

Universitatea de Medicină și Farmacie  
„Carol Davila” București



TEZĂ DE DOCTORAT

**DE LA CONCEPTUL TREAT TO TARGET (T2T)  
LA IMPLEMENTAREA ÎN PRACTICA CLINICĂ ÎN  
SPONDILARTRITE**

**Coordonator științific**

Prof. Dr. Ruxandra Ionescu

**Doctorand:**

Trandafir Marius-Ștefan

București

**2023**

## CUPRINS

Stadiul cunoașterii .....	pg. 3
Scopul și obiectivele lucrării .....	pg. 4
Material și metode .....	pg. 5
Rezultate .....	pg.6
Concluzii .....	pg.24
Bibliografie selectivă .....	pg.26

## Stadiul cunoașterii

Tratamentul biologic cu agenți anti-TNF- $\alpha$  a schimbat modul în care pacienții cu spondilită anchilozantă (SA) sau spondilartrită (SpA) sunt tratați, având un efect favorabil atât asupra simptomelor dureroase, cât și pe progresia radiografică, dar și în creșterea calității vieții pacienților. Obiectivarea agenților predictivi pentru răspunsul favorabil la terapia biologică și o bună monitorizare a pacienților aflați sub acest tratament reprezintă o abordare corectă pentru un management foarte bun al bolii. Extrapolat din poliartrita reumatoidă (PR), conceptul Treat to Target (T2T) în spondiloartrite se referă la tratamentul pacienților cu această suferință, având drept obiectiv principal remisiunea în formele precoce de boală sau activitatea joasă în formele tardive de boală. Aceasta presupune o cunoaștere bună a patogeniei bolii și a istoriei naturale a procesului ce caracterizează boala, dar și a opțiunilor terapeutice care există și sunt acceptate actualmente în tratamentul bolii. Leziunea structurală implicată în dizabilitate este extrem de importantă în decizia terapeutică.

Ca și în cazul altor boli cronice, un tratament care să țintească abordarea multidimensională în spondiloartrita axială este atractiv. Selecția principalelor riscuri de evitat (de exemplu, progresia structurală versus bolile cardiovasculare) se poate face la nivel individual. Implementarea unei strategii T2T în spondiloartrita axială ar trebui să profite de experiența în alte boli cronice (de exemplu diabet, hipertensiune arterială) dar și în alte boli reumatismale inflamatorii cronice (de exemplu PR).

Dacă în istoria naturală a bolii, nu se inhibă nici inflamația, nici leziunea structurală, atunci dizabilitatea se va manifesta pregnant în tabloul clinic. Dacă în stadiile precoce este inhibată inflamația, aceasta va avea un răspuns favorabil asupra leziunii structurale și ambele contribuie la scăderea dizabilității. Dacă în stadiile tardive de boală, este inhibată atât inflamația cât și leziunea structurală, dizabilitatea este evidentă prin leziunea structurală veche. Astfel, este de implementat conceptul T2T unde în stadiile precoce este necesară inhibiția inflamației și a leziunii structurale, ambele cu efect favorabil pe dizabilitate. Există o necesitate importantă ca acest concept T2T să fie implementat în practica clinică deoarece s-a constatat că tratamentul corect conform acestui concept scade major damage-ul structural implicat în dizabilitate, îmbunătățind calitatea vieții și chiar productivitatea.

Prin subiectele propuse în această lucrare științifică și prin concluziile relatate în studiile efectuate, vrem să clarificăm ipotezele ridicate în managementul pacienților cu SpA și rolul microbiotei în cadrul acestor boli. Totodată dorim să urmărim dacă determinarea acestor patogeni poate prezice cum va evolua un pacient cu SpA și dacă se poate modifica schema terapeutică în funcție de prezența/absența acestor microorganisme.

## **Scopul și obiectivele lucrării**

Obiectivul principal al tezei de doctorat este de a evidenția anumiți factori în atingerea T2T la pacienții cu spondilartrită și corelarea acestor rezultate cu activitatea de boală. Cercetarea își propune să urmărească dacă există relații între microbiota intestinală și spondilartrite și cum ar putea ajuta în optimizarea tratamentului pacienților.

Urmărirea pacienților cu SA și SpA se realizează prin cele trei scoruri de activitate, respectiv BASDAI, BASFI și ASDAS, alături de markerii de inflamație (VSH, FBG, CRP), dar și de tabloul clinic, toate acestea conducând medicul către o strategie terapeutică individualizată pentru fiecare pacient în parte.

Lucrarea de față își propune totodată să observe la pacienții cu SA sau SpA care au atins remisiunea sau activitatea scăzută a bolii conform T2T și la care s-a putut institui tapering-ului tratamentului biologic, dacă există anumiți factori semnificativi care au putut duce la această abordare terapeutică și dacă există anumite corelații între aceștia.

Un alt obiectiv al cercetării a fost stabilirea anumitor corespondențe între microbiota intestinală determinată în analize de sânge, fecale, urină, lichid sinovial la acești pacienți cu SpA și un lot martor și de a evidenția dacă pacienții cu SpA prezintă anumite particularități ale microbiotei care influențează strategia terapeutică. Totodată se caută dacă această microbiotă este dependentă de atingerea T2T sau neatingerea remisiunii/boală minim activă la pacienții cu SpA și dacă un tratament mai agresiv al acestor patogeni poate conduce la o nouă abordare în această boală.

## Material și metode

Pe o perioadă de 2 ani (mai 2015 - mai 2017), am desfășurat activitatea de cercetare ce a urmărit un număr total de 425 pacienți cu SA diagnosticați conform criteriilor New York modificate din Spitalul Clinic “Sfânta Maria”, dintre care 120 de pacienți erau în tratament biologic.

Din cei 120 de pacienți cu SA aflați sub tratament biologic, ulterior s-au identificat 27 de pacienți care au fost monitorizați în perioada ianuarie 2016-decembrie 2017 pentru a se observa rolul microbiotei în declanșarea SpA și caracteristicile fiecărui germene în parte implicat în etiopatogenia bolii.

Pacienții au fost diagnosticați cu spondilită anchilozantă conform criteriilor New York modificate (1987) sau cu SpA respectând criteriile ASAS (2009), iar terapia biologică cu anti-TNF- $\alpha$  a fost inițiată conform recomandărilor din ghidul național de tratament.

La pacienții eligibili pentru studiu au fost colectate date demografice, date clinice și analize de laborator (VSH, CRP, FBG).

Activitatea bolii a fost evaluată cu ajutorul scorurilor cunoscute, respectiv BASDAI (*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*), BASFI (*Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index*) și ASDAS (*Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*) calculat utilizând ca marker de inflamație CRP.

Microorganismele care pot fi implicate în declanșarea SpA s-au căutat în diferitele probe colectate de la pacienți și controale utilizând o abordare combinată bazată pe tehnici de cultură convențională și pe analize pe bază de acid nucleic împreună cu teste serologice. Eșantioanele prezentate pentru investigație microbiologică includ scaun (disponibil de la 25 de pacienți și 26 de controale), urină (disponibilă de la 27 pacienți și 26 de controale), lichid sinovial (disponibil de la 3 pacienți) și ser (disponibil de la 27 pacienți și 26 de martori).

SPSS v.20 pentru Windows (IBM Corp., Armonk, NY, SUA) a fost utilizat pentru toate analizele statistice. Toate testele statistice efectuate au avut o valoare P standard setată la 0.05. Testele non-parametrice (testele exacte  $\chi^2$  și Fisher) au fost utilizate pentru a evalua diferențele în pozitivitatea testului dintre pacienții cu SpA și martori și a fost efectuat testul U Mann-Whitney pentru a evalua diferențele de vârstă dintre aceste grupuri de studiu. Pentru diferențele între grupuri a fost utilizat testul t-student, iar pentru corelații coeficienții Spearman și Pearson. Cu ajutorul testului

ANOVA au fost comparate subgrupurile din studiu, iar evaluarea capacității de discriminare a indicilor compoziți s-a realizat prin curbele ROC și analiza *standardized mean difference* (SMD).

