondilitei anchilozante; IQR - interval intercuartilic; SD - deviația standard.

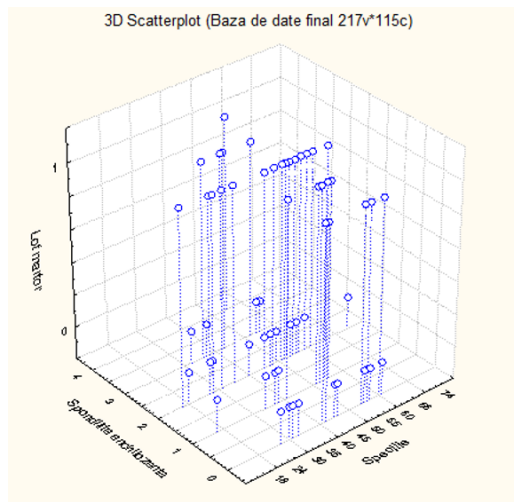


Figura 1. Caracteristica microbiotei intestinale la pacienții cu SA și LM: pe baza distanței neponderate a probelor de microbiota intestinală de la pacienții cu SA vs. LM ($p < 0,001$)

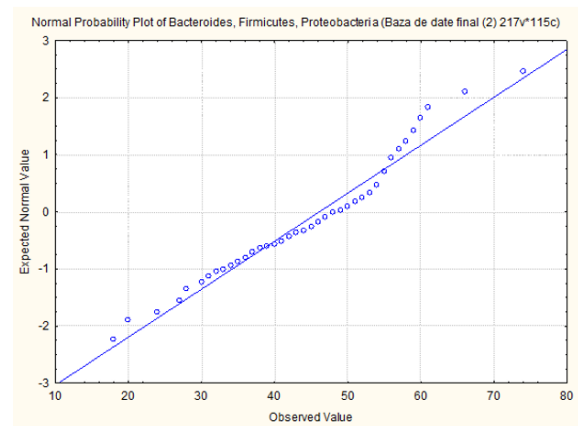


Figura 2. Caracteristica microbiotei intestinale la pacienții cu SA și LM: distribuția alfa a microbiotei intestinale între grupuri la nivelul speciilor Bacteroidetes, Firmicutes și Proteobacteria

Tabelul 2Prevalența mediană a speciilor predominante (prevalența $> 0,01$) la pacienții cu spondilită anchilozantă și lotul martor

Specia	SA	LM	axSA	pSA
Bacteroides	0,332	0,430	0,341	0,326
Prevotella	0,168	0,031	0,143	0,192
Escherichia / Shigella	0,059	0,037	0,059	0,039
Faecalibacterium	0,029	0,031	0,033	0,029
Dialister	0,018	0,001	0,023	0,016
Lachnospiraceae	0,017	0,014	0,030	0,007
Lachnospira	0,017	0,040	0,018	0,017
Comamonas	0,015	0,001	0,002	0,029
Collinsella	0,015	0,001	0,007	0,023
Eubacterium	0,011	0,020	0,012	0,012
Ruminococcus	0,010	0,001	0,015	0,007
Fusobacterium	0,010	0,022	0,017	0,004

Notă: SA – spondilita anchilozantă; LM – lotul martor; axSA – SA axială; pSA – SA periferică.

