



HAL
open science

**Approfondissement des liens entre polyarthrite
rhumatoïde, microbiote intestinal et perméabilité
intestinale : résultats de l'étude rétrospective GuPRA
portant sur l'analyse des jonctions serrées à partir de
biopsies coliques et des marqueurs sériques de la
barrière intestinale, influence des traitements dans le
contrôle de la perméabilité intestinale**

Pauline Sanchez

► **To cite this version:**

Pauline Sanchez. Approfondissement des liens entre polyarthrite rhumatoïde, microbiote intestinal et perméabilité intestinale : résultats de l'étude rétrospective GuPRA portant sur l'analyse des jonctions serrées à partir de biopsies coliques et des marqueurs sériques de la barrière intestinale, influence des traitements dans le contrôle de la perméabilité intestinale. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03843576

HAL Id: dumas-03843576

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03843576v1>

Submitted on 28 Nov 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NÎMES

THÈSE

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Pauline SANCHEZ

Le 21 octobre 2022

TITRE

**Approfondissement des liens entre polyarthrite rhumatoïde,
microbiote intestinal et perméabilité intestinale : résultats de
l'étude rétrospective GuPRA portant sur l'analyse des jonctions
serrées à partir de biopsies coliques et des marqueurs sériques de
la barrière intestinale, influence des traitements dans le contrôle
de la perméabilité intestinale**

Directeur de thèse : Professeur Claire DAIEN

JURY

Président :

Professeur Jacques MOREL

Assesseurs :

Professeur Claire DAIEN

Docteur Vincent ATTALIN

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NÎMES

THÈSE

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Pauline SANCHEZ

Le 21 octobre 2022

TITRE

**Approfondissement des liens entre polyarthrite rhumatoïde,
microbiote intestinal et perméabilité intestinale : résultats de
l'étude rétrospective GuPRA portant sur l'analyse des jonctions
serrées à partir de biopsies coliques et des marqueurs sériques de
la barrière intestinale, influence des traitements dans le contrôle
de la perméabilité intestinale**

Directeur de thèse : Professeur Claire DAIEN

JURY

Président :

Professeur Jacques MOREL

Assesseurs :

Professeur Claire DAIEN

Docteur Vincent ATTALIN

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022
PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs Honoraires

ALBAT Bernard	BRUNEL Michel	HUMEAU Claude	NAVARRO Maurice
ALLIEU Yves	CANAUD Bernard	JAFFIOL Claude	NAVRATIL Henri
ALRIC Robert	CHAPTAL Paul-André	JANBON Charles	OTHONIEL Jacques
ARNAUD Bernard	CIURANA Albert-Jean	JANBON François	PAGES Michel
ASENCIO Gérard	CLOT Jacques	JARRY Daniel	PEGURET Claude
ASTRUC Jacques	COSTA Pierre	JOURDAN Jacques	PELLISSIER Jacques
AUSSILLOUX Charles	D'ATHIS Françoise	KLEIN Bernard	PETIT Pierre
AVEROUS Michel	DEMAILLE Jacques	LAFFARGUE François	POUGET Régis
AYRAL Guy	DESCOMPS Bernard	LALLEMANT Jean Gabriel	PUJOL Henri
BAILLAT Xavier	DIMEGLIO Alain	LAMARQUE Jean-Louis	RABISCHONG Pierre
BALDET Pierre	DUBOIS Jean Bernard	LAPEYRIE Henri	RAMUZ Michel
BALDY-MOULINIER Michel	DUJOLS Pierre	LEROUX Jean-Louis	REBOUL Jean
BALMES Jean-Louis	DUMAS Robert	LESBROS Daniel	RIEU Daniel
BANSARD Nicole	DUMAZER Romain	LOPEZ François Michel	ROCHEFORT Henri
BAYLET René	ECHENNE Bernard	LORIOT Jean	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean Pierre
BILLIARD Michel	FABRE Serge	LOUBATIERES Marie Madeleine	SAINT AUBERT Bernard
BLARD Jean-Marie	FRAPIER Jean-Marc	MAGNAN DE BORNIER Bernard	SANCHO-GARNIER Hélène
BLAYAC Jean Pierre	FREREBEAU Philippe	MARTY ANE Charles	SANY Jacques
BLOTMAN Francis	GALIFER René Benoît	MATHIEU-DAUDE Pierre	SEGNARBIEUX François
BONNEL François	GODLEWSKI Guilhem	MEYNADIER Jean	SENAC Jean-Paul
BOURGEOIS Jean-Marie	GRASSET Daniel	MICHEL François-Bernard	SERRE Arlette
BOUSQUET Jean	GUILHOU Jean-Jacques	MION Charles	SOLASSOL Claude
BRUEL Jean Michel	GUIITER Pierre	MION Henri	TOUITOU Isabelle
BUREAU Jean-Paul	HEDON berbard	MIRO Luis	VIDAL Jacques
	HERTAULT Jean		VISIER Jean Pierre

Professeurs Emérites

Docteurs Emerites

ARTUS Jean-Claude	LANDAIS Paul	ZANCA Michel	PRAT Dominique
BASTIEN Patrick	LARREY Dominique		PUJOL Joseph
BLANC François	LE QUELLEC Alain		
BONAFE Alain	MARES Pierre		
BOULENGER Jean-Philippe	MAUDELONDE Thierry		
BOURREL Gérard	MAURY Michèle		
BRINGER Jacques	MESSNER Patrick		
CLAUSTRES Mireille	MILLAT Bertrand		
COMBE Bernard	MONNIER Louis		
DAURES Jean-Pierre	MOURAD Georges		
DAUZAT Michel	PREFAUT Christian		
DAVY Jean-Marc	PUJOL Rémy		
DEDET Jean-Pierre	RIBSTEIN Jean		
ELEDJAM Jean-Jacques	SCHVED Jean-François		
GROLLEAU RAOUX Robert	SULTAN Charles		
GUERRIER Bernard	TOUCHON Jacques		
GUILLOT Bernard	UZIEL Alain		
JONQUET Olivier	VOISIN Michel		

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

PU-PH de classe exceptionnelle

ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CANOVAS François	Anatomie
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Médecine d'urgence
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DOMERGUE Jacques	Chirurgie viscérale et digestive
DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie viscérale et digestive
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KOENIG Michel	Génétique
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire

LABAUGE Pierre	Neurologie
LAFFONT Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MERCIER Jacques	Physiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MORIN Denis	Pédiatrie
PAGEAUX Georges-Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
VERNHET Héliène	Radiologie et imagerie médicale
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie

PU-PH de 1^{ère} classe

AGUILAR MARTINEZ Patricia	Hématologie ; transfusion
ASSENAT Éric	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGHDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie viscérale et digestive
BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie

CAMU William	Neurologie
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CAYLA Guillaume	Cardiologie
CHANQUES Gérald	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CORBEAU Pierre	Immunologie
COULET Bertrand	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CUVILLON Philippe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DADURE Christophe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAUVILLIERS Yves	Physiologie
DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale
DE VOS John	Histologie, embryologie et cytogénétique
DEMARIA Roland	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
DEREURE Olivier	Dermatologie - vénéréologie
DROUPY Stéphane	Urologie
DUCROS Anne	Neurologie
DUPEYRON Amaud	Médecine physique et de réadaptation
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GENEVIEVE David	Génétique
GUILLAUME Sébastien	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
GUIU Boris	Radiologie et imagerie médicale
HAYOT Maurice	Physiologie
HOUEDE Nadine	Cancérologie ; radiothérapie
JUNG Boris	Médecine intensive-réanimation
KALFA Nicolas	Chirurgie infantile
KLOUCHE Kada	Médecine intensive-réanimation
KOUYOUMDJIAN Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Histologie, embryologie et cytogénétique
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LE MOING Vincent	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
LECLERCQ Florence	Cardiologie

MATECKI Stéfán	Physiologie
MORANNE Olivier	Néphrologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
NAVARRO Francis	Chirurgie viscérale et digestive
NOCCA David	Chirurgie viscérale et digestive
PANARO Fabrizio	Chirurgie viscérale et digestive
PASQUIE Jean-Luc	Cardiologie
PEREZ MARTIN Antonia	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
PURPER-OUAKIL Diane	Pédopsychiatrie ; addictologie
ROGER Pascal	Anatomie et cytologie pathologiques
TRAN Tu-Anh	Pédiatrie

PU-PH de 2ème classe

BOBBIA Xavier	Médecine d'urgence
BOURGIER Céline	Cancérologie; radiothérapie
CANAUD Ludovic	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
CLARET Pierre-Géraud	Médecine d'urgence
COLOMBO Pierre-Emmanuel	Cancérologie ; radiothérapie
COSTALAT Vincent	Radiologie et imagerie médicale
DAIEN Vincent	Ophthalmologie
DORANDEU Anne	Médecine légale et droit de la santé
FAILLIE Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
FUCHS Florent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GABELLE DELOUSTAL Audrey	Neurologie
GAUJOUX Viala Cécile	Rhumatologie
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GUILPAIN Philippe	Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie
HERLIN Christian	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlologie

IMMEDIATO DAIEN Claire	Rhumatologie
JACOT William	Cancérologie ; Radiothérapie
JEZIORSKI Eric	Pédiatrie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
LATTUCA Benoît	Cardiologie
LE QUINTREC DONNETTE Moglie	Néphrologie
LETOUZEY Vincent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
LONJON Nicolas	Neurochirurgie
LOPEZ CASTROMAN Jorge	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
LUKAS Cédric	Rhumatologie
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas	Radiologie et imagerie médicale
MILLET Ingrid	Radiologie et imagerie médicale
MURA Thibault	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
NAGOT Nicolas	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
OLIE Emilie	Psychiatrie d'adultes; addictologie
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PELLESTOR Franck	Histologie, embryologie et cytogénétique
POUDEROUX Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
RIGAU Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
RIVIER François	Pédiatrie
ROGER Claire	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROSSI Jean François	Hématologie ; transfusion
ROUBILLE François	Cardiologie
SEBBANE Mustapha	Médecine d'urgence
SIRVENT Nicolas	Pédiatrie
SOLASSOL Jérôme	Biologie cellulaire
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
STOEBNER Pierre	Dermato-vénéréologie
SULTAN Ariane	Nutrition
THOUVENOT Éric	Neurologie
THURET Rodolphe	Urologie
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie; hygiène hospitalière

VENAIL Frédéric	Oto-rhino-laryngologie
VILLAIN Max	Ophthalmologie
VINCENT Denis	Médecine interne : gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
VINCENT Thierry	Immunologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

1^{re} classe :

COLINGE Jacques (Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes)

LAOUJ CHENIVESSE Dalila (Biochimie et biologie moléculaire)

VISIER Laurent (Sociologie, démographie)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine générale

1^{re} classe :

LAMBERT Philippe

AMOUYAL Michel

PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine Générale

CLARY Bernard

GARCIA Marc

PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine

BESSIS Didier (Dermato-vénérologie)

MEUNIER Isabelle (Ophtalmologie)

MULLER Laurent (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

PERRIGAULT Pierre-François (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

QUANTIN Xavier (Pneumologie)

ROUBERTIE Agathe (Pédiatrie)

VIEL Eric (Soins palliatifs et traitement de la douleur)

Maitres de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

MCU-PH Hors classe - Echelon Exceptionnel

MARTRILLE Laurent	Médecine légale et droit de la santé
RICHARD Bruno	Médecine palliative

MCU-PH Hors classe

BADIOU Stéphanie	Biochimie et biologie moléculaire
BOULLE Nathalie	Biologie cellulaire
CACHEUX-RATABOUL Valère	Génétique
CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion

MCU-PH de 1^{re} classe

BERTRAND Martin	Anatomie
BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BRET Caroline	Hématologie biologique
BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
COSSEE Mireille	Génétique
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
HERRERO Astrid	Chirurgie viscérale et digestive
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LESAGE François-Xavier	Médecine et Santé au Travail
MATHIEU Olivier	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MOUZAT Kevin	Biochimie et biologie moléculaire
PANABIÈRES Catherine	Biologie cellulaire
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie
SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
THEVENIN-RENECéline	Immunologie

MCU-PH de 2^{ème} classe

BARATEAU Lucie	Physiologie
BERGOUNOUX Anne	Génétique
BOETTO Julien	Neurochirurgie
CHIRIAC Anca	Immunologie
DE JONG Audrey	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DESHAYES Emmanuel	Biophysique et médecine nucléaire
DU THANH Aurélie	Dermato-vénérologie
FITENI Frédéric	Cancérologie ; radiothérapie
GATINOIS Vincent	Histologie, embryologie et cytogénétique
GOUZI Farès	Physiologie
HERBAUX Charles	Hématologie, transfusion
HUBERLANT Stéphanie	Gynécologie-obstétrique ; Gynécologie médicale
LEVEQUE Maude	Parasitologie et mycologie
MAKINSON Alain	Maladies infectieuses, Maladies tropicales
MARIA Alexandre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PANTEL Alix	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PERS Yves-Marie	Thérapeutique; addictologie
ROUBILLE Camille	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SZABLEWSKY	Anatomie et cytologie pathologiques

Maitres de Conférences des Universités

Maitres de Conférences hors classe

BERNEX Florence	Physiologie
CHAZAL Nathalie	Biologie cellulaire

Maitres de Conférences de classe normale

BECAMEL Carine	Neurosciences
CHAUMONT-DUBEL Séverine	Sciences du médicament et des autres produits de santé
DELABY Constance	Biochimie et biologie moléculaire
GUGLIELMI Laurence	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HENRY Laurent	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HERBET Guillaume	Neurosciences

LADRET Véronique	Mathématiques appliquées et applications des mathématiques
LAINÉ Sébastien	Sciences du Médicament et autres produits de santé
LE GALLIC Lionel	Sciences du médicament et autres produits de santé
LOZZA Catherine	Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques
MAIMOUN Laurent	Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
MOREAUX Jérôme	Science biologiques, fondamentales et cliniques
MORITZ-GASSER Sylvie	Neurosciences
MOUTOT Gilles	Philosophie
PASSERIEUX Emilie	Physiologie
RAMIREZ Jean-Marie	Histologie
RAYNAUD Fabrice	Sciences du Médicament et autres produits de santé
TAULAN Magali	Biologie Cellulaire

Maîtres de Conférences des Universités - Médecine Générale

MCU-MG de 1^{re} classe

COSTA David

OUDE ENGBERINK Agnès

MCU-MG de 2^{ème} classe

FOLCO-LOGNOS Béatrice

CARBONNEL François

Maîtres de Conférences associés - Médecine Générale

CAMPAGNAC Jérôme

LOPEZ Antonio

MILLION Elodie

MINET Mathilde

PAVAGEAU Sylvain

REBOUL Marie-Catherine

SERAYET Philippe

Praticiens Hospitaliers Universitaires

CAZAUBON Yoann	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
DAGNEAUX Louis	Chirurgie orthopédique et traumatologique
DUFLOS Claire	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
GOULABCHAND Radjiv	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MIOT Stéphanie	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
ROCH Benoît	Pneumologie, addictologie
SARRABAY Guillaume	Génétique
SOCHE François-Régis	Chirurgie viscérale et digestive

PH chargés d'enseignements

ABOUKRAT Patrick	BRINGER-DEUTSCH Sop	DJANIKIAN Flora	LE MOINE DONY Marie-Christine	RIDOLFO Jérôme
AGUILHON Sylvain	BRINGUIER BRANCHERE	DONNADIEU-RIGOLE Héléne	LETERTRE Simon	RIPART Sylvie
AKKARI Mohamed	BRISOT Dominique	FAIDHERBE Jacques	LOPEZ Régis	RONGIERES Michel
ALRIC Jérôme	BRONER Jonathan	FATTON Brigitte	LUQUIENS Amandine	ROULET Agnès
AMEDRO Pascal	CADE Stéphane	FAUCHERRE Vincent	MANZANERA Cyril	RUBENOVITCH Josh
AMOUROUX Cyril	CAIMMI Davide Paolo	FAURE Elsa	MARGUERITTE Emmanuel	SANTONI Fannie
ANTOINE Valéry	CARR Julie	FILLERON Anne	MARTIN Lucille	SASSO Milène
ARQUIZAN Caroline	CARTIER César	FILLOLS Mélanie	MATTATIA Laurent	SCHULDINER Sophie
ATTALIN Vincent	CASPER Thierry	FITENI Frédéric	MEROUEH Fadi	SEGURET Fabienne
AYRIGNAC Xavier	CASSINOTTO Christophe	FOURNIER Philippe	MEYER Pierre	SENESSE Pierre
BADR Maliha	CATHALA Philippe	GAILLARD Nicolas	MICHEL Moïse	SERRE Jean-Emmanuel
BAIS Céline	CAZABAN Michel	GALMICHE Sophie	MILESI Christophe	SKALLI EI Medhi
BARBAR Saber Davide	CHARBIT Jonathan	GENY Christian	MORAU Estelle	SOLA Christelle
BASSET Didier	CHEVALLIER Thierry	GERONIMI Laetitia	MORQUIN David	SOULLIER Camille
BATIFOL Dominique	CHEVALLIER-MICHAUD	JGINIES Patrick	MOSER Camille	SOUKSI MEDIONI Isabelle
BATTISTELLA Pascal	COLIN Olivier	GRECO Frédéric	MOUSTY Eve	STOEBNER DELBARRE Anne
BAUCHET Luc	CONEJERO Ismael	GUEDJ Anne Marie	MOUTERDE Gaël	TEOT Luc
BELL Ariane	CONSEIL Mathieu	GROSSIN Delphine	PANSARD Nicole	THIRION Marina
BENEZECH Jean-Pierre	CORBEAU Catherine	GUYON Gaël	PERNIN Vincent	TUNEZ Virginie
BENNYS Karim	COROIAN Flavia-Oana	HEDON Christophe	PERRIGAULT Pierre François	VACHIERY-LAHAYE Florence
BERNARD Nathalie	COUDRAY Sarah	HENRY Vincent	PEYRON Pierre-Antoine	VERNES Eric
BERTCHANSKY Ivan	CRANSAC Frédéric	JAMMET Patrick	PICARD Eric	VIALA Maurice
BIBOULET Philippe	CUNTZ Danielle	JEDRYKA François	PICOT Marie Christine	VINCENT Laure
BIRON-ANDREANI Christine	DARDALHON Brigitte	JREIGE Riad	PIERONI Laurence	WAGNER Laurent
BLANC Brigitte	DAVID Aurore	KINNE Mélanie	POQUET Héléne	WALTHER LOUVIER Ulrike
BLANCHARD Sylvie	DE BOUTRAY Marie	LABARIAS Coralie	PUJOL Sarah-Lise	ZERKOWSKI Laetitia
BLANCHET Catherine	DE LA TRIBONNIÈRE Xav	LABORDE Caroline	PUPIER Florence	
BLATIERE Véronique	DEBIEN Blaise	LACAMBRE Mathieu	QUANTIN Xavier	
BOBBIA Xavier	DELPONT Marion	LANG Philippe	RAFFARD Laurence	
BOGE Gudrun	DENIS Héléne	LAZERGES Cyril	RAPIDO Francesca	
BOURRAIN Jean Luc	DEVILLE de PERIERE Gil	LE GUILLOU Cédric	RIBRAULT Alice	
BOUYABRINE Hassan	DI CASTRI Alberto	LEGLISE Marie Suzanne	RICHAUD-MOREL Brigitte	

REMERCIEMENTS

Au **Professeur Jacques Morel**, merci pour votre implication tout au long de mon parcours d'interne, pour votre écoute et pour toutes les connaissances que vous m'avez enseignées.

Au **Professeur Claire Daïen**, un grand merci de m'avoir fait autant confiance, j'ai toujours eu à cœur de ne pas te décevoir car j'ai une grande admiration pour ton parcours. Je ne te serai jamais assez reconnaissante de m'avoir amenée jusqu'à Paris au siège de la SFR pour participer à l'écriture des recommandations, ce fut pour moi une expérience tellement enrichissante. Merci également pour ton écoute si attentive, qui a été durant certaines périodes compliquées pour moi, une aide précieuse. Et encore mille mercis pour ton implication dans notre formation depuis déjà quelques années.

Au **Docteur Vincent Attalin**, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, j'en suis très honorée.

Aux **Professeur Cédric Lukas, Cécile Gaujoux-Viala, Docteur Gaël Mouterde** et aux **chefs de clinique** (anciens et actuels !) du service de rhumatologie de Montpellier et de Nîmes, merci pour votre soutien et votre accompagnement sans faille tout au long de mon internat, grâce à vous j'ai appris énormément de choses et j'ai pu grandir depuis mon premier semestre.

Au **Professeur Combe** (sans S !), merci pour vos enseignements durant les staff du lundi et vos fameuses consultations du mardi matin à vos côtés, elles furent pour moi un moment propice à la pédagogie et à une bonne ambiance.

À **Françoise**, merci pour m'avoir appris tant de choses. J'aurais aimé te connaître plus.

Aux **infirmiers, aides-soignants et cadres de santé du service**, merci pour votre professionnalisme et votre sens du travail d'équipe qui ont fait en sorte que, de jour comme de nuit, les patients soient pris en charge du mieux possible.

Puis, dans leur ordre d'apparition...

À mes amis et rencontres de l'externat...

À **Martin, Julie, Alexis, Valentin, Quentin, Nidal**, merci pour tous ces bons moments passés ensemble.

À **Olivier Mathieu**, mon professeur de tutorat, merci pour votre disponibilité et vos enseignements durant toutes ces années. Je suis heureuse que nos routes se soient de nouveau croisées, presque dix ans après.

Aux internes de rhumato...

À **Paola et Manon**, mes copines de promo (enfin, la première promo !), mes futures chefs, j'ai été ravie de faire mon internat à vos côtés et je le suis encore plus de devenir bientôt votre interne (on va bien rigoler). Merci pour votre soutien, votre bonne humeur. À nos futurs semestres ensemble.

À **Guillaume R.**, mon petit Guigui, que j'ai vu naître dès son premier semestre à Nîmes, merci pour ta patience et la jovialité qui nous ont tous permis de passer ces quelques mois dans la meilleure entente possible. Le mot hépatopathie nous appartiendra toujours.

À **Alexis**, merci de m'avoir supporté durant la pire période de mon internat, celle de mon écriture de thèse. Je sais que je n'ai pas toujours été facile à vivre, alors un grand merci pour me faire toujours autant rire et avoir su trouver les mots pour me faire penser à autre chose.

À **Charlotte A.**, merci pour ton écoute et gestion hors pair en tant que référente de filière. Tu as été d'un grand soutien pour mener à bien mes projets d'interne.

À **Thérèse** (future co-chef !) et **Léo**, parce que vous le valez bien.

À **Baptiste**, merci de me faire autant rire. Entre nous, Uriage c'est beaucoup trop loin.

Au service de neurologie de Gui de Chauliac...

À **Sophie**, merci pour ta gentillesse et ton dévouement, grâce à toi j'ai vécu un meilleur semestre parmi les plus érudits de la neurologie (si si !), merci de m'avoir pris le Bip d'avis quand je n'en pouvais plus de l'entendre sonner, merci de m'avoir remonté le moral quand je me sentais à la ramasse (et ce n'était pas qu'une impression).

À **Rosalie**, ma mère spirituelle, merci d'avoir une voix et un phrasé aussi exceptionnels, tu es ma principale source d'inspiration linguistique, sache le.

Au service de médecine interne de Béziers...

À **Camille, Guillaume, Mailys et Xavier**, merci d'exister, tout simplement. Vous ne vous imaginez pas à quel point je suis heureuse de vous avoir rencontrés, vous êtes des pépites d'êtres humains que j'espère garder à mes côtés encore de longues années.

À **Christine, Éric, Fabrice, Emeline, George, Soumicha, Frédérique et Bernard**, les super héros en chef du service, merci pour vos enseignements, votre bonne humeur et pour m'avoir fait découvrir le beau monde du CH périphérique. Je n'oublierai jamais ce stage passés à vos côtés.

Au service de médecine légale de Montpellier...

Au **Professeur Éric Baccino**, merci pour vos enseignements, votre soutien et pour votre confiance durant cette année de FST.

Au **Docteur Nicolas Gmati**, merci pour ton immense confiance, ta pédagogie depuis les premiers instants où l'on s'est rencontrés et ta générosité sans faille.

À **Laetitia, Léa et Caro**, les pépites d'internes que je n'aurais jamais pensé croiser sur ma route d'interne. Ce fut une géniale découverte que de vous rencontrer, merci d'avoir été à mes côtés durant le semestre et, surtout, d'être aujourd'hui des amies géniales avec lesquelles j'adore boire du Porto tonic au bord d'une piscine.

À **Kenza et Olivia**, les super CCA de médecine légale, merci pour votre accompagnement et votre bonne humeur.

À **Elise, Valérie, Sophie, Pierre-Antoine, Philippe, Emmanuel, Laurent, Maïsy, Bérangère**, merci pour votre soutien durant ce semestre incroyable.

Au service de MPR de Lapeyronie...

Aux internes de MPR, **Robin, Julien, Louis, Zoé, Agathe, Eva**, merci de m'avoir fait apprécier votre spécialité au cours du semestre.

Aux chefs, **Isabelle, Flavia, Clément, Sylvain et Paul**, vous êtes au top du top.

À **Sandrine**, sans qui l'HDJ n'existerait pas ! Merci pour ta bonne humeur, ton humour, ta spontanéité, ton efficacité sans faille dans le travail, mais aussi ton écoute.

Et parce qu'on garde toujours le meilleur pour la fin...

À mes amis du lycée, **Anais, Andy et Chris**, merci d'avoir toujours été à mes côtés durant plus de dix ans. Voisine, le temps où j'avais des spasmes en cours semble loin maintenant ! Andy, merci d'être mon meilleur ami, et merci d'être là dès que j'en ai besoin. Chris, merci d'être toi, ne lâche pas cette bonne humeur qui te caractérise surtout. À **Sara**, merci pour tes conseils avisés et ta gentillesse infinie.

À **Camille**, merci d'être ma meilleure amie, merci d'être toi, merci d'être à mes côtés depuis toutes ces années, merci pour ton soutien et ton amour sans faille. J'espère que le chemin de notre amitié sera encore long car mon bonheur est quand même assez dépendant de ton existence. A bon entendeur et sans pression, hein ... !

À **ma famille**, mes oncles et tantes, cousins, cousines, merci d'avoir toujours cru en moi.

Aux absents, tonton **Daniel** et mes **grands-parents**, j'aurais souhaité vous avoir près de moi pour célébrer cet événement, mais je sais que vous n'êtes pas si loin.

À **mon papa**, merci d'avoir été à mes côtés quoi qu'il ait pu arriver, de m'avoir soutenue dans les bons comme dans les mauvais moments, d'avoir fait en sorte que je ne manque de rien et ne sois jamais dans le besoin. Merci d'être mon papa, celui qui a été, est et sera toujours le plus fier de sa fille.

À **ma maman**, mon pilier, merci pour tout. C'est grâce à toi que je suis devenue celle que je suis, tu es et resteras ma plus grande source d'admiration. Même si ma thèse est un grand moment, la chose la plus importante pour moi aujourd'hui est que tu sois près de moi pour la célébrer.

À vous tous qui avez croisé ma route, très sincèrement MERCI.

TABLE DES MATIÈRES

ABSTRACT	25
1. INTRODUCTION	26
1.1 LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE	27
1.2 LA BARRIÈRE INTESTINALE	30
1.2.1 <i>L'épithélium intestinal</i>	30
1.2.2 <i>Le microbiote intestinal</i>	35
1.2.3 <i>Le système immunitaire digestif</i>	40
1.3 METHODES D'ANALYSE DU MICROBIOTE INTESTINAL ET DE LA PERMEABILITE DIGESTIVE	43
1.3.1 <i>Techniques d'identification et d'exploration du microbiote</i>	43
1.3.2 <i>Mesure de la perméabilité intestinale</i>	45
1.4 INTERACTIONS ENTRE LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LE SYSTEME IMMUNITAIRE	46
1.4.1 <i>Régulation du microbiote intestinal par le système immunitaire</i>	47
1.4.2 <i>Régulation du système immunitaire par le microbiote intestinal</i>	49
1.5 TOLERANCE VERSUS REPOSE INFLAMMATOIRE ENVERS LE MICROBIOTE INTESTINAL EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES	52
1.6 RUPTURE D'INTEGRITE DE LA BARRIÈRE INTESTINALE ET SES IMPLICATIONS DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.....	54
1.6.1 <i>Altération de la barrière intestinale dans la polyarthrite rhumatoïde et d'autres maladies auto-immunes</i>	55
1.6.2 <i>Implications des mécanismes moléculaires utilisés par les antigènes bactériens dans l'induction d'auto-anticorps</i>	58
1.6.3 <i>Preuves soutenant le rôle causal du microbiote intestinal dans la pathogénèse de la polyarthrite rhumatoïde</i>	65
1.6.4 <i>Le microbiote intestinal comme potentiel biomarqueur de la PR</i>	71
1.7 MODULATION NUTRITIONNELLE DU MICROBIOTE INTESTINAL HORS PATHOLOGIE.....	74
1.7.1 <i>Les acides gras à chaînes courtes</i>	75
1.7.2 <i>Prébiotiques et synbiotiques</i>	75
1.7.3 <i>Probiotiques</i>	76
1.8 MODULATION NUTRITIONNELLE DU MICROBIOTE INTESTINAL DANS LA PR.....	79
1.8.1 <i>Efficacité potentielle des probiotiques</i>	79
1.8.2 <i>Recommandations alimentaires émanant de la SFR</i>	79
1.9 HYPOTHESE ET DESIGN DE L'ETUDE	80
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	82
2.1 PATIENTS ET TEMOINS POUR LES BIOPSIES COLIQUES	82
2.2 PATIENTS ET TEMOINS POUR LES SERUMS.....	82

2.3	ÉVALUATION DE LA PERMEABILITE INTESTINALE ET DE LA TRANSLOCATION BACTERIENNE CHEZ LES PR.....	83
2.4	CYTOKINES	83
2.5	ANALYSE STATISTIQUE.....	84
3.	RÉSULTATS	85
3.1	CARACTERISTIQUES DES PATIENTS INCLUS DANS LES 2 COHORTES.....	85
3.1.1	<i>Biopsies coliques</i>	85
3.1.2	<i>Marqueurs sériques de perméabilité intestinale</i>	86
3.2	LES PATIENTS ATTEINTS DE PR PRESENTENT UNE ALTERATION DES JONCTIONS SERREES AU NIVEAU DE L'EPITHELIUM COLIQUE	87
3.3	LA PR EST CARACTERISEE PAR UNE AUGMENTATION DE LA PERMEABILITE INTESTINALE ET DE LA TRANSLOCATION BACTERIENNE	88
3.4	LES BDMARD RESTAURENT L'INTEGRITE INTESTINALE CHEZ LES PATIENTS REPONDEURS...	90
3.5	LA PERMEABILITE INTESTINALE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PR N'EST PAS ASSOCIEE A LA REPONSE FUTURE AUX DMARD	93
4.	DISCUSSION	95
4.1	LA PR EST CARACTERISEE PAR UNE ALTERATION DES JONCTIONS SERREES ET UNE AUGMENTATION DE LA PERMEABILITE INTESTINALE QUI SONT CORRELEES A L'ACTIVITE DE LA MALADIE	95
4.2	CIBLER LE MICROBIOTE INTESTINAL POUR TRAITER LA PR ?	98
4.3	LES BDMARD RESTAURENT L'INTEGRITE DE LA BARRIERE INTESTINALE CHEZ LES PATIENTS REPONDEURS.....	100
4.4	LA PERMEABILITE INTESTINALE : FUTUR BIOMARQUEUR PREDICTIF DE REPONSE THERAPEUTIQUE DANS LA PR ?.....	102
4.5	LIMITES DE L'ETUDE	103
4.6	CONCLUSION DE L'ETUDE.....	104
5.	CONCLUSION	105
	BIBLIOGRAPHIE.....	106
	ANNEXES.....	122

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Aa : <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	IFNγ : Interféron gamma
ACPA : Anticorps anti-peptides citrullinés	IHC : Immunohistochimie
AGCC : Acide gras à chaîne courte	IL : Interleukine
AhR : Récepteur aryl-hydrocarbone	ILC : Innate lymphoid cell
AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien	ISAPP : International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
BFS : Bactéries filamenteuses segmentées	JAK : Janus kinase
CEI : Cellule épithéliale intestinale	JAM : Junctional adhesion molecule
CD : Cellule dendritique	JS : Jonctions serrées
CIA : Arthrite induite par le collagène	LBP : Protéine de liaison au LPS
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité	LPS : Lipopolysaccharide
CPA : Cellule présentatrice d'antigène	LBreg : Lymphocyte B régulateur
CRP : Protéine C-réactive	LFN : Léflunomide
csDMARD : Conventional synthetic disease modifying antirheumatic drug	LIE : Lymphocyte intra-épithélial
bDMARD : Biological disease modifying antirheumatic drug	LTreg : Lymphocyte T régulateur
DAS : Disease activity score	LtxA : Leucotoxine A
DMARD : Disease modifying antirheumatic drug	MAI : Maladie auto-immune
DT1 : Diabète de type 1	MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin
FLNA : Filamine A	MTX : Méthotrexate
FLS : Synoviocyte de type fibroblastique	NLR : NOD-like récepteur
FR : Facteur rhumatoïde	OR : Odds ratio
GALT : Tissu lymphoïde associé à l'intestin	PAD : Peptidylarginine-déiminase
GPCR : Récepteur couplé à la protéine G	PAM : Peptides anti-microbiens
GNS : N-acétylglucosamine-6-sulfatase	PAMP : Patterns de molécules associés aux pathogènes
HLA : Human leukocyte antigen	PLTP : Protéine de transfert des phospholipides
	PNG : Probiotique de nouvelle génération
	PPAD : <i>Porphyromonas</i> -PAD
	PR : Polyarthrite rhumatoïde
	PRR : Pattern recognition récepteur

RIC : Rhumatisme inflammatoire chronique
RMN : Résonance magnétique nucléaire
RSL : Revue systématique de la littérature
RTX : Rituximab
sCD14 : Cluster de différenciation 14 soluble
SE : Shared epitope
SEM : Erreur standard de la moyenne
SFR : Société Française de Rhumatologie

SI : Système immunitaire
SLZ : Salazopyrine
SpA : Spondylarthrite ankylosante
TCR : Récepteur de cellule T
TCZ : Tocilizumab
TLR : Toll-like récepteur
TMA : Triméthylamine
TMF : Transplantation de matières fécales
TNF α : Tumor necrosis factor alpha
VS : Vitesse de sédimentation
ZO-1 : Zonula occludens 1
ZRP : Protéines liées à la zonuline

ABSTRACT

Objectif : Evaluer comment la polyarthrite rhumatoïde (PR) et les traitements de fond de la maladie (DMARD) affectent la perméabilité intestinale.

Méthodes : Pour explorer l'intégrité de la muqueuse colique, les protéines de jonctions serrées que sont ZO-1, occludine et claudine 2 ont été quantifiées par immunohistochimie sur des biopsies coliques de 20 patients atteints de PR et 20 témoins appariés selon l'âge et le sexe. L'intensité de la coloration a été évaluée par deux lecteurs indépendants et en aveugle. Pour explorer la perméabilité intestinale, les concentrations sériques de la protéine de liaison au LPS (LBP), du sCD14 et des protéines liées à la zonuline (ZRP) ont été analysées par ELISA dans une autre cohorte de 59 PR : 21 patients naïfs de DMARD (17 avant et après l'introduction d'un DMARD synthétique conventionnel (csDMARD)), 38 patients avec une PR sévère (avant et après l'introduction d'un DMARD biologique (bDMARD)), et chez 33 témoins sains.

Résultats : La protéine ZO-1 était moins exprimée dans le côlon des patients atteints de PR que dans celui des témoins (score moyen \pm erreur standard de la moyenne [SEM] de $1,6 \pm 0,56$ vs $2,0 \pm 0,43$; $p = 0,01$), tandis qu'aucune différence significative n'a été détectée pour l'occludine et la claudine-2. Les patients atteints de PR avaient des concentrations sériques de LBP et de sCD14 plus élevées que les témoins. Les taux de LBP et de sCD14 étaient significativement corrélés avec le DAS28 ($r=0,61$, $p=0,005$ et $r=0,57$, $p=0,01$, respectivement) alors que celui des ZRP ne l'était pas. Les répondeurs aux bDMARD avaient des concentrations de LBP et de sCD14 significativement réduites contrairement aux non-répondeurs aux bDMARD et aux patients traités avec des csDMARD.

Conclusion : Les patients atteints de PR présentent une altération des protéines des jonctions serrées coliques et une augmentation des marqueurs sériques de la perméabilité intestinale. Il existe une corrélation entre ces marqueurs sériques et l'activité de la maladie ainsi que la réponse aux bDMARD. Ces résultats suggèrent un lien entre l'altération de la barrière intestinale et l'inflammation systémique dans la PR.

1. INTRODUCTION

La **polyarthrite rhumatoïde** (PR) est le rhumatisme inflammatoire chronique (RIC) le plus fréquent. Son développement est déterminé par des facteurs génétiques et environnementaux. Le microbiote intestinal, défini par les trillions de bactéries qui peuplent l'intestin, a récemment été mis en évidence comme un élément clé de la santé. Chez l'Homme, une dysbiose a été observée chez les patients atteints de PR ainsi que chez les personnes à risque d'en développer une. Cette rupture de l'intégrité de la barrière intestinale se traduit notamment par une augmentation de la perméabilité intestinale. L'axe intestin-articulation a fait l'objet d'une attention particulière au cours de la dernière décennie. Les mécanismes par lesquels la dysbiose microbienne favorise la transition de l'auto-immunité asymptomatique vers l'expression de maladies inflammatoires chroniques sont toutefois mal caractérisés. L'intégrité de la barrière intestinale a été identifiée comme un facteur clé de cette transition.

Au cours de ce travail, l'introduction comportera **trois axes de développement** : nous verrons d'abord quels mécanismes moléculaires supportent l'existence d'un axe intestin-articulation, c'est-à-dire les différentes voies par lesquelles le microbiote intestinal est capable d'augmenter l'exposition aux antigènes bactériens et du soi et in fine d'induire une réponse inflammatoire et la production d'anticorps spécifiques de la PR. La seconde partie portera sur la description des preuves scientifiques suggérant que le microbiote puisse être un facteur de risque indépendant de survenue de la PR dans les modèles murins et chez l'Homme. Nous discuterons ensuite de son rôle potentiel en tant que biomarqueur de la PR. La dernière partie de l'introduction sera consacrée à décrire les modalités de correction d'une dysbiose intestinale, notamment par le biais de l'alimentation et les apports de micro-organismes tels que les probiotiques, à la fois en contexte non pathologique puis dans la PR.

Dans la présente étude, nous avons cherché à savoir si les patients atteints de PR présente une perméabilité intestinale accrue en caractérisant les protéines des jonctions serrées dans les biopsies coliques (ZO-1, occludine et claudine-2) et en quantifiant les marqueurs sériques de perméabilité intestinale (LBP, sCD14 et ZRP) à différents stades de la maladie. Nous avons également évalué l'influence de différents DMARD sur ces marqueurs. Nous avons découvert que les patients atteints de PR présentent une rupture d'intégrité de la barrière intestinale avec une diminution de ZO-1 dans le côlon ; les marqueurs sériques de perméabilité intestinale sont augmentés dans la PR et corrélés positivement avec l'activité de la maladie ; enfin, la perturbation de la barrière intestinale

est réversible par le biais des bDMARD (anti-TNF α et anti-IL6) qui diminuent les marqueurs de perméabilité intestinale. Les résultats seront présentés en texte et en figures, pour être, enfin, discutés d'un point de vue méthodologique et scientifique.