Pentru fiecare participant la studiu s-a obținut în scris consimțământul informat, cu păstrarea confidențialității datelor colectate. Ulterior, s-a efectuat recoltarea de probe biologice, urină, fecale, lichid sinovial pentru determinarea analizelor necesare studiului.

S-a solicitat avizul Comisiei de Etică din cadrul Spitalului Clinic "Sfânta Maria", locul de recrutare al pacienților cu răspuns favorabil asupra desfășurării studiului.

Cele trei studii au evaluat persistența pe tratament biologic la pacienții cu spondilita anchilozanta dar și existența unor agenți probabili în spondilita anchilozantă, factori semnificativi ai tapering-ului în spondilita anchilozantă dar și importanța analizei complexe bacteriologice și serologice la pacienții cu spondilartrite.

## **Rezultate**

### ***Caracteristicile lotului:***

Un total de 120 de pacienți au îndeplinit criteriile de includere în studiu (Tabelul 1). Eșantionul a fost predominant de sex masculin cu un procent de 85.8%, cu o vârstă medie de 44,5 ani. În ceea ce privește boala, aceasta a avut o durată medie de 12,1 ani, jumătate dintre cazuri prezentând manifestări periferice (47.5%) și aproape toți pacienții au fost purtători HLA-B27 (95.8%). 118 pacienți (98.3%) au urmat tratament cu AINS prescrise și 59 de pacienți (49,2%) urmau tratament cu sulfasalazină, știind că 57 dintre pacienți (47,5%) erau cu manifestări periferice care au justificat acest tratament.

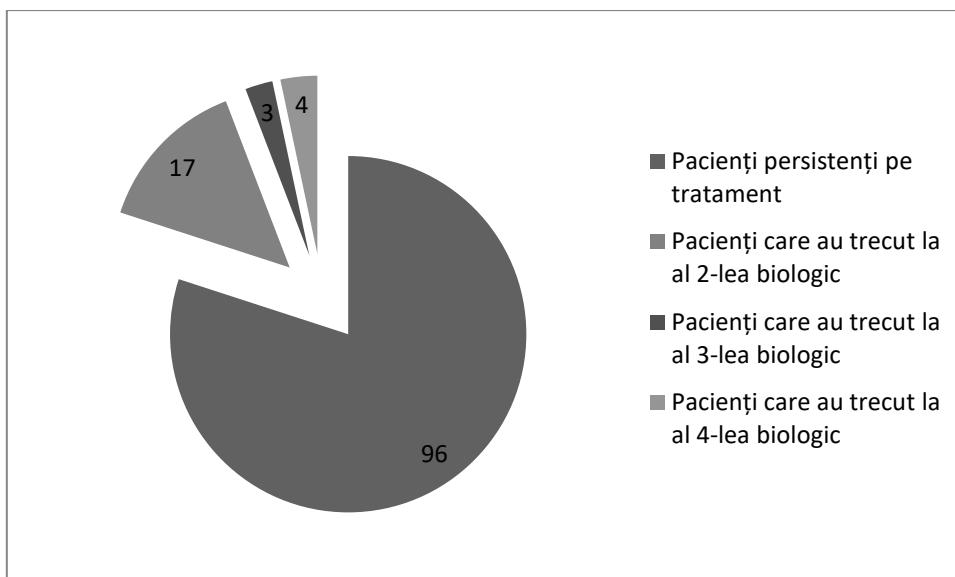
**Tabel 1.** Caracteristici generale ale lotului (n = 120)

<b>1. Caracteristici demografice</b>	<b>2. Fenotipul bolii</b>
--------------------------------------	---------------------------

Vârsta (a)	44.5 ± 11.6	Durata bolii (a)	12.1 ± 8.4
Sex masculin	103 (85.8%)	Artrite periferice	57 (47.5%)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25.2 ± 2.7	Coxită	8 (6.7%)
Obezitate	5 (4.2%)	Uveită	32 (26.7%)
Mediu de proveniență	88 (73.3%)	BII	4 (3.3%)
Nivel educație	9 (7.5%)	Psoriazis	0 (0.0%)
<b>3. Activitatea bolii</b>		HLA-B27	115 (95.8%)
VSH (mm/h)	23 ± 14	<b>4. Tratament</b>	
PCR (mg/L)	4.28 (0.4-142)	AINS	118 (98.3%)
Fibrinogen (mg/dL)	387 (45-789)	Sulfasalazină	59 (49.2%)
BASDAI	1.0 (0-9.0)	Tratament anti-TNFα	120 (100%)
BASFI	2.0 (0-9)		
ASDAS <sub>CRP</sub>	1.30 (0.64-5.54)		

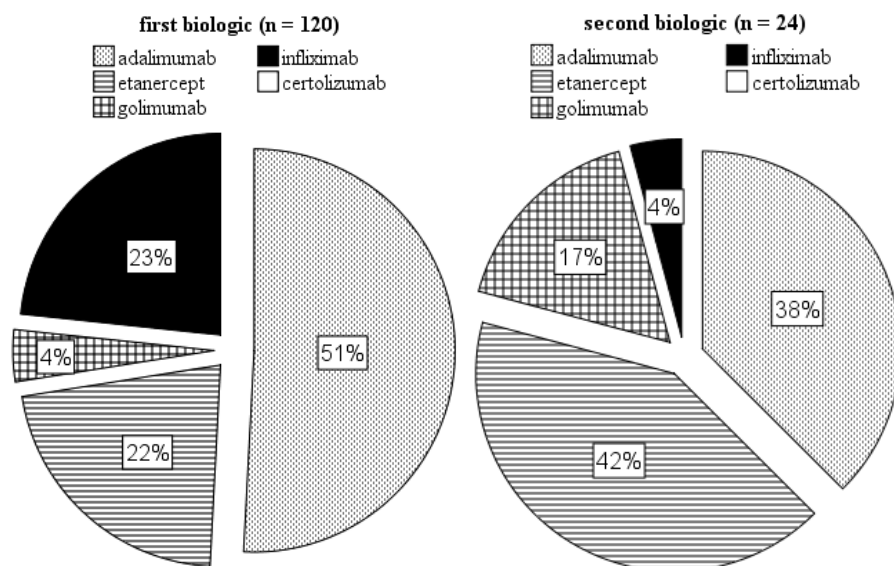
ASDAS<sub>PCR</sub> = Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score using CRP; BASDAI = Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI = Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; IMC = Indice de masă corporală; PCR = Proteina C-reactivă; VSH = Viteza de sedimentare a hematiilor; FBG = fibrinogen; HLA = antigen leucocitar uman; BII = boală inflamatorie intestinală; AINS = antiinflamatoare non-steroidiene; a = ani

Dintre cei 120 de pacienți în tratament cu agenți anti-TNFα (Figura 1), 24 de pacienți (20%) au trecut la al doilea agent anti-TNFα, 7 pacienți (5,8%) au primit al treilea agent anti-TNFα și 4 pacienți (3,3%) au efectuat un al patrulea switch terapeutic; de menționat că 96 pacienți (80%) sunt persistenți pe același tratament biologic de la includerea în studiu. (figura 1).



**Figura 1.** Distribuția pacienților care au efectuat switch terapeutic și a pacienților persistenți pe tratament

Dintre cei 24 de pacienți care au făcut switch terapeutic, 42% au trecut pe etanercept, 38% pe adalimumab, 17% pe golimumab și 4% pe infliximab (Figura 2).