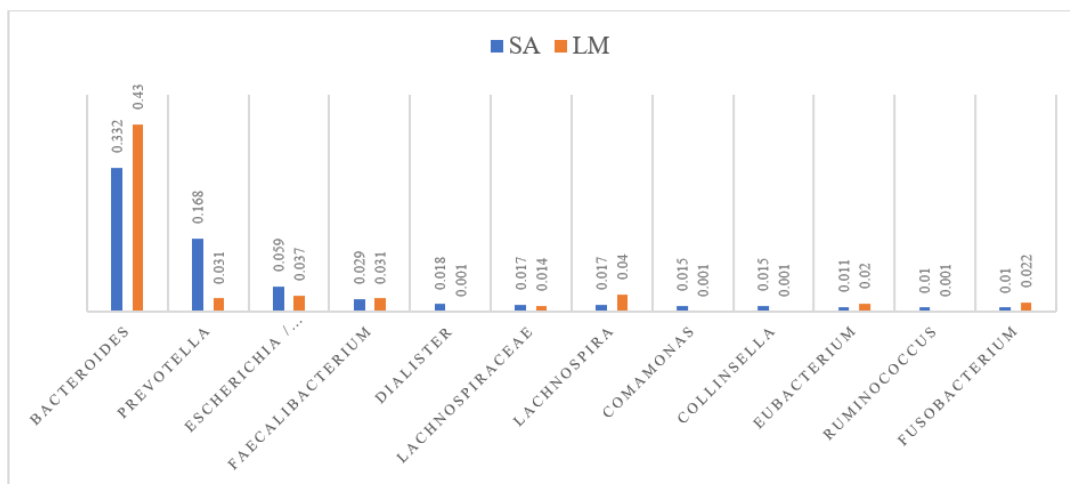


Figura 3a. Repartizarea sușelor bacteriene la pacienții cu SA și lot martor (LM)

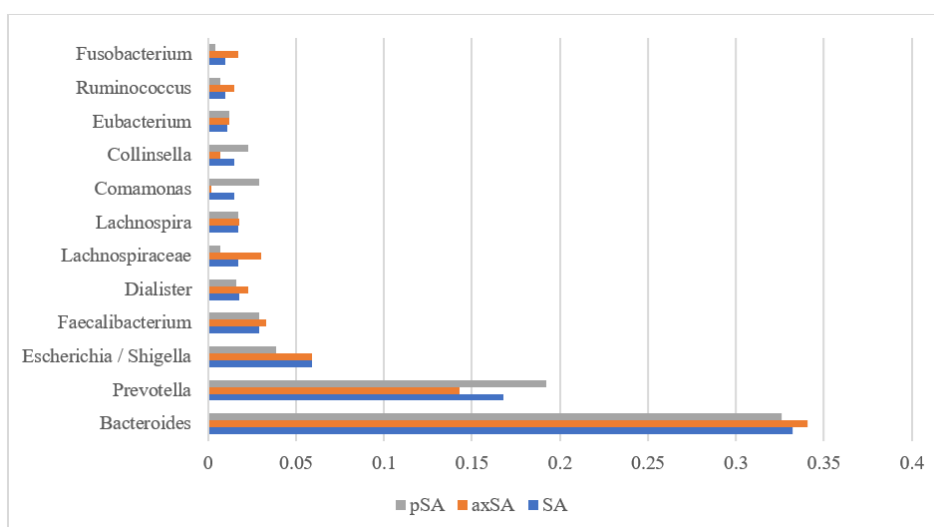


Figura 3b. Repartizarea sușelor bacteriene în dependență de specie la pacienții cu SA (și formele ei pSA - axSA).

reprezentând 16,12% din totalul microbiotei grupului SA, în timp ce a reprezentat doar 2,86% în grupul LM. Compoziția medie a sușelor bacteriene la nivelul speciilor și, respectiv, al patologiei este prezentată în Figura 3a și 3b.

Comparativ cu lotul martor, la nivelul speciilor bacteriene, pacienții cu SA au fost identificați cu o prevalență semnificativ mai mare de *Actinobacterii* (0,003) și o prevalență mai mică de *Tenericutes* și *Verrucomicrobia* (0,007 și, respectiv, 0,003). La nivel de familii, 17 specii aparțin la 8 subtipuri, au demonstrat diferențe semnificative între pacienții cu SA și LM ($p < 0,05$, Tabelul 3).

În plus pentru a identifica speciile bacteriene specifice asociate cu pacienții cu SA, am comparat microbiota intestinală între pacienți dați și LM folosind analiza discriminativă multivariată. Am constatat că 7 genuri, inclusiv *Prevotella-9*, *Dialister*, *Comamonas*, *Collinsella*, *Streptococcus*, *Alloprevotella* și *Prevotella-2* au fost într-un număr semnificativ la pacienții cu SA, în timp ce 4 genuri, inclusiv *Eubacterium ruminantium*, *Ruminococcus gnavus*, *Lachnospira* și *Bacteroides* au fost prezente semnificativ la LM (Figura 4).

Pentru a înțelege mai bine asocierea fenotipului clinic și a compoziției microbiotei intestinale, am efectuat analize

suplimentare de subgrup. Comparativ cu LM, nu a fost evidențiată nici o diferență semnificativă nici în axSA, nici în pSA atât în indicele dispersiv absolut, cât și în cel relativ.