1.1 La polyarthrite rhumatoïde

La PR est une maladie auto-immune (MAI) inflammatoire systémique, caractérisée par une inflammation des articulations et une production d'auto-anticorps (facteur rhumatoïde [FR] et anticorps anti-peptides citrullinés [ACPA]), qui évolue finalement vers un handicap fonctionnel (destruction du cartilage et des os), des complications systémiques (troubles squelettiques, cardiovasculaires, pulmonaires, psychologiques) et un décès précoce (1,2). La PR est l'une des MAI les plus courantes, touchant près de 1% de la population mondiale et survenant 2 fois plus chez les femmes que chez les hommes (3). La maladie est caractérisée sur le plan immunologique par **les ACPA et le FR** ; cependant, leur présence n'est pas essentielle à la progression de la maladie puisqu'environ 30 % des patients sont ACPA-négatifs, 20 % sont FR-négatifs, et parfois les deux anticorps sont négatifs (2).

Une interaction complexe entre le bagage génétique et les déclencheurs environnementaux est impliquée dans la progression de la PR. Certains facteurs de risque génétiques semblent jouer un rôle en favorisant le développement de la PR, sans en être la cause principale. En particulier, une association avec différents allèles du HLA (human leukocyte antigen)-DRB1 est claire, conférant une susceptibilité génétique (4). Les allèles HLA-DR qui prédisposent à la PR ont en commun un motif de structure situé sur leur chaîne β 1. Ce motif, défini par une séquence d'acides aminés (QKRAA ou QRRAA ou RRRAA) est appelé « **épitope partagé** » (ou shared-epitope, SE). Les gènes HLA-DR peuvent conférer la susceptibilité, mais aussi la résistance vis-à-vis du développement du rhumatisme. Il existe ainsi des allèles de susceptibilité (dont le HLA-DRB1*0401), des allèles neutres et des allèles de protection (dont le HLA-DRB1*0402). La variation génétique des allèles du SE modifie la structure des protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II pour améliorer leur liaison aux peptides citrullinés (5,6). C'est ainsi qu'il a été observé dans les modèles murins que les souris transgéniques exprimant les gènes DRB1*0401 développaient plus une PR tandis que celles exprimant les gènes DRB1*0402 la développaient moins (7).

Outre le bagage génétique, des facteurs environnementaux jouent un rôle important dans son développement (8). Par exemple, le tabagisme et d'autres formes de

stress bronchique augmentent le risque de développer une PR (9). Récemment, le rôle du microbiote dans sa pathogénèse a attiré l'attention de nombreux chercheurs. Chez les patients atteints de PR, une augmentation et/ou une diminution de l'abondance de certains groupes microbiens spécifiques ont été observées par rapport aux contrôles sains (10).

La présence d'auto-anticorps (en particulier les FR et ACPA) est détectée avant l'apparition de l'arthrite, même des années auparavant, et il arrive que des patients présentant ces auto-anticorps ne développent pas de PR, ce qui prouve une fois de plus que le développement de la maladie nécessite d'autres facteurs et que la seule présence d'auto-anticorps n'est pas suffisante au déclenchement de la PR (2).

L'inflammation de la synovie (appelée synovite) est considérée comme l'une des principales caractéristiques de la PR. Elle se produit lorsqu'un nombre massif de leucocytes migre vers le tissu synovial, où se trouvent les auto-antigènes. En conséquence, une lymphangiogenèse et une néoangiogenèse insuffisantes, induites par des cytokines accompagnées d'une activation des lymphocytes T dans la synoviale, sont d'autres caractéristiques de la synovite précoce (11,12). La PR est considérée comme une maladie médiée par les cellules Th1 (une lignée de cellules T effectrices CD4+ qui favorise l'inflammation par la production de cytokines inflammatoires telles que l'IFN- γ , l'IL-2, l'IL-10 et le TNF- α), cependant, le rôle des sous-ensembles de cellules Th17 produisant de l'IL-17A, de l'IL-21, de l'IL-22 et du TNF- α , qui peuvent favoriser l'activation des fibroblastes, des chondrocytes et des ostéoclastes, a fait l'objet d'une grande attention (13). **Il a été démontré que la pathogénèse de la PR est corrélée au déséquilibre entre les lymphocytes Th17 (une lignée de cellules T auxiliaires CD4+ qui favorisent l'inflammation) et les lymphocytes T régulateurs (LTreg) et B régulateurs (LBreg) (phénotype anti-inflammatoire) ;** la différenciation des cellules Th17 étant accrue, tandis que la différenciation des LTreg et LBreg est supprimée (2). Les macrophages, en tant qu'effecteurs pivots de la synovite, agissent par la libération de cytokines pro-inflammatoires (par exemple IL-1, IL-6 et TNF- α), et la production d'enzymes dégradant la matrice, la phagocytose et la présentation d'antigènes (13). La synoviale normale comprend des macrophages résidents, des synoviocytes de type fibroblastique (FLS). Mais dans la PR, le revêtement membranaire (couche située entre la capsule articulaire et la cavité) est étendue et les FLS changent de phénotype, caractérisé par une perte d'inhibition du contact, une augmentation de l'expression des cytokines, des chimiokines et des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases matricielles (14). Les FLS ont donc un effet direct sur la destruction du cartilage et la

chronicité de l'inflammation synoviale ; en conséquence, ils soutiennent la réaction immunitaire en créant un micro-environnement tolérant pour les cellules T et B (15).

L'activité de la PR est mesurée par le **Disease Activity Score** (ou DAS28), prenant en considération les douleurs et gonflements de 28 articulations, l'inflammation biologique (protéine C-réactive [CRP] ou vitesse de sédimentation [VS]) et l'évaluation par le patient de l'activité de sa maladie sur une échelle de 0 à 10 (0 étant l'absence d'activité). Il traduit une PR en rémission lorsqu'il est inférieur à 2,6, de faible activité entre 2,6 et 3,2, d'activité modérée entre 3,2 et 5,1 et de forte activité lorsqu'il est supérieur à 5,1.

La prise en charge thérapeutique de la PR repose sur un éventail très large de thérapies appelées **DMARD** (Disease modifying antirheumatic drugs) : en première intention au diagnostic on prescrit le plus souvent un **csDMARD** (DMARD synthétique conventionnel) tel que, le plus connu, le Méthotrexate (MTX), ou bien le Léflunomide (LFN) et la Salazopyrine (SLZ). L'arsenal thérapeutique a connu un essor important au début du 21^{ème} siècle avec la mise sur le marché des **biothérapies** (ou bDMARD), prescrites selon les recommandations en seconde intention dans la plupart du temps, et comprenant les anti-TNF α , les anticorps anti-CD20 (Rituximab), les anti-IL6 (Tocilizumab, Sarilumab) et les inhibiteurs des molécules CD80 de co-stimulation entre LT et cellules présentatrices d'antigène (CPA) (Abatacept). Les dernières thérapies ciblées à avoir été commercialisées, également de seconde intention, sont les inhibiteurs de Janus Kinases (JAK) tels que le Baricitinib, Tofacitinib, Filgotinib et l'Upadacitinib.

POINTS CLÉS

- **La PR est une MAI caractérisée par la présence d'auto-anticorps tels que le FR et les ACPA et une inflammation du tissu synovial où se trouvent les auto-antigènes.**
- **Plusieurs facteurs de risque sont connus : environnementaux (tabac) et génétiques (allèles de l'épitope partagé HLA-DRB1*0401).**
- **Au cours de la PR, il existe une balance pro-inflammatoire immunitaire avec une augmentation des lymphocytes Th1 et Th17 et une diminution des lymphocytes T et B régulateurs.**
- **La prise en charge repose sur les DMARD : conventionnels et/ou biothérapies.**

- Le microbiote intestinal dans la PR est différent de celui des sujets sains : un intérêt grandissant à rechercher son rôle potentiel dans cette maladie a émergé ces dernières années.

1.2 La barrière intestinale

La **barrière intestinale**, schématisée sur la **Figure 1**, est une entité anatomique et fonctionnelle qui sépare la lumière intestinale de l'hôte interne, et qui est constituée d'éléments mécaniques (mucus, cellules épithéliales), humoraux (défensines, IgA), immunologiques (cellules immunitaires innées et adaptatives), et d'éléments musculaires et neurologiques.

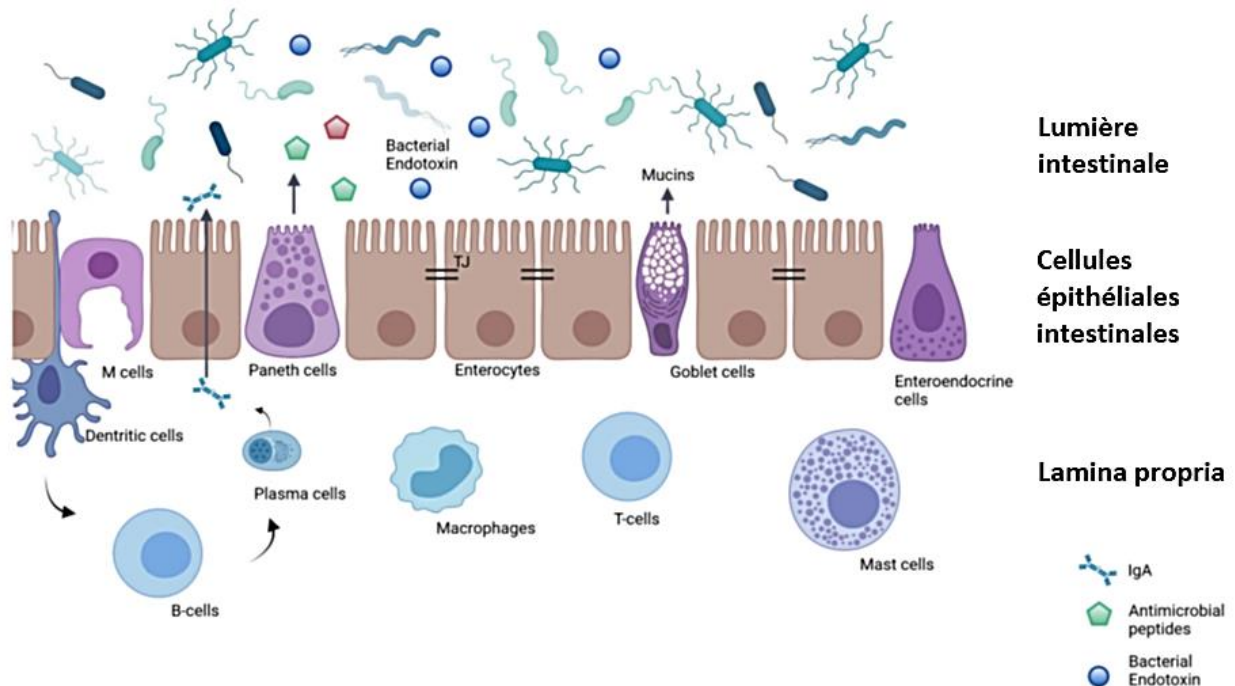


Figure 1. Représentation schématique de la barrière intestinale (16).

1.2.1 L'épithélium intestinal

L'épithélium intestinal (**Figure 1**), représente la plus grande interface (environ 400 m²) entre l'environnement externe et le milieu interne de l'hôte et constitue la seconde barrière après la peau à travers laquelle les molécules peuvent être absorbées ou sécrétées (17). A l'interface entre le microbiote, le bol alimentaire et le système immunitaire (SI) intestinal, il constitue le revêtement dynamique du système digestif, composé d'une large gamme de sous-types de cellules épithéliales intestinales (CEI)

ayant des fonctions diverses et réparties de façon impressionnante en une couche unique.

Les cellules souches des cryptes intestinales donnent naissance à 6 types de cellules différenciées reliées entre elles par des jonctions serrées (JS), formant une barrière relativement imperméable : les **entérocytes** qui assurent l'absorption des nutriments, les **cellules caliciformes** (ou *goblet cells*) qui sécrètent un mucus protecteur, les **cellules de Paneth** situées au fond des cryptes qui sécrètent des peptides antimicrobiens (PAM), les **cellules M** et les **cellules entéro-endocrines** sécrétrices d'hormones (18). Ces deux derniers types cellulaires permettent le transport d'antigènes de la lumière vers les tissus lymphoïdes et des immunoglobulines dans le sens inverse. Parmi tous ces types, les entérocytes représentent la majorité absolue, soit au moins 90% des cellules. Le taux de renouvellement des CEI est élevé : tous les 3 à 5 jours chez l'Homme, empêchant les implantations durables de pathogènes à leur surface.

L'épithélium joue un rôle essentiel dans l'homéostasie grâce à sa fonction intrinsèque d'immunité innée, sa régulation de la tolérance aux antigènes et une interaction bidirectionnelle avec le microbiote qui évolue avec l'âge. Le tractus intestinal (comme tous les épithéliums) est confronté au **défi de tolérer des populations microbiennes commensales et leurs fonctions bénéfiques (via leurs métabolites par exemple) tout en jouant le rôle de barrière en répondant rapidement et efficacement à l'intrusion de pathogènes**. Afin de maintenir une distance raisonnable avec le microbiote résidant et d'établir une barrière efficace, la muqueuse intestinale a développé plusieurs systèmes qui sont largement sous la dépendance du microbiote intestinal lui-même.

Outre leurs fonctions d'absorption et de sécrétion, les CEI jouent un rôle de sentinelles et médient des informations clés aux cellules immunitaires de la lamina propria. Elles surveillent et reconnaissent les micro-organismes grâce à des récepteurs appelés « **Pattern Recognition Receptors** » (PRR) qui assurent la transmission d'informations jusqu'au système immunitaire sous-jacent.

Les **Toll-like récepteurs** (TLR) font partie de la famille des PRR. Ce sont des récepteurs transmembranaires formés d'un domaine de reconnaissance du ligand extracellulaire et d'un domaine cytoplasmique. Ils peuvent reconnaître des composés bactériens en surface tels que les peptidoglycanes et lipopolysaccharides (LPS). Chaque TLR reconnaît des ligands microbiens spécifiques. Du fait d'une exposition continue des CEI à une forte densité microbienne, l'expression des TLR reste spatialement confinée aux cryptes intestinales. Les bactéries commensales et un de leurs métabolites, le butyrate,

sont capables de réguler les modifications épigénétiques des gènes codant des TLR au niveau du colon permettant l'induction de la tolérance.

Les **NOD-like récepteurs** (NLR) appartiennent également aux PRR. Situés au niveau des cellules souches et de Paneth, ils jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la densité bactérienne et la mise en place des mécanismes de défense innée de l'intestin. L'ensemble de ces TLR et NLR sont des acteurs majeurs de l'immunité innée qui est **notre première ligne de défense contre les agents pathogènes**. En conditions physiologiques, la localisation et le niveau d'expression des TLR et des molécules nécessaires à leur activation (sCD14, LBP) sont hautement régulés, protégeant l'organisme de réponses immunitaires inappropriées dans un milieu riche en stimuli bactériens. La présence d'îlots de virulence (tels que certaines toxines, les systèmes de sécrétion et leurs effecteurs) ainsi que l'adhésion et l'invasion cellulaire permettent aux CEI de distinguer les micro-organismes pathogènes des commensaux par la perception de multiples signaux de danger exogènes et endogènes induits par les pathogènes lors de leur engagement au niveau de l'épithélium.

L'effet de barrière attribué à l'épithélium intestinal est lié au réseau dense que forment les CEI et qui constitue la **perméabilité intestinale**. La perméabilité intestinale normale est définie comme une perméabilité stable observée chez des individus en bonne santé ne présentant aucun signe d'intoxication, d'inflammation ou d'altération des fonctions intestinales. Une perméabilité intestinale altérée est définie comme une perméabilité perturbée, c'est-à-dire modifiée de manière non transitoire par rapport à la perméabilité normale, entraînant une perte d'homéostasie intestinale, des déficiences fonctionnelles et des maladies (19).

Elle repose sur deux voies principales, **la voie paracellulaire et la voie transcellulaire**. Dans les conditions physiologiques, la voie transcellulaire permet le passage de molécules de haut poids moléculaire par endocytose. Ces molécules sont principalement des antigènes bactériens et des protéines alimentaires. L'espace paracellulaire entre les CEI est scellé par des protéines du complexe jonctionnel (20). Ce complexe est constitué de **jonctions serrées**, qui régulent le flux d'eau, d'électrolytes et de nutriments alimentaires, et de **molécules d'adhésion jonctionnelles** (JAM) (**Figure 2**).

Les JS constituent un appareil d'adhésion intercellulaire bien développé dans les cellules épithéliales et endothéliales simples, qui est situé dans la partie la plus apicale de leurs membranes latérales (21). Les JS scellent les cellules entre elles pour créer une

barrière primaire à la diffusion des solutés à travers le feuillet cellulaire, réduisant ainsi la perméabilité paracellulaire. Elles sont principalement composées de **claudines** et d'**occludines**. Les domaines intracellulaires de ces protéines transmembranaires sont associés à des molécules d'échafaudage telles que la **zonula occludens-1** (ZO-1) (22).

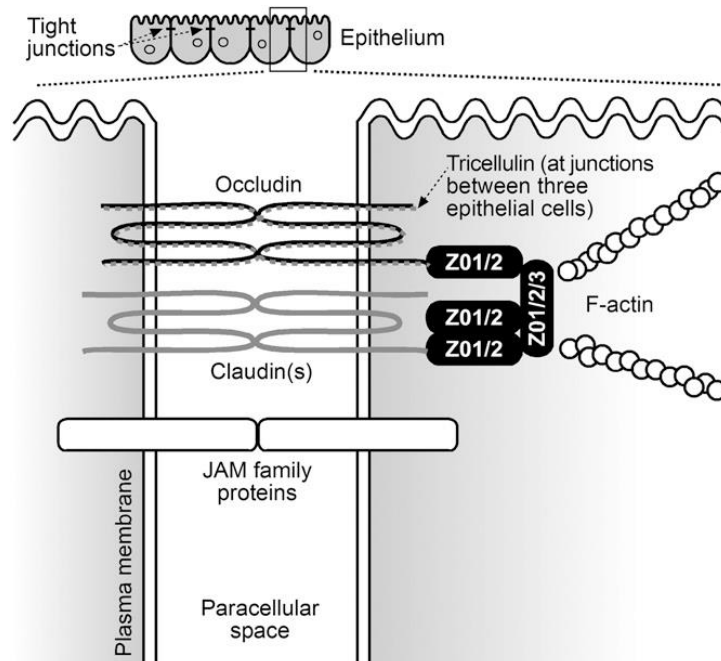


Figure 2. Structure d'une jonction serrée (23).

L'**occludine** est la première protéine transmembranaire à avoir été identifiée. Elle possède 2 boucles extracellulaires, une longue extrémité C-terminale cytoplasmique et une courte extrémité N-terminale cytoplasmique. Les boucles extracellulaires accompagnées des domaines transmembranaires régulent la perméabilité paracellulaire sélective et l'extrémité C-terminale interagit avec ZO-1 qui est ainsi liée au cytosquelette d'actine (24).

Les **claudines** sont les autres composants de la JS. Elles possèdent 4 travées transmembranaires hydrophobes, 2 boucles extracellulaires et des domaines N- et C-terminaux cytoplasmiques. Les boucles extracellulaires des claudines sont essentielles à la formation de canaux sélectifs d'ions et le domaine C-terminal est nécessaire pour être lié au cytosquelette par des interactions avec ZO-1, ZO-2 et ZO-3 (22,25). Bien que l'occludine et les JAM jouent un rôle de régulation, les claudines sont principalement responsables de la fonction de barrière intestinale.

Les protéines de **zonula occludens**, ZO-1, 2 et 3, protéines membranaires périphériques, relient les protéines transmembranaires des JS au cytosquelette périfonctionnel (23).

La **zonuline**, une entérotoxine élaborée par *Vibrio cholera*, a été identifiée comme un important régulateur physiologique de la perméabilité intestinale paracellulaire (26). Sécrétée par les CEI en réponse à des stimuli alimentaires et microbiens, elle désengage ZO-1 du complexe des JS et augmente donc la perméabilité. Un autre rôle physiologique du système zonuline est la protection contre la colonisation des micro-organismes par l'ouverture de la voie paracellulaire, entraînant un wash-out des bactéries dans l'intestin (27). Le désassemblage dépendant de la zonuline s'accompagne de la phosphorylation de ZO-1 et de la régulation à la baisse de la claudine et de l'occludine péri-jonctionnelles (28). Les bactéries sont un des déclencheurs de la libération de zonuline par les CEI. En effet, la présence de micro-organismes entériques tels que les commensaux *Salmonella typhi* et les pathogènes *Escherichia coli* peut provoquer une libération de zonuline de la paroi intestinale et, par conséquent, augmenter la perméabilité intestinale par le désassemblage de ZO-1 (28,29).

Une grande variété de molécules, principalement des protéines, contrôlent leur plasticité. Il est maintenant prouvé que les JS, autrefois considérées comme des structures statiques, sont en fait **hautement dynamiques**, impliquées dans la régulation physiologique et pathologique des échanges d'antigènes épithéliaux intestinaux et constamment remodelées par les interactions avec des stimuli externes, tels que les métabolites alimentaires et les bactéries pathogènes et commensales (23,30).

POINTS CLÉS

- **L'épithélium intestinal, monocouche cellulaire, est un des composants de la barrière intestinale. Il exprime les récepteurs TLR et NLR qui jouent un rôle clé dans la reconnaissance des antigènes bactériens.**
- **Les jonctions serrées, situées entre les cellules épithéliales, solidarisent le complexe d'attache cellulaire et participe au maintien d'une perméabilité intestinale stable.**
- **Une dérégulation des JS entraîne un passage excessif de molécules de poids moléculaire plus élevé, comme les antigènes bactériens, augmentant ainsi la perméabilité intestinale.**
- **Le régulateur central de cette barrière épithéliale est le microbiote intestinal.**

1.2.2 Le microbiote intestinal

a) Généralités et fonctions dans l'organisme

Après avoir longtemps parlé de « flore » intestinale, on donne aujourd'hui à l'ensemble des micro-organismes commensaux qui peuplent le tube digestif le nom de **microbiote intestinal**. Chez l'Homme, il représente un écosystème extrêmement complexe, constitué d'environ 10^{14} cellules microbiennes recouvrant près de 10^3 espèces bactériennes, qui ont coévolué en symbiose pour vivre dans le corps humain.

Le nombre de gènes non redondants présentés dans une analyse du microbiote intestinal de 124 sujets européens était de 3,3 millions, soit 150 fois plus que le génome humain lui-même (31). Notre corps contient ainsi plus de gènes encodés par des micro-organismes que par des cellules humaines. Il s'agit principalement de bactéries mais aussi d'archéobactéries, de protozoaires, d'eucaryotes et de virus (32). C'est au niveau du côlon que la population est la plus abondante, avec environ 10^{11} bactéries par gramme de contenu, constitué de façon dominante de genres anaérobies stricts (33,34). Les grands groupes bactériens conservés dans le microbiote intestinal de l'Homme sont peu nombreux et spécifiquement adaptés à l'écosystème intestinal. Il existe un noyau de gènes (environ 200 000) et d'espèces bactériennes (environ 60) qui sont à la fois dominantes et prévalentes chez l'Homme (35). Cinq grandes familles (ou phyla) bactériennes peuplent le tractus digestif humain, lesquelles agissent de façon interdépendante et compétitrice entre elles. Les deux principales familles sont les *Firmicutes* (dont les espèces de *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Bacillus*), et les *Bacteroidetes* (dont les espèces *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*) ; on retrouve également des actinobactéries (dont *Bifidobacterium*), protéobactéries (*Escherichia*) et les verrucomicrobes.

Si la composition du microbiote intestinal est assez homogène entre individus au niveau des phyla, chaque individu porte dans son microbiote dominant un assemblage d'espèces relativement stable et dont le profil moléculaire est unique, représentant une signature personnelle. Le **microbiome**, c'est-à-dire les collections de génomes de tous les microbes du microbiote, peut quant à lui varier considérablement (80 à 90%) d'un individu à l'autre, bien plus que la variabilité du génome humain (33).

Plusieurs facteurs influencent le microbiote intestinal : à la fois génétiques (détaillé plus loin) et environnementaux. Sa composition varie selon l'âge : de la naissance à l'âge de 2-3 ans il s'établit et se diversifie, puis il reste relativement stable jusqu'à l'âge adulte pour un individu donné pour enfin se modifier à nouveau après 65

ans. C'est la période de sénescence où la diversité diminue. Outre l'âge, plusieurs facteurs influent sur le façonnage du microbiote au cours du temps et sont impliqués dans le maintien de l'homéostasie microbienne : la localisation géographique, le rythme circadien, l'alimentation et le tabac (36).

La plupart des bactéries du microbiote intestinal ont une interaction bidirectionnelle avec l'hôte, c'est-à-dire que les deux coexistent en harmonie et s'apportent mutuellement des bénéfices, le but étant le maintien de l'homéostasie (37). On appelle cela la **symbiose hôte-microbiote** . En effet, le microbiote intestinal possède de nombreuses fonctions biologiques importantes pour la santé de l'hôte. D'une part, il contribue au maintien d'un SI fonctionnel, en favorisant la différenciation des cellules T, le développement des plaques de Peyer et la production d'IgA par les lymphocytes B (38,39). D'autre part, il facilite la digestion et l'absorption des aliments pour fournir de l'énergie aux CEI. Dans ce contexte, l'activité métabolique du microbiote intestinal, correspondant à la capacité des espèces bactériennes à transformer les composés alimentaires en molécules plus petites (ou métabolites) assimilables par l'hôte, a un rôle prépondérant et est égale à celle d'un organe tel que le foie, d'où le fait que le microbiote intestinal puisse être considéré comme un organe à part entière. En effet, la plupart des métabolites formés sont absorbés et utilisés dans l'organisme. La majorité d'entre eux ont des effets bénéfiques pour la santé, tels que les **acides gras à chaînes courtes** (AGCC). Les interrelations entre le microbiote intestinal, l'alimentation et l'hôte sont ainsi primordiales pour maintenir l'homéostasie de l'écosystème microbien digestif et assurer la santé de l'hôte. En retour, l'hôte donne un lieu de vie et des nutriments aux bactéries (40).

Ajouté à cela, le rôle essentiel du microbiote intestinal consiste à **protéger l'hôte vis-à-vis des micro-organismes pathogènes** : il joue un effet « barrière » à la fois direct et indirect (**Figure 1**). En effet, une grande variété de substances exogènes colonisent la lumière intestinale outre les micro-organismes, comme par exemple les toxines et les aliments. Sans une barrière intestinale intacte et fonctionnant correctement, ces substances pénétreraient dans les tissus situés sous la paroi épithéliale intestinale, diffuseraient dans les circulations sanguine et lymphatique, et perturberaient l'homéostasie tissulaire (18). Il existe ainsi un système de barrière intestinale efficace et à multiples facettes, constituée de composants physiques, biochimiques et immunologiques qui se coordonnent les uns avec les autres pour empêcher la translocation incontrôlée du contenu luminal dans l'organisme.

b) Effets « barrière » du microbiote intestinal

➤ **Effets « barrière » directs :**

Il s'agit d'un effet protecteur non seulement vis-à-vis des bactéries pathogènes d'origine exogène, mais aussi vis-à-vis de bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement délétères si leur concentration augmente.

L'effet « barrière » direct du microbiote intestinal dans le maintien de cette barrière repose avant tout sur un **phénomène de compétition** pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux : les pathogènes ne peuvent coloniser l'intestin si les bactéries du microbiote prennent déjà la place et utilisent les nutriments disponibles, d'autant que ces dernières sont plus adaptées à l'écosystème intestinal. Ainsi, si une espèce bactérienne est déjà présente dans le tube digestif, il sera difficile qu'une bactérie de la même espèce s'y implante simultanément. Pour qu'une bactérie exogène (et pathogène a fortiori) s'implante dans l'intestin et exerce ses effets, elle doit présenter un avantage écologique lui permettant d'occuper une niche écologique de manière plus efficace que ses congénères commensales (41). On parle de « fitness cost » ou coût adaptatif / aptitude d'une bactérie : il s'agit de l'effort qu'elle est en mesure de réaliser afin d'ajuster son métabolisme pour répondre aux variations des conditions environnementales auxquelles elle doit faire face pour survivre. En l'absence de cette capacité ou lors de l'acquisition de nouvelles propriétés qui ont un coût d'adaptation qui la dépasse, la bactérie perd tout avantage sélectif et est éliminée de cet environnement. Mais si une antibiothérapie libère des niches écologiques jusqu'alors occupées par le microbiote, une bactérie exogène pourra coloniser l'intestin du fait de l'absence de compétition et y exercer ses effets (néfastes dans le cas d'un pathogène). C'est le cas par exemple dans l'infection à *Clostridium difficile* qui survient spécifiquement chez des patients ayant subi une perturbation de leur microbiote intestinal, le plus souvent induite par une antibiothérapie.

Les bactéries du microbiote produisent également des **bactériocines** détruisant les bactéries pathogènes et des **acides gras** qui diminuent le pH local et empêchent la prolifération de certaines bactéries pathogènes. Par exemple, la Ruminococcine A, produite par une souche de *Ruminococcus gnavus* isolée de selles humaines, a une activité antibactérienne dirigée contre plusieurs clostridies pathogènes comme *C. perfringens* (42). Les acides biliaires quant à eux peuvent transformer par processus enzymatique (7 α -déshydroxylation) un acide biliaire primaire en secondaire. C'est le cas notamment de l'acide désoxycholique capable d'inhiber la croissance de *C. difficile* (43).

➤ **Effets « barrière » indirects via l'hôte :**

Parmi les effets indirects du microbiote, via l'hôte, on peut noter la stimulation de la production de mucus et de PAM, de la sécrétion d'IgA et le renforcement des JS entre les cellules épithéliales. Plus largement, on peut considérer que le développement et la maturation du SI intestinal muqueux par le microbiote est un élément de la barrière intestinale. Enfin, le microbiote joue un rôle important dans la réparation épithéliale après une agression.

L'accès du microbiote à la paroi du tube digestif est bloqué par une première barrière, une couche épaisse de **mucus** protecteur essentiellement constitué de mucines dont la principale est MUC2 (44). Il empêche le contact direct du microbiote, du contenu luminal et des enzymes digestives avec les CEI tout en permettant le passage des nutriments. Principalement produit par les cellules caliciformes, il est situé au-dessus de l'épithélium intestinal et composé de deux couches, la couche interne et externe, qui recouvrent l'ensemble de la paroi épithéliale intestinale. La couche interne délimite une zone protégée au niveau de la surface apicale des CEI, elle est résistante à la pénétration bactérienne tandis que la couche externe contient un grand nombre de bactéries (45). La couche de mucus s'épaissit et évolue de l'intestin grêle au côlon où la densité bactérienne est la plus forte. Le maintien de cette couche de mucus est, au moins partiellement, sous le contrôle du microbiote intestinal. En l'absence de ce dernier, le nombre et la taille des cellules caliciformes sont réduits et l'épaisseur de la couche muqueuse est diminuée par rapport à ce qui est observé chez des animaux avec microbiote conventionnel (46). Par ailleurs, les bactéries et leurs métabolites (tels que le butyrate qui est un AGCC) régulent les gènes codant les mucines et modulent la quantité de mucus sécrétée (47,48). Le mucus représente donc une niche écologique à l'intérieur de laquelle de nombreuses bactéries cohabitent et prolifèrent, offrant une matrice idéale à la constitution de communautés bactériennes complexes (49).

Par ailleurs, les **PAM** tels que les défensines, lysozymes, lectines de type C ou les cathélicidines, que l'on retrouve dans le mucus, permettent de neutraliser les bactéries pathogènes présentes dans la lumière intestinale. Ils peuvent être produits par de nombreux types cellulaires tels que les entérocytes, les cellules caliciformes et les cellules de Paneth. Si la plupart sont produits de façon constitutive, certains sont sous la dépendance de signaux microbiens via la stimulation des récepteurs de l'immunité innée (PRR) détectant des motifs moléculaires présents sur les micro-organismes. Le mucus joue un rôle fondamental pour les PAM car il y sont retenus, permettant de concentrer l'effet antimicrobien où cela est nécessaire, c'est-à-dire à proximité de l'épithélium (50).

Ainsi, la combinaison couche de mucus-PAM assure un maintien à distance du microbiote intestinal.

Un autre mécanisme de maintien de la barrière intestinale est constitué par les **IgA sécrétées dans la lumière intestinale** (*plus de détails au paragraphe 1.2.3 : le système immunitaire digestif*). Les travaux sur les souris ont montré que la production est largement induite par les bactéries du microbiote intestinal (51,52). Bien qu'une part des IgA produites en réponse au microbiote soit spécifique de certaines bactéries commensales, une autre part ne l'est pas et peut avoir une action plus large vis-à-vis de pathogènes (51).

L'expression des gènes codant pour les protéines formant les JS (et particulièrement les claudines) ainsi que la distribution des JS sont influencées par le microbiote intestinal. Ainsi, l'expression des gènes des claudines chez les souris axéniques (exempt de tous germes saprophytes ou pathogènes) est diminuée par rapport à des souris conventionnelles et peut être restaurée après l'administration d'un microbiote conventionnel (23,52).

Le microbiote contribue largement au processus de réparation épithéliale survenant au décours d'une agression en agissant sur l'index mitotique et la durée du renouvellement cellulaire des CEI, via la stimulation du nombre de cellules calciformes et entéro-endocrines. La détection des micro-organismes via les TLR favorise également la réparation tissulaire. Cela a notamment été observé sur des modèles de colite pour lesquels la phase de restauration est altérée chez des souris knockout pour les TLR (53). L'homéostasie intestinale est préservée grâce au maintien d'un équilibre entre activité proliférative versus différenciation et exfoliation cellulaire. Les capacités du microbiote intestinal à stimuler les événements prolifératifs et réguler la différenciation cellulaire font de lui un acteur majeur du remodelage et de la maturation de l'épithélium intestinal, participant au maintien de la barrière intestinale.

POINTS CLÉS

- **Le microbiote intestinal représente l'ensemble des micro-organismes peuplant notre tube digestif et qui, en conditions physiologiques, vivent en symbiose avec nous. Cette symbiose est à la base de l'homéostasie intestinale et repose sur des interactions hôte-microbiote bidirectionnelles hautement contrôlées en conditions physiologiques.**

- **Tout comme la PR, il est influencé par des facteurs génétiques et environnementaux.**
- **L'effet de barrière réside dans l'ensemble des mécanismes dépendant directement ou indirectement du microbiote dont la finalité est de maintenir une distance raisonnable avec le microbiote résidant et d'empêcher l'entrée de pathogènes, processus indispensable à l'homéostasie intestinale.**
- **Ses effets « barrière » directs reposent sur le phénomène de compétition, la production de bactériocines et d'acides gras. Ses effets « barrière » indirects passent par l'activation des cellules de l'hôte. Les principaux mécanismes sont la production de mucus, de PAM, d'IgA et le renforcement des JS.**

1.2.3 Le système immunitaire digestif

Le système digestif contient la plus grande partie des cellules immunitaires, environ 70%, constituant un SI à part et notoire par le fait qu'il est le premier système lymphocytaire au cours de l'évolution. **Il est en contact permanent avec les antigènes alimentaires de la lumière intestinale, mais également avec les micro-organismes commensaux ou en transit.**

La réponse immunitaire intestinale est généralement localisée dans la muqueuse qui comprend l'épithélium, la lamina propria et la musculaire muqueuse. Bien que les CEI ne soient pas à proprement parler des cellules immunitaires, elles contribuent aux défenses de l'organisme à travers la sécrétion de PAM, notamment par les cellules de Paneth, ainsi que de mucus par les cellules caliciformes.

A la base de l'épithélium intestinal se localisent des **lymphocytes intra-épithéliaux** (LIE), principalement des lymphocytes T CD8+ ou double-négatifs CD4-CD8- tissus-résidents effecteurs (44,54). Ils jouent un rôle important dans l'homéostasie intestinale, en particulier en cas de dommages de la muqueuse (55). Le maintien de la population de lymphocytes T CD8+ dépend des signaux provenant du microbiote, jouant le rôle d'adjuvant de la réponse cytotoxique.

Sous l'épithélium se trouve la **lamina propria**, couche cellulaire abondante en cellules immunitaires effectrices innées et adaptatives dont la réactivité aux ligands microbiens commensaux et pathogènes est bien plus importante que la barrière formée par le mucus et les CEI.

Parmi les cellules de l'**immunité innée**, les **macrophages** et les **cellules dendritiques** (CD) sont capables de phagocyter tout pathogène à portée voire de projeter des extensions cytoplasmiques entre les CEI pour capturer des antigènes. Ils peuvent aussi recevoir des antigènes transférés par les cellules M directement (44,56). Ils jouent un rôle essentiel dans l'induction de la réponse immunitaire adaptative, et, à travers leur lien avec les CEI, vont permettre une régulation finale de la réponse immunitaire (57). En effet, les CD vont activer les lymphocytes T auxiliaires en présentant sur leur CMH de type 2 des antigènes. En condition physiologique, l'antigène du soi est le seul signal présenté par les CD à ces lymphocytes. Si ces derniers reconnaissent l'antigène, ils deviendront anergiques ou des LTreg. Dans un environnement pathologique, l'activation des CD est augmentée, elles acquièrent l'expression de cytokines pro-inflammatoires qui, en association avec la présentation antigénique, vont activer les lymphocytes T CD4+ capables de les reconnaître.

Parmi les cellules de l'**immunité adaptative**, la lamina propria abrite également des lymphocytes effecteurs différenciés, principalement des **lymphocytes T auxiliaires** (Th1, Th2 et Th17) **et cytotoxiques** (principalement des CD4+), des **lymphocytes régulateurs** (de type B et T) modulant les réponses immunitaires ainsi que des **plasmocytes sécrétant des IgA** spécifiques d'un antigène donné.

Les lymphocytes T CD4+ activés se différencient en Th1, Th2 ou Th17 selon la production d'interleukines induites par le pathogène. Les Th1 ciblent les pathogènes intracellulaires et produisent de l'IFN- γ et du TNF- α . Les Th2 ciblent les parasites et produisent de l'IL-4,5 et 13. Les Th17 sécrètent des cytokines pro-inflammatoires IL-17 et IL-22 et induisent la production la production d'IL-6 par les CEI, conduisant au développement d'une inflammation. Les LTreg produisent des cytokines anti-inflammatoires comme le TGF- β et l'IL-10. Les LBreg jouent un rôle dans la régulation de l'inflammation immunitaire en produisant de l'IL-10 en réaction à la présence de cytokines pro-inflammatoires.

En parallèle, les **lymphocytes B** reconnaissent des antigènes libres ou associés avec les molécules du complément et exposés sur les macrophages résidents dans les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT). Après reconnaissance, l'antigène est internalisé et apprêté sur le CMH de type 2 des lymphocytes B. Les lymphocytes T auxiliaires activés, s'ils reconnaissent l'antigène, vont être co-stimulés et produire des cytokines spécifiques du type de lymphocytes impliqués. Après activation, les lymphocytes B subissent une maturation d'affinité somatique et une commutation de classe de leurs immunoglobulines pour qu'elles soient spécifiques du contexte inflammatoire. Par

exemple, les IgA limitent le contact des bactéries avec la surface épithéliale et leur pénétration dans la muqueuse (51,58). Elles sont captées au niveau basolatéral des CEI et un phénomène de transcytose dirigée permet leur libération complète au pôle apical.

En l'absence de rupture de la barrière intestinale, les cellules T et B spécifiques des germes commensaux sont généralement limitées aux compartiments muqueux et sont tolérogènes (59).

L'impact de l'absence de microbiote intestinal dans les modèles murins sur les sous-populations immunitaires diffère selon leur localisation. Elle affecte surtout les lymphocytes Th1 et Th17 mais peu les LTreg dans l'intestin grêle alors que dans le côlon les LTreg sont fortement diminués. Pour ce qui est des LBreg, les effets varient selon les modèles et ne sont pas encore bien compris.