**Figura 2.** Procentul de pacienți cu tratament anti-TNFα la baseline (stânga) și procentul de pacienți după primul switch terapeutic (dreapta).

A scăzut procentul pacienților care erau inițial pe adalimumab de la 51% la 38%, a scăzut procentul pacienților care erau pe infliximab de la 23% la 4% și a crescut procentul pacienților pe etanercept de la 22% la 42% și pe golimumab de la 4% la 17%.



### ***Pacienți persistenți pe tratament versus pacienți care au făcut switch terapeutic***

Prin împărțirea eșantionului de studiu în două subgrupe, pacienții care și-au schimbat primul agent anti-TNF $\alpha$  și pacienții care nu au făcut-o până la sfârșitul perioadei de observație au apărut două diferențe semnificative (Tabelul 2): în comparație cu pacienții persistenți pe tratament, pacienții care au făcut switch au avut indicii de activitate ai bolii mai mari (BASFI, ASDAS-CRP) și o prevalență semnificativ mai mare a uveitei.

**Tabel 2.** Comparații ale variabilelor la baseline la pacienții persistenți pe tratament, și la pacienții care au făcut switch terapeutic (n = 120).

	<i>Pacienți persistenți pe tratament (n = 96)</i>	<i>Pacienți care au făcut switch (n = 24)</i>	<i>p</i>
Vârsta (a)	44 (18)	42 (13)	0.346 <sup>#</sup>
Durata bolii (a)	9 (11)	11 (7)	0.207 <sup>#</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25.2 (4.1)	23.9 (4.5)	0.192 <sup>#</sup>
VSH (mm/h)	14 (18)	15 (29)	0.238 <sup>#</sup>
Fibrinogen (mg/dL)	354 (132)	394 (180)	0.698 <sup>#</sup>
PCR (mg/L)	3.4 (7.3)	6.4 (11.9)	0.177 <sup>#</sup>
BASDAI	1.0 (1.2)	4.2 (1.7)	0.086 <sup>#</sup>
BASFI	2.0 (2.0)	2.7 (1.3)	0.009 <sup>#</sup>
ASDAS <sub>CRP</sub>	1.20 (0.75)	2.3 (0.64)	0.025 <sup>#</sup>
Mediu de proveniență (%)	85.4%	66.7%	0.409 <sup>*</sup>
Obezitate (%)	4.2%	4.2%	0.739 <sup>*</sup>
Artrite periferice (%)	47.9%	45.8%	0.855 <sup>*</sup>
Uveită (%)	22.9%	41.7%	0.043 <sup>*</sup>
Inflamație (creșterea VSH, CRP, FBG) (%)	47.9%	66.7%	0.100 <sup>*</sup>
HLA-B27 (%)	94.8%	100%	0.582 <sup>&amp;</sup>
AINS (%)	97.9%	100%	0.639 <sup>&amp;</sup>
Sulfasalazină (%)	47.9%	54.2%	0.584 <sup>*</sup>

Test statistic: # – Mann Whitney U test; & – Fisher's exact test; \* –  $\chi^2$  test;

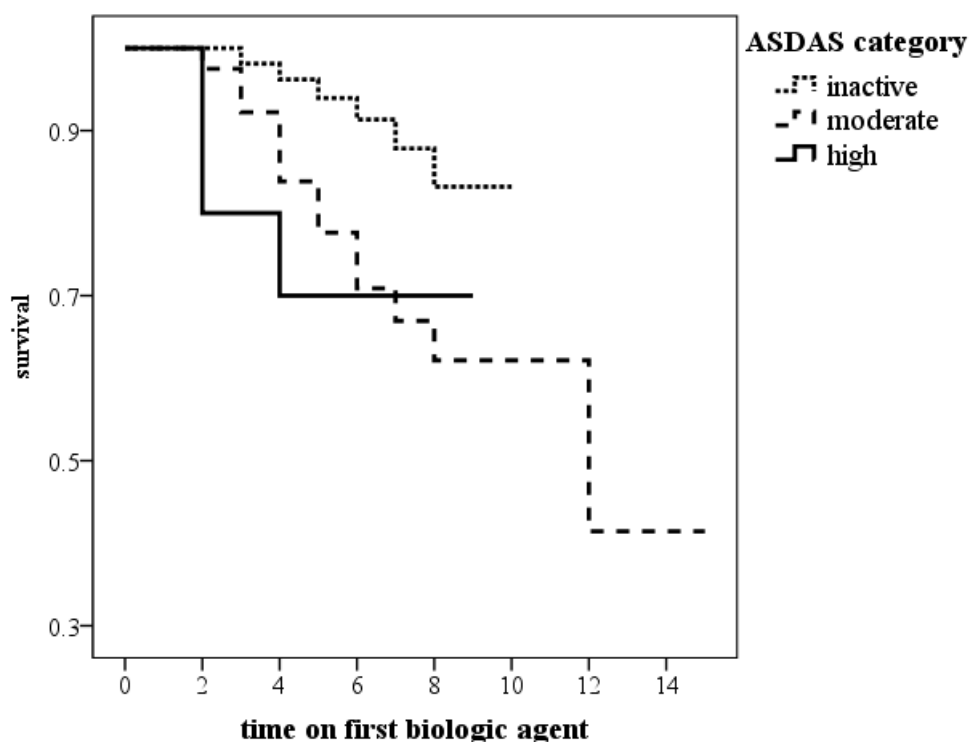
ASDAS<sub>PCR</sub> = Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score using CRP; BASDAI = Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI = Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; IMC = Indice de masă corporală; PCR = Proteina C-reactivă; VSH = Viteza de sedimentare a hematiilor; FBG = fibrinogen; HLA = antigen leucocitar uman; BII = boala inflamatorie intestinală; AINS = antiinflamatoare non-steroidiene; a = ani

Switch-ul terapeutic efectuat la pacienții cu boală inactivă (BASDAI<4, ASDAS<2.1), s-a aplicat la cei cu reacție adversă la tratament (reacții locale la injecție) sau la pacienții care au prezentat manifestări extraarticulare sub un agent biologic și s-a considerat oportun schimbarea terapiei pe un alt agent biologic. Un aspect de remarcat este faptul că numărul de pacienți care au prezentat de-a lungul evoluției bolii episoade de uveită „de novo”, este dublu în subgrupul pacienților care au efectuat switch terapeutic versus grupul de pacienți persistenți pe tratament (41.7% versus 22.9% pacienți), acesta fiind și motivul real al schimbării tratamentului.

#### ***Persistența pe tratament:***

Durata medie a tratamentului (durata de timp de la inițiere până la întreruperea terapiei) a primului biologic a fost de 6,0 (1,0-15,0) ani. La sfârșitul perioadei de observație (după o medie de 7 ani de observație), 96 de pacienți (80,0%) erau încă tratați cu primul agent anti-TNF $\alpha$ , cu o estimare a supraviețuirii Kaplan-Meier de 11,5 (10,1-12,9) ani (eroare standard 0,75). Mai mulți indicatori ai activității bolii s-au corelat semnificativ și negativ cu timpul de tratament al primului biologic, și anume PCR ( $r = -0,219$ ,  $p = 0,016$ ), BASDAI ( $r = -0,394$ ,  $p < 0,001$ ), BASFI ( $r = -0,381$ ,  $p < 0,001$ ) și ASDAS-CRP ( $r = -0,380$ ,  $p < 0,001$ ). Comparativ cu pacienții din mediul rural, pacienții din mediul urban au avut o persistență pe tratament mai ridicată la primul agent anti-TNF $\alpha$ , și anume 6,0 (1,0-15,0) ani față de 4,5 (2,0-12,0) ani ( $p = 0,044$ ), probabil datorita accesului periodic mai facil la controalele de monitorizare și probabil a diferențelor în statusul social.

