

A disease-specific decline of the relative abundance of *Bifidobacterium* in patients with autoimmune hepatitis

Liwinski T, Casar C, Ruehlemann MC, Bang C, Sebode M, Hohenester S, Denk G, Lieb W, Lohse AW, Franke A, Schramm C

Περίληψη άρθρου

Εισαγωγή και σκοπός

Η παθογένεση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας (ΑΙΗ) είναι ελάχιστα κατανοητή και λίγα είναι γνωστά για το εντερικό μικροβίωμα στην ΑΗ. Σκοπός της μελέτης ήταν η διερεύνηση αλλαγών του μικροβιώματος που είναι ειδικές για την ΑΗ.

Μέθοδοι

Αναλύθηκε η αλληλουχία των μεταβλητών περιοχών V1 - V2 του γονιδίου 16S rRNA σε δείγματα κοπράνων σε 347 άτομα με ΑΗ και μάρτυρες (ΑΗ n = 72, υγιείς μάρτυρες n = 95, PBC n = 99 και ελκώδη κολίτιδα n = 81).

Αποτελέσματα

Διαπιστώθηκε μείωση της βιοποικιλότητας (εντροπία του Shannon) στους ασθενείς με ΑΗ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες ($P = 0,016$), η οποία ανεστράφη μερικώς από την αζαθειοπρίνη ($P = 0,011$). Όσον αφορά στην ποικιλομορφία μεταξύ των δειγμάτων, οι ασθενείς με ΑΗ διαχωρίστηκαν από τους υγιείς μάρτυρες, τους ασθενείς με PBC και ελκώδη κολίτιδα (όλα τα $P = 0,001$). Σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, ανιχνεύθηκε μειωμένη σχετική αφθονία αναερόβιων γενών όπως είναι το *Faecalibacterium* και αύξηση του *Veillonella* και των αναερόβιων γενών *Streptococcus* και *Lactobacillus*. Ουσιαστικά, παρατηρήθηκε μια ειδική για τη νόσο μείωση της σχετικής αφθονίας του *Bifidobacterium* σε ασθενείς με ΑΗ. Η έλλειψη *Bifidobacterium* συσχετίστηκε με αποτυχία επίτευξης

ύφεσης στην ΑΗ ($P < 0,001$). Από την πλευρά της πιθανής θεραπευτικής επίπτωσης, η αφθονία *Bifidobacterium* συσχετίστηκε με μέτρια πρόσληψη πρωτεΐνης ($P < 0,001$). Η τυχαία ταξινόμηση κατά forests μεταξύ ΑΗ και ΡΒC στην υπογραφή του μικροβιώματος απέδωσε μια περιοχή κάτω από την χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας δέκτη (AUC) 0,787 στην ομάδα εκπαίδευσης και μια AUC 0,849 σε μια εξωτερική ομάδα επαλήθευσης.

Συμπέρασμα

Αναγνωρίστηκαν ειδικές για την νόσο αλλαγές του μικροβιώματος των κοπράνων σε ασθενείς με ΑΗ. Η εντερική δυσβίωση στην ΑΗ χαρακτηρίστηκε από μείωση του *Bifidobacterium*, η οποία συσχετίστηκε με αυξημένη δραστηριότητα νόσου. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν τη συμβολή του μικροβιώματος του εντέρου στην παθογένεση της ΑΗ και καινοτόμους θεραπευτικούς στόχους.