La lamina propria abrite également des **cellules innées lymphoïdes** (ILC) capables de détecter des signaux cytokiniques d'alarme fournis par les CEI ou les cellules immunitaires. Les ILC vont amplifier le signal en produisant massivement des cytokines avec une réponse immunitaire adaptée au type de pathogène : soit contre les pathogènes intracellulaires (ILC1 produisant de l'interféron gamma (IFN- γ), réponse Th1), contre les parasites (ILC2 produisant de l'IL5, IL6 et IL13, réponse Th2), ou contre les pathogènes extra-cellulaires (ILC3 produisant de l'IL17 et IL22, réponse Th17) (60).

Plus profondément, au sein de la couche musculaire muqueuse, le **GALT** constitue un carrefour important dans l'interaction entre les Ag intestinaux et les cellules immunitaires. Les GALT sont formés des **plaques de Peyer** (superficielles) et des **ganglions mésentériques** (profonds). Les plaques de Peyer sont en étroite relation avec les cellules M, spécialisées dans la capture et le transport d'antigènes vers les cellules immunitaires sous-jacentes, notamment les CD. Les GALT sont des structures immunitaires extrêmement actives, lieu d'une stimulation antigénique intense et production d'IgA par les plasmocytes (44).

POINTS CLÉS

- **Tout comme le microbiote et l'épithélium intestinal, le SI est essentiel au maintien de la fonction de barrière intestinale contre l'entrée de pathogènes.**
- **La muqueuse intestinale, composée de l'épithélium, la lamina propria et d'une couche profonde, abrite la majeure partie du SI digestif.**

- **Les récepteurs de l'immunité innée (TLR et NLR) jouent un rôle important dans la régulation de la composition du microbiote et le maintien de l'homéostasie intestinale entre l'hôte et son microbiote.**
- **L'influence des bactéries commensales sur la réponse immunitaire adaptative représente le principal impact du microbiote sur son hôte. Une réponse pro-inflammatoire est médiée notamment par les lymphocytes T auxiliaires, alors qu'une réponse anti-inflammatoire est médiée par les LTreg et LBreg.**

1.3 Méthodes d'analyse du microbiote intestinal et de la perméabilité digestive

1.3.1 Techniques d'identification et d'exploration du microbiote

La prise en compte du gigantesque monde microbien dans la physiologie humaine et de ses bienfaits considérables pour la santé nécessite d'avoir à notre disposition les outils permettant de l'analyser.

Historiquement, des **milieux de culture** spécifiques ont été développés pour cultiver de façon sélective des pathogènes. Ils peuvent présenter un biais dû à la non-cultivabilité de certaines souches. De fait, la difficulté de reconstituer des conditions proches de l'environnement intestinal explique l'anomalie de dénombrement qui fait que l'on ne peut cultiver en milieu artificiel in vitro que 30% environ des bactéries dominantes que l'on peut compter en microscopie. Ce constat a stimulé les efforts de caractérisation moléculaire du microbiote dominant.

A la fin des années 1970, d'importants travaux ont démontré l'intérêt de l'**ARN ribosomal** comme sémantide (biopolymère marqueur de l'évolution) permettant de positionner toute souche pure dans la phylogénie du vivant (61). Une extension toute naturelle de ces travaux à l'écologie moléculaire a consisté à valoriser une base de données de séquences croissantes d'ARN, notamment les ARN 16S, pour le développement et l'application de méthodes « gène unique » très performantes, non plus à partir d'ADN génomique d'organismes « purs » mais cette fois à partir d'ADN ou d'ARN extrait d'écosystèmes microbiens complexes, dont les contenus intestinaux (62,63). Depuis le début du siècle, de la même façon que l'approche ribosomale était passée de la phylogénie à l'écologie moléculaire en analysant des ADN ou ARN d'environnements complexes, la génomique a suivi la même transition majeure, ouvrant le domaine de la

métagénomique qui consiste à appliquer les méthodes de séquençage de génomes à un ADN issu d'un environnement complexe (64). Par extension, les techniques « omiques » se déclinent aujourd'hui de façon intégrée, allant de la métagénomique à la métatranscriptomique, la métagénomique et même la métabolomique appliquée à l'environnement intestinal.

L'approche métagénomique passe par le séquençage direct et massif (appelé whole sequencing) de l'ADN extrait d'un échantillon biologique et donne accès à l'ensemble des gènes d'un écosystème. C'est l'un des outils d'étude du microbiote les plus récents. Elle permet d'avoir une image de la composition à l'échelle des gènes et espèces et d'explorer aussi les fonctionnalités du microbiote. La **métatranscriptomique** et la **métagénomique** explorent respectivement les ARN messagers et les protéines dominantes résultant de l'expression des gènes. La **métabolomique** identifie les métabolites par spectrométrie de masse ou résonance magnétique nucléaire (RMN).

Le **projet EXIMIOUS**, prévu pour 2027, est une vaste étude multinationale innovante qui repose sur des méthodes d'analyse du microbiote de dernière génération (65). Il rassemble des experts de multiples domaines, étudiera onze populations européennes, couvrant toute la durée de vie. Le but est d'évaluer l'exposome humain (diversité des expositions externes et internes auxquelles un individu est soumis durant sa vie) en combinant des méthodes innovantes de caractérisation et de quantification des expositions environnementales multiples et de cartographie des effets immunitaires induits par l'exposition (immunome et MAI). 300 patients atteints de PR seront inclus. De nouveaux outils bioinformatiques seront développés, faisant appel à la biologie systémique, à l'intelligence artificielle et à l'apprentissage automatique, afin de combiner et d'analyser les énormes ensembles de données reliant l'exposome et l'immunome aux données cliniques et socio-économiques. En explorant l'ensemble du parcours de l'exposome, de l'empreinte immunitaire et de la maladie au cours de la vie d'une personne, l'objectif est de mieux comprendre les mécanismes qui entraînent des effets immunitaires liés à l'exposition à différents stades de la vie et d'identifier les expositions les plus pertinentes et les personnes à risque afin d'orienter des actions et des politiques de prévention spécifiques au niveau de l'individu, du groupe et de la population, et de contribuer ainsi à l'amélioration des soins de santé.

Récapitulatif :		
Techniques d'identification et d'exploration du microbiote intestinal		
Matrices moléculaires		Outils de caractérisation
ADN total	PCR et séquençage des ADN ribosomiaux 16S	Profils phylogénétiques
	Séquençage de l'intégralité des gènes	Profils métagénomiques
ARN messagers	RT-PCR et séquençage des ADN complémentaires	Profils métatranscriptomiques
Protéines totales	Gels 2D ou spectrométrie de masse	Profils métaprotéomiques
Métabolites	Spectrométrie de masse ou RMN	Profils métabolomiques

1.3.2 Mesure de la perméabilité intestinale

Les techniques utilisées pour l'évaluation de la perméabilité et de l'intégrité de la barrière intestinale varient en fonction du contexte (mesures in vitro ou in vivo), de l'espèce (modèles humains ou animaux), des molécules-marqueurs utilisées pour l'évaluation (ions, glucides de différentes tailles, macromolécules et antigènes, produits bactériens et bactéries) et des compartiments utilisés pour la mesure des marqueurs (sang périphérique par exemple) (19).

La perméabilité intestinale in vivo chez l'Homme peut actuellement être évaluée par des **tests fonctionnels** (comme l'absorption de lactulose/mannitol, de ⁵¹Cr-EDTA ou de polyéthylène glycol) ainsi que par l'**immunohistochimie** pour quantifier et visualiser les protéines des JS, ou par des méthodes indirectes de **mesure de la translocation** des produits bactériens.

Dans cette dernière méthode, la **protéine de liaison aux LPS (LBP)**, connue comme un marqueur de l'endotoxémie clinique, et la **forme soluble du CD14 (sCD14)**, co-récepteur du LPS (66), peuvent être utilisées comme marqueurs de la translocation bactérienne (67). Le LPS est un composant de la membrane des bactéries Gram-

négatives et la LBP une protéine produite en phase aiguë par l'épithélium intestinal et le foie en réponse à la translocation du LPS. La LBP et le sCD14 sont dosés dans le sang périphérique et sont le témoin indirect de la perméabilité intestinale. Malgré une certaine controverse, la **zonuline sérique** a été corrélée à une perméabilité intestinale accrue dans de nombreuses études (68–71). La zonuline appartient à un groupe de protéines structurellement et fonctionnellement liées au précurseur de l'haptoglobine 2 (68,70). Étant donné que les tests ELISA commerciaux ne détectent pas seulement la zonuline mais aussi d'autres protéines de cette famille, le terme de **protéines liées à la zonuline (ZRP)** est maintenant souvent utilisé plutôt que le terme zonuline lorsqu'on utilise un test ELISA pour la détecter.

POINTS CLÉS

- Une large fraction du microbiote intestinal dominant, inaccessible par la culture au laboratoire, est aujourd'hui connue grâce aux techniques moléculaires.
- L'approche métagénomique a révolutionné les connaissances en donnant accès à l'ensemble des gènes du microbiote intestinal humain dominant, le 2^{ème} génome humain.
- La caractérisation moléculaire du microbiote intestinal ouvre des perspectives vers la personnalisation de la prise en charge nutritionnelle et médicale.
- La LBP, le sCD14 et les ZRP sont les marqueurs sériques de translocation bactérienne à travers la barrière intestinale, témoins indirects de la perméabilité intestinale. En cas de rupture de la barrière, leurs taux sériques sont augmentés.

1.4 Interactions entre le microbiote intestinal et le système immunitaire

L'hôte et son microbiote intestinal interagissent en permanence sous le joug de règles hautement contrôlées. Cet écosystème déploie de multiples stratégies qui demandent une adaptation continue afin de préserver un équilibre dans le dialogue hôte-microbiote et l'intégrité de la barrière intestinale. Il est donc important de comprendre quels sont les processus impliqués dans ces interactions afin de pouvoir répondre efficacement aux dysbioses impliquant un tel dialogue.

1.4.1 Régulation du microbiote intestinal par le système immunitaire

Le SI joue un rôle prépondérant dans le contrôle de la composition du microbiote, permettant ainsi de maintenir la relation symbiotique entre l'hôte et les microbes commensaux et, par conséquent, le maintien de l'homéostasie intestinale.

➤ Immunité innée :

Parmi les cellules du SI inné, les **cellules dendritiques** sont capables d'apprêter des antigènes sur leur CMH et de migrer vers le GALT pour les présenter aux cellules du SI adaptatif. En fonction du contexte, les CD vont acquérir des co-signaux de stimulation et produire des cytokines qui vont orienter la réponse immunitaire adaptative (72). Cette interaction du SI vers le microbiote est illustrée par une étude ayant révélé que les souris immunodéficientes ont des microbiotes très différents des souris immunocompétentes, rappelant que l'immunité est capable de moduler le microbiote intestinal (73).

Les cellules immunitaires tout comme les CEI sont équipées, comme décrit plus haut, de nombreux **récepteurs PRR** reconnaissant des motifs bactériens variés et induisant une réponse cellulaire ou humorale. Les **TLR** jouent un rôle important dans la reconnaissance du microbiote et dans la perturbation de son écologie. Par exemple, la délétion de MyD88 dans les modèles murins, molécule adaptatrice dont la signalisation des TLR est dépendante, résulte en une réduction des espèces de *Lactobacillus* (74). Ils permettent de protéger l'épithélium intestinal contre les pathogènes en contrôlant par exemple l'expression de protéines cytoprotectrices telles que les heat-shock protéines (hsp) (53).

Les **NLR** sont également impliqués dans la régulation de la composition du microbiote. En effet, les souris déficientes pour NOD1 ou NOD2 présentent une altération de leur diversité microbiologique intestinale (75,76). En accord avec ces études, les patients atteints de maladie de Crohn pour lesquels des polymorphismes du gène NOD2 ont été constatés présentent une dysbiose du microbiote iléal indépendamment de leur statut inflammatoire (77).

Enfin, les mécanismes à l'œuvre dans la régulation de la composition du microbiote et le maintien de l'homéostasie intestinale impliquent la sécrétion de **PAM** (β -défensines) par les CEI et les cellules de Paneth, comme décrit plus haut. Ainsi, un dérèglement de cette sécrétion altère l'organisation spatiale du microbiote et induit une dysbiose : la délétion d'un PAM (Reg-III γ) chez la souris augmente la colonisation de la couche mucus iléal par des bactéries filamenteuses segmentées (BFS) (78,79).

➤ **Immunité adaptative :**

Les ILC influencent la composition du microbiote intestinal par leur localisation et leur fort potentiel de production de cytokines (80). L'inhibition de la production d'IFN- γ par les ILC-1 provoque une dysbiose avec une augmentation de *Helicobacter typhlonius* responsable de colite (81). Les ILC-3 sont la première source intestinale d'IL-22, une cytokine centrale pour la production de nombreuses protéines antimicrobiennes (80). Cette sécrétion d'IL-22 induit une modification des sucres à la surface des CEI (processus appelé **fucosylation**) qui sert de substrat énergétique pour certaines bactéries commensales considérées bénéfiques telles que *Bacteroides thetaiotomicron* et peut prévenir la colonisation par certains pathogènes (82).

Les souris dépourvues de lymphocytes T présentent une altération de leur microbiote (83). Les LTreg sont indispensables pour maintenir la diversité des clostridies dans l'intestin. Une sous-population de LT auxiliaires appelés T helper folliculaires est impliquée dans la régulation de la production des anticorps dans les centres germinatifs des plaques de Peyer et, par conséquent, dans la sélection de la composition du microbiote intestinal. En l'absence du récepteur inhibiteur PD1 de ces lymphocytes, les souris mutantes présentent une dysbiose avec une surreprésentation de *Prevotellaceae* dans le caecum due à une faible maturation de l'affinité de répertoire des IgA.

Les **IgA** sont, avec les IgM, les seuls isotypes d'anticorps produits dans l'intestin capables de traverser la barrière épithéliale et de se retrouver dans la lumière où ils se fixent sur les bactéries. C'est l'un des mécanismes de contrôle du microbiote. L'impact des IgA sur la composition microbienne a été démontré par l'utilisation de souris déficientes pour le gène AID qui présentent une expansion importante des BFS (83).

POINTS CLÉS

- **Le SI, par ses composantes innées et adaptatives, est capable de façonner le microbiote intestinal et rejoint les effets « barrière » indirects du microbiote via l'hôte (IgA, PAM, mucus, fucosylation).**
- **Lorsqu'il induit une réponse inflammatoire, le SI déséquilibre le rapport entre les saprophytes et les germes à potentiel pathogènes, créant une dysbiose intestinale.**
- **Ces résultats suggèrent que la dysbiose intestinale est une des conséquences de l'inflammation lorsque l'hôte est dans des conditions pro-inflammatoires.**

1.4.2 Régulation du système immunitaire par le microbiote intestinal

➤ **Interactions directes par contact membranaire :**

Il s'agit des contacts membranaires que peut établir le microbiote avec les cellules immunitaires pour le moduler. Ils reposent sur la **liaison entre les patterns de molécules associés aux pathogènes (PAMP) et les PRR tels que les TLR et NLR**.

Les **PAMP** sont les molécules activatrices produites par le microbiote. Relativement conservés et communs à de grandes classes de pathogènes, on pourra citer la flagelline, constituant des flagelles des bactéries. Ces composés sont capables de franchir le mucus et de diffuser jusqu'aux CEI et cellules M. Si les PRR lient leur PAMP, ils vont initier différents processus d'activation dans la cellule immunitaire innée, spécifiques du PAMP et donc de la classe de pathogène rencontrée. En effet, la présence d'une bactérie va activer les TLR senseurs de composés bactériens et la voie MyD88, stimulant les capacités de phagocytose, d'inflammation et de résistance à l'apoptose de la cellule immunitaire.

Par exemple, la liaison PAMP-TLR active les voies NF- κ B qui conduisent à l'activation des lymphocytes T et à la production de cytokines (84). Elle peut également induire la production de lectines de type C tandis que la stimulation de NOD2 dans les cellules de Paneth induit la production d' α -défensines (85,86).

Les **LPS** sont des composants importants de la membrane externe de toutes les bactéries Gram négatif. Le TLR4 est un ligand naturel des LPS et, dès qu'il s'y lie, toutes les cellules exprimant le TLR4 et les PRR sont activés, ce qui entraîne la sécrétion de cytokines inflammatoires et déclenche la réponse adaptative (87).

➤ **Interactions à distance via les métabolites bactériens :**

Tout d'abord, le microbiote est capable de moduler le SI digestif en interagissant avec lui directement de façon antigène-indépendante via la **sécrétion de métabolites**. Ceux-ci sont obtenus par la digestion ou transformation du bol alimentaire par les bactéries commensales, établissant un lien indirect entre alimentation et immunité.

Les produits résultats de la digestion des fibres par les bactéries commensales sont les **acides gras à chaîne courte**. Par conséquent, ces derniers reflètent à la fois l'alimentation et le microbiote. Parmi eux on retrouve le butyrate, le propionate et l'acétate. Le butyrate est le substrat métabolique principal et préféré des colonocytes fournissant au moins 60-70% de leurs besoins en énergie nécessaire à leur prolifération

et leur différenciation. Un taux élevé d'AGCC renforce la structure de la barrière intestinale, en augmentant l'expression des protéines des JS, ce qui réduit la réponse inflammatoire. En outre, il a été démontré *in vivo* et *in vitro* qu'un mélange d'espèces de *Clostridium*, une classe dominante de microbes commensaux, pouvait induire la différenciation de LTreg dans le côlon ascendant par l'intermédiaire du butyrate ; ces lymphocytes via la sécrétion d'IL-10 jouent un rôle anti-inflammatoire (88). Les AGCC ont également la fonction de produire du mucus et des IgA qui limitent le passage des pathogènes et l'inhibition de la voie NFκβ participant à une balance anti-inflammatoire (87,89). Pour expliquer cela, il faut savoir que les capacités des AGCC à moduler la réponse immunitaire sont médiées par trois mécanismes : l'inhibition de l'histone désacétylase, agissant directement sur l'expression des gènes des lymphocytes, l'activation des récepteurs aux métabolites couplés à la protéine G (GPCR) (entraînant l'inhibition de la voie NFκβ et du TNF-α (87,89) et l'induction de LBreg producteurs d'IL-10 (par modulation du métabolisme cellulaire de l'acétate) (90).

En outre, les **métabolites du tryptophane** (que l'on peut retrouver dans les oléagineux), générés par *Lactobacillus* par exemple, se lient au ligand récepteur aryl-hydrocarbure (AhR) (intitulé indole-3-aldéhyde) qui est une voie de signalisation aboutissant à la production d'IL-22 (91). Chez la souris, cette réponse permet la survie de multiples bactéries tout en offrant une résistance à la colonisation par *Candida albicans* et une protection muqueuse contre l'inflammation.

La **L-carnitine et la choline**, présentes dans la viande rouge, les œufs et les produits laitiers, sont métabolisées en triméthylamine (TMA) par une bactérie commensale, *Prevotella*, permettant leur dégradation en TMA-N-oxyde (TMAO). Il en résulte l'activation de l'inflammasome NLRP3, aboutissant à la production d'IL-18 par les cellules dendritiques et leur différenciation en Th17 et Th1, ce qui confère une protection contre les invasions de la muqueuse intestinale par des pathogènes (92–94).

Pour finir, la **métabolisation des acides biliaires** par le microbiote, via la liaison avec le ligand FXR, engendre une réponse anti-inflammatoire avec diminution de l'IL-1 et IL-6 et une augmentation de la sécrétion de PAM (95).

La modulation du SI par le microbiote peut, pour certaines, bactéries, être à la fois directe et indirecte : l'exemple le plus étudié étant la bactérie filamenteuse segmentée. Elle est capable de se fixer directement sur les CEI au sein du mucus de l'iléon et de favoriser l'induction des cellules immunitaires vers les voies Th17/Treg, mais par l'intermédiaire de sa liaison avec le TLR5 elle induit également la production d'une cytokine nommée APRIL par les CEI, aboutissant à une commutation de classe

isotypique dans les lymphocytes B de type IgM vers IgA2 (96,97). Ces éléments renforcent l'idée que le microbiote contribue, en stimulant la réponse immunitaire, à son propre contrôle en empêchant une trop forte expansion de la population bactérienne.

Il est intéressant de noter que les moyens de communication entre le microbiote et le SI qui viennent d'être décrits, notamment ceux impliquant la voie AhR, ont également **une action sur l'intégrité des JS** en modifiant l'expression de ses constituants. Cela suggère que l'interaction du microbiote avec les cellules de l'immunité est médiée, entre autres, **par la perméabilité intestinale**.

➤ **Interactions via la régulation de la perméabilité digestive :**

Les JS peuvent être altérées par plusieurs agents pathogènes. Ces effets peuvent résulter de modification directe des protéines de la JS telles que l'occludine, ou par différents effets médiés par des kinases sur l'anneau d'actomyosine qui leur est rattaché (19).

Le microbiote intestinal est également capable de moduler le SI en changeant son exposition et son accessibilité aux antigènes bactériens par **la modification de conformation et d'expression des JS** et donc de la perméabilité digestive. En effet, les métabolites sécrétés par *Bifidobacterium infantis* augmentent la sécrétion de ZO-1 et d'occludine, renforçant ainsi l'intégrité de la barrière intestinale (23). A l'inverse, certaines bactéries sont capables d'ouvrir les JS et ainsi augmenter la stimulation immunitaire au contact des antigènes bactériens (98). Le butyrate, qui pour rappel est un des produits de digestion des fibres par le microbiote intestinal, est capable d'induire une hypoxie dans la lumière colique car, comme dit plus haut, il est activement utilisé comme source d'énergie par les CEI, contribuant à l'établissement de conditions anaérobies dans le secteur endoluminal. Cela entraîne une régulation à la hausse de la claudine-1 et de l'occludine conférant ainsi une résistance à la rupture de la barrière et à la translocation bactérienne lors d'une infection par *Clostridium difficile* (99).

POINTS CLÉS

- **Le microbiote intestinal façonne le système immunitaire en :**
- interagissant directement avec lui par contact membranaire via la liaison entre les PAMP et les PRR et à distance via la sécrétion de métabolites, notamment obtenus par digestion du bol alimentaire ;

- modulant l'exposition du SI aux antigènes bactériens par la perméabilité intestinale via la modification de structure et d'expression des jonctions serrées.

1.5 Tolérance versus réponse inflammatoire envers le microbiote intestinal en conditions physiologiques

La présence de nombreux composés antigéniques au niveau de la lumière et de la barrière intestinale peut conduire à une réponse immunitaire de la part du SI digestif dans le but d'éliminer certains pathogènes et de restaurer l'intégrité de la barrière. Cependant, une telle réponse inflammatoire délétère contre eux n'est pas systématique. En conditions physiologiques, la localisation et le niveau d'expression des TLR et des molécules activatrices (sCD14, LBP) sont hautement régulés, protégeant l'organisme de réponses immunitaires inappropriées dans un milieu riche en stimuli bactériens. La stratégie de colonisation des bactéries commensales et pathogènes étant différente (symbiose versus parasitisme), chaque population bactérienne possède des caractéristiques génomiques propres qui aident l'hôte à les distinguer.

La détection de composés microbiens par les CEI et des cellules du SI inné entraîne la production de facteurs pro-inflammatoires pour induire une production de mucus, de JS et de PAM renforçant la barrière. En même temps, ces cellules vont favoriser l'induction de réponses Th17, produisant de l'IL-17 et IL-22 et entraînant une commutation de classe des plasmocytes vers une production d'IgA sécrétés dans la lumière intestinale (100).

Simultanément, les CEI et les CD vont produire des facteurs immunomodulateurs (APRIL, BAFF, IL-10, TGF- β) pour maintenir une tolérance envers les antigènes. Dans un contexte non inflammatoire, en l'absence de rupture de la barrière intestinale, les CD activées vont acquérir **un profil dit « tolérogène »** (44,56) et inhiber localement les réactions inflammatoires aiguës en limitant aux compartiments muqueux les lymphocytes de type T et B spécifiques des germes commensaux (59). En effet, lors de leur migration vers le GALT, les CD tolérogènes induisent soit l'anergie des lymphocytes T auxiliaires qui reconnaissent les antigènes qu'elles leur présentent, soit leur maturation en LTreg (44,101). Les LTreg sont centraux dans le maintien de la tolérance immunitaire envers le microbiote et le bol alimentaire en produisant notamment l'IL10 et le TGF β , cytokines anti-inflammatoires et en induisant l'apoptose des lymphocytes T conventionnels (101).

Une seconde stratégie pour solliciter la tolérance de l'hôte est la régulation de la voie NFκB par les bactéries commensales (102). Par exemple, le polysaccharide A de *Bacteroides fragilis* offre un moyen à cette bactérie commensale d'être tolérée en favorisant une activité anti-inflammatoire bénéfique pour l'hôte via TLR2 qui préserve la forme inactive de NFκB (103).

En revanche, la présence de pathogènes invasifs au contact des CEI ou d'une brèche va entraîner un déséquilibre avec une production majeure de facteurs pro-inflammatoires. La réponse lymphocytaire Th17/Treg dominante se réoriente vers une réponse Th1 ou Th2 pro-inflammatoire avec recrutement de macrophages, lymphocytes T cytotoxiques et de plasmocytes sécrétant des immunoglobulines spécifiques du pathogène afin de restaurer l'intégrité de la barrière.

Le SI intestinal contient et restreint le microbiote à la lumière du tube digestif. La tolérance immunitaire est donc relative : tout dommage ou franchissement de la barrière intestinale entraîne une rupture de tolérance temporaire ciblant non seulement les pathogènes mais également le microbiote de manière générale. Si cette rupture est prolongée, cela peut avoir des conséquences délétères majeures pour le système entérique.

POINTS CLÉS

- **La présence du microbiote digestif, sa très grande diversité d'espèces bactériennes et virales, ainsi que les aliments ingérés entraînent une présence importante de molécules capables d'activer le SI intestinal et d'induire des réponses immunitaires contre elles.**
- **Le principal défi de la barrière intestinale est de conserver l'équilibre entre la tolérance versus l'élimination des antigènes bactériens et alimentaires.**
- **En situation d'équilibre, c'est-à-dire non pathologique, le microbiote intestinal vit en symbiose avec l'hôte ce qui confère le maintien de l'intégrité de la barrière. Cela est notamment médié par les LTreg.**
- **En cas de brèche, la réponse immunitaire est orientée vers la production de médiateurs pro-inflammatoires. Cet état inflammatoire digestif pourrait amener à un défaut de régulation des lymphocytes auto-réactifs, socle de toute maladie auto-immune.**

1.6 Rupture d'intégrité de la barrière intestinale et ses implications dans la polyarthrite rhumatoïde

Si les liens entre microbiote et immunité intestinale sont de mieux en mieux décrits, l'impact de nos bactéries sur le reste du SI a été moins exploré.

Les prédispositions génétiques, les infections et les antibiotiques, l'alimentation, le mode de vie et d'autres facteurs environnementaux sont autant de facteurs susceptibles d'entraîner un déséquilibre réversible du microbiote intestinal et une inflammation transitoire de bas grade. Ce déséquilibre est appelé **dysbiose**. Elle est caractérisée à la fois par un microbiote de faible richesse et biodiversité, une perte de saprophytes (tels que *Lactobacillus* et *Bacteroides fragilis*) et une augmentation des germes à potentiel pathogène (essentiellement des microbes Gram-négatifs pro-inflammatoires) (104).

En situation dysbiotique, le microbiote intestinal perd sa fonction de barrière envers les pathogènes. L'adhésion d'un germe à potentiel pathogène à l'épithélium intestinal peut déclencher une séquence de réponses inflammatoires notamment en activant la transduction du signal via les TLR et la zonuline, ce qui entraîne la perte de l'intégrité des JS et donc une perméabilité intestinale augmentée. Cela engendre une hausse de l'exposition aux antigènes microbiens transloqués à l'hôte, activant ainsi les cellules immunitaires qui résident dans la lamina propria. Il s'en suit une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires qui recrutent encore plus de cellules immunitaires localement et qui initient leur sortie hors de la lamina propria vers des tissus situés plus à distance, provoquant ainsi une inflammation systémique (105). Tous les ingrédients d'un cercle vicieux sont donc réunis : un tel dysfonctionnement chronique de la barrière pérennise la réponse inflammatoire qui endommage davantage les JS et induit également l'apoptose de l'épithélium par des cytokines pro-inflammatoires (99). Le système immunitaire, dépassé par l'afflux constant d'antigènes bactériens, serait à l'origine d'une rupture des phénomènes de tolérance, et finalement, de l'expression de maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes, **hypothèse supportant l'existence d'un axe intestin-articulation (Figure 3)**.

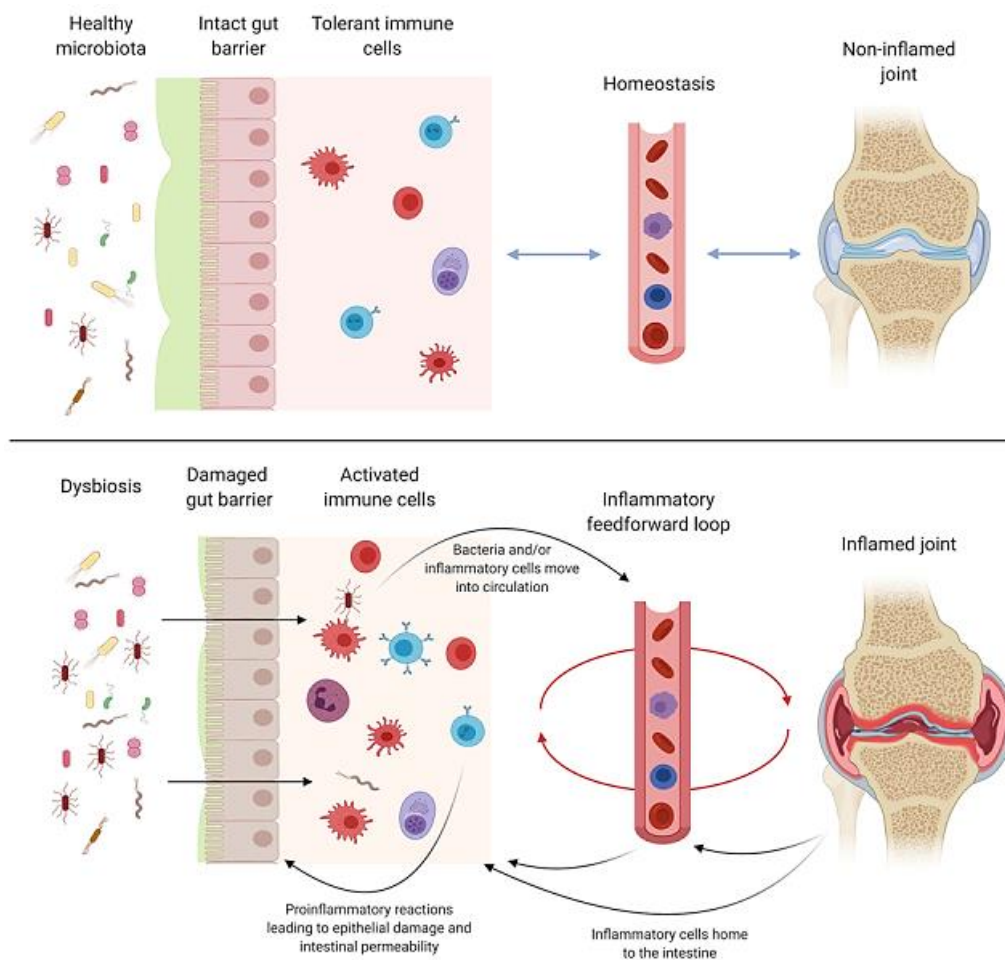


Figure 3. Physiopathologie hypothétique d'un axe intestin-articulation dans la PR (106).

- **Quels sont les mécanismes soutenant que la dysbiose intestinale puisse être un facteur de risque de survenue d'une maladie auto-immune, notamment la polyarthrite rhumatoïde ?**
- **L'altération de la perméabilité intestinale serait-elle le chaînon manquant entre dysbiose et inflammation au cours de la polyarthrite rhumatoïde ?**

1.6.1 Altération de la barrière intestinale dans la polyarthrite rhumatoïde et d'autres maladies auto-immunes

Au cours des dernières années, l'implication de la dysbiose intestinale dans la pathogenèse des maladies auto-immunes a été mis en évidence. Tout d'abord, cela a été observé dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (107). Par exemple, dans le côlon des patients atteints de **maladie de Crohn**, une dysbiose est souvent détectée avec l'augmentation ou la diminution de certaines bactéries (108). La dysbiose est également impliquée dans la pathogenèse du **diabète de type 1 (DT1)**. Les

échantillons fécaux des patients affectés par un DT1 sont moins abondants en bactéries que les individus sains, en particulier, les Gram-positifs produisant du butyrate (109). Plusieurs autres maladies ont été corrélées à des dysbioses, notamment les **maladies atopiques, l'obésité, le cancer** et très récemment les **neuropathologies**. Certaines de ces pathologies sont associées à une altération de la fonction de barrière et à une perméabilité accrue de l'épithélium (19).

Les MICI ont également permis d'attester de l'existence d'une hyperperméabilité intestinale via la perte de l'intégrité des JS (19). Des études menées chez des patients atteints de la maladie de Crohn ont révélé une désorganisation des JS dans les biopsies du côlon sigmoïde, accompagnée d'une réduction de l'expression des claudine-3, 5 et 8 et de l'occludine, ainsi que d'une redistribution des claudine-5 et 8 en dehors des JS, le tout marqué par une augmentation de marqueurs sériques de perméabilité intestinale (110). De tels changements ont été observés dans la **rectocolite hémorragique** (RCH), comprenant une régulation négative de la claudine-1 et -4 et de l'occludine, mais aussi une régulation positive de la claudine-2, qui forme des pores (111). Par ailleurs, la dégradation de la barrière intestinale en réponse à l'augmentation des taux sériques de zonuline a été observé dans une variété de MAI et de RIC, notamment le DT1, la sclérose en plaques, le lupus érythémateux systémique, la sclérodermie systémique, le syndrome de Sjogren primitif et la spondylarthrite ankylosante (SpA) (112–114).

Une vague d'études métagénomiques sur la caractérisation du microbiote intestinal dans la PR a démontré l'existence d'une dysbiose : la plupart des patients présentent des altérations microbiennes, telles qu'une perte de diversité, un profil fonctionnel altéré ou une prolifération de bactéries spécifiques, principalement au niveau des genres et des espèces (7).

Une bactérie du microbiote intestinal pourrait être impliquée dans la physiopathologie de la PR : il s'agit de ***Prevotella copri***. En effet, une étude ayant comparé les selles de patients PR avec des contrôles a montré que sa présence est fortement corrélée à la maladie chez les patients ayant une PR nouvellement diagnostiquée et non traitée (115). L'augmentation de l'abondance de *Prevotella* est corrélée à une réduction des *Bacteroides* et à une perte d'autres microbes bénéfiques chez ces patients-là. *P. copri* est également significativement augmentée dans les échantillons fécaux prélevés chez les pré-PR (ACPA et/ou FR positifs associé ou non à des arthralgies) comparé aux contrôles (116). Il a été montré qu'une réponse immunitaire est dirigée contre cette bactérie dans la PR avec la présence d'anticorps IgA et IgG anti-

P. copri dans la PR récente et établie, ce qui n'est pas observé dans la SpA, la maladie de Lyme ou les sujets sains (116). Leurs taux étaient corrélés avec le taux d'ACPA et la présence d'ADN de *Prevotella* dans les échantillons de liquide synovial (117). De plus, chez la souris, *P. copri* domine la flore et entraîne une sensibilité accrue à la colite induite chimiquement (115). Ces travaux identifient un rôle causal potentiel pour *P. copri* dans la pathogenèse de la PR médiée par l'altération de la barrière intestinale. Néanmoins, le terrain génétique de la PR entraîne à lui seul l'augmentation en nombre de cette bactérie, soutenant le fait que tout interagit et que le microbiote puisse alors n'être qu'un simple facteur confondant (116).

On sait que la parodontite est un des facteurs de risque avéré de la PR. *Porphyromonas gingivalis* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) sont les deux principales espèces microbiennes impliquées dans la parodontite (21,118). Cette dernière caractérise une dysbiose du microbiote oral et également maladie courante dans la population adulte (119,120).

Les patients atteints de PR présentent plus de parodontite que les sujets sains (121) et des antécédents de parodontite sont associés de façon significative à la survenue d'une PR avec un Odds ratio (OR) de 1,16 (IC à 95% : 1,13-1,21) (122). Une méta-analyse de 2018 a démontré que le taux d'anticorps sériques anti-*P. gingivalis* étaient significativement plus élevés chez les patients PR et également positivement corrélés avec la présence d'ACPA, suggérant que la dysbiose du microbiote oral est en cause dans l'apparition de la PR (123).

POINTS CLÉS

- **Malgré la description de l'impact de la perturbation de la barrière intestinale sur de nombreuses pathologies, il existe peu de données expliquant un éventuel impact d'une hyperperméabilité intestinale sur l'initiation et la progression de la PR. Surtout, si une riche littérature fait état de l'existence d'une dysbiose dans ce rhumatisme, on ignore encore actuellement si le déséquilibre du microbiote intestinal et la perturbation de la perméabilité sont soit des facteurs de risque de sa survenue et/ou la conséquence d'un état inflammatoire chronique et/ou le simple reflet de facteurs confondants (environnementaux et génétiques).**

- Parmi les facteurs de risque environnementaux de survenue de la PR, deux germes semblent être fortement impliqués : *Prevotella copri* et *Porphyromonas gingivalis*, qui entraînent respectivement une dysbiose intestinale et orale (parodontite), suggérant que le microbiote intestinal soit un facteur causal.
- De fait, comment la dysbiose intestinale pourrait-elle contribuer à la perte de la tolérance immunitaire, soutenir l'inflammation et favoriser in fine la survenue de la PR ?

1.6.2 Implications des mécanismes moléculaires utilisés par les antigènes bactériens dans l'induction d'auto-anticorps

La rupture de l'épithélium peut entraîner une exposition pathologique du sous-épithélium immunoréactif à des antigènes étrangers présents dans la lumière digestive (59). Cette perte d'intégrité favorise la translocation antigénique vers la circulation systémique et ces antigènes peuvent provoquer une auto-immunité par plusieurs mécanismes moléculaires : directement par translocation microbienne, ou indirectement par modification d'auto-antigènes par citrullination, mimétisme moléculaire, induction de réponses inflammatoires, augmentation de la perméabilité intestinale, propagation d'épitopes, activation « bystander » et glycosylation des ACPA (**Figure 4**).

➤ Modification post-traductionnelle de protéines du soi (**Figure 4a**) :

Il s'agit d'un processus clé de la pathogenèse de la PR en particulier la citrullination (la conversion de l'arginine en citrulline sur une chaîne peptidique). La production d'ACPA peut se produire à des stades précliniqués chez un sous-ensemble de patients (2). Cette modification est médiée par les peptidylarginine-déiminases (PAD) au cours de processus physiologiques tels que la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'expression génétique et au cours de la NETose (124). Toutefois, dans certaines circonstances, une augmentation de la citrullination ou « **hypercitrullination** » des protéines peut se produire et favoriser la production d'ACPA en générant de multiples néo-épitopes pour lesquels la tolérance des lymphocytes T et B n'est pas garantie (124,125).