Supraviețuirea pe primul agent anti-TNF $\alpha$  a fost diferită în funcție de valoarea inițială a ASDAS-CRP (Figura 3): pacienții cu boală inactivă au avut cea mai lungă supraviețuire pe tratament cu primul biologic, în timp ce pacienții cu boală foarte activă au avut cea mai scurtă supraviețuire pe tratament.



**Figura 3.** Kaplan-Meier studiul în timp al tratamentului până la switch-ul primului tratament biologic după categoriile ASDAS<sub>CRP</sub>: 9.3 (8.8-9.8; se = 0.25) ani pentru boală inactivă, 10.6 (8.8-12.5; se = 0.94) ani pentru boală moderată și 7.1 (5.7-8.5; se = 0.74) ani pentru boală intens activă (Mantel-Cox  $\chi^2(2) = 10.3$ , p = 0.006; Breslow  $\chi^2(2) = 13.2$ , p = 0.001; Tarone-Ware  $\chi^2(2) = 12.1$ , p = 0.002).

Supraviețuirea mai scurtă pe tratamentul biologic până la primul switch la pacienții cu boală înalt activă față de pacienții cu boală moderat activă sau inactivă se explică prin faptul că prima categorie de pacienți puteau prezenta forme mai agresive de boală care necesitau selecția unui alt agent anti-TNF.

Din acest punct de vedere este de menționat faptul că o selecție corectă a pacienților cu SA care ar iniția terapia biologică este fundamentală în persistența pe același tratament biologic.

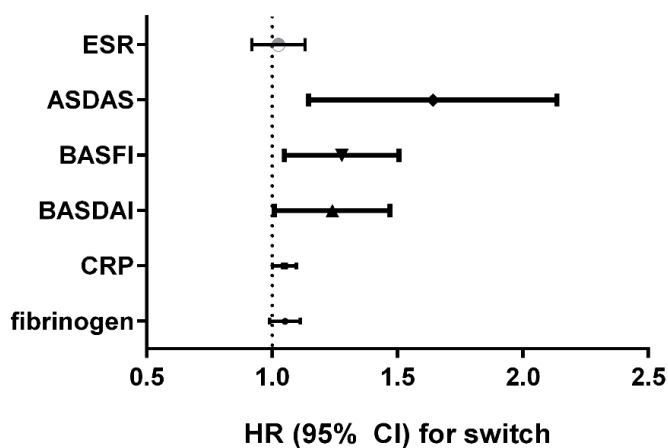
#### ***Predictori ai switch-ului terapeutic:***

Analiza multivariată de regresie Cox a arătat că markerii inițiali ai reactanților de fază acută (PCR, FBG) și indicii de activitate ai bolii la baseline (BASDAI, BASFI, ASDAS-CRP) au putut prezice schimbarea primului agent anti-TNFa în eșantionul de

studiu (Tabelul 3), în timp ce manifestările extraspinale (artrita periferică) și extraarticulare (uveita) nu au fost predictori semnificativi ai switch-ului.

**Tabel 3.** Predictori ai switch-ului

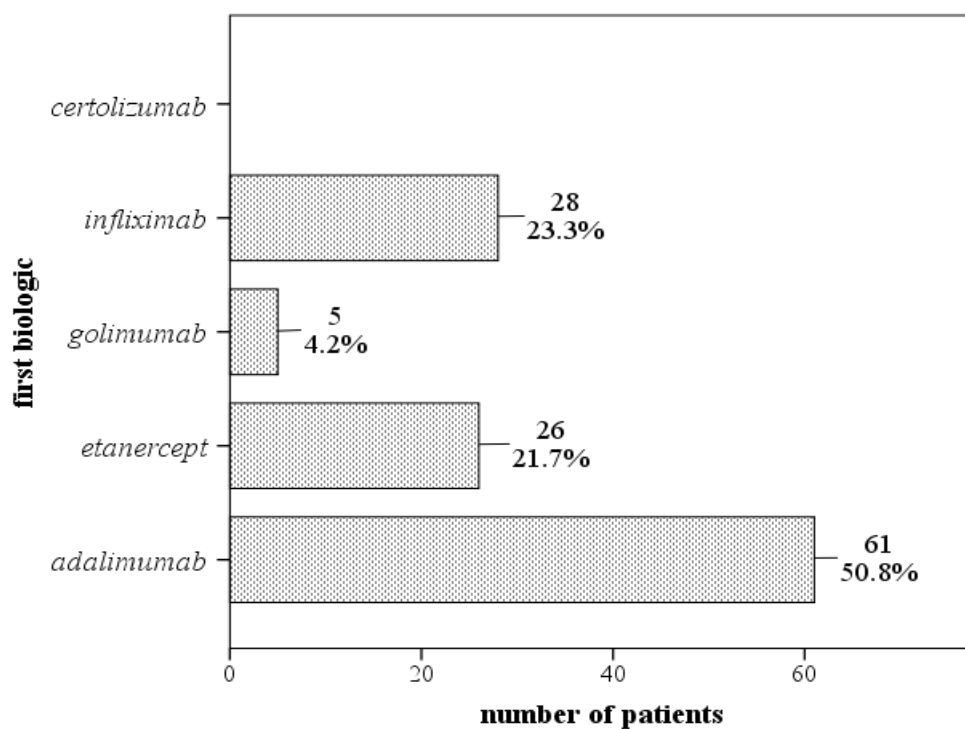
	<i>HR</i>	
<i>model</i>	<i>(95% CI)</i>	<i>p</i>
Artrite	0.883 (0.387-2.015)	0.768
Uveite	1.948 (0.841-4.509)	0.120
VSH	1.012 (0.997-1.028)	0.110
Fibrinogen	1.011 (1.003-1.021)	0.047
PCR	1.019 (1.007-1.031)	0.002
BASDAI	1.226 (1.017-1.477)	0.032
BASFI	1.264 (1.057-1.513)	0.010
ASDAS <sub>CRP</sub>	1.592 (1.173-2.159)	0.003



- ASDAS<sub>CRP</sub> = Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score using CRP; BASDAI = Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI = Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; BMI = body mass index; CI = interval de incredere; PCR = Proteina C-reactivă ; VSH = viteza de sedimentare a hematiilor; HLA = antigen uman leucocitar; HR = hazard ratio.

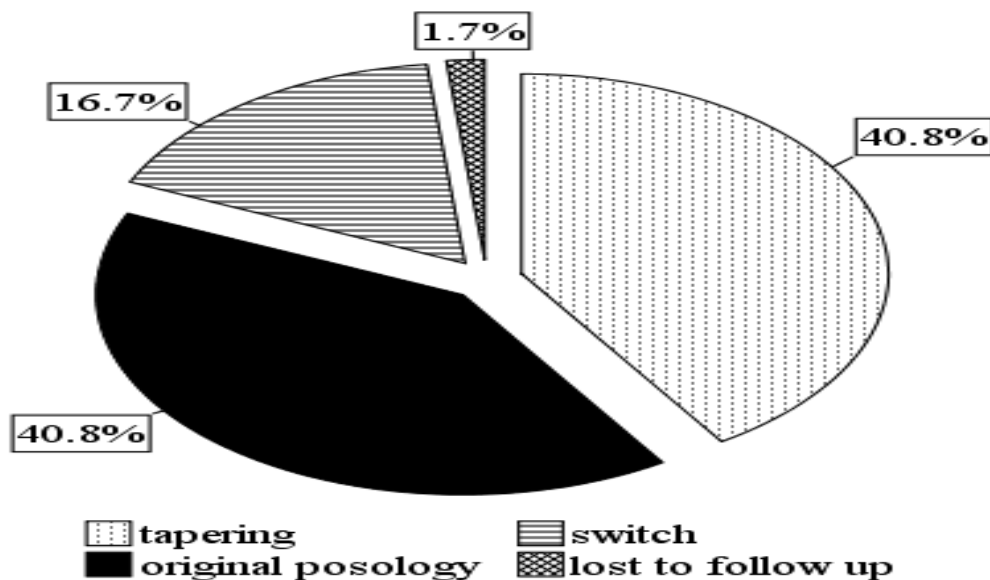
***Tratamentul biologic inițial:***

Mai mult de jumătate din eșantion a fost tratat cu adalimumab ca agent biologic de primă alegere, urmat de infliximab, etanercept și golimumab (Figura 4).



**Figura 4.** Distribuția primului tratament biologic la pacienții cu SA (n = 120).

De la primul agent biologic, un procent egal de pacienți (40,8%) a fost fie trecut la tapering, fie menținut pe doza inițială, restul fiind fie înlocuit cu o altă moleculă biologică (16,7%), fie pierdut în urmărire (1,7%). Tapering-ul a fost pus în aplicare prin decizia comună medic-pacient în cazul remisiunii persistente (definită ca ASDAS  $\leq$  1,3 și valorile normale ale VSH și/sau CRP la două evaluări succesive, cu interval de cel puțin 6 luni). În afară de o perioadă de administrare a TNF-ului mai mică de 2 ani, care nu a permis obținerea unei remisiuni persistente dintr-o perspectivă de timp, medicii au fost motivați să-și mențină pacienții cu SA în posologia inițială din următoarele motive: durata lungă a bolii și statusul agresiv al bolii; persistența manifestărilor extra-articulare (de exemplu, uveita); decizia comună bazată pe alegerea pacientului.



**Figura 5.** End-pointul primului agent biologic

Cauzele switch-ului au inclus: 5 non-responderi primari (25%), 12 non-responderi secundari (60%), 2 cazuri de uveită în timpul terapiei biologice (10%) și 1 caz de boală inflamatorie intestinală în timpul terapiei biologice (5%). De notat că nu au existat cazuri care să oprească complet tratamentul biologic în timpul monitorizării.

După excluderea celor două cazuri pierdute în urma monitorizării ( $n = 2$ ), eșantionul a fost împărțit în funcție de end-pointul primului agent biologic (figura 5), respectiv tapering ( $n = 49$ ), doza inițială ( $n = 49$ ) și switch ( $n = 20$ ). Comparând aceste trei subgrupuri, au fost observate diferențe semnificative peste tot în ceea ce privește markerii inflamatori și scorurile de activitate a bolii. Analiza post-hoc a relevat faptul că aceste diferențe au fost generate prin compararea subgrupului "tapering" cu subgrupul „doze inițiale” și respectiv prin compararea "tapering" cu "switch" (tabelul 4).

**Tabel 4.** Compararea markeriilor inflamatori și a scorurilor de activitate a bolii între end-pointurile subgrupurilor primului agent biologic ( $n = 118$ )

<b>Tapering</b>	<b>Doza initiala</b>	<b>Switch</b>	<b>p</b>
<i>(n = 49)</i>	<i>(n = 49)</i>	<i>(n = 20)</i>	

<i>VSH</i> (mm/h)	11 (11)	17 (29)*	18 (31)*	0.023
<i>FBG</i> (mg/dL)	324 (101)	400 (154) <sup>#</sup>	400 (217) <sup>#</sup>	0.001
<i>PCR</i> (mg/L)	3.3 (4.6)	6.8 (17.3) <sup>&amp;</sup>	10.5 (50.9) <sup>&amp;</sup>	0.048
<i>BASDAI</i>	0.80 (0.80)	1.15 (2.00) <sup>§</sup>	2.10 (2.50) <sup>§</sup>	0.022
<i>BASFI</i>	1.1 (1.0)	2.2 (2.8) <sup>¶</sup>	3.1 (1.7) <sup>¶</sup>	< 0.001
<i>ASDAS<sub>PCR</sub></i>	1.20 (0.46)	1.30 (1.83) <sup>‡</sup>	1.71 (1.16) <sup>‡</sup>	0.005

ASDAS<sub>PCR</sub> = Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score using PCR; BASDAI = Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI = Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; PCR = Proteina C-reactivă; VSH = viteza de sedimentare a hematiilor; FBG = fibrinogen;

### ***Predictori ai tapering-ului:***

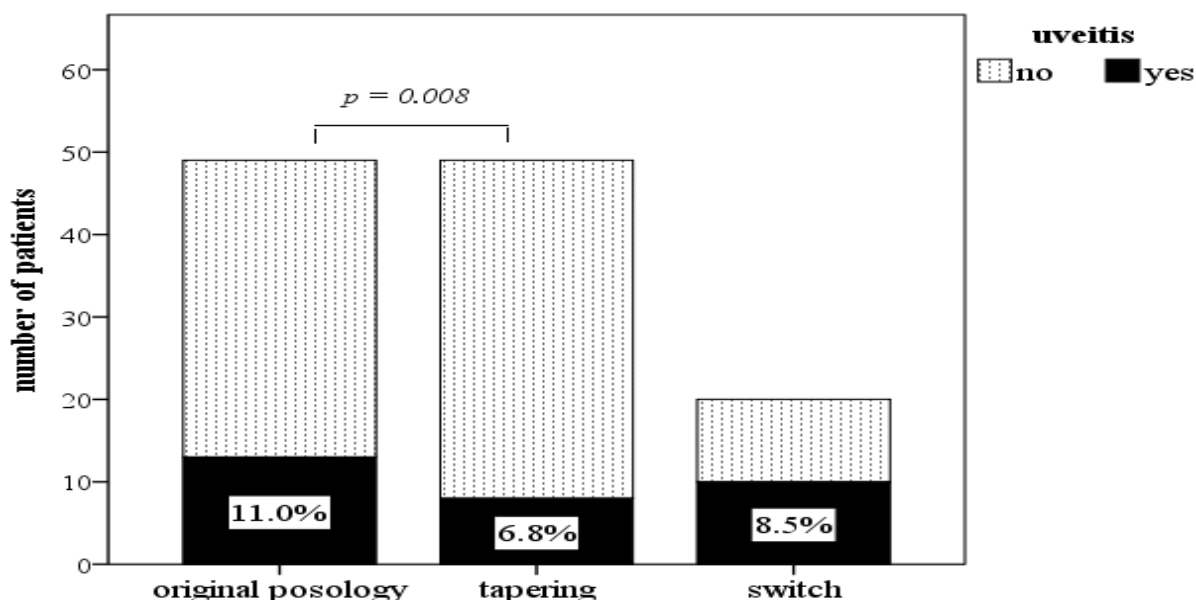
Deoarece markerii inflamatori și indicii de activitate au produs diferențe semnificative între subgrupurile studiului, ele au fost incluse în modele de regresie logistică pentru a anticipa tapering-ul (tabelul 5), obținând rezultate semnificative: atât markerii inflamatorii cât și scorurile de activitate ale SA reduc semnificativ șansele de a produce tapering la primul agent biologic.

**Tabel 5.** Model de regresie logistică binară pentru tapering

<i>OR</i>	<i>P</i>	<i>95% CI</i>
0.962	0.004	0.938 – 0.988
0.992	0.001	0.988 – 0.997
0.936	0.014	0.887 – 0.986
0.565	0.005	0.377 – 0.845
0.399	< 0.001	0.253 – 0.627
0.335	0.003	0.165 – 0.683

ASDAS<sub>PCR</sub> = Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score using PCR; BASDAI = Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI = Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; PCR = Proteina C-reactivă; VSH = viteza de sedimentare a hematiilor; FBG = fibrinogen; OR = odds ratio, CI- Interval de încredere

Cauzele de switch ale primului agent biologic au fost studiate între cele 3 subgrupuri. Prevalența uveitei a fost semnificativ mai scăzută în subgrupul cu tapering comparativ cu subgrupul pacienților cu doza inițială (Figura 6).



**Figura 6.** Prevalența uveitei la pacienții cu tapering, dozele inițiale și switch ( $p = 0,016$  pentru comparație generală utilizând testul  $\chi^2$ ,  $p = 0,008$  pentru comparația post-hoc dintre tapering și doza inițială).

Astfel, din cei 120 pacienți înrolați în studiu, 49 au făcut tapering, 49 au rămas pe doza inițială, 20 au făcut switch, iar 2 au fost pierduți din evidență la finalul studiului. Tapering-ul s-a făcut după o perioadă de 12 sau 18 luni, o decizie luată de comun acord cu pacientul. Tapering-ul a constat în creșterea intervalului dintre administrări, respectiv: 20 de pacienți au trecut la Adalimumab la 3 săptămâni, 6 pacienți au trecut la Adalimumab la 4 săptămâni, 10 pacienți au trecut la Etanercept la 10 zile, 5 pacienți au trecut la Infliximab biosimilar (Remsima) la 10 săptămâni, 3 pacienți au trecut la Infliximab original (Remicade) la 10 săptămâni și 5 pacienți la Infliximab original (Remicade) la 12 săptămâni. Este de menționat faptul că din



totalitatea pacienților care au făcut tapering, niciunul dintre ei nu a revenit la posologia inițială, toți fiind menținuți în stare de inactivitate susținută a bolii.

Din totalitatea pacienților care au făcut switch terapeutic, 5 au fost non-responderi primari (2 de pe Etanercept au făcut switch pe Adalimumab, 1 de pe Infliximab biosimilar /Inflextra a făcut switch pe Adalimumab și 2 de pe Infliximab au făcut switch pe Etanercept). Este de menționat faptul că din categoria tuturor pacienților aflați pe terapie biologică, numai 2 pacienți au făcut uveită de novo sub tratament biologic, motiv pentru care s-a decis switch terapeutic de pe Infliximab pe Adalimumab, un pacient a prezentat boala inflamatorie intestinală, motiv pentru care s-a decis switch-ul terapeutic de pe Infliximab original/Remicade pe Etanercept) și 12 pacienți au fost non-responderi secundari (unii dintre aceștia suferind chiar mai multe switch-uri de-a lungul studiului – de pe Infliximab original/Remicade pe Golimumab -2, Etanercept-Adalimumab- 4, Remicade- Etanercept-3, Adalimumab-Etanercept-Simponi-Remicade-1, Adalimumab-Etanercept-Simponi-Cimzia-1, Adalimumab-Etanercept-Remicade).

Ultimul studiu a urmărit implicarea microbiotei intestinale a pacienților și dacă anumiți factori de declanșare infecțioasă pot modifica predispoziția lor genetică asupra dezvoltării SpA.

***Date demografice și date clinico-patologice.*** Parametrii demografici (vârstă, sex) și prezența antigenului HLA-B27 la pacienți și martori, precum și durata bolii, valorile CRP și scorurile de activitate ale bolii la pacienții cu SpA sunt enumerați în Tabelul 6. Dintre cei 27 de pacienți cu SpA (24 de sex masculin și 3 feminin), 24 (88,9%) au fost HLA-B27-pozitivi.

***Cultura scaunului bacterian.*** Cu o singură excepție, speciemenle de scaun recuperate de la pacienții cu SpA au fost negative pentru agenții patogeni intestinali tradiționali, inclusiv Shigella spp., Salmonella spp., Yersinia spp. și Campylobacter spp. Singurul eșantion de scaun identificat ca fiind pozitiv conținea Salmonella enterica serovar Rissen. După cum era de așteptat, E. coli a fost specia aerobă predominantă de enterobacterii izolate din scaune în cele două grupe de studiu. În mod specific, o cultură practică a E coli a fost obținută de la 23 dintre pacienți (88%) și 25 de controale (96%). Restul de 4 pacienți au prezentat culturi de scaune dominate de K. pneumoniae (3 pacienți) sau Citrobacter spp. (1 pacient), în timp ce în grupul de control, un subiect a fost pozitiv pentru Citrobacter spp.

**Analiza scaunului pe bază de ADN.** Filotiparea a arătat că tulpinile de *Escherichia coli* izolate din speciunile de scaune disponibile aparțineau mai multor filogrupuri. Cu toate acestea, proporția majoră a tulpinilor care colonizează intestinul pacienților și martorilor a aparținut grupării filogenetice A. Majoritatea subiecților (17 pacienți și 19 de control) a fost colonizată de tulpini *E. coli* reprezentative doar pentru un grup filogenetic, care a fost în principal A, dar a fost observată și prezența concomitentă a două filogrupuri. În timp ce filogrupul A a predominat în microflora intestinală a pacienților și a controalelor, s-au observat diferențe în ceea ce privește prevalența celorlalte filogrupuri (Tabelul 7). De remarcat, tulpinile filogrupului B1 și C au fost izolate exclusiv de la pacienți.

Panourile multiple bazate pe PCR au fost utilizate ca alternativă la experimentele culturale și au confirmat speciunile scaunelor care au fost testate pozitiv în culturile pentru *Salmonella*. În plus, au identificat pacienți cu probe pozitive pentru *Clostridium perfringens* (n = 6), toxina B *Clostridium difficile* (n = 1), *Aeromonas* spp. (n = 1) și non-O157: H7 VTEC (n = 2). Prezența simultană a toxinelor B *Clostridium difficile* și a *Aeromonas* spp. a fost identificat, de asemenea, la unul dintre pacienții cu SpA. De notat, pacientul cu cultura dominantă *Citrobacter* spp. A fost de asemenea identificat ca fiind pozitiv pentru VTEC și *Clostridium perfringens* prin PCR. În plus, 2 pacienți au testat pozitiv pentru *Clostridium perfringens*. În ceea ce privește grupul de control, PCR a identificat VTEC la 4 subiecți, *Salmonella* spp. în 2, *Aeromonas* spp. în 1 și *Clostridium difficile* toxină B la 1 subiect (respectiv, unii subiecți au fost supuși unui test pozitiv pentru tulpini multiple).

**Analiza urinei.** Probele de urină au fost negative la enterobacterii, enterococi și stafilococi la majoritatea pacienților și controalelor. Numai 2 probe de urină de la pacienții cu SpA au fost pozitive în cultură. În mod specific, un specimen a produs *Escherichia coli* aparținând grupei filogenetice B2 și alta conținând *Pseudomonas aeruginosa*. Dintre grupul martor, un subiect a fost identificat cu o bacteriurie semnificativă cu *Escherichia coli* din grupa filogenetică B2. De remarcat, pacientul SpA și subiectul controlului au purtat același grup filogenetic de *Escherichia coli* în scaun. ADN-ul *Chlamydia trachomatis* în urină, nici la pacienți, nici la control nu a fost identificat prin utilizarea metodei PCR în timp real.

**Tabelul 6.** Caracteristicile clinico-patologice ale grupurilor de control și SpA.

Parametrii	SpA (n=27)	Controls (n=26)	P-value
Vârsta (ani)	46.07±14.37 (34-68)	60.9±7.69 (54-77)	<0.001 <sup>a</sup>
Sex masculin	24 (88.9)	12 (46.2)	0.002 <sup>b</sup>
HLA-B27	24 (88.9)	2 (7.7)	<0.001 <sup>b</sup>
Durata bolii (ani)	5.77±6.58 (1-33)	-	-
CRP (mg/l)	12.52±10.24 (1.8-32)	-	-
BASDAI	3.35±1.7 (1.1-7.0)	-	-
BASFI	3.3±1.96 (1.0-7.2)	-	-
ASDASCRP2.	18±1.27 (0.9-5.2)	-	-

Valoarea aP determinată prin testul U de la Mann-Whitney sau testul x<sup>2</sup>. Limita superioară a valorilor normale pentru CRP este de 5 mg / l. Valorile sunt exprimate ca medie ± deviație standard (interval) sau n (%). ASDAS-CRP, scorul de activitate al bolii de spondilită anchilozantă utilizând CRP; CRP, proteină C reactivă; BASDAI, Indice de activitate al spondilitei anchilozante; BASFI, indicele funcțional al spondilitei anchilozante ; HLA, antigen de leucocite uman; SpA, spondiloartrită.

**Tabelul 7.** Escherichia coli grupuri filogenetice identificate în probele de scaun din cele două grupe prin utilizarea protocolului Clermont revizuit pe bază de reacție în lanț a polimerazei multiplex.

Filogrup	SpA	Control
	(n=25)	(n=26)
A	12	15
B1	1	0
B2	2	0
C	1	0
E	0	1
F	1	3
A+B1	4	0
A+B2	0	2

A+d	1	1
A+E	1	2
A+F	2	2

---

SpA, Spondilartrite

---

**Analiza lichidelor sinoviale.** Probele de lichid sinovial recuperate de la 3 pacienți cu SpA au fost negative pe cultură și analiză PCR RNA ribozomală 16S.

**Analiza serului.** Anticorpul împotriva bacteriilor au fost detectați la 22 (81%) dintre pacienții cu SpA, cu o singură excepție în ceea ce privește fenotipul HLA-B27. Prevalența anticorpilor anti-bacterieni detectați în ser a fost cea mai mare pentru anticorpul anti-Yersinia (16 pacienți, 67%), urmate de anticorpi anti-Klebsiella (11 pacienți, 46%), anticorpi anti-Salmonella (5 pacienți, 21%) anticorpi anti-Campylobacter (5 pacienți, 21%) și anticorpi anti-Chlamydia (4 pacienți, 17%; Tabelul III).

Anticorpul împotriva bacteriilor au fost identificați într-un număr similar de subiecți din grupurile de control. Concret, 21 de control (81%) au dezvoltat anticorpi anti-bacterieni, dintre care 12 au dezvoltat anticorpi împotriva unei singure specii (de exemplu Yersinia, Klebsiella, Salmonella) și 9 împotriva mai multor specii. Prevalența anticorpilor anti-bacterieni detectați a fost cea mai mare pentru anticorpul anti-Klebsiella (14 controale, 54%), urmate de anticorpi anti-Yersinia (11 controale, 42%), anticorpi anti-Salmonella - anticorpi chlamidia (2 controale, 8%) și anticorpi anti-Campylobacter (1 control, 4%; Tabelul 8).

Conform co-apariției anticorpilor împotriva diferitelor specii, a fost identificat un număr crescut de profiluri serologice, care au cuprins între 1 și 4 categorii de anticorpi în funcție de declanșatorul lor bacterian (Tabelul 9). Un total de 12 profiluri serologice au fost identificate în rândul pacienților și 5 profile serologice în cadrul controalelor. Mai mult de jumătate din subiecții grupului martor (14/26 subiecți) au testat pozitiv anticorpul îndreptat împotriva unei specii de enterobacterii (de exemplu, Klebsiella, Yersinia sau Salmonella) și majoritatea (19/26 subiecți) au avut anticorpi împotriva a nu mai mult de două categorii de microbi. Dimpotrivă, mai puțin de o treime din pacienții cu SpA (8/27 subiecți) au dezvoltat anticorpi împotriva unei singure specii de enterobacterii, respectiv Yersinia sau Klebsiella, în

timp ce restul au prezentat o varietate de profiluri serologice cu anticorpi împotriva a până la patru categorii de microbi.

**Tabelul 8.** Distribuția prin specificitate de declanșare bacteriană și clasă de Ig de anticorpi antimicrobieni detectați în seruri de pacienți cu SpA și subiecți de control.

Tipul de agent patogen / anticorpi	SpA (n=27)	Control(n=26)	P-value
<i>Klebsiella</i>	11 (40.7)	21 (80.8)	0.003 <sub>a</sub>
Anti-K21	4 (11.1)	14 (80.8)	
Anti-K36	1 (3.7)	0	
Anti-K50	6 (22.2)	0	
<i>Yersinia</i>	22 (81.5)	11 (42.3)	0.006 <sub>a</sub>
IgA	15 (55.6)	5 (19.2)	
IgG	7 (25.9)	6 (23.1)	
<i>Salmonella</i>	8 (29.6)	5 (19.2)	0.296 <sub>a</sub>
IgA	5 (18.5)	3 (11.5)	
IgG	3 (11.1)	2 (7.7)	
<i>Campylobacter</i>	7 (25.9)	1 (3.9)	0.024 <sub>b</sub>
IgA	4 (14.8)	1 (3.9)	
IgG	3 (11.1)	0 (0.0)	
<i>Chlamydia</i>	5 (18.5)	2 (7.7)	0.248 <sub>b</sub>
IgA	2 (7.4)	1 (3.9)	
IgG	3 (11.1)	1 (3.9)	

Valoarea aP determinată de testul  $\chi^2$  sau testul exact al bFisher. Valorile sunt exprimate ca n (%). SpA, spondiloartrita; IgG, imunoglobulina G.

**Tabelul 9.** Profilurile serologice ale pacienților cu spondiloartrită și subiecții de control pe bază de anticorpi specifici împotriva agenților patogeni țintă.

Profilul serologic (specii specificitatea anticorpilor)	Pacienți	Control
K	2	-
Y, K	3	3
Camp, K	1	0
Chl, K	1	0

Y, Camp	1	0
Y, Chl	0	1
Y, Sal	1	1
Chl, Sal	1	0
Y, Camp, K	1	0
Y, Chl, K	1	0
Y, Sal, K	0	1
Y, Chl, Camp	1	0
Y, Camp, Chl, K	0	1
Y, Sal, Camp, K	1	0
Y, Sal, Chl, K	1	0

---

Y, *Yersinia enterocolitica*; Camp, *Campylobacter*; Chl, *Chlamydia trachomatis*; K, *Klebsiellapneumoniae*; Sal, *Salmonella*.

---

Cele trei profiluri serologice cele mai complexe detectate în prezentul studiu au inclus o combinație de anticorpi anti-enterobacterieni cu anticorpi anti-Campylobacter sau anti-Chlamydia și profilurile obținute pentru pacienții cu SpA diferă de cele ale grupului martor. Acestea au fost identificate la 3 pacienți și respectiv la un subiect de control. De remarcat, în ceea ce privește anticorpii anti-Yersinia, clasa IgA a fost evident mai bine reprezentată la pacienți decât la martori.

Se remarcă anumite rezultate asociate statutului imunologic și microbiologic. De exemplu, dintre cei 3 pacienți care au fost inițial pozitivi pentru anticorpi anti-Yersinia, cei 2 care au prezentat un fenotip HLA-B27 au fost retestați pentru anticorpi anti-Yersinia după un interval de 6 luni. La un pacient, titrul de anticorpi a crescut, într-un altul, titrul a fost neschimbat, iar la al treilea pacient au fost detectați anticorpi cu specificități noi (adică anticorpi anti-Klebsiella pneumoniae și anti-Campylobacter în al doilea eșantion de ser) cu izolarea concomitentă a Klebsiella pneumoniae din fecale. Primul caz a fost un pacient HLA-B27 pozitiv cu o durată a bolii de 30 de ani și diagnostic clinic de SpA asociat cu uveita. Creșterea progresivă a titrului de anticorpi anti-Yersinia IgA a fost observată în cele trei seruri prelevate la intervale de 6 luni în timpul studiului, după cum urmează (densitate optică la 450 nm): 0,980 (primul eșantion), 1,103 (al doilea eșantion) și 2,287 al treilea eșantion).

Anticorpii anti-Salmonella au fost detectați mai ales în serul pacienților HLA-B27 pozitivi la care au fost detectați concomitent alți anticorpi. Unul dintre cei 5 pacienți pozitivi pentru anticorpi anti-Salmonella (IgA și IgG), care a fost de

asemenea pozitiv pentru anticorpi Yersinia și anti-Campylobacter IgA, a prezentat o complicație extraintestinală concomitentă (uveită). Enterobacteriile au fost dominante în microbiota intestinală a acestui pacient cu E. coli derivat din grupul filogenetic B2. Pacientul a prezentat o istorie de infecții ale tractului urinar. O a doua eșantionare a fecalelor de la această grupă dominantă Klebsiella pneumoniae și a grupului filogenetic B2 de E. coli detectate în cultură, dar culturi urinare sterile. Pentru acest pacient, anticorpii anti-Yersinia au fost identificați în probele de ser și lichid sinovial. Prezența concomitentă a anticorpilor anti-Yersinia în lichidul seric și sinovial a fost observată, de asemenea, pentru ceilalți 2 pacienți care au furnizat cele două tipuri de probe (ser și lichid sinovial) pentru analiza de laborator.

Dintre cei 16 pacienți anti-Yersinia pozitivi, numai 2 au fost detectați pozitivi pentru ATPO și doi pentru anticorpi ATG. La unul dintre acești pacienți la care s-a identificat o creștere a titrului anticorpilor anti-Yersinia la un interval de 1 an de la prima prelevare de probe, primul eșantion a fost pozitiv pentru ATPO și ATG, iar cel de-al doilea eșantion a rămas pozitiv. Acest pacient a fost diagnosticat cu SpA cu 17 ani înainte de a fi înscris în studiul prezent. În grupul martor (n = 26) 2 dintre cei 11 subiecți care au fost pozitivi pentru anticorpi anti-Yersinia au fost concomitent pozitivi pentru anticorpii ATPO.

Prezența anticorpilor antibacterieni la pacienții cu niveluri diferite ale activității bolii (evaluată prin scorurile ASDAS-CRP, BASFI și BASDAI) este prezentată în tabelul 14. Numărul de subiecți nu a fost suficient pentru evaluarea statistică (Tabelul 10).

**Tabelul 10.** Numărul pacienților cu spondilofită cu pozitivitate / negativitate anticorpi antibacterieni în funcție de categoriile de scoruri ale activității bolii.

ANTICORPI/STATUS	BASDAI		BASFI		ASDAS <sub>CRP</sub>	
	4-6	>6	4-6	>6	1.3-2.1	>2.1
<b>IgA</b>						
Positive	2	1	5	2	4	6
Negative	1	1	1	1	0	2
<b>IgG</b>						
Positive	2	3	4	3	5	5

Negative 1 1 2 2 1 3

---

Ig, imunoglobulină; ASDAS-CRP, scorul de activitate al bolii utilizând CRP; CRP, proteină C reactivă; BASDAI, Indice de activitate al spondilitei anchilozante; BASFI, Indexul funcțional al spondilitei anchilozante .

---

## Concluzii

1. Pacienții cu SA din România aflați pe agenți anti-TNF $\alpha$  prezintă o rată ridicată de persistență a tratamentului.
2. Pacienții care au necesitat switch au indicii de activitate ai bolii la baseline semnificativ mai mari, care, alături de reacții de fază acută tot la baseline, pot prezice semnificativ schimbarea primului agent anti-TNF $\alpha$ .
3. Pacienții aflați în tratament cu agenți anti-TNF $\alpha$  au rămas fie pe primul biologic, fie au schimbat unul, două sau trei tratamente biologice pentru a atinge ținta terapeutică conform T2T.
4. În comparație cu pacienții persistenți pe tratament, pacienții care au făcut switch au avut indicii de activitate ai bolii mai mari (BASFI, ASDAS-CRP) și o prevalență semnificativ mai mare a uveitei.
5. Comparativ cu pacienții din mediul rural, pacienții din mediul urban au avut o persistență pe tratament mai ridicată la primul agent anti-TNF $\alpha$ .
6. Markerii inițiali ai reacțiilor de fază acută (PCR, FBG) și indicii de activitate ai bolii la baseline (BASDAI, BASFI, ASDAS-CRP) au putut prezice schimbarea primului agent anti-TNF $\alpha$  în eșantionul de studiu, în timp ce manifestările extraspinale (artrita periferică) și extraarticulară (uveita) nu au fost predictori semnificativi ai switch-ului.
7. Tapering-ul s-a făcut după o perioadă de 12 sau 18 luni, o decizie luată de comun acord cu pacientul.
8. Atingerea țintei terapeutice a permis o spațiere a biologicului în mai multe trepte, diferite în funcție de tipul de biologic.
9. Motivele de switch terapeutic au fost fie non-responsivitatea primară sau secundară, fie apariția de manifestări extraspinale (uveită, boală inflamatorie intestinală) sub terapie biologică.



10. Pacienții cu SpA au avut o prevalență semnificativ mai mare a grupului fylogenic B1 Escherichia coli în culturile scaunelor.
11. . Pacienții cu SpA au o prevalență mai mare a anticorpilor anti-Yersinia în ser și o prevalență mai mare a anticorpilor anti-Campylobacter în ser.
12. Anticorpul IgA anti-Yersinia a fost semnificativ mai bine reprezentat la pacienții cu SpA decât la subiecții de control.
13. . În plus, au existat mai mulți pacienți pozitivi pentru anticorpi serici antibacterieni în categoriile superioare de activitate a bolii SpA în comparație cu grupul cu boală inactivă.
14. La anumiți pacienți cu SpA cu scoruri clinice ridicate, s-au identificat și autoanticorpi specifici tiroidieni.

## **Bibliografie selectivă**

Van der Heijde D, Ramiro S, Landewe R, Baraliakos X, Van den Bosch F, Sepriano A, Regel A, Ciurea A, Dagfinrud H, Dougados M *et al*: 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2017, 76(6):978-991.

Li J, Wang X, Han Z, Zhang Y, Wang Y, Zhang Y, Li W: Dose reduction of recombinant human tumor necrosis factor inhibitors (etanercept) can be effective in ankylosing spondylitis patients with synovitis of the hip in a Chinese population. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2016, 29(3):510-515.

Fong W, Holroyd C, Davidson B, Armstrong R, Harvey N, Dennison E, Cooper C, Edwards CJ: The effectiveness of a real life dose reduction strategy for tumour necrosis factor inhibitors in ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2016, 55(10):1837-1842.

Popescu C, Trandafir M, Badica A, Morar F, Predeteanu D: Ankylosing spondylitis functional and activity indices in clinical practice. *J Med Life* 2014, 7(1):78-83.

Lahesmaa R, Skurnik M, Toivanen P. Molecular mimicry: any role in the pathogenesis of spondyloarthropathies? *Immunol Res.* 1993;12(2):193-208.

Franssen MJ, van de Putte LB, Gribnau FW. IgA serum levels and disease activity in ankylosing spondylitis: a prospective study. *Ann Rheum Dis.* 1985;44(11):766-71.

Cowling P, Ebringer R, Ebringer A. Association of inflammation with raised serum IgA in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 1980;39(6):545-9.