Σχόλιο άρθρου

Η διάρρηξη της αυτο-ανοχής στην ΑΗ εξακολουθεί να μην είναι καλά κατανοητή, καθώς είναι άγνωστοι οι παράγοντες που πυροδοτούν την μείωση του ουδού που οδηγούν σε αυτοάνοσες αποκρίσεις στα ευάλωτα άτομα. Ως πηγές πυροδότησης έχουν ενοποιηθεί συστατικά της διατροφής και μικροοργανισμοί. Το έντερο αποικίζεται από μια περίπλοκη κοινότητα κυρίαρχων βακτηριακών μικροοργανισμών (ονομάζεται «μικροβιακή χλωρίδα», και το γονιδίωμα αυτής ονομάζεται «μικροβίωμα»), η οποία είναι ένας βασικός ρυθμιστής της φυσιολογίας του ξενιστή τόσο στην υγεία όσο και τη νόσο. Γνωρίζουμε πλέον ότι το ήπαρ εμπλέκεται σε διάλογο με το έντερο (εντεροηπατικός άξονας) καθώς εκτίθεται συνεχώς σε κύτταρα του ανοσοποιητικού και μικροβιακά προϊόντα που προέρχονται από αυτό. Μάλιστα, έχει στρατηγική θέση (μεταξύ της πυλαίας και της συστηματικής κυκλοφορίας) στην μετάφραση των σημάτων που ξεκινούν από τα μικρόβια και το ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου πριν αυτά τα σήματα καταλήξουν σε συστηματικά αποτελέσματα.

Η μελέτη των Liwinski, Schramm και συνεργατών δημοσιεύει τα ευρήματά της από την ανάλυση της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου συγκρίνοντας ομάδες ασθενών με ΑΗ, PBC, ελκώδη κολίτιδα και υγιείς μάρτυρες. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου διαφέρει διακριτά στην ΑΗ και ανεξάρτητα από πολλαπλούς κλινικούς και διατροφικούς παράγοντες. Ιδιαίτερα, διαπίστωσαν ότι η μείωση του *Bifidobacterium* είναι ειδική για την ΑΗ, συσχετίζεται με αδυναμία επίτευξης ύφεσης και ενδέχεται να είναι δεκτική σε διατροφική παρέμβαση.

Στα 347 άτομα που εντάχθηκαν στη μελέτη οι συγγραφείς κατέγραψαν την α-βιοποικιλότητα, δηλαδή την βιοποικιλότητα εντός δείγματος. Η μέση εντροπία Shannon ήταν μειωμένη στους ασθενείς με ΑΗ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Οι ασθενείς με PBC είχαν μέση εντροπία Shannon συγκρίσιμη με εκείνη των ασθενών με ΑΗ και οι ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα είχαν περαιτέρω μείωση της εντερικής μικροβιακής βιοποικιλότητας. Σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες οι ασθενείς με ΑΗ είχαν μειωμένο μέσο πλούτο μικροβίων (παρόμοιο με τους ασθενείς με PBC και ελκώδη κολίτιδα), εύρημα που μπορεί να ερμηνευθεί ως απώλεια των ευεργετικών λειτουργιών και της ανθεκτικότητας του εντερικού οικοσυστήματος.

Ακολούθως, μελέτησαν τη β-βιοποικιλότητα, δηλαδή την βιοποικιλότητα μεταξύ των δειγμάτων, και διαπίστωσαν ότι διέφερε σημαντικά ανάλογα με την κατάσταση της νόσου στην συνολική ανάλυση. Τα μικρόβια αποτελούνταν κυρίως από τρία phyla: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria. Τα Firmicutes ήταν μειωμένα σε όλα τα νοσήματα, τα Bacteroidetes δεν είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ τους και τα Proteobacteria ήταν αυξημένα σε όλα τα νοσήματα. Η αύξηση των τελευταίων μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης διαταραγμένης ομοιόστασης, φλεγμονής και επιθηλιακής δυσλειτουργίας, αποτελούν όμως μη ειδικό δείκτη χρόνιας φλεγμονής στο ήπαρ.

Το *Bifidobacterium* ήταν το μόνο γένος που ήταν σημαντικά μειωμένο στους ασθενείς με ΑΗ σε σχέση με όλα τα άλλα νοσήματα και τους υγιείς μάρτυρες. Μεταξύ των ειδών του *Bifidobacterium* που απομονώθηκαν, διαπιστώθηκε μειωμένη αφθονία των *Bifidobacterium longum*, *Bif. adolescentis*, *Bif. pseudocatenuatum* σε σχέση με όλα τα άλλα νοσήματα και τους υγιείς μάρτυρες. Επίσης, διερευνήθηκε η υπόθεση ότι το προφίλ της εντερικής μικροβιακής χλωρίδας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διάκριση της ΑΗ από

την PBC και διαπιστώθηκε ότι τα Bifidobacterium και Faecalibacterium ήταν μεταξύ των περισσότερο χαρακτηριστικών διακριτικών γνωρισμάτων.