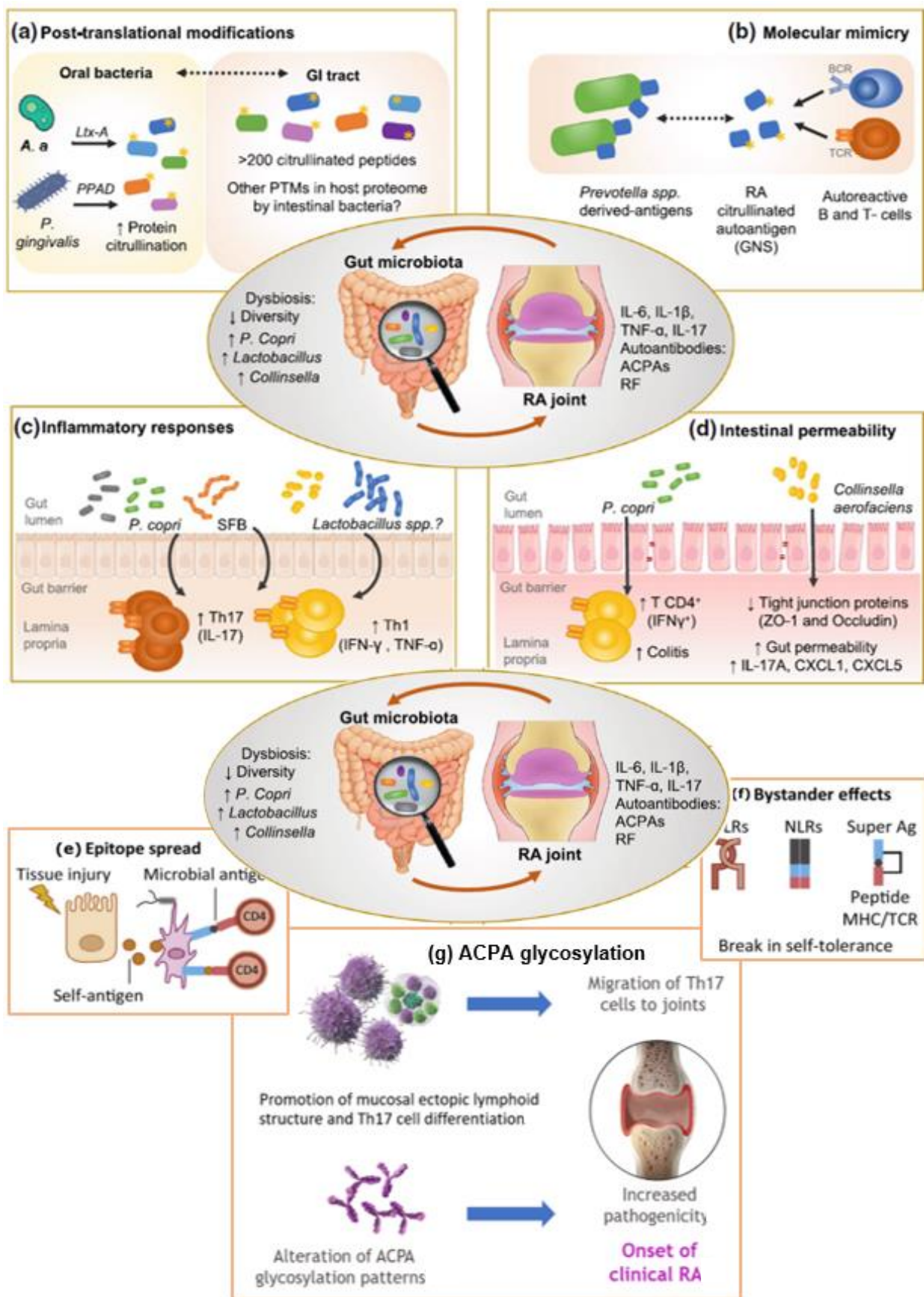


Figure 4. Mécanismes moléculaires par lesquels la dysbiose intestinale contribue à l'étiopathogénie de la polyarthrite rhumatoïde (7).

L'hypercitrullination des protéines peut survenir par une suractivation des enzymes PAD, et ces processus sont stimulés notamment par certaines bactéries digestives notamment présentes dans la cavité buccale. En effet, dans la cavité buccale, deux bactéries favorisant la citrullination ont été identifiées, précédemment citées : *P. gingivalis* et *Aa*. La première exprime une enzyme procaryote ayant une fonction catalytique similaire à celle des PAD humaines, appelée *Porphyromonas*-PAD ou **PPAD**, qui est capable de citrulliner des antigènes microbiens et de l'hôte, notamment le fibrinogène et l' α -énolase (tous deux fréquemment ciblés par les PAD) (126). Il a été émise l'hypothèse selon laquelle la citrullination des protéines par les PPAD pourrait provoquer une réponse immunitaire qui présente une réaction croisée avec des auto-peptides, conduisant à une perte de tolérance immunitaire et à la production d'ACPA (127). Ce mécanisme de mimétisme soutient le fait qu'une dysbiose du microbiote oral serait à l'origine d'une auto-immunité. Outre l'activité de citrullination de *P. gingivalis* et *Aa*, l'association entre PR et parodontite est également supportée par la sécrétion de leucotoxine A (LtxA) par *Aa*. En effet, cette bactérie Gram-négative engendre une hypercitrullination des protéines de l'hôte par la production de la LtxA, une toxine bactérienne ayant un potentiel pouvoir de virulence, qui forme des pores sur la membrane des neutrophiles et une entrée de calcium intracellulaire. Il s'en suit une suractivation calcium-dépendante des enzymes PAD intracellulaires puis une lyse des neutrophiles qui libère les peptides citrullinés (128). Le citrullinome résultant des peptides citrullinés libérés lors de la lyse se recoupe avec le spectre des protéines citrullinées trouvées dans les articulations de patients ayant une PR et avec les auto-antigènes connus de la PR (124,128). Ce lien de causalité est étayé par l'association significative des anticorps anti-LtxA à la fois aux ACPA et à la positivité du FR chez les patients atteints de PR en comparaison aux sujets sains.

Dans une étude récente, plus de 200 peptides citrullinés ont été identifiés dans les biopsies du côlon de patients atteints de PR et de sujets sains (129). Bien que cela implique que la citrullination des protéines soit un phénomène général dans le tractus gastro-intestinal, il est possible que la citrullination dans l'intestin favorise la perte de tolérance et le développement de la PR chez les individus génétiquement prédisposés, tandis que chez ceux qui sont déjà atteints de PR elle puisse favoriser la sévérité de la maladie en amplifiant la production d'ACPA au niveau de l'intestin. Dans ce contexte, des hypothèses émises récemment soulignent que les ACPA sont générés dans les muqueuses aux stades précoces de la maladie (125), en se fondant sur plusieurs résultats tels qu'une fréquence plus élevée de plasmoblastes circulants et d'IgA ACPA chez les sujets à risque de développer une PR par rapport aux témoins (130).

Les mécanismes d'entrée de l'ADN bactérien dans les articulations ne sont pas encore clairs. Les voies membranolytiques à médiation immunitaire, telles que la perforine et le complexe d'attaque membranaire, entretiennent probablement l'hypercitrullination dans l'articulation rhumatoïde. Le grand nombre de neutrophiles mourants dans le compartiment articulaire de la PR maintient probablement une libération constante de PAD agissant sur la citrullination extracellulaire. La présence d'anticorps anti-PAD peut favoriser la citrullination extracellulaire avant que les PAD ne soient inactivées par l'oxydation. Ensemble, les protéines citrullinées provenant de sources intra et extracellulaires constituent le citrullinome de la PR.

➤ Le mimétisme moléculaire (Figure 4b) :

Il traduit le fait que les protéines microbiennes imitent les protéines du soi présentant une **homologie de séquence**, appelée épitope partagé. Les CPA vont par la suite les présenter aux lymphocytes T, entraînant leur activation et celle des lymphocytes B. In fine, cela aboutit à la production d'auto-anticorps via une réactivité croisée entre les antigènes du soi et microbiens structurellement similaires (131,132).

Pour expliquer cela, les épitopes appartenant à *Prevotella spp.* présentent un mimétisme moléculaire avec des auto-antigènes citrullinés retrouvés à des taux élevés dans les articulations de la PR (N-acétylglucosamine-6-sulfatase ou **GNS** et la filamine A ou **FLNA**), établissant un lien entre la réponse immunitaire siégeant au sein de la muqueuse intestinale et des articulations (7). Dans une étude de 2017, GNS et FLNA ont été identifiés dans un large sous-groupe de patients atteints de PR comme possédant une haute homologie de séquence avec des molécules produites par *P. copri* dans l'intestin, faisant d'eux de potentiels auto-antigènes (117). Or, il a été constaté que les molécules HLA-DR encodées par les allèles de l'épitope partagé (HLA-DRB1*0401) sont capables de se lier fortement à ces peptides du soi et/ou microbiens, entraînant l'activation de lymphocytes T et B ; et ces liaisons étaient plus fréquentes chez les patients PR porteurs de ces allèles (7). Ainsi, l'homologie de séquence entre les épitopes des deux autoantigènes et de *P. copri* pourrait supporter un lien entre l'immunité de la muqueuse intestinale et celle des articulations dans la PR. Il est supposé que les lymphocytes T, en particulier ceux des patients porteurs des allèles HLA-DR de l'épitope partagé, sont activés par mimétisme moléculaire au niveau de la muqueuse intestinale après reconnaissance des épitopes dérivés de *P. copri* et peuvent ensuite migrer vers des articulations enflammées, où l'expression d'auto-antigènes similaires est élevée. Ils peuvent ainsi développer une réaction immunitaire croisée avec leurs propres épitopes.

➤ Induction de réponses inflammatoires (Figure 4c) :

L'un des mécanismes par lesquels le microbiote intestinal peut contribuer à la survenue de la PR est l'induction de réponses immunitaires pro-inflammatoires telles que **Th17 et Th1** (132,133). Des souris SKG dépourvues de germes (un modèle génétique d'arthrite auto-immune) auxquelles on a inoculé des échantillons de selles enrichis en *P. copri* issus de patients atteints de PR ont montré un taux élevé de lymphocytes Th17 au niveau intestinal et ont développé une arthrite sévère (133). Chez les patients atteints de PR récente, les peptides dérivés de *P. copri* liés aux molécules HLA-DR ont induit des réponses inflammatoires de type Th1. Des anticorps anti-*P.copri* ont été détectés chez des patients atteints de PR récente et établie et leurs taux sont corrélés avec la sécrétion de cytokines Th17 (132).

Par ailleurs, un déséquilibre de l'écologie microbienne intestinale, dans laquelle les BFS seraient prédominantes, peut entraîner une réduction des proportions ou des fonctions des cellules T régulatrices anti-inflammatoires (LTreg et LBreg) et une prédisposition à l'auto-immunité. Cela semble affecter non seulement la réponse immunitaire locale, mais aussi les processus inflammatoires systémiques, et pourrait expliquer, au moins en partie, la réduction de la fonction des cellules Treg chez les patients atteints de PR (134).

L'étude de Wu et al. a montré que l'introduction d'une seule espèce commensale de l'intestin (une BFS), chez des souris germ-free rétablit la proportion de cellules Th17 dans la lamina propria et la production d'auto-anticorps, et l'arthrite s'est rapidement manifestée (135). Ces résultats suggèrent qu'un germe commensal, par sa capacité à promouvoir un sous-ensemble spécifique de lymphocytes T auxiliaires, peut entraîner une MAI, notamment la PR, où comme nous l'avons vu il existe un déficit en LTreg et une augmentation des Th17.

➤ Modulation de la perméabilité intestinale (Figure 4d) :

Dans un modèle murin d'arthrite induite par le collagène (CIA), le traitement avec *Collinsella aerofaciens* (qui est abondante chez certains patients atteints de PR) a augmenté l'incidence et la gravité de l'arthrite (136). *C. aerofaciens* augmente en effet la perméabilité intestinale en réduisant l'expression des protéines de la JS (ZO-1 et occludine) tout en augmentant l'expression de marqueurs pro-inflammatoires (telles IL-17, NF-κB1).

De la même manière, les souris C57BL/6 traitées oralement par *P. copri* ont présenté un nombre accru de lymphocytes T CD4+ (sécrétant de l'IFN γ) et ont développé une colite sévère (115).

➤ L'épitope spreading (Figure 4e) :

Elle se produit au cours d'une réponse immunitaire aux antigènes microbiens qui entraîne la destruction et l'apoptose des tissus, la libération d'auto-antigènes et la présentation concomitante d'auto-antigènes et d'antigènes microbiens. Cela génère une rupture de la tolérance à de multiples auto-antigènes qui se propage d'épitope en épitope (59).

➤ L'activation « bystander » (Figure 4f) :

Elle fait référence à la présentation concomitante d'un antigène du soi et d'un antigène microbien aux cellules T spécifiques de l'antigène au cours d'une lésion tissulaire, avec déclenchement de TLR et NLR, qui passent outre les signaux tolérogènes (59).

➤ Le microbiote intestinal promeut le développement et de la migration des cellules Th17 et soutient la glycosylation de l'ACPA (Figure 4g) :

L'inflammation déclenchée par la dysbiose peut conduire au développement de tissus lymphoïdes ectopiques, peut-être en partie par le biais de la signalisation IL-17 (137). *Prevotella sp* entraîne des différenciations Th1 et Th17 via les cellules dendritiques, augmente la production d'IL-6 et d'IL-23 et réduit la présence de LTreg pour intensifier l'inflammation (138). *P. gingivalis* orale peut également faire basculer la conversion des LTreg en Th17 par l'activité enzymatique des gingipaïnes, un facteur de virulence clé.

Une étude menée sur des modèles de souris CIA a révélé que les lymphocytes T CD4+ produits dans l'intestin grêle étaient capables de migrer vers les ganglions lymphatiques, la rate et, surtout, le tissu synovial de l'articulation, au 26^{ème} jour après l'immunisation, ce qui indique que l'intestin est une source de cellules immunitaires pour l'auto-immunité articulaire (71).

De plus, l'activation de l'axe IL-23/22/17 module le profil de glycosylation des ACPA, les rendant plus pathogènes (138). Dans les modèles de souris CIA, l'appauvrissement du microbiote intestinal après l'induction de l'arthrite a réduit la sévérité de la maladie, les taux de cytokines et la pathogénicité des ACPA par un changement

dans le profil de glycosylation, mais n'a que peu réduit les taux d'ACPA. Au contraire, une déplétion précoce du microbiote, avant l'induction de l'arthrite, était associée à une réduction significative des taux sériques d'ACPA et à une réduction de la sévérité de l'arthrite. Ces effets étaient également associés à une réduction de la production intestinale d'IL-22 et d'IL-17A. Par conséquent, l'activation de l'axe IL-23/22/17 médiée par la dysbiose intestinale peut intervenir à deux moments différents de la pathogenèse de la maladie : après l'induction d'une réponse systémique anti-citrullinée, augmentant la pathogénicité de l'ACPA par des changements dans les profils de glycosylation, et avant la production d'ACPA, augmentant la tendance à produire des auto-anticorps. En effet, ce dernier effet peut être expliqué par l'existence d'un dialogue intestin-poumon, dans laquelle la dysbiose intestinale contribue au développement de l'inflammation et de l'auto-immunité au niveau du poumon (139). Au niveau de l'intestin, les BFS augmentent la polarisation vers les Th17, qui peuvent migrer vers le poumon, induisant la formation de tissus lymphoïdes induits associés aux bronches (iBALT) et la production d'auto-anticorps dans la phase pré-arthritique. De plus, les BFS développent sélectivement les cellules Th17 auto-réactives, co-exprimant des récepteurs de cellules T (TCR) spécifiques des BFS en plus de leurs TCR auto-réactifs, augmentant encore le processus auto-immun. Ces résultats montrent comment les perturbations du microbiote intestinal peuvent favoriser le développement d'une réponse humorale auto-immune dans des sites éloignés et peuvent représenter le deuxième coup dans la transition vers une PR cliniquement manifeste.

POINTS CLÉS

- **Les antigènes bactériens peuvent provoquer une auto-immunité par plusieurs mécanismes moléculaires : directement par translocation microbienne, ou indirectement par citrullination d'auto-antigènes (*P. gingivalis*), mimétisme moléculaire de l'épitope partagé (*P. copri*), induction de réponses inflammatoires Th1 et Th17 (*P. copri*), augmentation de la perméabilité intestinale (*Collinsella*, *P.copri*), propagation d'épitopes, activation «bystander» et glycosylation des ACPA par activation des Th17 (BFS).**

1.6.3 Preuves soutenant le rôle causal du microbiote intestinal dans la pathogénèse de la polyarthrite rhumatoïde

Des facteurs génétiques et environnementaux sont à même d'influer sur le microbiote intestinal tout comme sur la PR (36).

➤ **Dès lors, comment déterminer le rôle causal du microbiote intestinal dans le risque de survenue de la PR ?**

➤ Modèles animaux supportant un rôle causal du microbiote :

L'apparition et la sévérité des arthrites sont influencées par le statut du microbiote intestinal conventionnel (usuel), stérile ou contrôlé sur plusieurs modèles animaux. En effet, des études menées sur des modèles murins de PR, des modèles de souris knockout pour l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 et des modèles de souris K/BxN, ont montré que le microbiote intestinal était nécessaire au développement de l'arthrite car les souris élevées sans germe ne développent pas d'arthrite (135,140). Par exemple, les souris axéniques développent moins d'arthrite par un défaut de production d'IL-17 et une augmentation des LTreg. Wu et al. ont démontré que l'arthrite était fortement atténuée dans le modèle de souris germ-free K/BxN, accompagnée d'une diminution de la population de lymphocytes Th17 spléniques et, par la suite, d'une réduction de l'IL-17A, IL-21 et IL-22 (135). Jubair et al. ont quant à eux montré que la modulation du microbiote par le biais des antibiotiques réduisait la sévérité des CIA, en particulier après l'induction d'une auto-immunité (141).

Des études interventionnelles chez la souris ont montré que l'administration de certaines bactéries pouvait induire la production d'ACPA et des arthrites.

En effet, Courbon et al. ont montré que l'induction d'une maladie parodontale par l'administration orale de *P. gingivalis* durant un mois chez des rats Lewis crée une dysbiose de la cavité buccale, entraîne la production d'ACPA et des signes d'inflammation articulaire tels qu'une augmentation des ostéoclastes, gonflement et érosions des chevilles confirmés par micro-scanner (142). Marietta et al. ont montré que des souris traitées par une bactérie commensale, *Prevotella histicola*, ont présenté une incidence et une gravité de l'arthrite significativement réduites par rapport aux témoins sains (143). La modulation de l'arthrite par le microbiote passait par la génération de lymphocytes T CD4+ dans l'intestin, entraînant la suppression de la réponse Th17

spécifique de l'antigène et l'augmentation de la transcription de l'IL-10, cytokine anti-inflammatoire. De plus, le traitement avec *P. histicola* a conduit à une réduction de la perméabilité intestinale en augmentant l'expression des enzymes qui produisent des PAM ainsi que des protéines des JS (ZO-1 et occludine).

Par ailleurs, certains micro-organismes dans l'intestin sont plus ou moins arthritogéniques ou protecteurs (87,144). Certaines études ont rapporté l'implication de la présence et l'absence de certaines populations de bactéries intestinales dans l'induction de l'arthrite. Par exemple, Maeda et al. ont rapporté que *P. copri* induit le développement de l'arthrite chez des souris génétiquement sensibles (133). Une autre étude a démontré que chez les souris ayant reçu *Prevotella intestinalis* (par gavage oral avant l'induction de l'arthrite) l'arthrite s'est développée de manière significative par rapport au groupe témoin ayant un microbiote conventionnel (145). De façon intéressante, l'introduction de BFS chez des souris germ free K/BxN active les cellules immunitaires de la lamina propria productrices de Th17 qui migrent hors de l'intestin et produisent de l'IL-17, favorisant la différenciation des cellules B en cellules productrices d'anticorps et le développement d'arthrites (115).

Concernant le microbiote oral, celui-ci peut également induire une auto-immunité. Lorsque *P. gingivalis* est administrée oralement à des modèles murins d'arthrite, elle augmente la perméabilité intestinale et induit des changements significatifs dans la composition et la diversité du microbiote intestinal (118,146).

Ces résultats sont en faveur d'une relation causale entre dysbiose orale et développement de la PR. Cependant, si l'introduction d'espèces bactériennes intestinales spécifiques est suffisante pour induire une inflammation articulaire, à ce jour aucune bactérie particulière n'a été identifiée comme directement causale de la PR. Dans l'ensemble, ces études suggèrent un lien entre un certain microbiote et l'arthrite, la présence et l'absence de certaines populations bactériennes semblant être un facteur clé dans l'induction de l'arthrite.

➤ Modulation de la perméabilité intestinale dans la PR :

A l'heure actuelle, on dispose de très peu d'études ayant enquêté sur la perméabilité intestinale dans la PR. Une revue systématique de la littérature parue en 2021 regroupe l'ensemble des données disponibles à ce sujet, extraites à partir de 11 études concernant exclusivement la PR et de 3 concernant à la fois la PR et la SpA (20). L'analyse n'a pas permis de conclure à la présence ou non d'une perméabilité accrue en raison de la discordance des résultats. En effet, alors que les plus anciennes études

suggéraient l'absence de perturbation de la perméabilité intestinale, les rapports récents utilisant des méthodes de pointe par rapport aux études antérieures ont identifié une perméabilité intestinale accrue. Par ailleurs, aucune corrélation n'a été trouvée entre les taux de zonuline et la CRP ou la VS (71) bien que deux études aient montré une augmentation significative de la perméabilité intestinale dans la PR active par rapport aux patients en rémission (147,148). De même, la durée de la progression de la maladie n'était pas associée à une augmentation de la perméabilité intestinale chez les patients atteints de PR (148).

Une seule étude a examiné les JS par analyse anatomopathologique dans la muqueuse iléale de patients atteints de PR (71). En effet, les patients souffrant d'une PR récente ou établie ont révélé avoir une plus faible expression des protéines occludine et claudine-1 dans les CEI que les témoins sains. Ils ont constaté que la zonuline est le régulateur principal des JS intestinales et de la fonction de barrière intestinale, son taux était élevée chez les souris CIA et les patients à risque avant l'apparition des symptômes cliniques (ACPA et/ou FR positifs). En l'occurrence, cette étude a montré que la perte de l'intégrité de la barrière intestinale et la dysbiose survenait **avant** l'apparition de la maladie et persistait après sa survenue via des taux augmentés de zonuline sérique, traduisant indirectement une hyperperméabilité intestinale.

Par ailleurs, les auteurs ont évalué l'efficacité de deux interventions sur le rétablissement de l'intégrité de la barrière intestinale, qui pourrait perturber le passage de l'auto-immunité à l'inflammation et ainsi inhiber l'apparition de l'arthrite, se basant sur l'hypothèse d'un axe intestin-articulation. Ainsi, cette étude a montré des résultats tout à fait intéressant chez des souris avec CIA, précisant notamment les liens entre la perméabilité intestinale, les AGCC et la PR. En effet, ces souris ont été supplémentées tout au long de l'expérience par du butyrate et les résultats ont montré une diminution significative de la perméabilité intestinale **avant** l'apparition de l'arthrite, et cela a inhibé l'apparition de la CIA. En outre, les auteurs ont analysé l'effet d'un traitement à court terme par larazotide, un antagoniste de la zonuline, durant la phase pré-clinique de l'arthrite. Les souris ont été traitées après l'immunisation et peu avant l'apparition de l'arthrite. Les résultats objectivent une diminution des marqueurs de perméabilité intestinale (dont la zonuline sérique) et l'atténuation des signes cliniques de l'arthrite, montrant l'efficacité de cet antagoniste.

Ces données soutiennent l'existence d'un axe intestin-articulation dans la PR, basé sur une barrière intestinale régulée par la zonuline. Il s'agit là de la première étude à avoir montré que la modulation de la barrière intestinale pourrait

constituer une stratégie potentielle pour prévenir l'apparition de la PR. Jusqu'ici, aucune étude n'avait porté sur l'analyse de biopsies du côlon dans la PR.

➤ Des greffes de microbiote intestinal provenant de patients atteints de PR reproduisent les phénotypes arthritiques chez la souris :

La transplantation de microbiote fécal (TMF) est, en thérapeutique, le transfert de bactéries fécales d'un donneur en bonne santé dans le tractus gastro-intestinal d'un receveur afin de modifier sa composition microbienne et lui conférer un bénéfice pour la santé (149). Cette procédure a montré son efficacité dans le traitement des maladies intestinales, en particulier les infections récidivantes par *Clostridium difficile* et a été reconnue par les sociétés savantes européenne et américaine (150,151). Dans ce cas, un des objectifs de l'administration massive du microbiote d'un sujet sain est d'occuper brutalement l'ensemble des niches écologiques libres afin d'empêcher la recolonisation par *C. difficile*, illustrant l'effet barrière direct du microbiote intestinal. Il s'agit à l'heure actuelle de la seule indication de TMF reconnue dans les recommandations internationales. Aujourd'hui, son potentiel thérapeutique est de plus en plus exploré sur un large éventail de maladies chroniques et extra-intestinales, notamment le syndrome métabolique (149), la sclérodermie systémique (52) et le rhumatisme psoriasique (152). En ce qui concerne la PR, il n'y a pas de données disponibles concernant ses effets sur les paramètres cliniques ou l'activité de la maladie chez les patients ; cependant, un essai clinique est en cours pour évaluer l'efficacité et la sécurité de la TMF chez des patients chinois atteints de PR réfractaire au traitement par méthotrexate (Zhang et al., identifiant ClinicalTrials : NCT03944096).

Chez la souris cependant, il a été montré que les souris germ free ayant eu une TMF de patients avec PR récente développent plus d'arthrites que les souris germ free ayant eu une TMF de sujets sains. De plus, les souris avec arthrites ont une augmentation des lymphocytes Th17 intestinaux ce qui n'est pas le cas des souris germ free ayant reçu une TMF de témoins sains (133).

L'équipe de Liu et al. a analysé les conséquences de la TMF de souris sensibles ou résistantes à la CIA chez des souris germ free (153). D'une part, il existe une dysbiose chez les souris CIA avec une augmentation et une prédominance du genre *Lactobacillus* avant l'apparition de l'arthrite. De plus, les souris germ free ayant subi la TMF des souris CIA ont développé plus d'arthrites que les souris germ free ayant été transplanté avec le microbiote de souris résistantes à la CIA.

L'ensemble de ces résultats démontre les impacts potentiels à la fois protecteurs et pathologiques du microbiome intestinal sur les réponses antigéniques, pouvant être médiés par les jonctions serrées.

➤ Dysbiose chez les sujets à risque de PR :

Des preuves émergentes démontrent que des altérations du microbiote intestinal semblent précéder l'apparition des signes cliniques de PR. Dans les études, les patients à risque de PR ou « pré-PR » sont définis comme ayant des FR et/ ACPA positifs avec ou sans arthralgies. Des changements dans leur microbiote oral et intestinal surviennent avec un décalage progressif de la balance pathogènes/saprophytes en faveur des pathogènes (10,116). Par exemple, certains phyla bactériens oraux, comme les *Firmicutes*, ont une prévalence croissante entre les sujets sains, les sujets à risque et les patients atteints de PR, tandis que d'autres, comme les *Proteobacteria*, diminuent au fur et à mesure que la maladie se développe. Une étude portant sur des patients atteints de pré-PR (N=83) a révélé une surabondance significative de *Prevotellaceae* dans les échantillons de selles par rapport aux parents au premier degré de patients atteints de PR (N=50) (116). Cependant, aucune étude longitudinale n'a encore été réalisée pour évaluer la contribution de *P. copri* ou de *Prevotella spp.* dans la production d'auto-anticorps ou pour évaluer son rôle dans la transition du stade préclinique au stade clinique de la PR.

➤ Des antécédents d'antibiothérapie, d'appendicectomie et de diarrhées sont associés à un risque de survenue de la PR :

Dans l'étude de Sultan et al., le risque de développer une PR était 60 % plus élevé chez les personnes exposées aux **antibiotiques** que chez les personnes non exposés (OR=1,60 ; IC95% = 1,51 ; 1,68) (154). Une association dose-dépendante ou fréquence-dépendante a été observée entre le nombre de prescriptions antérieures d'antibiotiques et la PR. Toutes les classes d'antibiotiques étaient associées à un risque plus élevé de PR. Les sujets avaient un suivi médian de 10 ans avant le diagnostic de la PR. Le moment de l'exposition aux antibiotiques était important : le risque de PR était plus élevé chez les personnes exposées aux antibiotiques dans les 1 à 2 ans précédant le diagnostic (OR=1,80 ; IC 95% = 1,70-1,90) que chez les personnes exposées pour la dernière fois entre 5 et 10 ans avant (OR=1,57 ; IC 95% = 1,49-1,66).

L'augmentation des maladies inflammatoires, allergiques et auto-immunes au cours des 20 à 30 dernières années a été liée à l'amélioration des diagnostics et à un

mode de vie plus "occidental", qui inclut l'utilisation généralisée d'antibiotiques. Fait important, ces antibiotiques, bien que cruciaux pour traiter les pathogènes bactériens, affectent également les membres bénéfiques du microbiote, ce qui entraîne une réduction de sa diversité. Les mécanismes par lesquels les antibiotiques altèrent le microbiote intestinal sont multiples. Bien qu'une forte association entre l'utilisation d'antibiotiques et l'apparition de la PR ait été établie, il n'est à l'heure actuelle pas possible de savoir si cela est lié aux infections elles-mêmes, aux altérations du microbiote, ou à une combinaison des deux.

Une étude comparative de cohortes menée à Taïwan a révélé une augmentation du risque de développer une PR chez les patients qui avaient subi une **appendicectomie** par rapport à ceux qui n'en avaient pas eue (155). En effet, le hazard ratio de survenue de la PR pendant la période de suivi de 5 ans était de 1,61 (IC95% = 1,05 ; 2,48) pour les sujets ayant subi une appendicectomie. Le mécanisme de la relation entre une appendicectomie et la survenue ultérieure de la PR reste encore inconnu. Certaines données ont montré que l'appendice pourrait constituer un véritable tissu lymphatique important qui jouerait un rôle spécifique dans la fonction immunitaire (156,157). Par conséquent, l'appendice vermiforme peut être considérée comme un refuge bien adapté pour le maintien des bactéries intestinales saprophytes, et elle peut également fournir un support pour la croissance bactérienne. Son ablation pourrait modifier le système immunitaire et entraîner des RIC tels que la PR, mais cela reste encore à être démontré.

Les sujets sains souffrant de **diarrhée** sont plus susceptibles de développer une PR. L'étude de Nguyen et al. basée sur la cohorte française E3N-EPIC (cohorte prospective française incluant 98 995 femmes en bonne santé depuis 1990) s'est intéressée à recueillir l'existence de troubles digestifs et d'évaluer leur relation avec le risque de développement ultérieur de la PR (158). Parmi les 65 424 femmes retenues dans l'analyse, 530 cas incidents de PR ont été diagnostiqués après une moyenne (écart-type) de 11,7 (5,9) ans après le début de l'étude. Par rapport à l'absence de troubles gastro-intestinaux, une diarrhée chronique était associée à un risque accru de développer une PR au cours du suivi (hazard ratio de 1,70, IC 95 % = 1,13 ; 2,58), indépendamment de la dysthyroïdie ou des habitudes alimentaires.

➤ L'amélioration de la dysbiose intestinale et de l'activité de la PR sont interconnectées :

Des preuves émergentes suggèrent que la normalisation de la dysbiose par le traitement de la parodontite réduit la sévérité de la PR (159) avec une réduction significative du DAS28 (OR = -1,18 ; IC 95% : -1,43,-0,93 ; p <0,001). La VS, la CRP, l'évaluation de l'activité du rhumatisme par le patient, le nombre d'articulations douloureuses et gonflées ont montré une tendance à la réduction (non statistiquement significative). En parallèle, une étude suggère que le traitement de la PR (par exemple, par des DMARD) réduit également la dysbiose (160).

POINTS CLÉS

- **De nombreux arguments suggèrent que la dysbiose intestinale est un facteur causal de la PR :**
 - **La dysbiose et l'augmentation de la perméabilité intestinales ont été observées avant même la survenue de l'arthrite chez la souris et l'Homme ;**
 - **Chez l'Homme, un antécédent d'antibiothérapie, d'appendicectomie et de diarrhée chronique, connues pour perturber le microbiome, est lié à une augmentation de risque de survenue de la PR ;**
 - **Dans les modèles murins, l'administration d'antibiotiques diminue la sévérité de l'arthrite et une supplémentation en AGCC, un des métabolites du microbiote intestinal, prévient l'apparition de l'arthrite ;**
 - **La TMF provenant de patients atteints de PR reproduit les phénotypes arthritiques chez la souris.**

1.6.4 Le microbiote intestinal comme potentiel biomarqueur de la PR

Il existe une très grande variabilité du microbiote chez les patients atteints de PR selon les études. Des interactions complexes entre le microbiote et des facteurs génétiques et environnementaux ont été décrits, tels que l'alimentation, le tabac, la pollution atmosphérique, mais ceux-ci ne sont quasiment jamais pris en compte dans les études cliniques évaluant l'effet du microbiote dans cette maladie. Si des preuves suggèrent que le microbiote est en cause dans l'induction d'une auto-immunité et dans la survenue de la PR, d'autres soulignent que celle-ci peut également avoir une action

directe sur le microbiote intestinal, à travers notamment les traitements médicamenteux et/ou le profil génétique des patients qui en sont atteints.

➤ **Dès lors, le microbiote intestinal peut-il être utilisé comme biomarqueur de la PR ?**

a) Certains traitements de la PR peuvent corriger la dysbiose

Tout d'abord, il existe une tendance à la « normalisation » du microbiote intestinal des patients PR avec l'introduction d'un traitement de fond. Zhang et al. ont réalisé un séquençage du métagénome des microbiotes à partir d'échantillons fécaux, dentaires et salivaires provenant d'une cohorte de PR (n=34) et de témoins sains, avant et après traitement dans le groupe PR (161). Les résultats principaux font état d'une dysbiose dans les microbiomes intestinaux et oraux des patients atteints de PR, qui a été partiellement résolue après 3 mois de traitement de la PR via une augmentation des saprophytes (tels que *Lactobacillus salivarius*) et une diminution des germes à potentiel pathogène. Dans cette étude, la plupart des patients atteints de PR avait reçu soit du MTX, soit une plante ayant des vertus médicinales en médecine traditionnelle chinoise, soit les deux.

Une méta-analyse regroupant 27 études publiée en 2020 a confirmé ce postulat en montrant notamment que chez les patients atteints de PR, l'association de bDMARD avec du MTX ou de la SLZ engendre la diminution des familles *Prevotellaceae* dans le microbiote intestinal (160). Dans cette revue, les résultats ont montré la présence d'une augmentation de l'abondance des familles Bacteroidetes, Firmicutes, et Proteobacteria, liée au traitement par DMARD. Il s'agissait principalement des espèces suivantes : *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus salivarius*, *Collinsella aerofaciens*, *Faecalobacterium prautnizzi*, *Bacteroides fragilis* et *Prevotella copri*.

b) Les allèles HLA-DRB1 de l'épitope partagé sont associés à un microbiote intestinal spécifique

Les gènes de l'hôte sont responsables d'une proportion considérable de la diversité microbienne intestinale, certains taxons étant à 40% héréditaires (162). Le facteur de risque génétique ayant la plus grande capacité à moduler le microbiote est constitué

par les allèles HLA-DRB1 de l'épitope partagé, lesquelles comme nous l'avons vu pour certaines confèrent une susceptibilité à la survenue de la PR (7).

Les individus à risque de PR (FR et/ou ACPA positifs et apparentés au 1^{er} degré de PR) porteurs des allèles de l'épitope partagé ont une abondance plus élevée en espèces de *Prevotella* dans leur microbiote intestinal que ceux ne portant pas les allèles en question, suggérant ainsi que le génotype de l'hôte est associé au profil du microbiote avant même l'apparition de la maladie (162).

Les souris transgéniques pour HLA-DR*0401 (considéré comme un allèle à haut risque de développer une PR) ont un microbiote différent des souris transgéniques pour HLA-DR*0402 (considéré comme un allèle protecteur) (87,163). En effet, le séquençage de leur flore fécale a montré des différences de composition : les souris *0401 présentant une abondance égale entre les familles *Bacteroidetes* et *Firmicutes* tandis que chez les souris *0402, les *Bacteroidetes* étaient deux fois plus abondants et négativement corrélés à l'expression des lymphocytes Th17 dans l'intestin, ce qui suggère d'une part que les gènes HLA peuvent jouer un rôle dans la colonisation microbienne intestinale et d'autre part que l'épitope partagé prédispose le microbiote intestinal à la dysbiose. En outre, la perméabilité intestinale était beaucoup plus élevée chez les souris *0401 que chez les souris *0402, suggérant que la perméabilité peut établir un lien entre dysbiose et inflammation articulaire.

POINTS CLÉS

- **Des arguments suggèrent que le microbiote intestinal pourrait être un biomarqueur de la PR :**
 - **Les traitements de fond de la PR (DMARD), par un contrôle de l'inflammation, restaurent au moins en partie le microbiote intestinal ;**
 - **Les allèles de l'épitope partagé constituent à la fois un facteur de risque de survenue de la PR et une signature microbienne particulière, conférant une perméabilité intestinale accrue.**
- **Ces résultats suggèrent l'existence d'une relation étroite entre l'immunomodulation des traitements médicamenteux au niveau intestinal et leur répercussion systémique dans l'évaluation de la réponse clinique de la PR.**

- **Le microbiote intestinal ne peut cependant être encore considéré comme un biomarqueur à part entière : des approches holistiques et fonctionnelles sont encore requises au vu de l'interactivité des facteurs environnementaux et génétiques similaires à la fois sur la PR et sur le microbiote intestinal.**

1.7 Modulation nutritionnelle du microbiote intestinal hors pathologie

La recherche des effets de l'alimentation sur le microbiote intestinal est d'une grande importance pour la santé. Ils commencent très précocement au moment de la naissance et pendant la première année de vie. Il est reconnu qu'une alimentation diversifiée est meilleure pour la santé intestinale et favorise une composition équilibrée du microbiote intestinal. Les différents régimes alimentaires (tels que méditerranéen, occidental, hypocalorique), associés aux pratiques culturelles, au mode de vie et au statut socio-économique, ont un impact sur la composition du microbiote intestinal. Le régime méditerranéen semble être plus bénéfique que des régimes restrictifs comme les régimes vegan, cétogènes, sans gluten et le régime occidental moderne. Cela s'explique par la composition du régime méditerranéen fondée sur des aliments qui contiennent des composants bénéfiques tels que les fibres et les polyphénols pour le microbiote intestinal. Ainsi, la composition du microbiote intestinal des Russes, Américains, Français et Chinois n'est pas similaire (164). Les habitudes alimentaires, même pour une courte durée, influencent la composition microbienne ainsi que ses fonctions.

- **En cas de dysbiose, une diminution en nombre des saprophytes et de leurs fonctions (telles que la modulation de la perméabilité intestinale) peut être observée ou supposée. On peut donc concevoir des biomarqueurs ou signatures métaboliques de certaines affections et les tentatives d'agir sur ces composants sont logiques. En thérapeutique, on est passé de la seule antibiothérapie pour moduler l'écosystème en diminuant les germes pathogènes à des approches ayant vocation à corriger la rupture de symbiose entre l'hôte et le microbiote en favorisant les germes protecteurs via :**
- **Les apports de substrats des fibres alimentaires : AGCC et prébiotiques ;**
 - **Les apports de nouveaux micro-organismes : probiotiques classiques et de nouvelle génération composés de bactéries commensales.**

1.7.1 Les acides gras à chaînes courtes

Les macronutriments tels que les polysaccharides, les graisses, les protéines et les vitamines consommés par l'hôte peuvent être utilisés par le microbiote intestinal. Ce dernier est très efficace dans la dégradation des polysaccharides, ce qui entraîne une production élevée d'acides gras à chaînes courtes tels que l'acétate, le propionate et le butyrate. Issus de la digestion des fibres alimentaires, des polyphénols et des aliments fermentés, ce sont des promoteurs clés de la santé et de l'intégrité du côlon. Leurs différentes actions ont déjà été décrites précédemment. Les aliments riches en fibres peuvent être dégradés par les familles de bactéries *Firmicutes* et *Bacteroides* en AGCC (165). Outre leurs fonctions de régulation immunitaire et le fait qu'ils constituent une source d'énergie importante pour les CEI, les AGCC présents dans l'intestin remplissent diverses fonctions physiologiques, notamment en dictant la mobilité colique, le flux sanguin colique et le pH gastro-intestinal, ce qui peut influencer l'absorption d'électrolytes et de nutriments (166). L'**acétate** est utilisé comme précurseur pour la synthèse de cholestérol dans le foie, le **propionate** régule la libération d'hormones de satiété et le **butyrate** inhibe certains dommages associés au stress oxydatif. Ils ont également de nombreux effets métaboliques et anti-inflammatoires (167,168).

1.7.2 Prébiotiques et synbiotiques

Les **prébiotiques** sont un type de fibres fermentées dans le tube digestif et servent de nourriture aux bactéries commensales. En 2016, l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les Prébiotiques (ISAPP) les a définis comme « substrats utilisés de manière sélective par des micro-organismes de l'hôte qui confèrent un bénéfice pour la santé » (169). C'est en démontrant pour la première fois que des dérivés de l'inuline extraite de la racine de chicorée (qui résistent totalement à la digestion par les enzymes digestives) étaient capables de promouvoir la croissance sélective de certaines bactéries généralement reconnues bénéfiques pour la santé, notamment les Bifidobactéries, qu'est né le concept de prébiotique (170). Il s'agit principalement de fructanes (polymères de fructose) proposés comme ingrédient alimentaire alliant des propriétés de pouvoir sucrant ou de texture particulière et répondent à la définition des fibres alimentaires fermentescibles. Ils ne sont pas digérés mais la source d'énergie provient de leur fermentation entraînant la production notamment de butyrate.

Les probiotiques sont souvent associés à des prébiotiques dans des études d'intervention visant à améliorer le microbiote intestinal en vue d'obtenir des effets bénéfiques pour la santé. L'ISAPP a défini en 2016 le terme **synbiotique** comme « un mélange comprenant des micro-organismes vivants et un ou plusieurs substrats utilisés sélectivement par des micro-organismes de l'hôte qui confère à celui-ci un bénéfice pour la santé » (171). De nombreux essais randomisés contrôlés ont été menés sur des humains dans diverses populations, allant des individus sains à ceux souffrant de maladies aiguës et chroniques, afin d'examiner les effets des synbiotiques. Les preuves d'un bénéfice sur la santé ne sont à ce jour pas suffisantes pour pouvoir les proposer comme thérapeutique complémentaire.

1.7.3 Probiotiques

L'ISAPP est parvenue à une définition consensuelle des probiotiques en 2014 : « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels ». On les retrouve en grande quantité dans les aliments fermentés, comme par exemple les produits laitiers (yaourt, kéfir, fromages fermentés), le pain ou le soja. Ils existent également sous forme de médicaments ou dans des compléments alimentaires (Bion[®]). Il s'agit notamment de souches de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Saccharomyces*, mais aussi parfois d'*Escherichia coli* ou d'*Enterococcus faecium*. Les probiotiques médicaments sont, en France, au nombre de trois (Bacilor[®], Carbolevure[®], Ultra Levure[®]). Ils ne sont pas remboursés par la Sécurité sociale. La seule allégation autorisée par l'Autorité européenne de sécurité des aliments concernant un probiotique « non-médicament » est à ce jour « les ferments du yaourt », qui aident les sujets digérant mal le lactose à le digérer (172).

Ils ont de multiples modes d'action, directs et indirects, résumés dans la **Figure 5**. Parmi les effets directs : il s'agit d'une exclusion compétitive des pathogènes par : occupation des sites d'adhérence (barrière à l'adhésion et la translocation de bactéries pathogènes) et production d'activités antimicrobiennes (telles que la baisse du pH). Indirectement, il s'agit d'une signalisation à l'épithélium : qui augmente la barrière de mucus (augmentation de l'expression des gènes de mucines), sécrète des molécules antimicrobiennes (défensives, IgA, IgG, IgM, polyamines) et inhibe une réponse de l'hôte inflammatoire (173).

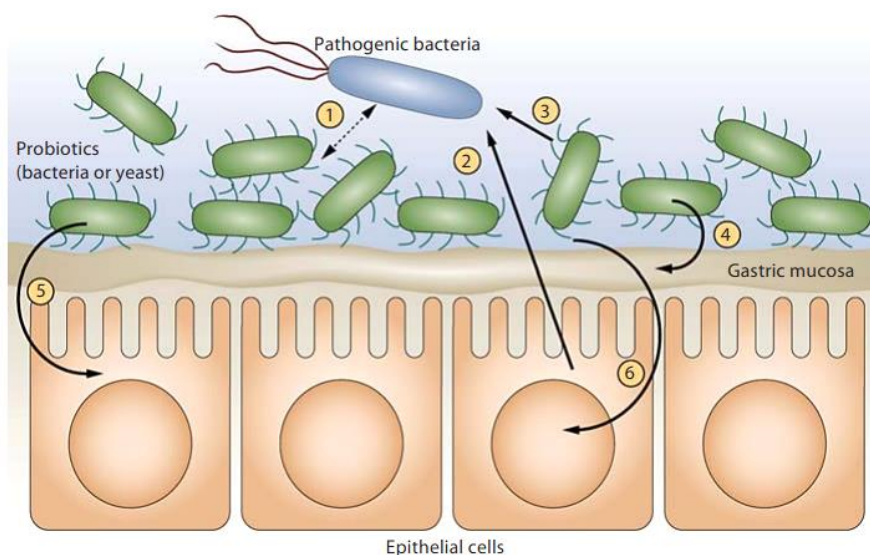


Figure 5. Mécanismes d'interactions des probiotiques avec l'épithélium intestinal (174).

1 = exclusion compétitive de l'adhésion et de la translocation des bactéries pathogènes ; 2 = stimulation d'une réponse humorale protectrice ; 3 = activités antimicrobiennes ; 4 = amélioration de l'intégrité de la barrière muqueuse ; 5 = libération de polyamines ; 6 = inhibition de la réponse inflammatoire de l'hôte via la modulation des voies de signalisation.

Ils ont fait l'objet de nombreux essais randomisés contrôlés et méta-analyses et leur efficacité a été démontrée dans plusieurs affections telles que la diarrhée sous antibiotiques (175,176) et le syndrome de l'intestin irritable (177). Cependant, certains effets de probiotiques sont clairement genre ou espèce-dépendants ; aussi, par principe de précaution, est-il erroné d'extrapoler les résultats d'une souche à l'autre.

Une idée nouvelle est de chercher les candidats à devenir des probiotiques pour l'Homme non pas dans la banque des micro-organismes alimentaires mais parmi ceux du microbiote humain qui feraient défaut dans des situations dysbiotiques. Ces **nouveaux probiotiques qualifiés de « nouvelle génération »** (PNG) sont en cours de développement, et ont la qualité d'avoir un spectre non plus seulement prophylactique adressé à des populations saines mais aussi thérapeutique dans les maladies humaines en combinaison avec les traitements actuels. Les PNG se distinguent principalement des probiotiques traditionnels par leur mode d'identification sur la base de données cliniques humaines, leur origine le plus souvent humaine ou animale, leur isolement et enfin leur cible santé. Ils ont été récemment identifiés et isolés grâce à de nouveaux outils d'analyse du microbiote, notamment la métabolomique, sur la base d'une analyse comparative des compositions de microbiote entre des individus en bonne santé et en mauvaise santé. Ils n'ont pas un long historique d'utilisation saine et leur sécurité n'est donc pas encore considérée comme prouvée.

Deux types de PNG existent : les bactéries commensales telles que *Akkermansia* et *Faecalibacterium*, retrouvées en quantité majoritaire dans le microbiote intestinal des individus sains, et les bactéries alimentaires lactiques telles que les *Lactobacillus* et les Bifidobactéries, génétiquement modifiées et pouvant servir à véhiculer et délivrer une molécule d'intérêt pour la santé pour annuler le phénotype de la maladie. La diminution de quantité des bactéries commensales précédemment citées a été objectivée dans de nombreuses maladies (MICI, cancer colorectal, obésité, maladie coéliquaue), notamment celle de *F. prausnitzii* dans la maladie de Crohn (178). La preuve de son efficacité a d'ailleurs déjà été mise en évidence in vitro et dans des modèles animaux atteints de colite, induisant la production de cytokines anti-inflammatoires en bloquant l'activation de la voie NFκβ (178), la protection de la barrière intestinale (179) ou la réduction de cytokines pro-inflammatoires (180).

POINTS CLÉS

- La description récente et de plus en plus fine de dysbioses, tant par des paramètres du microbiote que par des marqueurs physiologiques et immunitaires de l'hôte, permet aujourd'hui d'espérer utiliser leur détection comme moyen diagnostique dans les MAI et notamment la PR, mais aussi de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques.
- La modulation nutritionnelle du microbiote intestinal est un élément clé pour préserver la santé gastro-intestinale car, en mangeant, nous alimentons également notre microbiote intestinal et nous influençons donc sa diversité et sa composition.
- La modification du régime alimentaire, notamment en utilisant des fibres alimentaires (régime végétarien, céréales à grain entier, amidon résistant, fibres solubles) pourrait restaurer la richesse, la diversité et la stabilité du microbiote intestinal, notamment grâce à l'action des AGCC.
- Un niveau de preuve suffisant pour des recommandations d'utilisation des probiotiques a été obtenu dans les domaines des troubles digestifs dus aux antibiotiques et des gastro-entérites.
- Les traitements actuellement proposés aux patients atteints de MICI visent uniquement à restaurer un fonctionnement normal du SI, et l'administration en parallèle de PNG viserait à restaurer l'équilibre du microbiote intestinal.

1.8 Modulation nutritionnelle du microbiote intestinal dans la PR

1.8.1 Efficacité potentielle des probiotiques

Notre étude publiée en 2022 avait pour objectif de fournir une revue systématique de la littérature (RSL) des essais contrôlés randomisés et des méta-analyses évaluant l'effet des probiotiques sur les symptômes et l'activité des rhumatismes inflammatoires (181) (**Annexe 1**). Cette RSL a été utilisée pour les recommandations de la Société Française de Rhumatologie (SFR) portant sur l'alimentation dans les RIC.

Concernant la PR, huit études ont été incluses, représentant un total de 344 patients. Le groupe contrôle était un placebo ou une autre intervention diététique. Trois méta-analyses ont également été incluses (182–184). Les souches de probiotiques et les quantités utilisées étaient différentes selon les essais (5 études utilisant *Lactobacillus spp.*, une utilisant *Bacillus coagulans* et les autres un mélange de différentes souches probiotiques). Le délai d'évaluation de l'activité de la PR variait de 8 semaines à un an. A noter que deux études ont associé la supplémentation en probiotiques à une autre intervention diététique.

La méta-analyse a montré une diminution statistiquement significative de la concentration en CRP (différence moyenne de 3,04 mg/L (IC 95% = 1,62 ; 4,47), $p < 0,001$, $I^2 = 20\%$, n patients = 209) avec les probiotiques dans la PR. Cependant, après exclusion des essais à haut risque de biais de la méta-analyse, il n'y avait pas de différence entre les probiotiques et le placebo sur le DAS28 (différence moyenne standard de 0,54 ; IC 95% = 0,85 ; 1,94, $p = 0,45$, $I^2 = 93\%$, n patients = 143).

1.8.2 Recommandations alimentaires émanant de la Société Française de Rhumatologie

Il existe une demande forte des patients qui souhaitent obtenir des informations spécifiques sur les habitudes alimentaires à adopter pour leur rhumatisme. De nombreuses études ont évalué différents types d'interventions (régimes d'exclusion, régime méditerranéen, compléments alimentaires, jeûne, etc.) et il existe de nombreuses informations à leur sujet, qui n'ont pas nécessairement été validées, dans la littérature populaire et sur les médias sociaux, parfois dans un but commercial. A l'inverse, il existe peu d'informations sur les effets néfastes potentiels des régimes d'exclusion non supervisés. Ainsi, cela a conduit la SFR à établir des recommandations sur l'alimentation

et les habitudes alimentaires des patients souffrant de RIC (PR, spondyloarthrite, rhumatisme psoriasique) (185) (**Annexe 2**). J'ai participé à l'élaboration de ces recommandations en tant que bibliographiste. Elles ont été publiées en 2022 et regroupent huit principes généraux et neuf recommandations.

POINTS CLÉS

- **Les recommandations nationales sont les suivantes :**
- **Les conseils nutritionnels ne remplacent pas le traitement pharmacologique des RIC ; ils font partie intégrante de la prise en charge globale des patients, ce qui pourrait aider ces derniers à participer activement à leurs soins ;**
- **Encourager la perte de poids chez les sujets en surpoids ou obèses, un régime de type méditerranéen et une supplémentation en acides gras polyinsaturés, principalement en oméga-3 ;**
- **Ne doivent pas être proposés : les régimes sans gluten (en l'absence de maladie cœliaque), les régimes végétariens/végétaliens, le jeûne et l'éviction des produits laitiers ;**
- **La supplémentation en vitamines ou en oligo-éléments n'est pas indiquée pour contrôler l'activité des RIC ;**
- **L'utilisation de probiotiques ou d'épices n'est pas recommandée compte tenu des données limitées ou disparates.**

1.9 Hypothèse et design de l'étude

Le microbiote intestinal est étroitement contrôlé par l'hôte par le biais de l'épithélium intestinal et du système immunitaire de la muqueuse digestive. Inversement, les modifications de la composition du microbiote intestinal peuvent altérer à la fois l'intégrité de l'épithélium intestinal et la fonction immunitaire de la muqueuse. La dysbiose favorise une perméabilité accrue de l'intestin, ce qui augmente l'exposition des cellules immunitaires aux antigènes bactériens, entraînant une réponse pro-inflammatoire. Les JS intercellulaires épithéliales constituent une barrière physique entre la lumière intestinale et l'hôte.

Dans la PR, la plupart des études antérieures n'ont pas permis de conclure à l'altération de la perméabilité de l'intestin (20). En effet, les premières études qui l'ont explorée dans la PR établie étaient limitées dans leur conception, avec un nombre très

restreint de patients et aucun groupe contrôle, ainsi souffraient de problèmes méthodologiques. Seules deux études récentes utilisant des méthodes de pointe, à savoir l'analyse histologique et les marqueurs biologiques dosés dans le sang, ont trouvé une augmentation de la perméabilité intestinale dans la PR précoce (71,106). Tajik et al ont étudié la perméabilité de l'épithélium intestinal chez les patients atteints de PR en se concentrant sur les JS de tissus iléaux, mais n'ont pas évalué la perméabilité colique (71). L'augmentation de la perméabilité intestinale dans la PR doit encore être mieux documentée, et **on ne sait pas à l'heure actuelle si les patients atteints de PR ont également une perte de l'intégrité épithéliale colique**. En outre, la question de savoir si la dysbiose et la perméabilité intestinale qui en découle (si elle est confirmée) sont une cause ou une conséquence de la maladie n'est toujours pas résolue. Il a été suggéré que la dysbiose des patients atteints de PR pourrait être améliorée en contrôlant l'inflammation avec des DMARD (161,186). Cependant, la question de savoir si le contrôle de l'inflammation améliore également la perméabilité intestinale dans la PR reste peu explorée à ce jour.

Nous avons donc mené une étude rétrospective multicentrique dont l'objectif est d'évaluer si les patients atteints de PR présentent une perméabilité intestinale accrue en caractérisant les protéines des JS (ZO-1, claudine-2 et occludine) dans les biopsies coliques et en quantifiant les biomarqueurs sériques de l'intégrité intestinale (ZRP, sCD14 et LBP) à différents stades de la maladie. Nous avons également étudié l'influence de différents DMARD sur ces biomarqueurs. Cette étude a été acceptée pour publication dans la revue *Rheumatology* en août 2022 (**Annexe 3**) (187).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Patients et témoins pour les biopsies coliques

En France, les biopsies réalisées en soins courants sont conservées pendant 20 ans. Nous avons identifié au CHU de Montpellier des patients atteints de PR ayant subi une coloscopie de dépistage du cancer colorectal avec une histologie normale, puis, identifié des témoins appariés en âge et en sexe. En accord avec la procédure du comité d'examen institutionnel du CHU de Montpellier (2018_IRBRheumatology MTP12-12), tous les sujets ont donné leur consentement éclairé conformément à la Déclaration d'Helsinki de 2013 pour utiliser les tissus restants dans le cadre de la présente recherche. Les sujets témoins ne souffraient d'aucune maladie systémique et ne recevaient pas de médicaments anti-inflammatoires ou immunomodulateurs. Ils étaient appariés aux patients atteints de PR en termes d'âge (+/- 5 ans) et de sexe. Pour être inclus, les patients atteints de PR devaient répondre aux critères ACR/EULAR 2010. L'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), de glucocorticoïdes et de DMARD a été rapportée de même que les différentes caractéristiques de la maladie. Les biopsies coliques ont été analysées comme détaillé par immunohistochimie (IHC) ci-dessous et l'intensité de coloration de ZO-1, claudine 2 et occludine a été évaluée par 2 évaluateurs indépendants en aveugle en utilisant un score de 0 à 4. Le score final retenu correspond à la moyenne du scoring des 2 lecteurs. La reproductibilité entre évaluateurs était très bonne avec un kappa à 0,93 (erreur standard 0,07).

Anticorps utilisés pour l'analyse de biopsies coliques par IHC :

	Référence	Fournisseur	Dilution des Ac (µg/mL)	Démasquage de l'Ag		Incubation	Amplification
ZO-1	61-7300	Invitrogen	0.25	EDTA	95°C-64'	37°C-32'	Non
Occludine	71-1500	Invitrogen	0.35	Protéase 1	8'	37°C-32'	Optiview
Claudine-2	32-5600	Invitrogen	0.5	EDTA	95°C-52'	37°C-32'	Non

2.2 Patients et témoins pour les sérums

Les sujets sains étaient soit des donneurs de sang soit des patients vus dans le service de rhumatologie (CHU de Montpellier) pour une arthrose ou des douleurs mécaniques, sans pathologie générale ni infection, et ne recevant aucun médicament

immunomodulateur. Ils étaient de même sexe et de même âge que les patients atteints de PR (pas d'appariement).

Pour être inclus, les patients ayant une PR devaient répondre aux critères ACR/EULAR 2010, ne pas être traités par des bDMARD ou des corticoïdes (ou bien avec une dose devant être inférieure à 10 mg/jour). Une infection en cours ou récente était un critère d'exclusion. Les patients étaient définis comme atteints de **PR naïve** s'ils n'avaient jamais reçu un quelconque DMARD (csDMARD et bDMARD) (n=21). Les patients ont été catégorisés en **PR sévère** s'ils n'avaient pas répondu à au moins un csDMARD (n=38) et s'ils avaient dû débuter un traitement par anti-TNF α . L'activité de la maladie a été évaluée à l'aide du score d'activité qu'est le DAS28. Les répondeurs à 3 mois ont été définis à l'aide des critères de réponse EULAR (une réponse bonne ou modérée définissait les patients répondeurs) [17]. Un groupe supplémentaire de 5 patients qui ne répondaient pas suffisamment aux anti-TNF α a été traité par Tocilizumab et a également été évalué pour les taux de LBP, sCD14 et ZRP dans les sérums. Tous les sujets ont signé un consentement éclairé écrit pour l'étude, conformément à la Déclaration d'Helsinki de 2013 et tel qu'approuvé par le Comité d'éthique médicale de l'hôpital de Nîmes, France (CPP_2012-A00592-41).

2.3 Évaluation de la perméabilité intestinale et de la translocation bactérienne chez les PR

Des échantillons de sang à jeun ont été prélevés, immédiatement centrifugés et conservés à -80°C jusqu'à l'analyse. La zonuline, appelée ici ZRP (68,70,188), la sCD14 et la LBP ont été évaluées dans le sérum des patients à l'aide de kits de dosage immunoenzymatique (ELISA) disponibles dans le commerce, conformément aux instructions du fabricant. LBP (DY870-05) et sCD14 (DY383) ont été achetés auprès de R&D Systems et les ZRP ont été évaluées à l'aide du kit Zonulin acheté auprès de Promokine (PK-EL-K5600).

2.4 Cytokines

Les cytokines (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , VEGF) ont été déterminées par une approche protéomique sur un système de biopuce Evidence Investigator (Randox, Mauguio, France).

Le taux de CRP a été déterminé par une méthode immuno-turbidimétrique avec l'analyseur biochimique Olympus AU2700 (Beckman-Coulter, Villepinte, France) et le réactif Randoxfull-range CRP (Randox Laboratories, Mauguio, France).

2.5 Analyse statistique

Les variables continues sont présentées sous forme de médiane \pm interquartiles (25-75) ou de moyenne \pm erreur standard de la moyenne (SEM). Les variables qualitatives sont exprimées sous forme de nombres et de pourcentages. Les tests de Mann-Whitney ont été utilisés pour comparer les valeurs des contrôles, de la PR naïve et de la PR sévère. Le test des rangs signés par paires appariées de Wilcoxon a été utilisé pour comparer les valeurs avant et après le traitement. Les corrélations avec les paramètres cliniques ont été effectuées à l'aide de tests de Spearman. Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5 (San Diego, Californie).

3. RÉSULTATS

3.1 Caractéristiques des patients inclus dans les 2 cohortes

3.1.1 Biopsies coliques

Le **Tableau 1** décrit les caractéristiques des patients inclus pour l'analyse des biopsies coliques. Les biopsies des patients atteints de PR ont été réalisées entre 2012 et 2017 (médiane 2015) et celles des témoins entre 2014 et 2017 (médiane 2016).

	Contrôles	PR
Caractéristiques démographiques		
N	20	20
Femmes, % (n)	50 (10)	60 (12)
Age médian, années	65 (49-68)	63 (43-69)
Caractéristiques de la PR		
Durée de la maladie, ans (/19)	NA	20 (8-28)
DAS28 (/14)	NA	3,9 (2,2-5,0)
Erosions, % (n)	NA	70 (14)
Statut immunologique		
FR +, % (n)	NA	50 (10)
ACPA +, % (/19)	NA	63 (12)
Traitement		
Corticoïdes, % (n)	0	20 (4)
AINS, %	0	5 (1)
csDMARD en cours, % (/18)	NA	39 (7)
bDMARD en cours, % (n)	NA	60 (12)
Classe de bDMARD (n)	NA	Anti-TNF α (7) TCZ (2) RTX (3)

Tableau 1. Caractéristiques des patients pour l'analyse des biopsies coliques.

Toutes les données sont exprimées en médiane (IQR), sauf indication contraire (/n).

Abréviations : NA : non applicable ; RTX : Rituximab ; TCZ : Tocilizumab.

Il s'agissait d'une cohorte essentiellement féminine composée de PR anciennes et actives avec 75% des patients ayant un DAS28 supérieur à 2.2. Seulement 4 patients

étaient sous corticothérapie et 5 sous AINS. Une majorité de PR étaient sous thérapie ciblée au moment de la réalisation de la coloscopie, la principale étant les anti-TNF α .

3.1.2 Marqueurs sériques de perméabilité intestinale

Le **Tableau 2** décrit les caractéristiques des patients inclus pour l'analyse des marqueurs de la perméabilité intestinale.

	Contrôles	Toutes les PR	PR naïves	PR sévères
N	33	59	21	38
Femmes, %	78	96	95	97
Age, années	48 (37-60)	57 (46-65)	52 (41-65)	59 (51-64)
Durée de la maladie, années	NA	3 (1-8)	0 (0-1,5)	6 (3-20)
DAS28	NA	4,1 (3,6-5,3)	4,1 (3,5-5,2)	4,4 (3,3-5,2)
Erosions, %	NA	61	29	84
FR +, %	NA	68	48	81
Glucocorticoïdes, %	0	66,1	66,7	65,8
Glucocorticoïdes, mg/j	0	3 (0-7)	0 (0-5)	5 (0-9)
AINS, %	NA	23,7	42,8	13,2
Patients ayant déjà reçu un csDMARD, n	0	38	0	38
Patients ayant déjà reçu un bDMARD, n	0	0	0	0
Traitement introduit (n)	0		MTX (17) LFN (3) SLZ (1)	Anti-TNF α (38)
Combinaison de csDMARD + bDMARD, %	0	54,2	0	84,2 (24 MTX et 8 LFN)
Patients avec données pour l'évaluation de la réponse EULAR, n	NA	41	15	26

Tableau 2. Caractéristiques des patients pour l'analyse des marqueurs sériques. Toutes les données sont exprimées en médiane (IQR), sauf indication contraire.

Les patients atteints de PR et les témoins ont été recrutés entre 2008 et 2015 : la médiane de recrutement des contrôles est de 2012 (fourchette 2011- 2015), celle des PR naïves est de 2010 (fourchette 2008- 2015) et celle des PR sévères est de 2010 (fourchette 2008- 2012). 33 contrôles et 59 PR ont ainsi pu être inclus.

Il s'agissait ici de PR plutôt récentes, majoritairement érosives et immunopositives pour le FR, avec une population quasi exclusivement féminine. 75% des PR avaient une activité de la maladie, évaluée par le DAS28, au moins modérée (entre 3,2 et 5,1), et plus de la moitié des patients PR recevaient une corticothérapie, sans distinction de la sévérité, mais dont les doses étaient supérieures chez les PR sévères. L'utilisation d'AINS a été signalée chez environ 43 % des patients atteints de PR naïve.

55 des 59 patients atteints de PR (soit 93%) ont été suivis après l'introduction d'un csDMARD (76% sous Méthotrexate) ou l'introduction d'anti-TNF α (n=38 : avec Etanercept n=33 (86%) ou Certolizumab n=5 (16%)). 5 patients qui ne répondaient pas suffisamment aux anti-TNF α ont ensuite été traités par Tocilizumab.

3.2 Les patients atteints de PR présentent une altération des jonctions serrées au niveau de l'épithélium colique

Les biopsies coliques de 20 patients atteints de PR et de 20 témoins appariés ont été analysées pour évaluer l'intégrité de l'épithélium colique en mesurant ZO-1, claudine-2 et occludine par IHC. Les patients atteints de PR présentaient une expression de ZO-1 significativement plus faible que les témoins sains (score moyen \pm SEM 1,61 \pm 0,13 vs 2,00 \pm 0,09 pour la PR et les témoins respectivement, $p=0,01$), tandis que l'expression de la claudine-2 (score moyen \pm SEM 1,65 \pm 0,14 vs 1,72 \pm 0,16, $p=0,68$) et de l'occludine (score moyen \pm SEM 2,74 \pm 0,18 vs 2,54 \pm 0,18, $p=0,26$) était similaire (**Figure 6 A-C**).

Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre l'expression de ZO-1 et l'âge (Spearman $r=-0,24$, $p=0,31$), le DAS28 ($r=0,10$, $p=0,70$) ou la durée de la maladie ($r=0,04$, $p=0,86$) chez les patients atteints de PR. Les taux d'expression de ZO-1 étaient similaires chez les patients avec PR, indépendamment de l'utilisation de glucocorticoïdes, de csDMARD, de bDMARD, de la positivité du FR et/ou des ACPA, ou de la présence d'érosions osseuses.

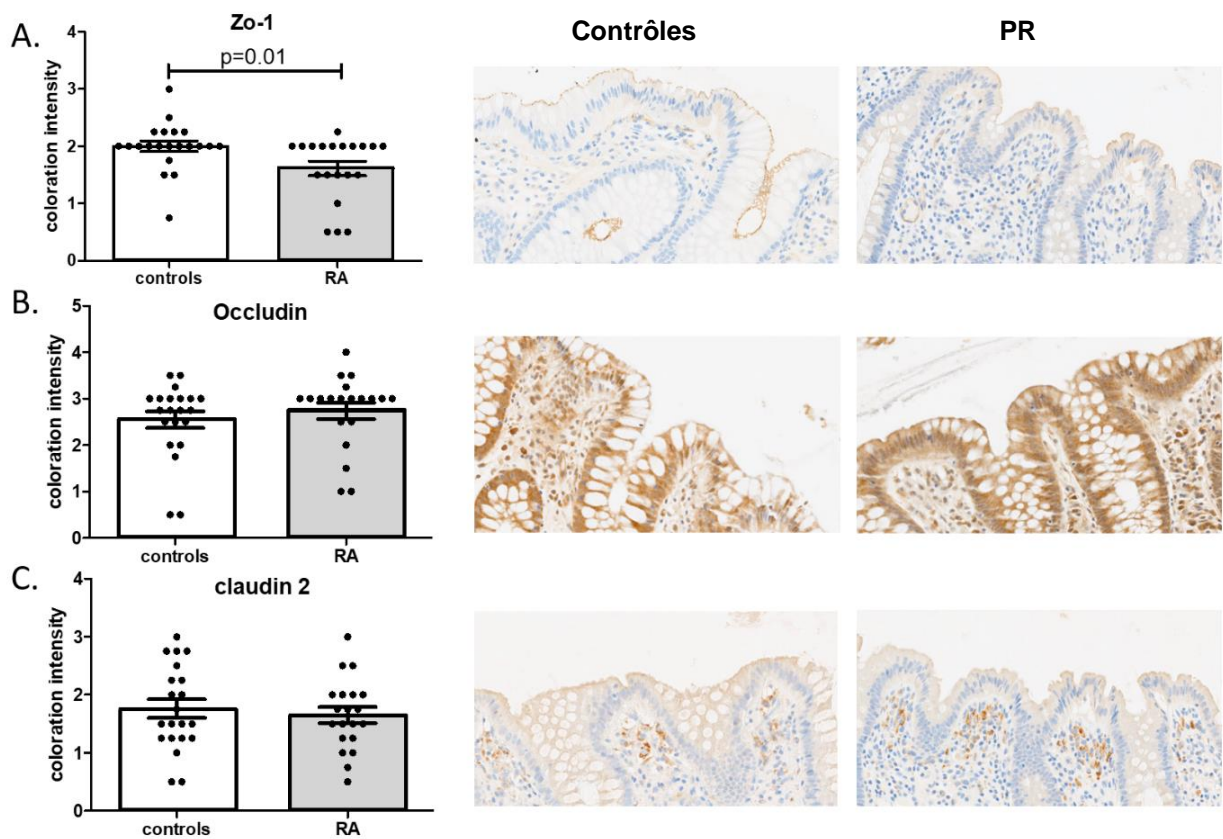


Figure 6. Intensités de marquage des protéines de jonctions serrées au sein de l'épithélium colique des patients atteints de PR établie comparées à des contrôles appariés par l'âge et le sexe.

Les scores moyens +/- SEM et les images représentatives sont présentés pour ZO-1 (A), occludine (B) et claudine-2 (C), 96x65mm (300 x 300 DPI).

Abréviations : RA : rhumatoid arthritis.

3.3 La PR est caractérisée par une augmentation de la perméabilité intestinale et de la translocation bactérienne

Pour déterminer si l'altération de l'intégrité de l'épithélium colique dans la PR pourrait affecter la perméabilité intestinale et donc la translocation des produits bactériens du côlon vers le sang, nous avons mesuré les produits bactériens dans le sang, c'est-à-dire la LBP et le sCD14.

Nous avons constaté que les patients atteints de PR (y compris les patients jamais traités par csDMARD et les PR sévères qui n'ont pas répondu aux csDMARD) présentaient des taux sériques de LBP et de sCD14 significativement plus élevés que les témoins sains (**Figure 7 A-B**). Les taux sériques de ZRP étaient plus élevés, mais pas de manière significative, chez les patients atteints de PR sévère par rapport aux témoins (**Figure 7 C**).

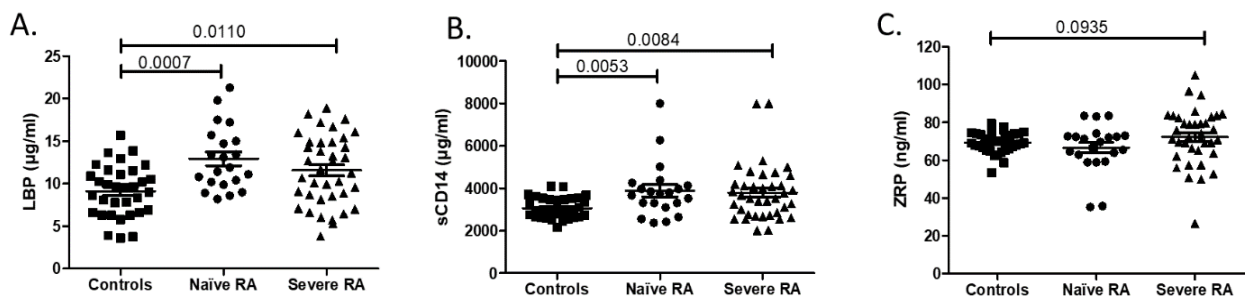


Figure 7. Marqueurs sériques de perméabilité intestinale : LBP (A), sCD14 (B) et ZRP (C) chez les contrôles, les PR naïves et les PR sévères.

Les moyennes \pm SEM sont représentées.

Il est connu que les AINS favorisent les lésions de la muqueuse épithéliale de l'intestin (20,189). La proportion de PR sous AINS dans notre étude est non négligeable. Cependant, lorsque les patients atteints de PR naïve ayant pris des AINS ont été exclus de l'analyse, la LBP et le sCD14 étaient toujours plus augmentés que chez les contrôles ($p=0,0018$ et $p=0,0017$, respectivement) (**Figure 8 A-C**). Dans la PR sévère cependant, les résultats sont à la limite de la significativité pour la LBP et le sCD14 ($p=0,05$).

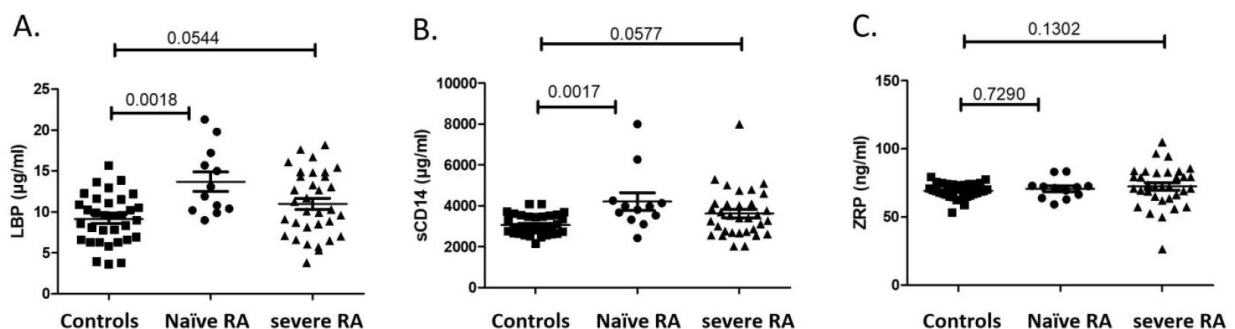


Figure 8. Marqueurs sériques de la perméabilité intestinale LBP (A), sCD14 (B) et ZRP (C) chez les PR après exclusion des patients qui prennent des AINS.

Les moyennes \pm SEM sont représentées.

L'altération de la perméabilité intestinale chez les patients atteints de PR n'ayant jamais pris de DMARD est corrélée à l'activité de la maladie, comme le montrent les corrélations positives entre le DAS28 et les taux sériques de LBP et de sCD14 ($r=0,61$, $p=0,005$ et $r=0,57$, $p=0,01$, respectivement) (**Figure 9 A-C**).

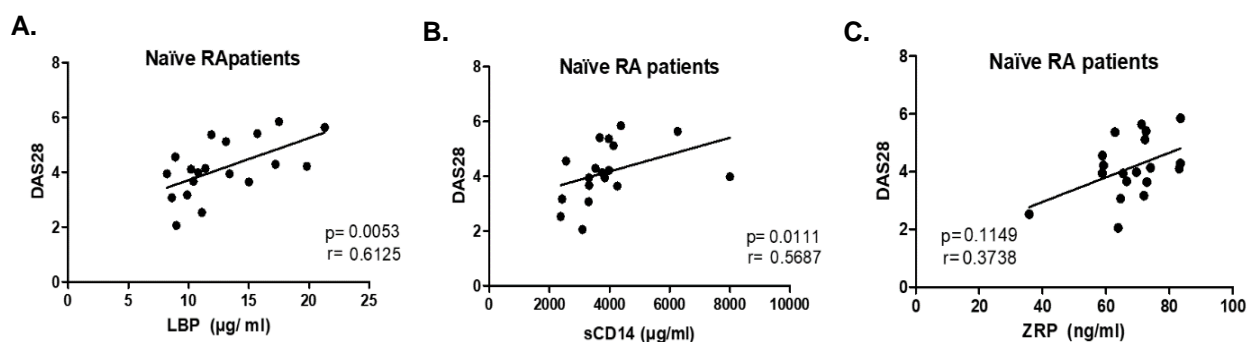


Figure 9. Corrélation à baseline entre l'activité de la PR mesurée par le DAS28 et les marqueurs sériques de perméabilité intestinale LBP (A), sCD14 (B) et ZRP (C) chez les PR naïves de tout DMARD. Analyses par tests de Spearman.

Les cytokines ont été évaluées et mises en corrélation avec les marqueurs sérologiques. La LBP était également corrélée avec la CRP ($r=0,45$, $p=0,045$), la VS ($r=0,72$, $p=0,001$), le TNF- α ($r=0,68$, $p=0,002$) mais pas avec les autres cytokines testées. Pour confirmer que l'augmentation de la LBP et du sCD14 n'était pas liée à l'infection, nous avons mesuré l'activité de la protéine de transfert des phospholipides (PLTP), une protéine impliquée dans la clairance du LPS dont on a constaté l'augmentation dans le plasma pendant une infection [19], et aucune corrélation n'a été trouvée avec le DAS28 ou la CRP (respectivement $r=-0,174$, $p=0,50$ et $r=-0,16$, $p=0,5037$, $n=17$).

3.4 Les bDMARD restaurent l'intégrité intestinale chez les patients répondeurs

Pour déterminer si l'activité de la maladie de la PR peut moduler la perméabilité intestinale, nous avons évalué les taux de LBP, sCD14 et ZRP avant et après l'introduction des DMARD. Nous avons observé une corrélation significative entre les variations de l'activité de la maladie et la restauration de la barrière intestinale, comme le montre la corrélation entre le delta DAS28 et la variation des taux de LBP et de sCD14 ($r=0,52$, $p=0,0006$ et $r=0,42$, $p=0,006$, respectivement) (**Figure 10 A-B**).

Les variations des taux de CRP étaient également corrélées aux variations de la LBP et des sCD14 ($r=0,56$, $p=0,0002$ et $r=0,35$, $p=0,026$, respectivement) (**Figure 11 A-B**). Il n'y avait en revanche pas de corrélation entre les variations des taux de ZRP et le delta DAS28 d'une part (**Figure 10 C**), et le delta CRP d'autre part (**Figure 11 C**). Ces résultats suggèrent que la correction de l'inflammation par un csDMARD ou un bDMARD permet de diminuer les marqueurs sériques de translocation bactérienne et de perméabilité intestinale.

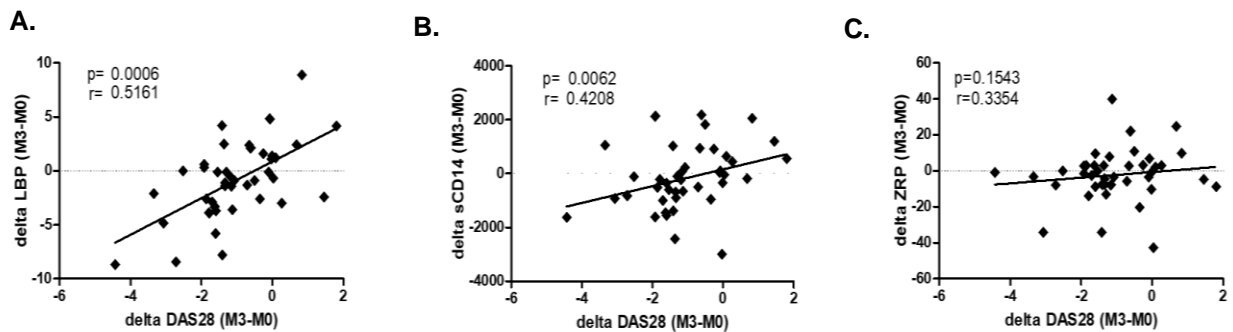


Figure 10. Corrélation entre les variations de l'activité de la maladie mesurée par le delta DAS28 (M3-M0) et les variations des marqueurs sériques de perméabilité intestinale delta LBP (A), delta sCD14 (B) et delta ZRP (C) (M3-M0).

Analyses par tests de Spearman.

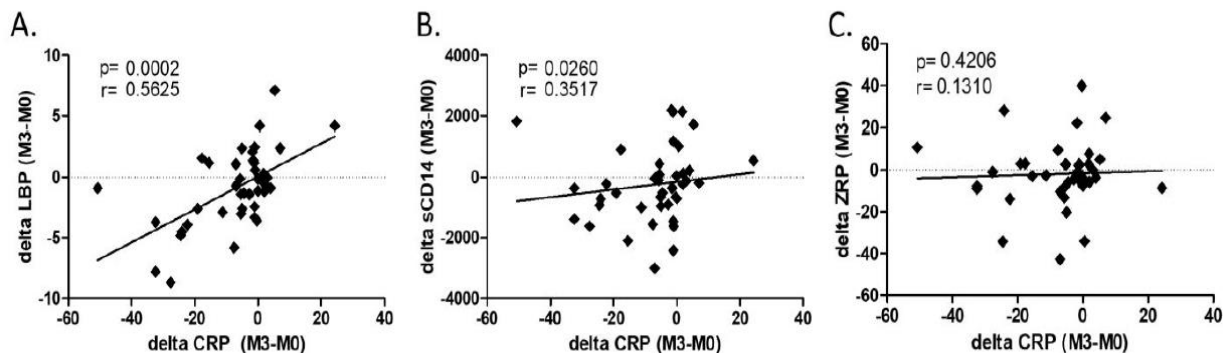


Figure 11. Corrélation entre les variations de la CRP mesurées par le delta CRP (M3-M0) et les variations des marqueurs sériques de perméabilité intestinale delta LBP (A), delta sCD14 (B) et delta ZRP (C) (M3-M0).

Analyses par tests de Spearman.

Nous avons ensuite évalué l'effet spécifique des bDMARD (anti-TNF α) par rapport aux csDMARD sur la perméabilité intestinale. Chez les patients traités par anti-

TNF α , 10 étaient non répondeurs, 16 étaient répondeurs (6 répondeurs modérés et 10 bons répondeurs). Chez les patients traités par csDMARD, 4 patients n'ont pas répondu, 11 ont répondu (5 modérément et 6 avec une bonne réponse). Il est intéressant de noter que seuls les patients ayant répondu (bien ou modérément) aux traitements par anti-TNF α présentaient une réduction significative de la perméabilité intestinale, comme le montrent la réduction significative de la LBP ($p=0,0041$) et la tendance à la diminution de sCD14 ($p=0,08$), tandis que les non-répondeurs n'ont présenté aucun changement (**Figure 12 A-B**). D'autre part, les niveaux de ZRP n'étaient pas affectés par le traitement de fond (**Figure 12 C**).

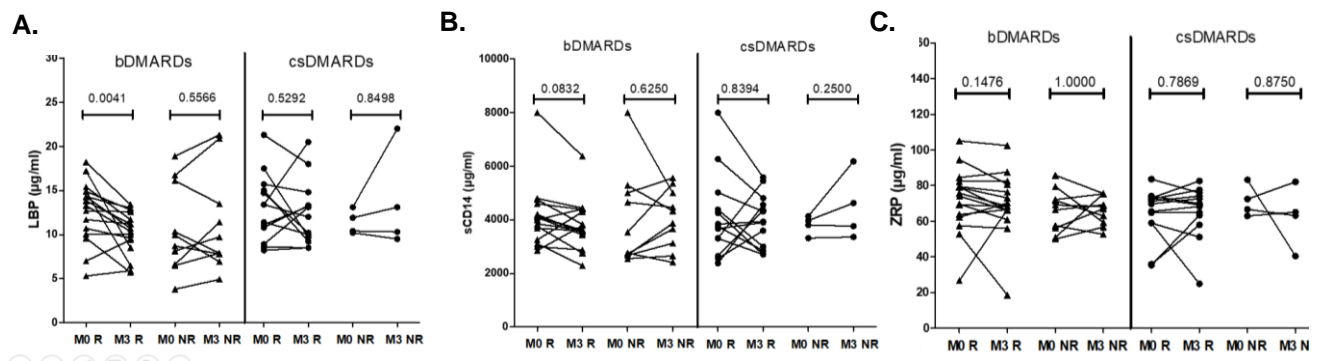


Figure 12. La LBP (A), le sCD14 (B) et le ZRP (C) ont été évalués avant et 3 mois après l'introduction des bDMARD ou csDMARD. Les répondeurs (R = réponse bonne ou modérée) et les non-répondeurs (NR) ont été définis à l'aide des critères de réponse EULAR. Analyses par tests de Wilcoxon.

Un groupe supplémentaire de 5 patients traités par Tocilizumab, un autre bDMARD ciblant le récepteur de l'IL-6, a été inclus pour évaluer si les effets observés avec les anti-TNF α dépendaient de la classe thérapeutique ou non. Tous les patients traités par Tocilizumab ont obtenu une réponse clinique bonne ($n=3$) ou modérée ($n=2$) et présentaient une diminution de la LBP et des sCD14 à 3 mois (**Figure 13 A-B**), ce qui suggère que les médicaments anti-TNF α et anti-IL6 récepteur améliorent tous deux la perméabilité intestinale. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que le blocage des cytokines et le contrôle efficace de l'inflammation sont nécessaires pour restaurer la perméabilité intestinale.

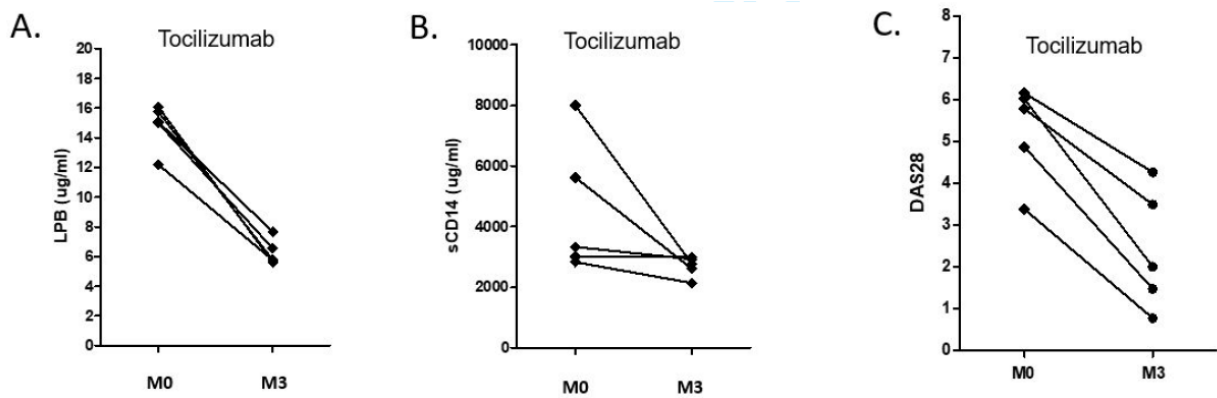


Figure 13. LBP (A) et sCD14 (B) ont été évalués avant et 3 mois après l'introduction du Tocilizumab chez 5 patients qui étaient insuffisamment répondeurs aux anti-TNF α .

3.5 La perméabilité intestinale chez les patients atteints de PR n'est pas associée à la réponse future aux DMARD

Comme la perméabilité intestinale est en corrélation avec l'inflammation et la réponse aux médicaments, nous avons cherché à savoir si nous pouvions identifier les répondeurs et les non-répondeurs par leur perméabilité intestinale de base. Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la réponse EULAR aux DMARD à 3 mois et les marqueurs de la perméabilité intestinale à l'inclusion (**Figure 14 A-C**), ne permettant pas d'affirmer que la perméabilité intestinale puisse être un facteur prédictif de réponse thérapeutique.

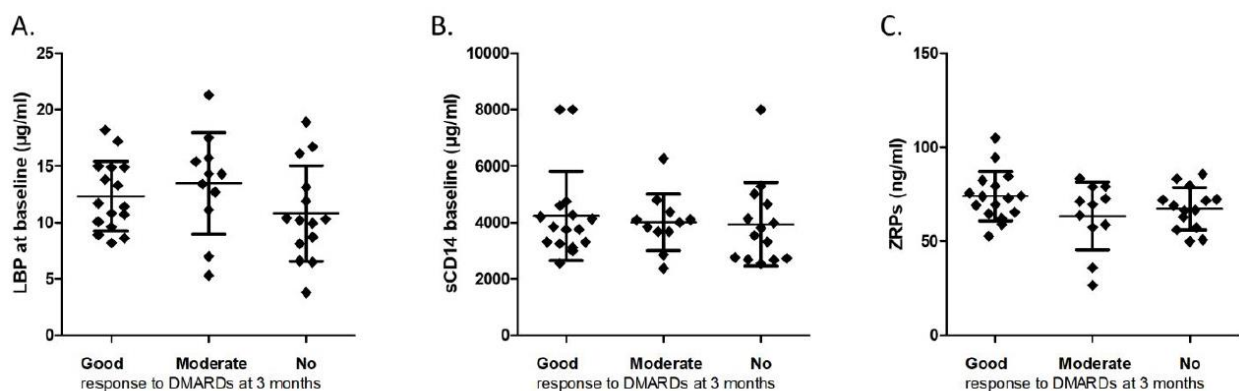


Figure 14. Comparaison des marqueurs de la perméabilité intestinale LBP (A), sCD14 (B) et ZRP (C) chez les patients ayant une réponse bonne, modérée ou sans réponse aux DMARD, selon les critères EULAR. Analyses par tests de Mann-Whitney.

AU TOTAL

- Sur les colons de PR, stigmates **d'altération de la barrière intestinale** avec diminution significative de l'expression de ZO-1, un composant des jonctions serrées.
- Marqueurs sériques de **translocation bactérienne** augmentés dans la PR et **zonuline semblant augmentée dans la PR sévère**.
- **Normalisation des marqueurs de translocation bactérienne** sous traitement (csDMARD ou bDMARD) à 3 mois **chez les patients répondeurs**, pas chez les non-répondeurs, suggérant que l'effet est médié par le contrôle de l'inflammation.
- La **perméabilité intestinale** à l'initiation d'un DMARD n'est **pas prédictive** d'une réponse thérapeutique ultérieure.

4. DISCUSSION

Dans la présente étude, nous avons établi que :

- 1) Les patients atteints de PR ont une rupture d'intégrité de la barrière intestinale dans le côlon, avec une diminution de l'expression de ZO-1 ;
- 2) Les patients atteints de PR ont des taux augmentés de marqueurs sériques de perméabilité intestinale, et ceux-ci sont positivement corrélés à l'activité de la maladie ;
- 3) La réponse clinique aux DMARD est corrélée à une diminution de ces marqueurs de perméabilité intestinale.

À notre connaissance, il s'agit de la première étude portant sur les jonctions serrées dans le côlon de patients atteints de PR et sur les modifications de la perméabilité intestinale induites par les DMARD.

4.1 La PR est caractérisée par une altération des jonctions serrées et une augmentation de la perméabilité intestinale qui sont corrélées à l'activité de la maladie

Les premières études qui ont exploré la perméabilité intestinale chez les patients atteints de PR établie étaient limitées dans leur conception, soit avec un très grand nombre de patients, soit sans groupe contrôle, ce qui rendait difficile toute conclusion sur la perméabilité intestinale dans la PR.

Deux études récentes ont décrit une augmentation de la perméabilité intestinale au début de la PR (71,106). Tajik et al. ont analysé, à l'aide d'un test d'absorption de lactulose/mannitol et de marquages immunohistochimiques de jonctions serrées (occludine et claudine-1), des biopsies de la muqueuse iléale chez 10 patients ayant une PR débutante (n'ayant jamais reçu de traitement de fond) et 10 patients ayant une PR établie active (DAS28 > 3,2) qui avaient passé une coloscopie de dépistage. Les taux de zonuline sérique ont également été analysés par ELISA et étaient issus d'un échantillon de patients différents de ceux des biopsies coliques : 52 témoins sains, 86 patients au stade pré-PR et 68 patients ayant une PR avérée. Les patients pré-PR étaient définis comme ayant des ACPA IgG positifs mais sans preuve passée ou présente de gonflement articulaire. Les patients atteints de PR répondaient aux critères ACR/EULAR 2010 et devaient être positifs aux ACPA. Les auteurs ont trouvé une plus faible expression de l'occludine et de la claudine-1 sur les biopsies iléales des patients PR (récentes et établies) par rapport aux témoins sains ($p < 0,001$). L'évaluation fonctionnelle

de la perméabilité intestinale chez ces patients a montré une augmentation du rapport lactulose/mannitol urinaire, caractéristique d'une perméabilité intestinale altérée ($p < 0,001$). Aucune différence n'a été observée entre les PR récentes et établies. En outre, les auteurs ont montré une augmentation significative de la zonuline chez les PR ($p < 0,001$), qui était également constatée chez les patients pré-PR ($p < 0,05$), par rapport aux contrôles sains [12]. L'analyse longitudinale a révélé que les individus pré-PR présentant des taux élevés de zonuline ($> 10\text{ng/ml}$) avaient un risque élevé de développer une PR dans un délai d'un an ($p = 0,0052$). Les taux de sCD14 ont également été analysés : ils étaient corrélés avec les taux de zonuline, alors qu'aucune corrélation n'a été trouvée avec la CRP ou la VS. Enfin, dans les modèles murins de CIA, plusieurs observations ont été faites par les auteurs, issues d'analyses de biopsies iléales et coliques post-mortem et de sang périphérique :

- 1) début d'une augmentation des marqueurs de perméabilité intestinale dans l'iléon (via le rapport lactulose/mannitol urinaire) **avant** la survenue d'arthrites et persistant ensuite ($n = 5$, $p < 0,01$) ;
- 2) baisse d'expression des protéines de jonctions serrées ZO-1 et occludine dans le colon **avant** la survenue d'arthrites et persistant ensuite temporairement ($n = 6$, $p < 0,01$) ;
- 3) différenciation des sous-populations de LT vers un phénotype cellulaire de type Th1 ($\text{CD4}^+ \text{IFN}\gamma^+$) et Th17 ($\text{CD4}^+ \text{IL-17}^+$) dans l'iléon et le colon **avant** la survenue d'arthrites.

Les auteurs ont ainsi démontré que la perturbation de la barrière intestinale se produit avant la survenue de l'arthrite murine et de la PR chez l'Homme et persiste ensuite, l'identifiant comme véritable potentiel point de départ pour la transition de l'auto-immunité à l'inflammation articulaire. Cela suggère donc qu'elle pourrait être impliquée dans le déclenchement de la PR, voire prédictive de sa survenue. La zonuline apparaît être un facteur central dans ce processus car elle perturbe les protéines des JS intestinales, augmente la perméabilité et conduit à l'infiltration de LT Th1 et Th17 dans la lamina propria des tissus intestinaux avant l'apparition de l'arthrite murine et humaine.

Dans la présente étude, nous avons décrit pour la première fois une altération des JS dans le côlon de patients atteints de PR, avec une diminution d'un composant clé des JS qui est ZO-1. Le côlon est connu pour être la partie du tube digestif où le microbiote intestinal est le plus concentré ; l'analyse des JS et de la perméabilité intestinale à ce niveau avait donc toute son importance pour évaluer la dysbiose intestinale via une rupture d'intégrité de la barrière. Les marqueurs sériques de perméabilité intestinale tels que LBP et sCD14 étaient également augmentés dans la PR

(naïve de DMARD et sévère), néanmoins nous n'avons pas trouvé de résultat significatif pour les taux de ZRP. De nombreuses études ont établi une association entre la zonuline/ZRP sérique et la perméabilité intestinale, y compris dans la PR (68–71). Les kits commerciaux utilisés pour détecter la zonuline dans le sérum sont controversés (190,191), et l'on soupçonne qu'ils permettent de détecter une famille plus large de protéines structurellement apparentées, appelées ZRP (68,70,188). Cela peut donc expliquer pourquoi nous n'avons pas détecté de changements significatifs chez les patients atteints de PR. Par ailleurs, d'autres mécanismes indépendants de la zonuline pourraient participer aux fuites intestinales dans la PR établie : l'activation des voies de signalisation intracellulaires (MAP kinases) par deux cytokines pro-inflammatoires bien décrites dans cette maladie et cibles de nombreuses thérapeutiques telles que, d'une part, l'activation de ERK1/2 induite par le TNF α et, d'autre part, celle de JNK (Jun N-terminal Kinase) par l'IL-6 (192,193).

L'autre étude, celle de Matei et al, a analysé trois marqueurs sériques de perméabilité intestinale, dont le LPS et la LBP, chez les patients PR (récente et établie) et pré-PR (définis comme ayant des ACPA et/ou FR positifs, des arthralgies, mais pas de synovite) (106). Ils ont trouvé une augmentation significative isolée du LPS chez les sujets pré-PR ; une augmentation significative et importante de la LBP et moindre du LPS dans la PR précoce ; et une augmentation significative des trois marqueurs dans la PR établie et chez les patients PR n'ayant jamais été traités, **ce qui est concordant avec nos résultats**. En outre, l'analyse de tous les patients atteints de PR a révélé que les concentrations sériques de LBP sont en corrélation directe avec le DAS28 et la CRP, les scores DAS28 et les valeurs de CRP les plus élevés étant observés chez les patients présentant les taux les plus élevés de LBP ($p=0,013$, $r=0,29$). En utilisant des modèles murins d'arthrite auto-immune (K/BxN), les auteurs ont également comparé les niveaux d'expression de ZO-1 dans les cellules épithéliales iléales et coliques entre les « PR » établies, récentes, pré-« PR » et les souris témoins. Ils ont observé une diminution croissante significative de ZO-1 dès le stade pré-« PR », par rapport aux témoins.

Dans la présente étude, nous avons confirmé l'augmentation des marqueurs de perméabilité intestinale LBP et sCD14 dans le sang de patients atteints de PR, y compris de PR précoces. De plus, nous démontrons un lien entre l'inflammation systémique et ces marqueurs de perméabilité intestinale, avec une corrélation significative de LBP avec le DAS28 et la CRP ; et de sCD14 avec le DAS28.

Il est intéressant de noter que dans les deux études précédemment citées, seule la moitié des sujets pré-PR présentaient une altération des marqueurs sériques de perturbation intestinale, ce qui suggère que chez d'autres patients, la maladie peut être provoquée par d'autres facteurs environnementaux tels que le tabagisme ou la parodontite (194).

L'augmentation de la LBP et du sCD14 ne signifie pas que le côlon en est l'origine. En effet, elle peut provenir de l'intestin grêle ; ces biomarqueurs ne sont donc pas seulement le reflet de la fuite du côlon, mais très probablement de la fuite globale du tube digestif, comme cela a été récemment décrit au niveau de l'intestin grêle (71).

Il est également vrai que la LBP et le sCD14 peuvent être associés à une infection sans lien. Cependant, une infection en cours ou récente était un critère d'exclusion dans notre étude. La PLTP est une protéine impliquée dans la clairance des LPS qui est augmentée dans le plasma pendant une infection (195). Pour exclure l'implication de l'infection dans l'augmentation de la LBP observée, nous avons mesuré l'activité de la PLTP dans certains des sérums encore disponibles (n=17). Aucune différence n'a pu être détectée entre les taux sériques de la PLTP chez les patients atteints de PR et les témoins sains (1713 ± 355 et 1472 ± 392 UA/min respectivement, $p=0,43$) (11), et aucune corrélation n'a été trouvée avec le DAS28 ou la CRP, montrant qu'une infection ne pouvait pas expliquer l'augmentation de la LBP et du sCD14 chez les patients atteints de PR. Bien que largement utilisés, les marqueurs sériques ne font toujours pas l'objet d'un consensus, c'est pourquoi nous attestons de l'hyperperméabilité dans l'intestin lui-même comme une preuve supplémentaire de la fuite intestinale globale.

4.2 Cibler le microbiote intestinal pour traiter la PR ?

La dysbiose et la fuite intestinale qui s'ensuit ont été observées dans de nombreux modèles de maladies, la question de savoir s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence de la maladie restant néanmoins sans réponse.

On sait que la dysbiose intestinale affecte les taux d'AGCC dans l'intestin. Il a été démontré que le butyrate diminue la translocation bactérienne et renforce la fonction de la barrière intestinale. Dans les modèles murins de CIA de l'étude de Tajik et al., il a été observé un changement dans les genres et les familles du microbiote intestinal très tôt après le début de l'immunisation et ce **avant** l'apparition de l'arthrite, en constatant des différences dans le contenu fécal dès le troisième jour après l'immunisation des souris

(71). En effet, il a été objectivé un enrichissement en *Lactobacillus* et une diminution en *Bactéroïdes*. Conformément à ces changements de composition du microbiote après induction de l'arthrite, les taux de butyrate ont changé, chutant juste avant l'apparition de l'arthrite, ce qui indique une modification de la composition du microbiote qui va de concert avec une rupture d'intégrité de la barrière intestinale. Chez la souris, la restauration de la barrière intestinale, soit en ciblant directement la fonction de barrière intestinale (administration de butyrate), soit en utilisant un antagoniste de la zonuline (acétate de larazotide ou AT-1001), a permis d'atténuer l'arthrite, de diminuer la perméabilité intestinale et les taux de zonuline sérique dans les récentes études de Tajik et Matei et al. (71,106).

Ainsi, certaines études récentes ayant démontré la survenue de la dysbiose intestinale avant celle de l'arthrite et une restauration possible médiée par les métabolites alimentaires, l'identification de l'hyperperméabilité intestinale chez les patients à risque de PR pourrait guider l'évaluation de **stratégies de prévention** ciblant la barrière intestinale, par exemple la supplémentation en fibres ou en AGCC, spécifiquement dans cette population.

Les traitements actuels de la PR sont extrêmement coûteux pour notre système de santé avec parmi eux 2 des 10 médicaments les plus chers du marché, coûtant à eux seuls plus de 650 millions d'euros par an à l'état français. L'étiologie de la PR quant à elle reste méconnue. L'incidence augmente dans les pays industrialisés de façon parallèle à celle de l'obésité, suggérant que le mode de vie occidental dont particulièrement l'alimentation pourrait être impliqué dans sa physiopathologie.

L'alimentation occidentale est une alimentation hautement transformée, riche en sucres et graisses et pauvre en vitamines et fibres alimentaires. Or, les fibres alimentaires sont essentielles au développement de certaines bactéries au niveau de notre tube digestif. Les fibres alimentaires sont des polysaccharides complexes d'origine végétale qui ne peuvent pas être dégradées par les enzymes humaines. Elles atteignent donc intactes le colon où elles sont une source énergétique majeure pour certaines bactéries intestinales qui sont bénéfiques pour la santé. **La fermentation des fibres par ces bactéries libérant des AGCC, l'hypothèse dans la PR serait que ces derniers favorisent le développement de cellules immunitaires anti-inflammatoires et régulent à la baisse l'activité de la maladie** (196). Outre un potentiel thérapeutique des fibres dans une stratégie de prévention primaire, elles pourraient également permettre de rétablir une symbiose intestinale et améliorer l'activité de la PR.

L'étude « SUPER-FIBRES » (**S**upplémentation des patients atteints de **P**olyarthrite **R**humatoïde en **f**ibres alimentaires pour améliorer leur microbiote intestinal et traiter leur polyarthrite), dirigée par Pr Daiën (identifiant ClinicalTrials : NCT04421313) et pour laquelle j'ai participé aux inclusions qui sont en cours, est une étude interventionnelle randomisée contrôlée contre placebo, réalisée en double aveugle, comparant la variation d'AGCC après 4 semaines de traitement soit par supplémentation en fibres (12g/jour d'inuline) soit par placebo. Elle a pour objectif principal de déterminer si une supplémentation en fibres permet d'augmenter les concentrations sériques d'AGCC des patients atteints de PR. Pour cela, 29 patients atteints de PR traités uniquement par des csDMARD à dose stable et présentant une activité modérée (DAS28 entre 3,2 et 5,1) seront recrutés dans chaque bras (bras « fibres » et bras « placebo ») et 29 témoins présentant une pathologie mécanique (arthrose, tendinite) constitueront le troisième bras. Les patients traités par thérapie ciblée et fortes doses de corticoïdes (>10 mg/j per os) ne seront pas inclus. Le sang, les selles et l'activité clinique des patients seront recueillis à l'initiation du traitement et à 4 semaines. Le critère de jugement principal est la variation du taux d'AGCC entre les valeurs à baseline et à la 4^{ème} semaine. Les objectifs secondaires sont de comparer, à 4 semaines, entre le groupe « fibres » et le groupe placebo : la variation du DAS28, la proportion de patients ayant atteint la rémission (DAS28 < 2,6), la variation de retentissement de la PR (par le questionnaire RAID : Rheumatoid Arthritis Impact of Disease) et le changement de cellules immunitaires (LBreg, LTreg, Th17). Il s'agira également de comparer par ARN16S à la 4^{ème} semaine les microbiotes des patients PR supplémentés en fibres et les sujets témoins non atteints de PR. Cette étude va permettre de savoir si les fibres alimentaires peuvent corriger la dysbiose des patients atteints de PR et améliorer l'arthrite. De plus, l'analyse du microbiote pourra mettre en évidence des germes associés à l'amélioration de la PR et conduire à de nouvelles pistes thérapeutiques basées sur des suppléments alimentaires et/ou des probiotiques.

4.3 Les bDMARD restaurent l'intégrité de la barrière intestinale chez les patients répondeurs

D'autre part, l'inflammation systémique peut également induire une dysbiose et une perturbation de la barrière intestinale. **Dans cette étude, l'inflammation et l'activité de la maladie sont corrélées aux marqueurs de perméabilité intestinale et leur diminution après un traitement par DMARD est corrélée à la diminution de ces**

biomarqueurs. En revanche, les taux d'expression de ZO-1 étaient similaires chez les patients atteints de PR, indépendamment de l'utilisation de DMARD. A notre connaissance, aucune étude à ce jour n'a évalué l'évolution de l'expression des protéines de jonctions serrées avant et après l'introduction de DMARD chez l'Homme, chose que l'on comprend aisément en raison de la faible faisabilité (et d'un certain manque d'éthique) d'une telle étude qui nécessiterait de répéter la coloscopie chez tous les patients. **Dans le même ordre d'idées, nous avons constaté que les patients qui répondaient aux DMARD avaient des taux de marqueurs de perméabilité intestinale significativement réduits, ce qui n'était pas le cas chez les non-répondeurs, confirmant un lien dynamique entre l'intégrité intestinale et l'inflammation systémique.** En concordance avec nos résultats, une étude avait démontré la tendance à la « normalisation » du microbiote à l'introduction d'un traitement de fond par MTX chez les patients atteints de PR naïve de tout traitement, et ce chez les patients bon répondeurs et répondeurs modérés selon les critères EULAR (161).

Il est à noter que la plupart des patients sous bDMARD étaient également traités par csDMARD (84,2% avec un co-traitement dont 8 sous LFN et 23 sous MTX), seuls 6 patients étaient en monothérapie. Cependant, chez ces patients en monothérapie, la réponse EULAR était faible ou nulle (NR=5 et modérée n=1) et nous n'avons pas pu détecter de LBP ou de diminution des sCD14, conformément à la **figure 12**.

Nos données soulignent la nécessité d'explorer la perméabilité intestinale chez les sujets à risque avant l'apparition de tout symptôme (c'est-à-dire les apparentés au premier degré et/ou les sujets asymptomatiques positifs aux ACPA et/ou FR) car la présence d'une inflammation systémique induit en soi une augmentation de la perméabilité intestinale. De plus, la présence d'arthralgies est souvent associée à l'utilisation d'AINS qui induisent également une fuite intestinale. Il est intéressant de noter que l'effet du contrôle de l'inflammation sur la perméabilité intestinale n'a été trouvé que chez les patients traités par bDMARD (en combinaison avec un csDMARD), ce qui suggère l'implication de cytokines spécifiques comme cela a été proposé précédemment (106,192,193). En accord avec cela, nous avons trouvé une corrélation significative entre les taux sériques de la LBP et les concentrations de TNF α .

À notre connaissance, il s'agit de la première étude comparant l'effet de différents DMARD sur la perméabilité intestinale dans la PR. La pertinence clinique de l'utilisation d'un bDMARD précoce ciblant le TNF- α ou l'IL-6 plutôt qu'un csDMARD seul chez les patients présentant une perméabilité intestinale accrue mériterait d'être explorée dans une étude prospective future. Nous ne pensons pas

que le mode d'administration soit l'explication des changements spécifiques de la perméabilité intestinale avec les bDMARD. La prise d'un médicament par voie entérale, par exemple le MTX, pourrait conceptuellement augmenter l'effet sur la perméabilité intestinale par un effet local sur la dysbiose et les cellules épithéliales en plus du contrôle systémique de l'inflammation. Pourtant, nous avons observé que la perméabilité intestinale diminuait préférentiellement avec les médicaments administrés par voie sous-cutanée (bDMARD). De plus, des travaux antérieurs sur l'effet du Méthotrexate sur la dysbiose n'ont pas trouvé de différence entre les patients traités par voie orale ou sous-cutanée (197).

4.4 La perméabilité intestinale : futur biomarqueur prédictif de réponse thérapeutique dans la PR ?

Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la réponse EULAR aux DMARD à 3 mois, qu'elle soit modérée ou bonne, et les marqueurs de la perméabilité intestinale à l'initiation du traitement de fond (Figure 14), ne permettant pas d'affirmer que la perméabilité intestinale puisse être un facteur prédictif de réponse thérapeutique.

Pour ce qui est du microbiote intestinal, il est capable de modifier la forme (active bénéfique, active nocive, inactive) des médicaments en agissant sur leur métabolisation, et de modifier également leur biodisponibilité en agissant soit sur l'expression des cytochromes P450 situés au niveau hépatique et intestinal soit sur le changement des acides biliaires. Concernant les traitements de la PR en particulier, on dispose de plusieurs données sur le MTX. Il a été signalé que l'administration de fortes doses de MTX produit une activité antibactérienne, diminuant ainsi in vivo l'abondance des *Bacteroidetes* et l'augmentation des *Firmicutes* (160).

Des études in vivo et in vitro ont révélé que le microbiote intestinal joue un rôle dans la métabolisation d'environ 50 médicaments (198), notamment par la réduction de leur fraction active par certaines souches bactériennes, ce qui permettrait de suggérer que la biodisponibilité des DMARD est soumise au métabolisme bactérien (160). C'est ainsi que l'étude d'Artacho et al. en 2020 a montré que le microbiote intestinal influence la réponse au MTX et qu'il permet aussi de prédire la réponse au MTX avant tout traitement dans la PR (199). En effet, le microbiote intestinal des patients répondant au MTX élimine en réalité moins le MTX, les concentrations sériques sont supérieures que celles des patients ne répondant pas au MTX. Par ailleurs, les patients répondeurs ont

significativement un microbiote intestinal moins diversifié ($p < 0,05$). Dans l'ensemble, ces résultats constituent une première étape vers la supposition de l'absence de réponse au MTX par voie orale chez les patients atteints d'une PR récente et soutiennent la valeur du microbiome intestinal comme outil pronostique possible et cible potentielle dans les traitements de la PR.

4.5 Limites de l'étude

Notre étude souffre de **certaines limites**. Tout d'abord, il s'agissait pour l'analyse des tissus coliques de PR plutôt anciennes et traitées. Par ailleurs, en raison de la conception rétrospective, nous n'avons pas pu disposer des sérums et des biopsies du côlon chez les mêmes patients. Pour une étude future, il serait idéal de disposer des deux pour confirmer la validité de ces biomarqueurs dans le contexte de l'inflammation. Cependant, la nature invasive d'une telle procédure, surtout si elle doit être répétée au cours du traitement, en limiterait la faisabilité.

Une autre limite est l'utilisation d'AINS, surtout chez les patients naïfs de DMARD et constituant le groupe traité par csDMARD pendant le suivi. La seule conclusion possible des études antérieures ayant évalué la perméabilité intestinale était un effet néfaste des AINS sur la barrière intestinale, ce qui est aujourd'hui bien connu (20,189). En effet, ces derniers favorisent les lésions de la muqueuse épithéliale de l'intestin. La proportion de PR naïves sous AINS dans notre étude était non négligeable (environ 43%). Cependant, lorsque les patients atteints de PR naïve ayant pris des AINS ont été exclus de l'analyse, les taux de la LBP et du sCD14 étaient toujours plus augmentés que chez les contrôles ($p=0,0018$ et $p=0,0017$, respectivement) (**Figure 8**).

L'utilisation d'AINS n'a été signalée que dans l'une des deux études récentes sur la perméabilité intestinale de la PR et les résultats sont concordant avec les nôtres (106). Les taux de LPS et LBP sont restés significativement plus élevés après exclusion des patients traités par AINS. De plus, aucune différence n'a été observée dans les taux des marqueurs de perméabilité intestinale lorsque les patients ont été stratifiés en fonction du traitement, ce qui exclut un rôle putatif des AINS dans l'augmentation des marqueurs de perméabilité intestinale que nous observons dans cette maladie.

On pourrait avancer que l'utilisation d'AINS dans le groupe csDMARD masquerait l'impact des csDMARD sur la perméabilité intestinale. Cependant, l'utilisation des AINS était à la demande et diminuait au fur et à mesure que l'état des patients s'améliorait. Nous nous attendrions donc à ce que les marqueurs de perméabilité diminuent chez les

patients atteints de PR naïve qui répondent au traitement par csDMARD, contrairement à ce que nous avons observé. Par conséquent, l'impact des csDMARD sur le dysfonctionnement de la barrière intestinale dans la PR semble limité.

Enfin, le microbiote intestinal n'a dans cette étude pu être analysé. Son rôle et celui de ses variations dans les changements observés de la barrière intestinale ne peuvent qu'être supposés, en lien avec la riche littérature précédemment décrite illustrant ses nombreux effets sur la barrière et la perméabilité intestinale.

4.6 Conclusion de l'étude

AU TOTAL

- **Nous avons confirmé que la PR est associée à une augmentation de la perméabilité intestinale, car les JS étaient altérées dans le tissu colique des patients atteints de PR et les marqueurs sériques de la perméabilité intestinale étaient significativement augmentés chez les patients atteints de PR naïve et établie.**
- **Les marqueurs sériques de la perméabilité intestinale semblent être corrélés à l'activité de la maladie ; et le contrôle efficace de l'activité de la PR par des bDMARD ciblant le TNF α ou l'IL-6 a normalisé la perméabilité intestinale, suggérant un dialogue dynamique entre l'intestin et l'inflammation systémique.**
- **Cet effet n'a pas été observé chez les patients traités par des csDMARD, ce qui souligne l'implication potentielle de ces cytokines dans la perméabilité intestinale.**
- **Lors de l'initiation d'un traitement par DMARD, les marqueurs de perméabilité intestinale n'apparaissent pas être prédictifs d'une réponse thérapeutique à 3 mois, quelle que soit le niveau de cette réponse (modérée ou bonne).**
- **La description récente et de plus en plus fine de la dysbiose intestinale dans la PR, tant par des paramètres du microbiote que par des marqueurs physiologiques et immunitaires de l'hôte, permet aujourd'hui d'espérer utiliser sa détection comme moyen diagnostique dans la PR, mais aussi de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques (antagoniste de la zonuline, AGCC, probiotiques de nouvelle génération, transplantation de matières fécales).**

5. CONCLUSION

- Les données issues des observations cliniques et des modèles animaux précliniques suggèrent un processus par étapes menant à la PR. Des facteurs génétiques associés à des déclencheurs environnementaux entraînent une rupture de la tolérance immunitaire et une phase d'auto-immunité cliniquement silencieuse qui peut durer des années. Plus tard, en réponse à des déclencheurs encore non identifiés, l'auto-immunité silencieuse se transforme finalement en une maladie inflammatoire cliniquement apparente telle que la PR. Interférer avec ces déclencheurs permettrait de retarder, voire d'inhiber l'apparition de la maladie. Notamment, les traitements actuellement disponibles pour la PR, tels que les bloqueurs de cytokines (TNF- α et IL-6) ou les inhibiteurs de JAK, s'attaquent exclusivement à la phase inflammatoire de la maladie mais n'interfèrent pas avec les processus sous-jacents qui déclenchent l'apparition de l'arthrite, et doivent donc souvent être administrés à vie.
- Des études récentes de bon niveau de preuve ont démontré que les traitements qui améliorent la fonction de la barrière intestinale atténuent les symptômes arthritiques et préviennent également la survenue de l'arthrite. Il s'agit des métabolites microbiens tels que le butyrate, lequel en agissant en puissant régulateur de la zonuline et de la barrière intestinale semble être un des médiateurs essentiels entre la dysbiose microbienne et la fonction de la barrière. Les implications de ces résultats sont considérables, car ils donnent la possibilité de s'attaquer à la transition de l'auto-immunité à l'inflammation en restaurant la fonction de la barrière intestinale et en prévenant ainsi l'apparition de la PR.
- Dans la PR établie, des pistes thérapeutiques visant à cibler la rémission restent à explorer dans des études prospectives : il s'agit des antagonistes de la zonuline (larazotide), des fibres alimentaires (étude SUPERFIBRES), probiotiques de nouvelle génération, et de la transplantation de matières fécales.

BIBLIOGRAPHIE

1. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. mai 2003;423(6937):356-61.
2. McInnes IB. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *The New England Journal of Medicine*. 2011;15.
3. Xu H, Liu M, Cao J, Li X, Fan D, Xia Y, et al. The Dynamic Interplay between the Gut Microbiota and Autoimmune Diseases. *Journal of Immunology Research*. 27 oct 2019;2019:1-14.
4. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. nov 1987;30(11):1205-13.
5. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, Freudenberg J, Lee HS, Jia X, et al. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet*. mars 2012;44(3):291-6.
6. Kampstra ASB, Toes REM. HLA class II and rheumatoid arthritis: the bumpy road of revelation. *Immunogenetics*. août 2017;69(8-9):597-603.
7. Reyes-Castillo Z, Valdés-Miramontes E, Llamas-Covarrubias M, Muñoz-Valle JF. Troublesome friends within us: the role of gut microbiota on rheumatoid arthritis etiopathogenesis and its clinical and therapeutic relevance. *Clin Exp Med*. févr 2021;21(1):1-13.
8. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis & Rheumatism*. janv 2000;43(1):30-7.
9. Symmons DPM, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Silman AJ, Barrett EM, et al. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis. Results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis & Rheumatism*. nov 1997;40(11):1955-61.
10. Tong Y, Zheng L, Qing P, Zhao H, Li Y, Su L, et al. Oral Microbiota Perturbations Are Linked to High Risk for Rheumatoid Arthritis. *Front Cell Infect Microbiol*. 22 janv 2020;9:475.
11. Polzer K, Baeten D, Soleiman A, Distler J, Gerlag DM, Tak PP, et al. Tumour necrosis factor blockade increases lymphangiogenesis in murine and human arthritic joints. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1 nov 2008;67(11):1610-6.
12. Szekanecz Z, Pakozdi A, Szentpetery A, Besenyi T. Chemokines and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Front Biosci*. 2010;12.
13. Genovese MC, Van den Bosch F, Roberson SA, Bojin S, Biagini IM, Ryan P, et al. LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: A phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. *Arthritis & Rheumatism*. 21 janv 2010;62(4):929-39.

14. Bradfield PF, Amft N, Vernon-Wilson E, Exley AE, Parsonage G, Rainger GE, et al. Rheumatoid fibroblast-like synoviocytes overexpress the chemokine stromal cell-derived factor 1 (CXCL12), which supports distinct patterns and rates of CD4+ and CD8+ T cell migration within synovial tissue. *Arthritis & Rheumatism*. sept 2003;48(9):2472-82.
15. Filer A, Parsonage G, Smith E, Osborne C, Thomas AMC, Curnow SJ, et al. Differential survival of leukocyte subsets mediated by synovial, bone marrow, and skin fibroblasts: Site-specific versus activation-dependent survival of T cells and neutrophils. *Arthritis Rheum*. juill 2006;54(7):2096-108.
16. Untersmayr E, Brandt A, Koidl L, Bergheim I. The Intestinal Barrier Dysfunction as Driving Factor of Inflammation. *Nutrients*. 23 févr 2022;14(5):949.
17. Ali A, Tan H, Kaiko GE. Role of the Intestinal Epithelium and Its Interaction With the Microbiota in Food Allergy. *Front Immunol*. 7 déc 2020;11:604054.
18. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM. Leaky Gut As a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 23 mai 2017;8:598.
19. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol*. déc 2014;14(1):189.
20. Hecquet S, Totoson P, Martin H, Prati C, Wendling D, Demougeot C, et al. Intestinal permeability in spondyloarthritis and rheumatoid arthritis: A systematic review of the literature. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. août 2021;51(4):712-8.
21. Farquhar MG, Palade GE. JUNCTIONAL COMPLEXES IN VARIOUS EPITHELIA. *Journal of Cell Biology*. 1 mai 1963;17(2):375-412.
22. Morita K, Itoh M, Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Furuse M, Yoneda K, et al. Subcellular Distribution of Tight Junction-Associated Proteins (Occludin, ZO-1, ZO-2) in Rodent Skin. *Journal of Investigative Dermatology*. juin 1998;110(6):862-6.
23. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *The Journal of Nutrition*. 1 mai 2011;141(5):769-76.
24. Förster C. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochem Cell Biol*. juill 2008;130(1):55-70.
25. Turksen K, Troy TC. Barriers built on claudins. *Journal of Cell Science*. 15 mai 2004;117(12):2435-47.
26. Fasano A, Baudry B, Pumphlin DW, Wasserman SS, Tall BD, Ketley JM, et al. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 15 juin 1991;88(12):5242-6.
27. Asmar RE, Panigrahi P, Bamford P, Berti I, Not T, Coppa GV, et al. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*. nov 2002;123(5):1607-15.

28. Goldblum SE, Rai U, Tripathi A, Thakar M, De Leo L, Di Toro N, et al. The active Zot domain (aa 288–293) increases ZO-1 and myosin 1C serine/threonine phosphorylation, alters interaction between ZO-1 and its binding partners, and induces tight junction disassembly through proteinase activated receptor 2 activation. *FASEB j.* janv 2011;25(1):144-58.
29. McNeil E, Capaldo CT, Macara IG. Zonula Occludens-1 Function in the Assembly of Tight Junctions in Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells □D □V. *Molecular Biology of the Cell.* 2006;17:11.
30. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers.* oct 2016;4(4):e1251384.
31. Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell.* août 2010;1(8):718-25.
32. Dwivedi M, Ansarullah, Radichev I, Kemp EH. Alteration of Immune-Mechanisms by Human Microbiota and Development and Prevention of Human Diseases. *Journal of Immunology Research.* 2017;2017:1-2.
33. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutrition Reviews.* août 2012;70:S38-44.
34. Campeotto F, Waligora-Dupriet AJ, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel MJ. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.* mai 2007;31(5):533-42.
35. Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet JP, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental Microbiology.* oct 2009;11(10):2574-84.
36. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.* sept 2012;489(7415):220-30.
37. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science.* 25 mars 2005;307(5717):1915-20.
38. Carvalho FA, Barnich N, Sivignon A, Darcha C, Chan CHF, Stanners CP, et al. Crohn's disease adherent-invasive *Escherichia coli* colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *Journal of Experimental Medicine.* 28 sept 2009;206(10):2179-89.
39. Wijburg OLC, Uren TK, Simpfendorfer K, Johansen FE, Brandtzaeg P, Strugnell RA. Innate secretory antibodies protect against natural *Salmonella typhimurium* infection. *Journal of Experimental Medicine.* 23 janv 2006;203(1):21-6.
40. Berer K, Krishnamoorthy G. Microbial view of central nervous system autoimmunity. *FEBS Letters.* 17 nov 2014;588(22):4207-13.
41. Raibaud P. [Bacterial ecology of the digestive tract]. *Ann Gastroenterol Hepatol (Paris).* mai 1990;26(3):119-22.

42. Dabard J, Bridonneau C, Phillippe C, Anglade P, Molle D, Nardi M, et al. Ruminococcin A, a New Lantibiotic Produced by a *Ruminococcus gnavus* Strain Isolated from Human Feces. *Appl Environ Microbiol.* sept 2001;67(9):4111-8.
43. Sorg JA, Sonenshein AL. Bile Salts and Glycine as Cogermnants for *Clostridium difficile* Spores. *J Bacteriol.* avr 2008;190(7):2505-12.
44. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol.* mars 2014;14(3):141-53.
45. Johansson MEV, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA.* 30 sept 2008;105(39):15064-9.
46. Kandori H, Hirayama K, Takeda M, Doi K. Histochemical, Lectin-Histochemical and Morphometrical Characteristics of Intestinal Goblet Cells of Germfree and Conventional Mice. *Exp Anim.* 1996;45(2):155-60.
47. Barcelo A. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut.* 1 févr 2000;46(2):218-24.
48. Caballero-Franco C, Keller K, De Simone C, Chadee K. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* janv 2007;292(1):G315-22.
49. Marcobal A, Southwick AM, Earle KA, Sonnenburg JL. A refined palate: Bacterial consumption of host glycans in the gut. *Glycobiology.* 1 sept 2013;23(9):1038-46.
50. Meyer-Hoffert U, Hornef MW, Henriques-Normark B, Axelsson LG, Midtvedt T, Putsep K, et al. Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. *Gut.* 13 févr 2008;57(6):764-71.
51. Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E, Harriman GR, Hengartner H, Zinkernagel RM. A Primitive T Cell-Independent Mechanism of Intestinal Mucosal IgA Responses to Commensal Bacteria. *Science.* 23 juin 2000;288(5474):2222-6.
52. Hoffmann TW, Pham HP, Bridonneau C, Aubry C, Lamas B, Martin-Gallausiaux C, et al. Microorganisms linked to inflammatory bowel disease-associated dysbiosis differentially impact host physiology in gnotobiotic mice. *ISME J.* févr 2016;10(2):460-77.
53. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell.* juill 2004;118(2):229-41.
54. Okumura R, Takeda K. Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis. *Exp Mol Med.* mai 2017;49(5):e338-e338.
55. Ismail AS, Behrendt CL, Hooper LV. Reciprocal Interactions between Commensal Bacteria and $\gamma\delta$ Intraepithelial Lymphocytes during Mucosal Injury. *J Immunol.* 1 mars 2009;182(5):3047-54.

56. Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like Receptors and the Control of Immunity. *Cell*. mars 2020;180(6):1044-66.
57. Rescigno M. Intestinal microbiota and its effects on the immune system: The immune system and the microbiota. *Cell Microbiol*. juill 2014;16(7):1004-13.
58. Suzuki K, Meek B, Doi Y, Muramatsu M, Chiba T, Honjo T, et al. Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proc Natl Acad Sci USA*. 17 févr 2004;101(7):1981-6.
59. Ruff WE, Kriegel MA. Autoimmune host–microbiota interactions at barrier sites and beyond. *Trends in Molecular Medicine*. avr 2015;21(4):233-44.
60. Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*. août 2018;174(5):1054-66.
61. Woese CR. A proposal concerning the origin of life on the planet earth. *J Mol Evol*. juin 1979;13(2):95-101.
62. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, et al. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. *Appl Environ Microbiol*. nov 1999;65(11):4799-807.
63. Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*. mars 1995;59(1):143-69.
64. Gill SR, Pop M, DeBoy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science*. 2 juin 2006;312(5778):1355-9.
65. Ronsmans S, Hougaard KS, Nawrot TS, Plusquin M, Huaux F, Cruz MJ, et al. The EXIMIOUS project—Mapping exposure-induced immune effects: connecting the exposome and the immunome. *Environmental Epidemiology*. févr 2022;6(1):e193.
66. Uhde M, Ajamian M, Caio G, De Giorgio R, Indart A, Green PH, et al. Intestinal cell damage and systemic immune activation in individuals reporting sensitivity to wheat in the absence of coeliac disease. *Gut*. déc 2016;65(12):1930-7.
67. Seethaler B, Basrai M, Neyrinck AM, Nazare JA, Walter J, Delzenne NM, et al. Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1 juill 2021;321(1):G11-7.
68. Fasano A. Zonulin measurement conundrum: add confusion to confusion does not lead to clarity. *Gut*. oct 2021;70(10):2007.2-2008.
69. Ciccia F, Guggino G, Rizzo A, Alessandro R, Luchetti MM, Milling S, et al. Dysbiosis and zonulin upregulation alter gut epithelial and vascular barriers in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. juin 2017;76(6):1123-32.

70. Wang X, Memon AA, Palmér K, Hedelius A, Sundquist J, Sundquist K. The association of zonulin-related proteins with prevalent and incident inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* déc 2022;22(1):3.
71. Tajik N, Frech M, Schulz O, Schälter F, Lucas S, Azizov V, et al. Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis. *Nat Commun.* déc 2020;11(1):1995.
72. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res.* juin 2020;30(6):492-506.
73. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* mai 2009;9(5):313-23.
74. Caballero S, Pamer EG. Microbiota-Mediated Inflammation and Antimicrobial Defense in the Intestine. *Annu Rev Immunol.* 21 mars 2015;33(1):227-56.
75. Bouskra D, Brézillon C, Bérard M, Werts C, Varona R, Boneca IG, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature.* nov 2008;456(7221):507-10.
76. Couturier-Maillard A, Secher T, Rehman A, Normand S, De Arcangelis A, Haesler R, et al. NOD2-mediated dysbiosis predisposes mice to transmissible colitis and colorectal cancer. *J Clin Invest.* 2 janv 2013;JCI62236.
77. Rehman A, Sina C, Gavrilova O, Hasler R, Ott S, Baines JF, et al. Nod2 is essential for temporal development of intestinal microbial communities. *Gut.* 1 oct 2011;60(10):1354-62.
78. Hooper LV. Epithelial Cell Contributions to Intestinal Immunity. In: *Advances in Immunology* [Internet]. Elsevier; 2015 [cité 18 sept 2022]. p. 129-72. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065277614000091>
79. Salzman NH, Bevins CL. Dysbiosis—A consequence of Paneth cell dysfunction. *Seminars in Immunology.* nov 2013;25(5):334-41.
80. Goldberg R, Prescott N, Lord GM, MacDonald TT, Powell N. The unusual suspects—innate lymphoid cells as novel therapeutic targets in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* mai 2015;12(5):271-83.
81. Powell N, Walker AW, Stolarczyk E, Canavan JB, Gökmen MR, Marks E, et al. The Transcription Factor T-bet Regulates Intestinal Inflammation Mediated by Interleukin-7 Receptor+ Innate Lymphoid Cells. *Immunity.* oct 2012;37(4):674-84.
82. Pickard JM, Chervonsky AV. Intestinal Fucose as a Mediator of Host–Microbe Symbiosis. *Jl.* 15 juin 2015;194(12):5588-93.
83. Kato LM, Kawamoto S, Maruya M, Fagarasan S. The role of the adaptive immune system in regulation of gut microbiota. *Immunol Rev.* juill 2014;260(1):67-75.
84. Chen VL, Kasper DL. Interactions between the intestinal microbiota and innate lymphoid cells. *Gut Microbes.* janv 2014;5(1):129-40.

85. Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hooper LV. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc Natl Acad Sci USA*. 30 déc 2008;105(52):20858-63.
86. Kobayashi KS, Chamailard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nuñez G, et al. Nod2-Dependent Regulation of Innate and Adaptive Immunity in the Intestinal Tract. *Science*. 4 févr 2005;307(5710):731-4.
87. Taneja V. Arthritis susceptibility and the gut microbiome. *FEBS Letters*. 17 nov 2014;588(22):4244-9.
88. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 19 déc 2013;504(7480):446-50.
89. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Di Yu, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*. oct 2009;461(7268):1282-6.
90. Daïen CI, Tan J, Audo R, Mielle J, Quek LE, Krycer JR, et al. Gut-derived acetate promotes B10 cells with antiinflammatory effects. *JCI Insight*. 8 avr 2021;6(7):e144156.
91. Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Pieraccini G, et al. Tryptophan Catabolites from Microbiota Engage Aryl Hydrocarbon Receptor and Balance Mucosal Reactivity via Interleukin-22. *Immunity*. août 2013;39(2):372-85.
92. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. mai 2013;19(5):576-85.
93. Yue C, Yang X, Li J, Chen X, Zhao X, Chen Y, et al. Trimethylamine N-oxide prime NLRP3 inflammasome via inhibiting ATG16L1-induced autophagy in colonic epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. août 2017;490(2):541-51.
94. Wang Z, Roberts AB, Buffa JA, Levison BS, Zhu W, Org E, et al. Non-lethal Inhibition of Gut Microbial Trimethylamine Production for the Treatment of Atherosclerosis. *Cell*. déc 2015;163(7):1585-95.
95. Schroeder BO, Bäckhed F. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. *Nat Med*. oct 2016;22(10):1079-89.
96. He B, Xu W, Santini PA, Polydorides AD, Chiu A, Estrella J, et al. Intestinal Bacteria Trigger T Cell-Independent Immunoglobulin A2 Class Switching by Inducing Epithelial-Cell Secretion of the Cytokine APRIL. *Immunity*. juin 2007;26(6):812-26.
97. Lécuyer E, Rakotobe S, Lengliné-Garnier H, Lebreton C, Picard M, Juste C, et al. Segmented Filamentous Bacterium Uses Secondary and Tertiary Lymphoid Tissues to Induce Gut IgA and Specific T Helper 17 Cell Responses. *Immunity*. avr 2014;40(4):608-20.

98. Knoop KA, McDonald KG, McCrate S, McDole JR, Newberry RD. Microbial sensing by goblet cells controls immune surveillance of luminal antigens in the colon. *Mucosal Immunol.* janv 2015;8(1):198-210.
99. Kinashi Y, Hase K. Partners in Leaky Gut Syndrome: Intestinal Dysbiosis and Autoimmunity. *Front Immunol.* 22 avr 2021;12:673708.
100. Perez-Lopez A, Behnsen J, Nuccio SP, Raffatellu M. Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria. *Nat Rev Immunol.* mars 2016;16(3):135-48.
101. Whibley N, Tucci A, Powrie F. Regulatory T cell adaptation in the intestine and skin. *Nat Immunol.* avr 2019;20(4):386-96.
102. Chowdhury SR, King DE, Willing BP, Band MR, Beever JE, Lane AB, et al. Transcriptome profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. *BMC Genomics.* déc 2007;8(1):215.
103. Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, et al. The Toll-Like Receptor 2 Pathway Establishes Colonization by a Commensal of the Human Microbiota. *Science.* 20 mai 2011;332(6032):974-7.
104. Malard F, Dore J, Gaugler B, Mohty M. Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease. *Mucosal Immunol.* mai 2021;14(3):547-54.
105. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM. Leaky Gut As a Danger Signal for Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 23 mai 2017;8:598.
106. Matei DE, Menon M, Alber DG, Smith AM, Nedjat-Shokouhi B, Fasano A, et al. Intestinal barrier dysfunction plays an integral role in arthritis pathology and can be targeted to ameliorate disease. *Med.* juill 2021;2(7):864-883.e9.
107. The International IBD Genetics Consortium (IIBDGC), Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, et al. Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature.* nov 2012;491(7422):119-24.
108. Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijis I, Eeckhaut V, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut.* août 2014;63(8):1275-83.
109. Qi CJ, Zhang Q, Yu M, Xu JP, Zheng J, Wang T, et al. Imbalance of Fecal Microbiota at Newly Diagnosed Type 1 Diabetes in Chinese Children. *Chinese Medical Journal.* 5 juill 2016;129(11):1298-304.
110. Zeissig S, Burgel N, Gunzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut.* 1 janv 2007;56(1):61-72.
111. Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, et al. Interleukin-13 Is the Key Effector Th2 Cytokine in Ulcerative Colitis That Affects Epithelial Tight

- Junctions, Apoptosis, and Cell Restitution. *Gastroenterology*. août 2005;129(2):550-64.
112. Bosi E, Molteni L, Radaelli MG, Folini L, Fermo I, Bazzigaluppi E, et al. Increased intestinal permeability precedes clinical onset of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 9 nov 2006;49(12):2824-7.
113. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. déc 2006;444(7122):1022-3.
114. Mankertz J, Schulzke JD. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications: *Current Opinion in Gastroenterology*. juill 2007;23(4):379-83.
115. Scher JU, Sczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife*. 5 nov 2013;2:e01202.
116. Alpizar-Rodriguez D, Lesker TR, Gronow A, Gilbert B, Raemy E, Lamacchia C, et al. *Prevotella copri* in individuals at risk for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. mai 2019;78(5):590-3.
117. Pianta A, Arvikar SL, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE, et al. Two rheumatoid arthritis-specific autoantigens correlate microbial immunity with autoimmune responses in joints. *Journal of Clinical Investigation*. 26 juin 2017;127(8):2946-56.
118. Flak MB, Colas RA, Muñoz-Atienza E, Curtis MA, Dalli J, Pitzalis C. Inflammatory arthritis disrupts gut resolution mechanisms, promoting barrier breakdown by *Porphyromonas gingivalis*. *JCI Insight*. 11 juill 2019;4(13):e125191.
119. Suárez LJ, Garzón H, Arboleda S, Rodríguez A. Oral Dysbiosis and Autoimmunity: From Local Periodontal Responses to an Imbalanced Systemic Immunity. A Review. *Front Immunol*. 8 déc 2020;11:591255.
120. Gómez-Bañuelos E, Mukherjee A, Darrah E, Andrade F. Rheumatoid Arthritis-Associated Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *JCM*. 26 août 2019;8(9):1309.
121. Ceccarelli F, Saccucci M, Di Carlo G, Lucchetti R, Piloni A, Pranno N, et al. Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: The Same Inflammatory Mediators? Mediators of Inflammation. 5 mai 2019;2019:1-8.
122. Chen HH, Huang N, Chen YM, Chen TJ, Chou P, Lee YL, et al. Association between a history of periodontitis and the risk of rheumatoid arthritis: a nationwide, population-based, case-control study. *Ann Rheum Dis*. juill 2013;72(7):1206-11.
123. Bae SC, Lee YH. Association between anti-*Porphyromonas gingivalis* antibody, anti-citrullinated protein antibodies, and rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Z Rheumatol*. août 2018;77(6):522-32.
124. Darrah E, Andrade F. Rheumatoid arthritis and citrullination. *Current Opinion in Rheumatology*. janv 2018;30(1):72-8.

125. Holers VM, Demoruelle MK, Kuhn KA, Buckner JH, Robinson WH, Okamoto Y, et al. Rheumatoid arthritis and the mucosal origins hypothesis: protection turns to destruction. *Nat Rev Rheumatol.* sept 2018;14(9):542-57.
126. Farquharson D, Butcher JP, Culshaw S. Periodontitis, Porphyromonas, and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Mucosal Immunol.* mars 2012;5(2):112-20.
127. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from Porphyromonas gingivalis citrullinates human fibrinogen and α -enolase: Implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* sept 2010;62(9):2662-72.
128. Konig MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* –induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med [Internet].* 14 déc 2016 [cité 18 sept 2022];8(369). Disponible sur: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aaj1921>
129. Bennike TB, Ellingsen T, Glerup H, Bonderup OK, Carlsen TG, Meyer MK, et al. Proteome Analysis of Rheumatoid Arthritis Gut Mucosa. *J Proteome Res.* 6 janv 2017;16(1):346-54.
130. Kinslow JD, Blum LK, Deane KD, Demoruelle MK, Okamoto Y, Parish MC, et al. Elevated IgA Plasmablast Levels in Subjects at Risk of Developing Rheumatoid Arthritis: IgA+ PLASMABLASTS. *Arthritis & Rheumatology.* oct 2016;68(10):2372-83.
131. Zhao ZS, Granucci F, Yeh L, Schaffer PA, Cantor H. Molecular Mimicry by Herpes Simplex Virus-Type I : Autoimmune Disease After Viral Infection. :4.
132. Pianta A, Arvikar S, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE, et al. Evidence of the Immune Relevance of *Prevotella copri* , a Gut Microbe, in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatology.* mai 2017;69(5):964-75.
133. Maeda Y, Kurakawa T, Umemoto E, Motooka D, Ito Y, Gotoh K, et al. Dysbiosis Contributes to Arthritis Development via Activation of Autoreactive T Cells in the Intestine: DYSBIOSIS CONTRIBUTES TO ARTHRITIS DEVELOPMENT. *Arthritis & Rheumatology.* nov 2016;68(11):2646-61.
134. Zanin-Zhorov A, Ding Y, Kumari S, Attur M, Hippen KL, Brown M, et al. Protein Kinase C- θ Mediates Negative Feedback on Regulatory T Cell Function. *Science.* 16 avr 2010;328(5976):372-6.
135. Wu HJ, Ivanov II, Darce J, Hattori K, Shima T, Umesaki Y, et al. Gut-Residing Segmented Filamentous Bacteria Drive Autoimmune Arthritis via T Helper 17 Cells. *Immunity.* juin 2010;32(6):815-27.
136. Chen J, Wright K, Davis JM, Jeraldo P, Marietta EV, Murray J, et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Med.* 21 avr 2016;8(1):43.
137. Randall TD, Mebius RE. The development and function of mucosal lymphoid tissues: a balancing act with micro-organisms. *Mucosal Immunol.* mai 2014;7(3):455-66.

138. Lucchino, Spinelli, Iannuccelli, Guzzo, Conti, Di Franco. Mucosa–Environment Interactions in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Cells*. 10 juill 2019;8(7):700.
139. Budden KF, Gellatly SL, Wood DLA, Cooper MA, Morrison M, Hugenholtz P, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut–lung axis. *Nat Rev Microbiol*. janv 2017;15(1):55-63.
140. Abdollahi-Roodsaz S, Joosten LAB, Koenders MI, Devesa I, Roelofs MF, Radstake TRDJ, et al. Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis. *J Clin Invest*. 2 janv 2008;118(1):205-16.
141. Jubair WK, Hendrickson JD, Severs EL, Schulz HM, Adhikari S, Ir D, et al. Modulation of Inflammatory Arthritis in Mice by Gut Microbiota Through Mucosal Inflammation and Autoantibody Generation. *Arthritis Rheumatol*. août 2018;70(8):1220-33.
142. Courbon G, Rinaudo-Gaujous M, Blasco-Baque V, Auger I, Caire R, Mijola L, et al. *Porphyromonas gingivalis* experimentally induces periodontitis and an anti-CCP2-associated arthritis in the rat. *Ann Rheum Dis*. mai 2019;78(5):594-9.
143. Marietta EV, Murray JA, Luckey DH, Jeraldo PR, Lamba A, Patel R, et al. Suppression of Inflammatory Arthritis by Human Gut-Derived *Prevotella histicola* in Humanized Mice: SUPPRESSION OF INFLAMMATORY ARTHRITIS BY *PREVOTELLA HISTICOLA*. *Arthritis & Rheumatology*. déc 2016;68(12):2878-88.
144. Yeoh N, Burton JP, Suppiah P, Reid G, Stebbings S. The Role of the Microbiome in Rheumatic Diseases. *Curr Rheumatol Rep*. mars 2013;15(3):314.
145. Lucas S, Omata Y, Hofmann J, Böttcher M, Iljazovic A, Sarter K, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss. *Nat Commun*. déc 2018;9(1):55.
146. Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, Matsuda Y, Minagawa T, Takahashi N, et al. Oral Administration of *P. gingivalis* Induces Dysbiosis of Gut Microbiota and Impaired Barrier Function Leading to Dissemination of Enterobacteria to the Liver. Suchodolski JS, éditeur. *PLoS ONE*. 28 juill 2015;10(7):e0134234.
147. Fagiolo U, Paganelli R, Ossi E, Quinti I, Cancian M, D'Offizi GP, et al. Intestinal Permeability and Antigen Absorption in Rheumatoid Arthritis. *Int Arch Allergy Immunol*. 1989;89(1):98-102.
148. Smith MD, Gibson RA, Brooks PM. Abnormal bowel permeability in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. avr 1985;12(2):299-305.
149. Antushevich H. Fecal microbiota transplantation in disease therapy. *Clinica Chimica Acta*. avr 2020;503:90-8.
150. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Microbiology and Infection*. mars 2014;20:1-26.

151. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. *American Journal of Gastroenterology*. avr 2013;108(4):478-98.
152. Kragstnaes MS, Kjeldsen J, Horn HC, Munk HL, Pedersen JK, Just SA, et al. Safety and efficacy of faecal microbiota transplantation for active peripheral psoriatic arthritis: an exploratory randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*. sept 2021;80(9):1158-67.
153. Liu X, Zeng B, Zhang J, Li W, Mou F, Wang H, et al. Role of the Gut Microbiome in Modulating Arthritis Progression in Mice. *Sci Rep*. août 2016;6(1):30594.
154. Sultan AA, Mallen C, Muller S, Hider S, Scott I, Helliwell T, et al. Antibiotic use and the risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. *BMC Med*. déc 2019;17(1):154.
155. Tzeng YM, Kao LT, Kao S, Lin HC, Tsai MC, Lee CZ. An Appendectomy Increases the Risk of Rheumatoid Arthritis: A Five-Year Follow-Up Study. *Kuwana M, éditeur. PLoS ONE*. 13 mai 2015;10(5):e0126816.
156. Ansaloni L, Catena F, Pinna AD. What is the function of the human vermiform appendix?. *Evolution-based surgery: a new perspective in the Darwinian year 2009. Eur Surg Res*. 2009;43(2):67-71.
157. Randal Bollinger R, Barbas AS, Bush EL, Lin SS, Parker W. Biofilms in the large bowel suggest an apparent function of the human vermiform appendix. *J Theor Biol*. 21 déc 2007;249(4):826-31.
158. Nguyen Y, Mariette X, Salliot C, Gusto G, Boutron-Ruault MC, Seror R. Chronic diarrhoea and risk of rheumatoid arthritis: findings from the French E3N-EPIC Cohort Study. *Rheumatology*. 1 déc 2020;59(12):3767-75.
159. Calderaro DC, Corrêa JD, Ferreira GA, Barbosa IG, Martins CC, Silva TA, et al. Influence of periodontal treatment on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)*. mai 2017;57(3):238-44.
160. Zaragoza-García O, Castro-Alarcón N, Pérez-Rubio G, Guzmán-Guzmán IP. DMARDs–Gut Microbiota Feedback: Implications in the Response to Therapy. *Biomolecules*. 24 oct 2020;10(11):1479.
161. Zhang X, Zhang D, Jia H, Feng Q, Wang D, Liang D, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med*. août 2015;21(8):895-905.
162. Wells PM, Adebayo AS, Bowyer RCE, Freidin MB, Finckh A, Strowig T, et al. Associations between gut microbiota and genetic risk for rheumatoid arthritis in the absence of disease: a cross-sectional study. *The Lancet Rheumatology*. juill 2020;2(7):e418-27.
163. Gomez A, Luckey D, Yeoman CJ, Marietta EV, Berg Miller ME, Murray JA, et al. Loss of Sex and Age Driven Differences in the Gut Microbiome Characterize

- Arthritis-Susceptible *0401 Mice but Not Arthritis-Resistant *0402 Mice. Highlander SK, éditeur. PLoS ONE. 24 avr 2012;7(4):e36095.
164. Tyakht AV, Kostryukova ES, Popenko AS, Belenikin MS, Pavlenko AV, Larin AK, et al. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat Commun.* déc 2013;4(1):2469.
165. Guerreiro CS, Calado Â, Sousa J, Fonseca JE. Diet, Microbiota, and Gut Permeability—The Unknown Triad in Rheumatoid Arthritis. *Front Med.* 14 déc 2018;5:349.
166. Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki SI, Kuwahara A. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol.* août 2008;59 Suppl 2:251-62.
167. Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. Colonic Health: Fermentation and Short Chain Fatty Acids: *Journal of Clinical Gastroenterology.* mars 2006;40(3):235-43.
168. Lin HV, Frassetto A, Kowalik Jr EJ, Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, et al. Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. Brennan L, éditeur. PLoS ONE. 10 avr 2012;7(4):e35240.
169. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Mannerås-Holm L, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med.* juill 2017;23(7):850-8.
170. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* oct 2012;490(7418):55-60.
171. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* nov 2020;17(11):687-701.
172. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion (ID 1143, 2976) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFS2 [Internet]. oct 2010 [cité 19 sept 2022];8(10). Disponible sur: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2010.1763>
173. de Kivit S, Tobin MC, Forsyth CB, Keshavarzian A, Landay AL. Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics. *Front Immunol* [Internet]. 2014 [cité 19 sept 2022];5. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00060/abstract>
174. Girardin M, Seidman EG. Indications for the Use of Probiotics in Gastrointestinal Diseases. *Dig Dis.* 2011;29(6):574-87.

175. Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* oct 2015;42(7):793-801.
176. Pattani R, Palda VA, Hwang SW, Shah PS. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. *Open Med.* 2013;7(2):e56-67.
177. Ford AC, Harris LA, Lacy BE, Quigley EMM, Moayyedi P. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* nov 2018;48(10):1044-60.
178. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut.* mars 2016;65(3):415-25.
179. Martín R, Miquel S, Benevides L, Bridonneau C, Robert V, Hudault S, et al. Functional Characterization of Novel *Faecalibacterium prausnitzii* Strains Isolated from Healthy Volunteers: A Step Forward in the Use of *F. prausnitzii* as a Next-Generation Probiotic. *Front Microbiol.* 30 juin 2017;8:1226.
180. Zhang M, Qiu X, Zhang H, Yang X, Hong N, Yang Y, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* Inhibits Interleukin-17 to Ameliorate Colorectal Colitis in Rats. *Chamaillard M, éditeur. PLoS ONE.* 2 oct 2014;9(10):e109146.
181. Sanchez P, Letarouilly JG, Nguyen Y, Sigaux J, Barnetche T, Czernichow S, et al. Efficacy of Probiotics in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 14 janv 2022;14(2):354.
182. Lowe JR, Briggs AM, Whittle S, Stephenson MD. A systematic review of the effects of probiotic administration in inflammatory arthritis. *Complementary Therapies in Clinical Practice.* août 2020;40:101207.
183. Aqaeinezhad Rudbane SM, Rahmdel S, Abdollahzadeh SM, Zare M, Bazrafshan A, Mazloomi SM. The efficacy of probiotic supplementation in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Inflammopharmacol.* févr 2018;26(1):67-76.
184. Mohammed AT, Khattab M, Ahmed AM, Turk T, Sakr N, M. Khalil A, et al. The therapeutic effect of probiotics on rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials. *Clin Rheumatol.* déc 2017;36(12):2697-707.
185. Daien C, Czernichow S, Letarouilly JG, Nguyen Y, Sanchez P, Sigaux J, et al. Dietary recommendations of the French Society for Rheumatology for patients with chronic inflammatory rheumatic diseases. *Joint Bone Spine.* mars 2022;89(2):105319.
186. Picchianti-Diamanti A, Panebianco C, Salemi S, Sorgi M, Di Rosa R, Tropea A, et al. Analysis of Gut Microbiota in Rheumatoid Arthritis Patients: Disease-Related Dysbiosis and Modifications Induced by Etanercept. *IJMS.* 27 sept 2018;19(10):2938.

187. Audo R, Sanchez P, Rivière B, Mielle J, Tan J, Lukas C, et al. Rheumatoid arthritis is associated with increased gut permeability and bacterial translocation that are reversed by inflammation control. *Rheumatology*. 10 août 2022;keac454.
188. Jian C, Kanerva S, Qadri S, Yki-Järvinen H, Salonen A. In vitro Effects of Bacterial Exposure on Secretion of Zonulin Family Peptides and Their Detection in Human Tissue Samples. *Front Microbiol*. 14 avr 2022;13:848128.
189. Ho KY, Cardoso MS, Chaiamnuay S, Hidayat R, Ho HQT, Kamil O, et al. Practice Advisory on the Appropriate Use of NSAIDs in Primary Care. *JPR*. août 2020;Volume 13:1925-39.
190. Massier L, Chakaroun R, Kovacs P, Heiker JT. Blurring the picture in leaky gut research: how shortcomings of zonulin as a biomarker mislead the field of intestinal permeability. *Gut*. sept 2021;70(9):1801-2.
191. Scheffler L, Crane A, Heyne H, Tönjes A, Schleinitz D, Ihling CH, et al. Widely Used Commercial ELISA Does Not Detect Precursor of Haptoglobin2, but Recognizes Properdin as a Potential Second Member of the Zonulin Family. *Front Endocrinol*. 5 févr 2018;9:22.
192. Al-Sadi R, Guo S, Ye D, Ma TY. TNF- α Modulation of Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier Is Regulated by ERK1/2 Activation of Elk-1. *The American Journal of Pathology*. déc 2013;183(6):1871-84.
193. Al-Sadi R, Ye D, Boivin M, Guo S, Hashimi M, Ereifej L, et al. Interleukin-6 Modulation of Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability Is Mediated by JNK Pathway Activation of Claudin-2 Gene. *Anant S, éditeur. PLoS ONE*. 24 mars 2014;9(3):e85345.
194. Choi YY, Lee KH. Periodontitis as a Risk Factor for Rheumatoid Arthritis: a Matched-Cohort Study. *International Dental Journal*. déc 2021;71(6):516-21.
195. Gautier T, Deckert V, Nguyen M, Desrumaux C, Masson D, Lagrost L. New therapeutic horizons for plasma phospholipid transfer protein (PLTP): Targeting endotoxemia, infection and sepsis. *Pharmacology & Therapeutics*. août 2022;236:108105.
196. Macia L, Thorburn AN, Binge LC, Marino E, Rogers KE, Maslowski KM, et al. Microbial influences on epithelial integrity and immune function as a basis for inflammatory diseases: Gut microbiota, epithelial integrity, and inflammation. *Immunological Reviews*. janv 2012;245(1):164-76.
197. Nayak RR, Alexander M, Deshpande I, Stapleton-Gray K, Rimal B, Patterson AD, et al. Methotrexate impacts conserved pathways in diverse human gut bacteria leading to decreased host immune activation. *Cell Host & Microbe*. mars 2021;29(3):362-377.e11.
198. Zimmermann M, Zimmermann-Kogadeeva M, Wegmann R, Goodman AL. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature*. juin 2019;570(7762):462-7.

199. Artacho A, Isaac S, Nayak R, Flor-Duro A, Alexander M, Koo I, et al. The Pretreatment Gut Microbiome Is Associated With Lack of Response to Methotrexate in New-Onset Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* juin 2021;73(6):931-42.

ANNEXES

- **Annexe 1.** Article publié dans la revue *Nutrients* en 2022 (Impact factor = 6,7) portant sur l'efficacité des probiotiques dans la PR et la SpA.

Review

Efficacy of Probiotics in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials

Pauline Sanchez ¹, Jean-Guillaume Letarouilly ² , Yann Nguyen ³ , Johanna Sigaux ⁴, Thomas Barnetche ⁵, Sébastien Czernichow ^{6,7}, René-Marc Flipo ², Jérémie Sellam ⁸ and Claire Daïen ^{1,9,*}

- ¹ Department of Rheumatology, CHU de Montpellier, Montpellier University, F-34295 Montpellier, France; p-sanchez@chu-montpellier.fr
- ² Department of Rheumatology, CHU Lille, Université de Lille, F-59000 Lille, France; jeanguillaume.letarouilly@chru-lille.fr (J.-G.L.); renemarc.flipo@chru-lille.fr (R.-M.F.)
- ³ Department of Internal Medicine, Hôpital Beaujon, AP-HP Nord, Université de Paris, F-92100 Clichy, France; yann.nguyen2@aphp.fr
- ⁴ Department of Rheumatology, Hôpital Avicenne, AP-HP, INSERM U1125, Université Paris 13, F-93017 Bobigny, France; johanna.sigaux@aphp.fr
- ⁵ Department of Rheumatology, FHU ACRONIM, Bordeaux University Hospital, F-33076 Bordeaux, France; thomas.barnetche@chu-bordeaux.fr
- ⁶ Department of Nutrition, Specialized Obesity Center, Hôpital Européen Georges Pompidou, Université de Paris, AP-HP, F-75015 Paris, France; sebastien.czernichow@aphp.fr
- ⁷ Epidemiology and Biostatistics Sorbonne Paris City Center, UMR1153, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, F-75004 Paris, France
- ⁸ Department of Rheumatology, Hôpital Saint Antoine, AP-HP, DMU 3ID, CRSA Inserm UMRS_938, Sorbonne Université, F-75012 Paris, France; jeremie.sellam@aphp.fr
- ⁹ PhyMedExp, University of Montpellier, INSERM U1046, CNRS UMR 9214, F-34295 Montpellier, France
- * Correspondence: c-daien@chu-montpellier.fr; Tel.: +33-4-67-33-87-10



Citation: Sanchez, P.; Letarouilly, J.-G.; Nguyen, Y.; Sigaux, J.; Barnetche, T.; Czernichow, S.; Flipo, R.-M.; Sellam, J.; Daïen, C. Efficacy of Probiotics in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* **2022**, *14*, 354. <https://doi.org/10.3390/nu14020354>

Academic Editor: Tyler Barker

Received: 13 December 2021

Accepted: 13 January 2022

Published: 14 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: We aimed to provide a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials assessing the effect of probiotics supplementation on symptoms and disease activity in patients with chronic inflammatory rheumatic diseases (rheumatoid arthritis (RA), spondylarthritis (SpA), or psoriatic arthritis). Methods: A systematic literature review and meta-analysis from RA and SpA randomized controlled trials were conducted searching for articles in MEDLINE/PubMed and abstracts from recent international rheumatology meetings. The control group was a placebo or another dietary intervention. The risk of bias of the selected studies was evaluated using the Cochrane Collaboration tool and the Jadad scale. Results: The initial search yielded 173 articles. Of these, 13 studies were included in the qualitative synthesis, 8 concerning a total of 344 RA patients and 2 concerning a total of 197 SpA patients. Three meta-analyses were also analyzed. Probiotic strains and quantities used were different among trials (5 studies using *Lactobacillus* sp., 1 trial *Bacillus coagulans* and the others a mix of different probiotic strains). Time to assess response ranged from 8 weeks to one year. Two studies associated probiotic supplementation with a dietary intervention. Meta-analysis showed a statistically significant decrease of C-reactive protein (CRP) concentration (mean difference (MD)) -3.04 (95% CI -4.47 , -1.62) mg/L, $p < 0.001$; $I^2 = 20\%$, n patients = 209) with probiotics in RA. However, after excluding high-risk-of-bias trials of meta-analysis, there was no difference between probiotics and placebo on DAS28 (standard MD -0.54 ; 95% CI -1.94 to 0.85 , $p = 0.45$, $I^2 93\%$, n patients = 143). The two studies on SpA patients showed no efficacy of probiotics. Conclusions: Probiotic supplementation might decrease RA activity with a moderate decrease effect on CRP, but lack of evidence and studies' heterogeneity do not allow us to propose them to patients with inflammatory arthritis to control their disease. Further RCTs are required in the future to determinate the efficacy of probiotics and the optimal administration design.