De asemenea, am folosit analiza factorială descriptivă pentru a identifica germeni specifici care au fost asociați cu subgrupurile de pacienți cu SA. *Alloprevotella*, *Prevotella-9*, *Collinsella*, *Dialister* și *Eubacterium ruminantium* au fost identificate ca bacterii specifice atât la pacienții cu axSA, cât și la cei cu pSA în comparație cu LM. Cu toate acestea, diferențele ale *Prevotella-2* și *Ruminococcus gnavus* au fost identificate numai în comparația dintre axSA cu LM; diferențele *Streptococcus*, *Comamonas* și *Lachnospira* au fost identificate numai în comparație pSA cu LM. Așa cum era de așteptat, au fost identificate bacterii discriminatorii între subgrupurile axSA și pSA. Între cele două subgrupuri cu SA, *Prevotella-2* a fost ponderată la pacienții cu axSA, în timp ce *Comamonas*, *Streptococcus* și *Collinsella* au fost ponderate la pacienții cu pSA (Figura 4).

Pentru a determina dacă speciile bacteriene intestinale pot fi considerate biomarkeri de identificare pentru a distinge pacienții cu SA cu fenotip diferit de LM și unul de celălalt, a fost construit un model de arbore aleatoriu pentru a clasifica pacienții cu SA pe baza speciilor la nivel de gen.

Tabelul 3

Prevalența relativă a speciilor bacteriene între grupuri

Specia	SA (n=41)		axSA (n=20)		pSA (n=21)		LM (n=19)	
	Median	IQR	Median	IQR	Median	IQR	Median	IQR
<i>Bacteroides</i>	32,338	36,775	34,978	37,900	23,673	39,962	37,872	43,023
<i>Prevotella</i>	1,771	31,310	3,189	22,793	1,601	46,951	0,632	1,303
<i>Lachnospira</i>	1,002	1,099	1,356	0,987	0,682	0,741	1,877	2,395
<i>Dialister</i>	0,458	1,268	0,408	1,942	0,492	1,227	0,001	0,001
<i>Streptococcus</i>	0,200	0,191	0,171	0,141	0,243	0,305	0,088	0,152
<i>Ruminococcus gnavus</i>	0,128	0,151	0,131	0,160	0,129	0,130	0,000	0,000
<i>Collinsella</i>	0,125	0,167	0,048	0,159	0,176	0,174	0,000	0,000
<i>Alloprevotella</i>	0,121	0,175	0,099	0,549	0,125	0,151	0,006	0,039
<i>Comamonas</i>	0,103	0,176	0,006	0,138	0,169	0,148	0,001	0,000
<i>Enterococcus</i>	0,051	0,071	0,019	0,057	0,072	0,041	0,012	0,031
<i>Holdemanella</i>	0,032	0,050	0,040	0,045	0,039	0,056	0,003	0,019
<i>Eubacterium ruminantium</i>	0,032	0,075	0,036	0,103	0,045	0,039	0,198	0,260
<i>Clostridium</i>	0,031	0,052	0,038	0,071	0,035	0,028	0,059	0,051
<i>Eubacterium hallii group</i>	0,027	0,029	0,029	0,025	0,017	0,019	0,006	0,013
<i>Coprococcus</i>	0,021	0,029	0,023	0,028	0,019	0,030	0,037	0,039
<i>Lachnospiraceae</i>	0,015	0,050	0,019	0,079	0,008	0,040	0,081	0,149
<i>Proteus</i>	0,015	0,027	0,001	0,022	0,019	0,019	0,000	0,000

Notă: SA – spondilită anchilozantă; LM – lotul martor; axSA – SA axială; pSA – SA periferică; IQR – interval intercuartilic.

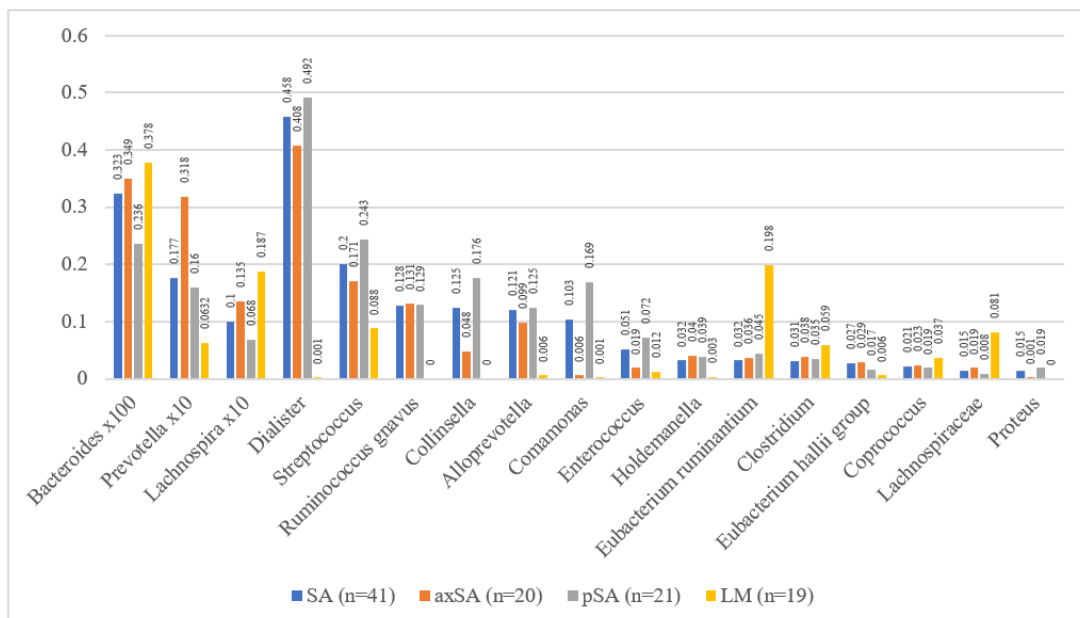


Figura 4. Ponderea speciilor bacteriene la pacienții cu SA, formele sale periferică și axială versus lotul martor.

Am efectuat validarea încrucișată de 10 ori pentru a evalua importanța genurilor bacteriene indicatoare. Curba de validare a devenit stabilă atunci când au fost utilizate cele mai relevante 8 genuri. Astfel, am definit aceste 8 genuri ca posibili biomarkeri, inclusiv *Alloprevotella*, *Acidominococcus*, *Holdemanella*, *Allisonella*, *Dialister*, *Collinsella*, *Streptococcus*

și *Comamonas* (Figura 5).

Toate aceste 8 specii au fost identificate cu o prevalență semnificativă diferită între pacienții cu SA și LM cu analiza de regresie multivariată. Am putut diferenția cu exactitate pacienții cu SA de LM folosind acest model, deoarece valoarea scorului de specificitate a fost de până la 0,950. Nu

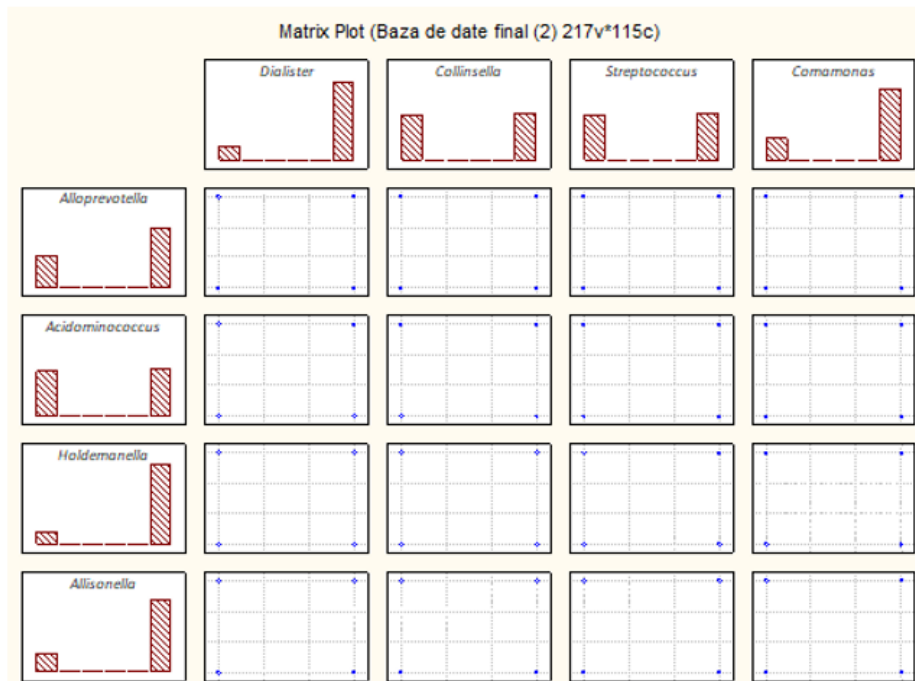


Figura 5. Validarea specificității germenilor specifici ca posibili biomarkeri ai SA

s-a constatat nici o diferență atunci când modelul predictiv a fost aplicat numai pentru a distinge pacienții cu axSA sau pacienții cu pSA de LM. Cu toate acestea, am obținut performanțe slabe atunci când am discriminat între axSA și pSA folosind aceeași metodă pentru a construi un model bazat pe microbiota intestinală.

Discuții

În acest studiu, am demonstrat o distincție clară în profilul microbiomului între pacienții cu SA și persoanele fără patologie și, pentru prima dată, am dezvăluit asocierea cu fenotipurile clinice ale SA. Caracteristicile diferențiale ale microbiotei intestinale ar putea fi utilizate pentru a distinge cu exactitate pacienții cu SA de persoanele fără patologie.

Rezultatele privind diversitatea speciilor de microbiota intestinală la pacienții cu SA, raportate de diferite studii, au fost inconsecvente. Nu am observat diferență semnificativă în indicii de diversitate între pacienții cu SA și LM. Unele surse din literatură [7] au raportat o diversitate mai mare, în timp ce studiile sub conducerea EULAR [8] au raportat o scădere a diversității la pacienții cu SpA. În ciuda acestui fapt, datele noastre au arătat constatări consistente conform cărora compoziția microbiotei intestinale la pacienții cu SA a fost distinctă de cea a persoanelor fără patologie. Acest lucru sugerează că modificarea diversității speciilor poate să nu fie caracteristica dominantă la pacienții cu SA.

În studiul actual, au fost identificate 8 genuri asociate cu SA, inclusiv ponderarea *Prevotella* și *Dialister* și epuizarea *Bacteroides*, care au fost observate și în datele literaturii de specialitate. De exemplu, unii savanți au constatat o abundență crescută de *Prevotella* și o abundență scăzută de *Bacteroides* la pacienții cu SA [9, 10, 11] pe baza secvențierii folosind ADN-ul microbial intestinal din probele fecale ale 320 indivizi au arătat, de asemenea, modificarea microbiomului intestinal la pacienții cu SA. În studiul nostru, am observat o

scădere a ponderii *Ruminococcus gnavus* la pacienții cu SA, în special la pacienții cu axSA. Cu toate acestea, unii savanți au raportat că pacienții cu SpA posedă o abundență scăzută a *Ruminococcus gnavus* [12]. *Ruminococcus gnavus* a fost raportat cu o asociere cu BII [13]. Constatarea diferită între studiul nostru și cel al lui Costello M.E. rămâne o întrebare deschisă, deoarece există o diferență în starea inflamației intestinale între cele două cohorte de studiu. *Comamonas*, un posibil agent patogen care poate provoca infecții intestinale, cum ar fi colita în SA [10, 13], a arătat o prevalență mai mare la pacienții cu SA.

Când analizăm diferența dintre pacienții cu axSA și pSA, structura generală a microbiomului intestinal și diversitatea sa au fost depistate ca un model similar. În plus, un model bazat pe microbiota intestinală arată o precizie scăzută pentru a clasifica cele două subgrupuri de pacienți. În ciuda acestui fapt, am constatat că *Prevotella-2* a fost frecventă la pacienții cu axSA, în timp ce *Comamonas*, *Streptococcus* și *Collinsella* au dominat la pacienții cu pSA. Necesită de menționat faptul că aceste 4 specii prezintă diferențe semnificative nu numai între pacienții cu SA și LM, ci și între pacienții cu axSA și pSA. *Comamonas*, *Streptococcus* și *Collinsella* sunt agenți patogeni oportuniști care ar putea declanșa factorii proinflamatori și induce inflamația cronică. Pacienții cu pSA au fost mai frecvent diagnosticați cu uveită și BII și, de asemenea, au fost raportate a fi asociate cu disbioză intestinală [14]. Deci, presupunem că preparatele din grupul sulfasalazinei pot funcționa prin vizarea acestor bacterii nefavorabile. Cu toate acestea, trebuie lărgită această cercetare pentru obținerea loturilor numerice majore de pacienți.