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη συμπλήρωσαν ερωτηματολόγια για την μέση κατανάλωση μικρο- και μακρο- θρεπτικών στοιχείων. Βάσει αυτών, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των νοσημάτων, ούτε συσχέτιση μεταξύ της α-βιοποικιλότητας και των μεταβλητών της διατροφής. Όταν έγινε προσαρμογή με τη διάγνωση, η μέση κατανάλωση πρωτεΐνης προσδιορίστηκε ως ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας της αφθονίας του Bifidobacterium. Παρά ταύτα, η ισχυρή ειδική για την ΑΗ μείωση του Bifidobacterium δεν επηρεάστηκε από την προσαρμογή με τα διατροφικά στοιχεία των ερωτηματολογίων (αν και οι ασθενείς με ΑΗ είχαν παρόμοια πρόσληψη πρωτεΐνης σε σχέση με τις άλλες ομάδες). Κατά το χρονικό διάστημα της συλλογής των κοπράνων, το 77,8% των ασθενών με ΑΗ παρουσίαζε βιοχημική ύφεση. Δεν υπήρξε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την α- ή β-βιοποικιλότητα στους ασθενείς με βιοχημική ύφεση. Επίσης, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με το στάδιο της πιο πρόσφατης βιοψίας και τα γνωρίσματα της μικροβιακής χλωρίδας. Όμως, ο μειωμένος πληθυσμός Bifidobacterium συσχετίστηκε με αύξηση της IgG ($P=0,024$) και ιδιαίτερα στους ασθενείς που δεν πέτυχαν πλήρη βιοχημική ύφεση. Ως αναμένονταν, αρκετές μεταβλητές της διατροφής συσχετίστηκαν με την σύσταση του μικροβιώματος, αλλά δεν επηρέασαν την υψηλά ειδική για την ΑΗ συσχέτιση. Στους ασθενείς με ΑΗ η θεραπεία με αζαθειοπρίνη ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για αυξημένη α-βιοποικιλότητα, ανεξαρτήτως της επίτευξης βιοχημικής ύφεσης. Τέλος, η αφθονία Veillonella είχε θετική συσχέτιση με τις τιμές της ALT στους ασθενείς με ΑΗ, αλλά δεν συσχετίστηκε με την βιοχημική ύφεση.

Τα μειονεκτήματα της μελέτης αποτελούν ταυτόχρονα και προβληματισμούς: α) τα δείγματα κοπράνων δεν αντιπροσωπεύουν πλήρως την βιοποικιλότητα του εντερικού βλεννογόνου, η οποία θεωρητικά θα είναι περισσότερο αντιπροσωπευτική, β) η ανάλυση βάσει 16S RNA αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο, αλλά είναι μια πρώτη προσπάθεια προσέγγισης της ανίχνευσης των αλλαγών των μικροοργανισμών του εντέρου και γ) όλοι οι ασθενείς της μελέτης ήταν υπό θεραπεία.

Συμπερασματικά, η υπογραφή του μικροβιώματος στην ΑΗ φαίνεται πως διαφέρει και είναι μάλλον δελεαστικό να πιθανολογήσουμε ότι μελλοντικά η χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής με Bifidobacterium ή η τροποποίηση της διατροφής έτσι ώστε

να ευνοεί το Bifidobacterium θα αποτελεί μια από τις θεραπευτικές μας επιλογές σε αυτούς τους ασθενείς.

Link άρθρου: <https://doi.org/10.1111/apt.15754/>

Βιβλιογραφία

1. Wei Y, Li Y et al. Alterations of gut microbiome in autoimmune hepatitis. Gut.2020 Mar;69(3):569-577
2. Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S et al. Bifidobacteria and their health-promoting effects. Microbiol Spectr. 2017 Jun;5(3)

Μπέλλου Αριστέα

Παθολόγος-Ηπατολόγος

Επιστημονική Συνεργάτιδα

Παθολογικής Κλινικής & Ομώνυμου Ερευνητικού Εργαστηρίου

Κέντρο Εμπειρογνωμοσύνης για τα Αυτοάνοσα Νοσήματα Ήπατος

Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας