

Tesi di Laurea SPERIMENTALE: La disbiosi intestinale modula le risposte immunitarie innate nei pazienti con Artrite Reumatoide

ABSTRACT

INTRODUZIONE E OBIETTIVI:

L'AR è una patologia cronica infiammatoria di tipo autoimmune che colpisce prevalentemente le donne con un rapporto di 3/1 rispetto gli uomini. L'obiettivo dello studio è andare ad individuare la presenza di disbiosi intestinale nei soggetti con AR ed il suo ruolo nella promozione e decorso della patologia.

PROCEDURE SPERIMENTALI:

sono stati reclutati per questo studio 42 pazienti secondo i criteri di classificazione della Lega Europea contro i Reumatismi (EULAR)/American College of Rheumatology (ACR). I pazienti sono stati divisi in quattro gruppi in base alla terapia attuale: 11 pazienti non precedentemente trattati con immunosoppressori (naive), 11 pazienti in trattamento con MTX, 10 pazienti con Adalimumab (ADA) e 10 pazienti con ADA più MTX. Dieci soggetti sani sono stati usati come controlli (HC).

Ogni partecipante ha raccolto un nuovo campione fecale, da questo si è attuato l'estrazione del DNA microbico dal quale si è svolto il sequenziamento di nuova generazione del gene dell'RNA ribosomiale batterico 16 S.

I dati di sequenza sono stati analizzati utilizzando l'app 16S Metagenomics fornita dal software BaseSpace che esegue la classificazione tassonomica basata sul database Greengenes. Per ciascun campione è stata considerata per l'analisi statistica l'abbondanza relativa delle prime otto classificazioni tassonomiche a ciascun livello (dal phylum alle specie). Inoltre, il software ha calcolato l'indice di Shannon ( $\alpha$ -diversità) e il numero di specie (ricchezza) trovate in ciascun campione.

RISULTATI:

Confrontando inizialmente il microbioma nel gruppo Naive e negli HCs si è notato:

- nessuna significativa variazione dell'abbondanza relativa del phylum microbico; mentre sono state riscontrate significative differenze a livelli tassonomici più bassi
- aumento di 5 volte nella classe dei Bacilli e di 17 volte nell'ordine dei Lattobacilli nei AR rispetto gli HCs
- riduzioni significative del genere *Faecalibacterium* e della sua specie parente *Faecalibacterium prausnitzii*
- cambiamenti significativi nel genere *Flavobacterium* e nella specie *Blautia coccoides*, entrambi rappresentati nel gruppo di controllo, ma non nei pz Naive con AR

Confrontando invece il profilo del Microbiota in pazienti RA privi di terapia rispetto ai pazienti trattati si è notato:

- Nel gruppo in trattamento con Adalimumab un aumento significativo del phylum dei Cianobatteri, tra cui *Nostocophycideae* e *Nostocales*, che non erano rappresentati tra i soggetti Naive, sono stati rilevati in 4/10 pz ADA

Una notevole diminuzione nel gruppo ADA rispetto ai soggetti Naive della Classe Deltaproteobacteria e famiglia Clostridiaceae

- Nel gruppo MTX si è notata una diminuzione dell'abbondanza relativa degli Enterobacterales
- Nessun cambiamento significativo nei pazienti RA in terapia con ADA più MTX

Infine si è valutata l'associazione del profilo del Microbiota con le caratteristiche patologico-cliniche nei pazienti RA, da questa valutazione è emerso:

- Una correlazione diretta tra sesso maschile e l'abbondanza di Pasteurellales
- L'età è direttamente correlata con Enterobacterales, Enterobacteriaceae, Flavobacterium ed inversamente correlati a Erysipelotrichi, Coriobacterales, Coriobacteriaceae, Lactobacillaceae
- DAS è associato positivamente alle specie Bacteroides caccae e negativamente a Parabacteroides merdae
- FR e ACPA sono associati positivamente a Roseburia e negativamente ai Bacilli, Lactobacillales e Streptococcus vestibularis
- Delle correlazioni dirette tra VES ed Enterobacterales, Roseburia faecis e Streptococcus parasanguinis, e tra PCR e Parabacteroides distasonis
- Stile di vita: una dieta varia e ben equilibrata è stata inversamente associata a Pasteurellales, Paraprevotellaceae e Blautia coccoides. Il fumo è stato positivamente correlato a Betaproteobatteri, Burkholderiales, Pasteurellales, Alcaligenaceae, Roseburia, Sutterella

## CONCLUSIONI:

Nel complesso, lo studio attuale ha rivelato che l'AR è caratterizzata da disbiosi intestinale, alcuni batteri di questo sono associati allo stato infiammatorio della malattia, suggerendo che il microbiota può svolgere un ruolo importante nella promozione e nel decorso clinico dell'AR. Inoltre, il ripristino parziale di un microbiota benefico indotto principalmente dall'antiTNF- $\alpha$  e dall'ADA può contribuire all'efficacia clinica di questo agente.

n.3 parole chiave: Disbiosi, Microbiota, Artrite Reumatoide