În ultimul deceniu, SA a fost considerată un subset al entității mai largi menționate în cadrul SASN și, între timp, au fost stabilite criteriile de clasificare pentru axSA cu intenția de a îmbunătăți sensibilitatea pentru diagnosticul precoce al SA și de a reduce diagnosticul tardiv [15]. Cu toate

acestea, durata întârzierii diagnosticului nu s-a îmbunătățit semnificativ [16] și rămâne o prevalență ridicată a axSA nedagnosticată la pacienții cu dureri lombare cronice. O metodă de rezolvare a acestei probleme este de a afla noi biomarkeri specifici de diagnostic. Studiul nostru a formulat un model de clasificare bazat pe microbi intestinali, incluzând 8 specii cu o precizie de 0,95 pentru clasificarea SA în concordanță cu persoane fără patologie. Walters W. și Hyde E. au raportat, de asemenea, un clasificator cu 35 de markeri genetici microbieni cu o precizie de 0,96 [17, 18]. Aceasta a sugerat că biomarkerii microbiotei intestinale pot fi utili pentru ameliorarea diagnosticului precoce pentru SA [19]. Edgar R. și coaut. au descoperit că Rifaximin (un antibiotic selectiv gastrointestinal) poate reduce activitatea inflamatorie prin schimbarea compoziției microbiotei intestinale cu creșterea raportului Bacteroidetes / Firmicutes și a promovat selectiv unele populații probiotice cu remisiunea SASN [11]. Această implică faptul că microbiota intestinală ar putea fi utilă nu numai pentru diagnostic, ci și pentru o nouă țintă de tratament pentru SA, dar sunt necesare studii suplimentare.

Medicamentele anti-factorul de necroză tumorală (anti-TNF)-alfa și sulfasalazina, recomandate pentru tratamentul SA și BII, au fost raportate că dețin efect asupra modificării microbiomului intestinal la pacienții cu BII [13]. Pentru a reduce posibila influență confuză, noi am stabilit în criteriile

de excludere pentru pacienții care utilizează anti TNF-alfa și sulfa-preparatele în termen de 3 luni înainte de colectarea probei. În ciuda acestui fapt, nu este cunoscut dacă utilizarea medicamentelor antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) determină diferența observată între pacienții cu SA și LM, din care cauză am preferat să colectăm pacienții cu osteoartroză în calitate de lot martor. Așadar, pe viitor vor fi necesare studii suplimentare, cum ar fi analiza pacienților nou diagnosticați și netratați cu SA. Chestionarele dietetice detaliate nu au fost implementate în studiul nostru. Niciunul dintre pacienții înrolați nu a urmat regimuri dietetice extreme, cum ar fi dietele stricte vegane sau vegetariene.

Concluzie

Rezultatele studiului nostru au evidențiat modificări specifice ale microbiomului intestinal la pacienții cu diferite fenotipuri ale SA, iar modelul de clasificare bazat pe caracteristicile microbiene intestinale ar putea oferi o nouă oportunitate pentru diagnosticul clinic cât mai precoce. Mai mult, descoperirea speciilor microbiene asociate SA în microbiomul intestinal ne poate ajuta la căutarea a mai multe opțiuni de tratament pentru această patologie severă și invalidizantă pentru ameliorarea calității vieții acestor pacienți.

Bibliografie

1. Taurog JD, Chhabra A, Colbert RA. Ankylosing Spondylitis and Axial Spondyloarthritis. *N Engl J Med.* 2016;374(26):2563-2574. doi:10.1056/NEJMra1406182
2. Yang M, Xu M, Pan X, et al. Epidemiological comparison of clinical manifestations according to HLA-B*27 carrier status of Chinese ankylosing spondylitis patients. *Tissue Antigens.* 2013;82(5):338-343. doi:10.1111/tan.12186
3. Lin P, Bach M, Asquith M, et al. HLA-B27 and human β 2-microglobulin affect the gut microbiota of transgenic rats. *PLoS One.* 2014;9(8):e105684. Published 2014 Aug 20. doi:10.1371/journal.pone.0105684
4. Asquith MJ, Stauffer P, Davin S, Mitchell C, Lin P, Rosenbaum JT. Perturbed Mucosal Immunity and Dysbiosis Accompany Clinical Disease in a Rat Model of Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(9):2151-2162. doi:10.1002/art.39681
5. Zheng H, Wu H, Li J, Jiang SW. CpGMethPred: computational model for predicting methylation status of CpG islands in human genome. *BMC Med Genomics.* 2013;6 Suppl 1(Suppl 1):S13. doi:10.1186/1755-8794-6-S1-S13
6. Manasson J, Shen N, Garcia Ferrer HR, et al. Gut Microbiota Perturbations in Reactive Arthritis and Postinfectious Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2018;70(2):242-254. doi:10.1002/art.40359
7. Tant L, Delmotte N, Van den Enden M, Gangji V, Mielants H. High Prevalence of Undiagnosed Axial Spondyloarthritis in Patients with Chronic Low Back Pain Consulting Non-Rheumatologist Specialists in Belgium: SUSPECT Study. *Rheumatol Ther.* 2017;4(1):121-132. doi:10.1007/s40744-016-0051-1
8. van der Heijde D, Ramiro S, Landewé R, et al. 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(6):978-991. doi:10.1136/annrheumdis-2016-210770
9. Tito RY, Cypers H, Joossens M, et al. Brief Report: Dialister as a Microbial Marker of Disease Activity in Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69(1):114-121. doi:10.1002/art.39802
10. Costello ME, Ciccia F, Willner D, et al. Brief Report: Intestinal Dysbiosis in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(3):686-691. doi:10.1002/art.38967
11. Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Methods.* 2013;10(10):996-998. doi:10.1038/nmeth.2604
12. Hall AB, Yassour M, Sauk J, et al. A novel Ruminococcus gnavus clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome Med.* 2017;9(1):103. Published 2017 Nov 28. doi:10.1186/s13073-017-0490-5
13. Zheng H, Chen M, Li Y, et al. Modulation of Gut Microbiome Composition and Function in Experimental Colitis Treated with Sulfasalazine. *Front Microbiol.* 2017;8:1703. Published 2017 Sep 7. doi:10.3389/fmicb.2017.01703
14. Wen C, Zheng Z, Shao T, et al. Quantitative metagenomics reveals unique gut microbiome biomarkers in ankylosing spondylitis [published correction appears in *Genome Biol.* 2017 Nov 8;18(1):214]. *Genome Biol.* 2017;18(1):142. Published 2017 Jul 27. doi:10.1186/s13059-017-1271-6
15. de Winter JJ, Paramarta JE, de Jong HM, van de Sande MG, Baeten DL. Peripheral disease contributes significantly to the level of disease activity in axial spondyloarthritis. *RMD Open.* 2019;5(1):e000802. Published 2019 Jan 11. doi:10.1136/rmdopen-2018-000802
16. Dhariwal A, Chong J, Habib S, King IL, Agellon LB, Xia J. MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of

- microbiome data. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(W1):W180-W188. doi:10.1093/nar/gkx295
17. Walters W, Hyde ER, Berg-Lyons D, et al. Improved Bacterial 16S rRNA Gene (V4 and V4-5) and Fungal Internal Transcribed Spacer Marker Gene Primers for Microbial Community Surveys. *mSystems.* 2015;1(1):e00009-15. Published 2015 Dec 22. doi:10.1128/mSystems.00009-15
18. Breban M, Tap J, Leboime A, et al. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(9):1614-1622. doi:10.1136/annrheumdis-2016-211064
19. Bayhan Gİ, Tanır G, Karaman I, Ozkan S. *Comamonas testosteroni*: An Unusual Bacteria Associated with Acute Appendicitis. *Balkan Med J.* 2013;30(4):447-448. doi:10.5152/balkanmedj.2013.9135
-

Recepționat – 07.08.2023, acceptat pentru publicare – 19.12.2023

Autor corespondent: Lia Chișlari, e-mail: lia.chislari@usmf.md

Declarația de conflict de interese: Autorul declară lipsa conflictului de interese.

Declarația de finanțare: Autorul declară lipsa de finanțare.

Citare: Chișlari L. Impactul microbiotei intestinale asupra evoluției spondilitei anchilozante [Impact of gut microbiota on ankylosing spondylitis evolution]. *Arta Medica.* 2023;89(4):4-11.