Keywords: rheumatoid arthritis; spondyloarthritis; probiotics; microbiota; disease activity

1. Introduction

The World Health Organization in 2002 defined probiotics as “living organisms in food and dietary supplements that upon ingestion can improve the health of the host beyond their inherent basic nutritional content” [1]. Naturally presents in fruits, raw vegetables, dairy products (in particular fermented ones), they are an integral part of the gut microbiota as a component of commensal flora. The main probiotic microorganisms used in human nutrition are lactic acid bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* [2].

Compared with healthy people, patients with chronic inflammatory diseases, in particular rheumatoid arthritis (RA) and spondyloarthritis (SpA), have an altered gut microbiota called dysbiosis with an increased permeability allowing luminal antigens or bacteria to interact with the host immune system more readily [3,4]. This gut inflammation correlates with systemic inflammation and could be a trigger in developing some autoimmune diseases and participating in their severity [5–8].

Evidence from mice and human studies revealed that probiotics modulate locally and systemically the immune system, leading to a reduction in mucosal inflammation and pro-inflammatory cytokines [9]. They also alleviate joint inflammation in mice [10]. They can access the intestinal mucosal immune system, persist for a certain amount of time, and initiate a specific immune response. The interaction between probiotic strains and enterocytes is important for the controlled production of cytokines and chemokines secreted by epithelial cells. Indeed, it has been shown that some probiotic organisms can modulate the *in vitro* expression of pro- and anti-inflammatory molecules in a strain-dependent manner. Indeed, treatment with some *Lactobacillus* strains reduced gut permeability and decreased arthritic severity [11,12]. The impact of probiotics has already been well studied in atopic diseases and Crohn’s disease, for which they have not shown any real benefit.

Today, the growing interest of patients in the use of complementary therapies is justified by the existence of numerous side effects of usual disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) and symptomatic treatments such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and glucocorticoids (GCs). Probiotics could represent an alternative and complementary therapy to the standard drugs we already use to control rheumatic activity. However, the effect is not well documented in patients suffering from RA, SpA or psoriatic arthritis (PsA), especially recently, where studies are rare.

The available data from randomized controlled trials are highly heterogeneous in terms of the populations included, the characteristics of the rheumatism, and the results regarding activity scores and inflammatory markers. The three meta-analyses published attempted to provide conclusions on the efficacy of probiotics in patients with inflammatory rheumatism, with disease activity score in 28 joints (DAS28) and C-reactive protein (CRP) as the common primary endpoints. Two focused on RA, and the third included patients with SpA and juvenile idiopathic arthritis (JIA). The number and type of studies included as well as the population studied were therefore not homogeneous, and the results are discordant and difficult to interpret. The meta-analysis we performed is the first to pool only studies without high risk of bias and therefore to provide more conclusive results. It is also the first systematic review of the literature to examine the efficacy of probiotics in patients with SpA.

We aimed to provide a systematic literature review (SLR) of randomized controlled trials (RCT) and meta-analyses assessing the effect of probiotics on inflammatory rheumatic diseases’ symptoms and activity. This SLR was used to inform the recommendations of the French Society of Rheumatology (SFR) on diet in inflammatory rheumatic diseases [13].

2. Materials and Methods

This SLR of RCT and meta-analyses was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) guidelines [14].

2.1. Search Strategy

Relevant articles were found using the MEDLINE database via PUBMED from inception to June 2020. A bibliography of selected retrieved articles was assembled and reviewed for inclusion by 2 researchers and a manual search was carried out. Conference abstracts from selected rheumatology meetings (European League Against Rheumatism (EULAR) and the American College of Rheumatology (ACR)) and from nutrition meetings (International Congress of Nutrition, European Nutrition Conference, American Society of Nutrition) from 2017 to 2019 were searched and manually reviewed for inclusion too.

Original research papers and reviews were searched using combinations of the grouped search terms: (“Spondylitis, Ankylosing”(Mesh) OR Spondylitis ankylosing OR ankylosis OR Spondylarthritis OR Spondylarthropathies OR “Arthritis, Rheumatoid”(Mesh) OR “rheumatoid arthritis” OR “rheumatoid” OR “Caplan Syndrome” OR “Felty Syndrome” OR “Rheumatoid Nodule” OR “Rheumatoid Vasculitis” OR “Arthritis, Psoriatic”(Mesh) OR “Psoriasis” OR “Arthritic Psoriasis” OR “Psoriatic Arthritis” OR “Psoriasis Arthropathica” OR “Psoriatic Arthropathy” OR “Arthropathies, Psoriatic” OR “Arthropathy, Psoriatic” OR “Psoriatic Arthropathies” OR “Spondylarthritis”(Mesh) OR “Spondylarthritides” OR “Spinal Arthritis” OR “Spinal Arthritides” OR “Arthritis, Spinal” OR “Spondyloarthrititis”) AND (*Lactobacilli* OR *Lactobacillus* OR Bifidobacteria OR “Prebiotic” OR “Probiotic” OR “Synbiotic”).

Screening title and abstract took place initially followed by full-text screening. Search results were retrieved and duplicates were removed using Covidence software, V.1. developed by Veritas Health Innovation Ltd. (Melbourne, Australia). Disagreement was resolved by discussion and consensus between reviewers and senior researchers.

2.2. Eligibility Criteria

We included any open-label or blinded randomized controlled studies concerning adult patients with diagnosis of SpA, (PsA) or RA for whom an oral supplementation of probiotics was administered and disease activity assessed. This probiotic supplementation could be mixed with another diet in the intervention group. Control could be a placebo or another dietary intervention. We also included previous meta-analysis in our systematic literature review, to compare with ours and to make a synthesis of the available data.

We excluded any uncontrolled study, case reports, case series, letters, literature reviews, editorial comments, theses, reviews, book chapters, news, or isolated abstracts. We also excluded papers if their data were insufficient to be extracted or if not written in English or French.

Outcome measures included RA clinical activity markers such as disease activity score of 28 joints (DAS-28), EULAR or ACR response, Health Assessment Questionnaire Disability Index (HAQ), number of tender or swollen joints (TJC and SJC), visual analog scale (VAS) for disease activity by the patient, VAS for pain and global health score (GH score). Concerning SpA and PsA, outcomes were Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), VAS for disease activity, quality of life (ASQoL), SJC, TJC, global well-being and bowel symptoms. Laboratory markers were C-reactive protein (CRP) and/or erythrocyte sedimentation rate (ESR). Disagreement in the determination of the eligibility of each study was resolved by consensus.

2.3. Data Extraction

Data of interest were collected from the included articles using the standardized extraction form. The extracted variables were publication date, journal, disease characteristics (including activity score, treatments such as DMARDs and symptomatic medications (GCs and NSAIDs), duration of the disease and positivity of rheumatoid factor (RF) and/or anti-citrullinated protein antibodies positive (ACPA)), study design, inclusion and non-inclusion criteria, probiotic strains, sample size, results in terms of disease activity, side effects and adherence.

2.4. Quality Assessment

Risk of bias assessments used the Cochrane Collaboration tool for assessing risk of bias [15] and the Jadad scale [16]. Records limited to abstracts were not assessed because of the lack of information about study design. Two reviewers evaluated the quality of the studies independently (P.S. and C.D.).

2.5. Statistical Analysis

For the meta-analyses, the outcomes were the variation of DAS28 and CRP between inclusion and evaluation endpoint comparing the two groups of treatment (with or without probiotics). A narrative synthesis has been carried out to describe data extracted from articles that could not be included in the meta-analyses.

A standardized mean difference was estimated for DAS28 calculations due to heterogeneity in DAS28 scores across the included studies: some studies calculated the DAS28-ESR, and some calculated the DAS28-CRP. A mean difference (MD) was used for CRP calculations.

This provided a common weighted MD (or standardized MD) estimate with a 95% CI, taking into account weighting of the different samples. MD and 95% CIs are expressed as forest plots. Statistical heterogeneity of the selected studies was tested using the Q-test (χ^2), applying a 0.05 statistical significance cutoff, and reported with the I^2 statistic in which high values of I^2 , ranging from 0% to 100%, represent strong heterogeneity. In case of a significant heterogeneity, a random effect model was applied to take into account heterogeneity. All computations were performed using the RevMan V.5.3 software package developed by Nordic Cochrane Centre (Review Manager (computer program), V.5.3. Copenhagen, Denmark: The Nordic Cochrane Centre, the Cochrane Collaboration, 2011). *p* values lower than 0.05 were considered significant. Publication bias was checked through Egger's test.

3. Results

3.1. Study Selection

The literature review recognized a total of 172 records and one additional article was identified manually as shown in Figure 1. Of those, 137 were excluded after screening. Then, 23 studies were excluded after review because of wrong type of literature ($n = 16$), outcome ($n = 1$) or population ($n = 5$). One study was excluded because of the overlap with another study published by the same researchers at the same time [17]. Finally, 13 studies were included in the qualitative synthesis (including 10 RCTs and 3 meta-analyses) and 3 in our meta-analysis. No relevant unpublished studies were obtained from abstract meetings.

3.2. Study Characteristics and Search Results

Table 1 presents the baseline characteristics of the included studies. All selected studies were published in English. Eight studies were conducted on patients with RA, 2 with SpA. Three meta-analysis about RA included some studies already selected but results about key variables concerned only a few of them. No RCT on patients with PsA was found.

Characteristics of individual studies are shown in Table 2. The total number of patients in the included RCT was 541 patients, 344 with RA, 196 with SpA and 1 patient with PsA (included in Jenks et al. probiotic group). Different strains of probiotics were evaluated, at different doses: 3 studies assessed oral supplementation with only one strain of *Lactobacillus* [18–20], 2 studies assessed a mix of two *Lactobacillus* strains [21,22], one study assessed *Bacillus coagulans* [23], the others assessed a mix of different probiotic types [24–27]. Time to assess response ranged from 8 weeks to 1 year. The comparator was placebo except in Vadell et al., which compares an anti-inflammatory diet rich in probiotics versus a typical Swedish diet, and in Nenonen et al., which compares an uncooked vegan diet rich in Lactobacilli versus a normal diet.

Table 1. Baseline characteristics of patients included in the RCTs.

Study	Country	Inclusion Criteria	Groups	Age (Years) Mean (SD)	Disease Duration (Years) Mean (SD)	RF + N (%)	ACPA + N (%)	Activity Score Mean (SD)	Current Medication			
									csDMARDs N (%)	bDMARDs N (%)	Oral CS N (%)	NSAIDs N (%)
Rheumatoid arthritis: <i>n</i> = 8												
Alipour et al., 2014 [18]	Iran	Women, ACR 1987 for at least 1 year, DAS-28 CRP < 5.1, 20–80 years, no NSAIDs or bDMARDs, oral CS < 10 mg/day	Probiotics	41.14 (12.65)	5.25 (3.75, 10.0) ^a	NR	NR	DAS-CRP 2.56 (1.01)	HCO: 18 (81.8)	0	21 (95.5)	NR
			Placebo	44.29 (9.77)	4.75 (3.0, 9.0) ^a			2.31 (0.90)	MTX: 20 (83.3)	0	23 (95.8)	NR
Hatakka et al., 2003 [19]	Finland	ACR 1987, 18–64 years, for at least 1 year, no DMARDs, oral CS < 7.5 mg/day	Probiotics	50 (10)	8.3 (7.3)	5 (62.5)	NR	NR	0	0	6 (75)	6 (75)
			Placebo	53 (7)	11.0 (8.2)	7 (53.8)			0	0	8 (62)	10 (77)
Vadell et al., 2020 [20]	Sweden	18–70 years, for at least 2 years, DAS-28 ESR ≥ 2.6	Probiotics mixed with diet rich in fatty acids and fibers	61 (12) ^b	20.0 (9.5) ^b	34 (72) ^c		DAS-ESR 3.8 (0.9)	MTX: 31 (66) ^b	16 (34) ^b	12 (26) ^b	24 (51) ^b
			Typical Swedish diet					3.6 (0.8)				
Pineda et al., 2011 [21]	Canada	ACR criteria, 18–80 years, SJC and TJC ≥ 4, no intra-articular CS ≤ 1 month before	Probiotics	63.8 (7.5)	19 (12.4)	NR	NR	DAS-CRP 4.18 (1.05)	MTX: 11 (73)		4 (26)	NR
			Placebo	59.1 (9.1)	13.7 (8.4)			4.83 (0.91)	MTX: 11 (78)	NR	3 (21)	NR
Nenonen et al., 1998 [22]	Finland	SJC > 3 or TJC > 5, ESR > 20 mm/h or CRP > 10 mg/L	Probiotics with uncooked vegan diet	49.1 (7.1)	12.6 (10.3)	15 (79) ^c		DAS-CRP 3.26	MTX: 10 (52.6)	NA	10 (52.6)	16 (84.2)
			Normal diet	55.6 (10.8)	16.1 (13.6)	14 (70%) ^c		3.44	MTX: 5 (25)		9 (45)	18 (90)

Table 1. Cont.

Study	Country	Inclusion Criteria	Groups	Age (Years) Mean (SD)	Disease Duration (Years) Mean (SD)	RF + N (%)	ACPA + N (%)	Activity Score Mean (SD)	Current Medication			
									csDMARDs N (%)	bDMARDs N (%)	Oral CS N (%)	NSAIDs N (%)
Rheumatoid arthritis: <i>n</i> = 8												
Mandel et al., 2010 [23]	USA	18–80 years, for at least 1 year, oral CS < 10 mg/day, four or more among: MS ≥ 1 h, STS in ≥ 3 joint areas, swelling of IPP or MCP or wrist joints, rheumatoid nodules, FR+, erosions	Probiotics	NR	NR	NR	NR	NR	18 (78) ^d 17 (77) ^d	0	NR	2 (9.1)
Zamani et al., 2016 [24]	Iran	ACR 1987, 25–70 years, for at least 6 months, DAS-28 CRP > 3.2, no bDMARDs	Probiotics Placebo	52.2 (12.2) 50.6 (13.1)	7.0 (5.7) 7.0 (6.7)	NR	NR	DAS-CRP 4.0 (0.7) 4.1 (0.7)	MTX: 29 (96.7) MTX: 29 (96.7)	0	27 (90.0) 28 (93.3)	NR
Zamani et al., 2017 [25]	Iran	ACR 1987, 25–70 years, for at least 6 months, DAS-28 CRP > 3.2, no bDMARDs	Probiotics Placebo	49.3 (11.0) 49.5 (12.9)	7.7 (6.1) 7.5 (6.4)	NR	NR	DAS-CRP 4.2 (0.7) 3.5 (0.8)	MTX: 26 (96.3) MTX: 26 (96.3)	0	24 (88.9) 25 (92.6)	NR
Spondyloarthritis: <i>n</i> = 2												
Jenks et al., 2010 [26]	New Zealand	ESSG criteria, more than 18 years, BASDAI ≥ 3, BASFI ≥ 3, MASES ≥ 3, TJC or SJC ≥ 2	Probiotics Placebo	45.5 (15) 41.1 (10)	9.8 (13) 7.9 (7)	NR	NR	BASDAI 4.2 (2.2) 4.5 (2.0)	MTX: 2 (6) MTX: 3 (10)	NR	0 2 (7)	24 (75) 24 (77)
Brophy et al., 2008 [27]	UK	X-ray or MRI sacro-iliitis, more than 18 years	Probiotics Placebo	44.8 (12.1) 42.7 (12.7)	20.3 (13.2) 20.3 (13.4)	NR	NR	NR	5 (7.9) ^d 8 (11.9) ^d	0	2 (3.0)	53 (85.5) 44 (66.7)

Age and disease duration are presented as mean and standard deviation (SD). Current medications are presented as number and percentage (%). ^a Data are presented as median (percentiles 25 and 75). ^b Participants who completed ≥ 1 diet period; ^c ACPA and/or RF positive; ^d DMARDs in general. ACR: American College of Rheumatology; ACPA: Anti-citrullinated Protein/Peptide Antibodies; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI: Bath AS Functional Index; bDMARDs: biological Disease Modifying Anti-Rheumatic Drug; CS: corticosteroid; csDMARDs: conventional synthetic; CRP: C-reactive Protein; DAS-28: Disease Activity Score in 28 joints; ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate; ESSG: European Spondyloarthritis Study Group; HCQ: Hydroxychloroquine; IPP: InterPhalangeal Proximal; MASES: Maastricht Ankylosing Spondylitis Enthesitis Score; MCP: MetaCarpoPhalangeal; MS: Morning Stiffness; MRI: Magnetic Resonance Imaging; MTX: Methotrexate; NA: Not Available; NR: Not Reported; NSAIDs: Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs; RCT: Randomized Controlled Trial; RF: Rheumatoid Factor; SD: Standard Deviation; SJC: Swollen Joint Count; STS: Standard Deviation; TJC: Tender Joint Count; USA: United States of America; UK: United Kingdom.

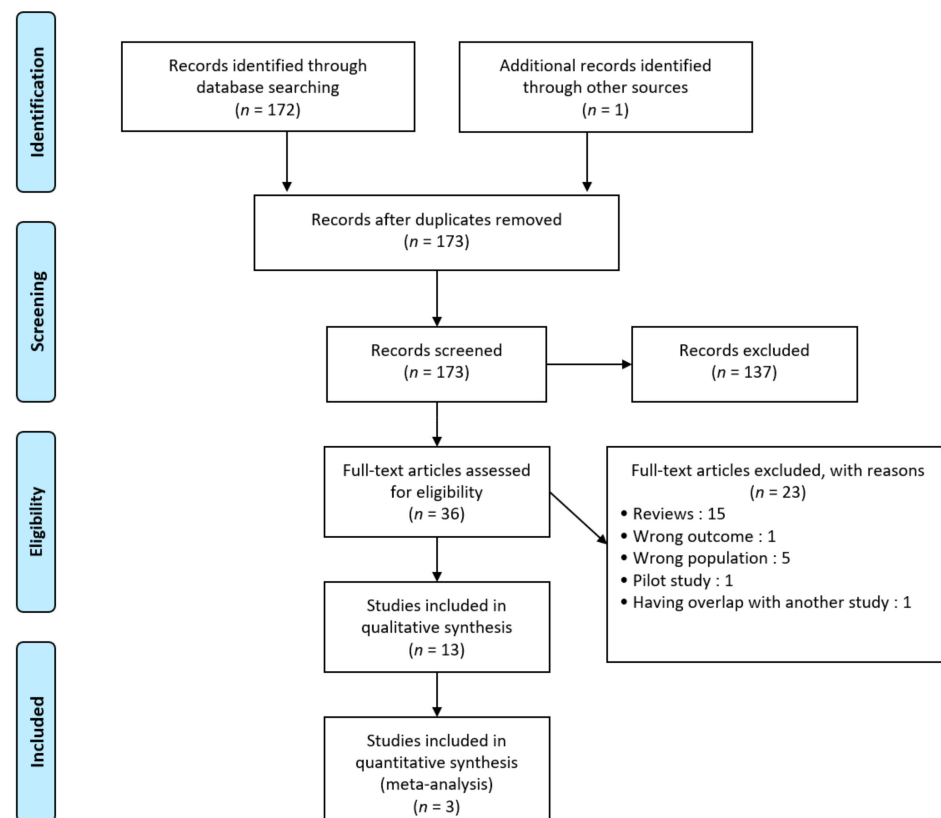


Figure 1. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) diagram.

For RA, most studies assessed the efficacy on probiotic supplementation in reducing its activity in patients with active disease except one in which mean DAS-28 scores were below 2.6 [18]. Of note, three studies reported serum high-sensitivity CRP (hs-CRP) level change [18,24,25].

The outcome measurement corresponds to the date at which the primary and secondary endpoints were assessed, which also corresponds for all trials to the duration of probiotic or placebo/control supplementation.

The main inclusion criteria was RA diagnosed according to the 1987 ACR/EULAR criteria [18,19,24,25], other inclusion criteria were a disease duration of more than 1 year [18,19,23], more than 6 months for Zamani's et al. and more than 2 years for Vadell et al. Treatments had to be at stable doses from 1 to 3 months prior to inclusion [18–21]. Two trials did not meet precisely the minimum activity score required [18,19] whereas all others referred to at least mild activity according to the DAS28.

Concerning SpA studies, patients were included only if they had a sacroiliitis (radiographic or magnetic resonance imaging (MRI)) in one of these studies [27]; the second one assessed patients with SpA without distinction on clinical phenotypes (i.e., axial, peripheral and/or enthesitic) [26].

Mean disease duration was between 4.7 and 19 years for RA and between 7.9 and 20.3 years for SpA. Little information was available concerning the proportion of patients taking targeted therapies; one study in RA specified the use of DMARD as a non-inclusion criteria [19] whereas another one in RA specified the use of NSAIDs as a non-inclusion criteria [18].

Table 2. Study characteristics of the 10 studies included in the systematic review sorted by probiotic type.

Study	Disease	Probiotic Strains	Other Intervention	Design	Population	Intervention		Control		Outcome	Outcome Measurement
						Type	N	Type	N		
<i>Lactobacillus</i> : n = 5											
Alipour et al., 2014 [18]	RA	<i>L. casei</i> 01	No	Double-blind RCT	46	10 ⁸ CFU (capsule) daily for 8 weeks	22	Placebo	24	DAS-28 CRP, SJC, TJC, GH score, hs-CRP, moderate EULAR response	8 weeks
Hatakka et al., 2003 [19]	RA	<i>L. rhamnosus</i> GG, ATCC 53103	No	Double-blind RCT	21	≥5 × 10 ⁹ CFU (capsule) twice daily for 1 year	8	Placebo	13	SJC, TJC, HAQ score, ESR, CRP, VAS activity	1 year
Pineda et al., 2011 [21]	RA	<i>L. rhamnosus</i> GR1 and <i>L. reuteri</i> RC-14	No	Double-blind RCT	29	2 × 10 ⁹ CFU (capsule), each twice daily for 3 months	15	Placebo	14	ACR20 response, DAS-28 CRP, SJC, TJC, MS, HAQ score, ESR, CRP, VAS pain, VAS fatigue	3 months
Neunen et al., 1998 [22]	RA	<i>L. plantarum</i> and <i>L. brevis</i>	Uncooked vegan diet	Single-blind RCT	39	Daily “living food” diet in packed form containing fermented wheat drink rich in Lactobacilli	19	Normal diet	20	DAS-28 ESR, CRP, ESR, TJC, SJC, HAQ, MS, VAS pain	3 months
Vadell et al., 2020 [20]	RA	<i>L. plantarum</i> 299 v	Anti-inflammatory diet (rich in fatty acids and fibers); fish, vegetables, cereals	Single-blind crossover RCT	50	One shot 5 days a week for 10 weeks	26 ^a	Typical Swedish diet	24 ^a	DAS-28 CRP, DAS-28 ESR, SJC, TJC, ESR, GH score	10 weeks
<i>Bacillus</i> : n = 1											
Mandel et al., 2010 [23]	RA	<i>Bacillus coagulans</i>	No	Double-blind RCT	45	2 × 10 ⁹ CFU (capsule) daily for 2 months	23	Placebo	22	ACR20 response, SJC, TJC, HAQ score, VAS pain, VAS activity, ESR, CRP	2 months
Mix of different probiotics types: n = 4											
Zamani et al., 2016 [24]	RA	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> and <i>Bifidobacterium bifidum</i>	No	Double-blind RCT	60	2 × 10 ⁸ CFU/g (capsule) each strain, daily for 2 months	30	Placebo	30	DAS-28 CRP, SJC, TJC, hs-CRP, VAS pain	2 months
Zamani et al., 2017 [25]	RA	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> and <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Prebiotic inulin 800 mg	Double-blind RCT	54	2 × 10 ⁸ CFU/g (capsule) each strain, daily for 2 months	27	Placebo	27	DAS-28 CRP, SJC, TJC, hs-CRP, VAS pain	2 months
Jenks et al., 2010 [26]	SpA	<i>Streptococcus salivarius</i> K12, <i>Bifidobacterium lactis</i> LAFTI B94 and <i>L. acidophilus</i> LAFTI L10	No	Double-blind RCT	63	4 × 10 ⁸ CFU/g, and 4 × 10 ⁸ CFU/g (powder, about 0.8 g in total twice daily) for 3 months	32	Placebo	31	BASFI10 response, BASDAI, ASAS20, VAS pain, fatigue, ASQoL, SJC, TJC, CRP	3 months
Brophy et al., 2008 [27]	SpA	<i>L. salivarius</i> CUL61, <i>L. paracasei</i> CUL08, <i>Bifidobacterium infantis</i> CUL34 and <i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL20	No	Double-blind RCT	134	1.25 × 10 ⁹ CFU, 1.25 × 10 ⁹ CFU, and 1.25 × 10 ⁹ CFU (capsule) daily for 3 months	65	Placebo	69	VAS activity, global well-being, bowel symptoms	3 months

^a Patients who started first by intervention or control diet. ACR: American College of Rheumatology; ASAS: Assessment of Spondyloarthritis International Society; ASQoL: Ankylosing Spondylitis Quality of Life; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index; bDMARDs: biological Disease Modifying AntiRheumatic Drug; CFU: Colony-Forming Unit; CS: Corticosteroid; csDMARDs: conventional synthetic Disease Modifying AntiRheumatic Drug; hs-CRP: high sensitivity C-reactive Protein; DAS-28: Disease Activity Score in 28 joints; ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate; EULAR: European League Against Rheumatism; GH: Global Health; HAQ: Health Assessment Questionnaire; L.: *Lactobacillus*; MS: Morning Stiffness; NR: Not Reported; NSAIDs: NonSteroidal Anti-Inflammatory Drugs; RA: Rheumatoid Arthritis; RCT: Randomized Controlled Trial; SD: Standard Deviation; SJC: Swollen Joint Count; SpA: Spondyloarthritis; TJC: Tender Joint Count; VAS: Visual Analogic Scale.

3.3. Risk of Bias within Studies

The risk of bias assessment ranged from low to high and is illustrated in Figure 2 and Table S1 (Supplementary Materials). All studies were double-blinded except 2 single-blinded studies whose probiotics were not the unique intervention, thus had a high risk of bias with Cochrane's tool and a Jadad score of 3 [20] and 2 [22]. Two other studies were considered to have a high risk of bias because of attrition bias [18] and inappropriate data reporting [23]. Most studies were monocentric. Two studies had a Jadad score of 5 [26,27].

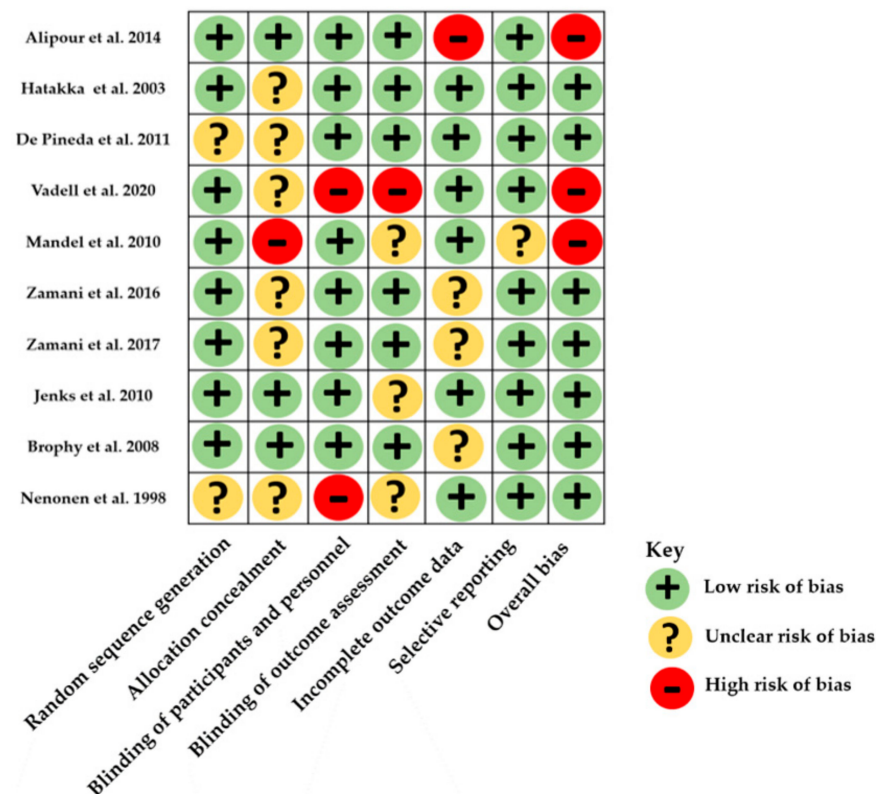


Figure 2. Distribution of risk-of-bias judgments within each bias domain of the Cochrane Collaboration tool.

3.4. Outcomes

3.4.1. Results in Rheumatoid Arthritis

Study outcomes are summarized in Table 3, sorted according to significant results in favor of probiotic supplementation or not. Results from former meta-analyses [28–30] are detailed in Table 4; data from our meta-analysis are shown in Figure 3.

Table 3. Study results sorted by covariates in rheumatoid arthritis.

Study	Outcome	Intervention		Control	Mean Difference between Groups *	p-Value (Intervention vs. Controls)
		Baseline Versus End of Treatment	Baseline Versus End of Treatment			
DAS28						
In favor probiotic intervention	Alipour et al., 2014 [18]	DAS28-CRP	2.56 (1.01) vs. 2.07 (0.82)	2.31 (0.90) vs. 2.23 (0.86)	−0.31 (−0.61; −0.02)	p = 0.039
	Zamani et al., 2016 [24]	DAS28-CRP	4.0 (0.7) vs. 3.7 (0.7)	4.1 (0.7) vs. 4.0 (0.7)	−0.2	p = 0.01
	Zamani et al., 2017 [25]	DAS28-CRP	4.2 (0.7) vs. 2.6 (0.7)	3.5 (0.8) vs. 3.2 (1.1)	−1.3	p < 0.001
	Pineda et al., 2011 [21]	DAS28-CRP	−2.1 (1.1) ^a	−2.9 (0.6) ^a	0.8	p = 0.77
No significant result	Vadell et al., 2020 [20]	DAS28-CRP	−0.455 (−0.698; −0.212) ^b	−0.222 (−0.461; 0.017) ^b	−0.233 (−0.569; 0.103)	p = 0.169
	Nenonen et al., 1998 [22]	DAS28-ESR	−0.369 (−0.628; −0.111) ^b	−0.080 (−0.335; 0.174) ^b	−0.289 (−0.652; 0.075)	p = 0.116
Inflammatory markers						
In favor probiotic intervention	Alipour et al., 2014 [18]	hs-CRP (mg/L)	3.10 (1.32; 18.01) vs. 2.80 (0.95; 15.95) ^c	2.30 (1.23; 7.99) vs. 3.50 (0.89; 10.38) ^c	−2.03 (−3.51; −0.54)	p = 0.009
	Zamani et al., 2016 [24]	hs-CRP (mg/L)	7.27 (6.24) vs. 6.61 (6.03)	6.02 (5.78) vs. 9.09 (7.46)	−3.73	p < 0.001
	Zamani et al., 2017 [25]	hs-CRP (mg/L)	6.0·0 (4.8) vs. 4.6 (2.7)	5.6 (5.1) vs. 8.5 (6.8)	−4.3	p = 0.001
	Hatakka et al., 2003 [19]	CRP (mg/L)	1.6 (4.6) vs. 2.6 (3.3)	5.1 (5.7) vs. 7.4 (8.7)	−1.3 (−6.2; 3.6)	p = 0.582
No significant result	Mandel et al., 2010 [23]	ESR (mm/h)	17.3 (14.7) vs. 20.7 (17.3)	18.2 (15.9) vs. 17.9 (14.4)	3.6 (−0.7; 7.9)	p = 0.095
		CRP (mg/L)	NR	NR	0.008 (−0.52; 0.53)	p = 0.98
	Pineda et al., 2011 [21]	ESR (mm/h)	NR	NR	−0.054 (−0.49; 0.38)	p = 0.80
		CRP (mg/L)	1.8 (8.4) ^a	1.2 (4.8) ^a	0.6	p = 0.75
Vadell et al., 2020 [20]	ESR (mm/h)	−4.0 (9.8) ^a	0.27 (6.8) ^a	−4.27	p = 0.76	
Nenonen et al., 1998 [22]	CRP (mg/L)	ESR (mm/h)	−0.051 (−0.347; 0.245) ^b	0.210 (−0.081; 0.501) ^b	−0.261 (−0.661; 0.138)	p = 0.194
		ESR (mm/h)	NR	NR	NR	p = NS

Table 3. Cont.

Study	Outcome	Intervention		Control		Mean Difference between Groups *	p-Value (Intervention vs. Controls)
		Baseline Versus End of Treatment	Baseline Versus End of Treatment	Baseline Versus End of Treatment	Baseline Versus End of Treatment		
TJC							
In favor probiotic intervention	TJC	0.0 (0.0; 2.25) vs. 0.0 (0.0; 1.0) ^c	0.0 (0.0; 2.75) vs. 0.0 (0.0; 2.75) ^c	0.0 (0.0; 2.75) vs. 0.0 (0.0; 2.75) ^c	−0.72 (−1.19; −0.25)	<i>p</i> = 0.003	
	TJC	3.7 (2.5) vs. 2.5 (1.7)	3.0 (3.3) vs. 2.6 (2.4)	−0.3 (−2.2; 1.7)	<i>p</i> = 0.784		
	TJC	NR	NR	−0.074 (−0.81; 0.66)	<i>p</i> = 0.84		
No significant result	TJC	0.2 (5.5) ^a	−0.55 (7.1) ^a	1.05	<i>p</i> = 0.43		
	TJC	5.2 (2.8) vs. 4.8 (2.6)	5.2 (2.5) vs. 4.7 (2.4)	0	<i>p</i> = 0.1		
	TJC	33.2 (16.1; 56.2) ^b	27.1 (12.7; 48.7) ^b	6.1 (−15.2; 27.3)	<i>p</i> = 0.572		
	TJC	NR	NR	NR	<i>p</i> = NS		
SJC							
In favor probiotic intervention	SJC	0.0 (0.0; 2.0) vs. 0.0 (0.0; 1.0) ^c	1.0 (0.0; 1.75) vs. 1.0 (0.0; 1.75) ^c	−0.351 (−0.58; −0.13)	<i>p</i> = 0.003		
	SJC	4.5 (5.5) vs. 2.1 (1.7)	2.5 (3.0) vs. 2.2 (3.1)	−1.1 (−3.0; 0.9)	<i>p</i> = 0.265		
	SJC	NR	NR	0.011 (−0.62; 0.64)	<i>p</i> = 0.97		
No significant result	SJC	−0.4 (3.3) ^a	−1.0 (3.6) ^a	0.6	<i>p</i> = 0.47		
	SJC	5.5 (3.0) vs. 5.1 (3.1)	5.8 (2.7) vs. 5.8 (2.8)	−0.37	<i>p</i> = 0.16		
	SJC	48.6 (23.8; 74.1) ^b	37.3 (16.2; 64.5) ^b	11.4 (−14.4; 37.2)	<i>p</i> = 0.383		
	SJC	NR	NR	NR	<i>p</i> = NS		

Data are presented as the mean (standard deviation) except contrary mention. * Difference between intervention group and placebo group (95% CIs); ^a Mean change from baseline to end of treatment (standard deviation); ^b Mean change from baseline to end of treatment (95% CIs); ^c Data presented as median (percentiles 25 and 75). hs-CRP: high sensitivity C-reactive Protein; DAS-28: Disease Activity Score in 28 joints; ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate; NA: Not Applicable; NR: Not Reported; NS: Not Significant; SJC: Swollen Joint Count; TJC: Tender Joint Count.

Table 4. Meta-analysis available in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis.

Meta-Analysis	Mohammed et al., 2017 [30]	Rudbane et al., 2018 [29]	Lowe et al., 2020 [28]
Method of results analysis	Comparison of Pre/post value variation	Comparison of Pre/post value variation	Comparison of final values
Methodological quality according to AMSTAR2 tool	Critically low	Critically low	Critically low
DAS28 CRP			
Studies included	Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24]	Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24]	Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24] Zamani et al., 2017 [25]
Total sample size	132	106	NR
Results	SMD = 0.023 (−0.584 to 0.631) $p = 0.94$ $I^2 = 73, p = 0.025$	SMD = −0.58 (−0.97 to −0.19) $p = \text{NR}$ $I^2 = 0.0, p = 0.634$	SMD = −0.28 (−0.5 to −0.05) $p = 0.016$ $I^2 = \text{NR}$
CRP			
Studies included	5 (NR)	Hatakka et al., 2003 [19] Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24]	Hatakka et al., 2003 [19] Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24] Zamani et al., 2017 [25] Jenks et al., 2010 [26] Shukla et al., 2016 [31]
Total sample size	191	132	NR
Results (mg/L)	SMD = −2.660 (−6.144 to 0.823) $p = 0.134$ $I^2 = 82.3, p < 0.001$	SMD = −0.27 (−0.77 to 0.23) $p = \text{NS}$ $I^2 = 55.3, p = 0.082$	SMD = −2.34 (−4.26 to −0.41) $p = 0.017$ $I^2 = 52, p = 0.049$
ESR			
Studies included	4 (NR)	Hatakka et al., 2003 [19] Pineda et al., 2011 [21]	-
Total sample size	129	47	-
Results (mm/h)	SMD = 1.861 (−4.481 to 8.202) $p = 0.565$ $I^2 = 66.0, p = 0.032$	SMD = −0.17 (−0.76 to 0.42) $p = \text{NS}$ $I^2 = 31.5, p = 0.0227$	-
TJC			
Studies included	Hatakka et al., 2003 [19] Mandel et al., 2010 [23] Pineda et al., 2011 [21] Zamani et al., 2016 [24] Shukla et al., 2016 [31]	Hatakka et al., 2003 [19] Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24]	-
Total sample size	191	153	-
Results	SMD = 0.379 (−0.578 to 1.336) $p = 0.437$ $I^2 = 71.5, p = 0.007$	SMD = −0.21 (−0.53 to 0.11) $p = \text{NS}$ $I^2 = 10.1, p = 0.342$	-
SJC			
Studies included	Hatakka et al., 2003 [19] Mandel et al., 2010 [23] Pineda et al., 2011 [21] Zamani et al., 2016 [24] Shukla et al., 2016 [31]	Hatakka et al., 2003 [19] Pineda et al., 2011 [21] Alipour et al., 2014 [18] Zamani et al., 2016 [24]	-
Total sample size	191	153	-
Results	SMD = 0.171 (−0.391 to 0.733) $p = 0.551$ $I^2 = 53.9, p = 0.07$	SMD = −0.30 (0.62 to 0.02) $p = \text{NS}$ $I^2 = 0.0, p = 0.462$	-
VAS pain			
Studies included	-	-	Pineda et al., 2011 [21] Zamani et al., 2016 [24] Zamani et al., 2017 [25] Jenks et al., 2010 [26]
Total sample size	-	-	NR
Results	-	-	SMD = −8.97 (−15.38 to −2.56) $p = 0.006$ $I^2 = 41, p = 0.167$

AMSTAR2: A Measurement Tool to Assess systematic Reviews version 2; CRP: C-Reactive Protein; DAS-28: Disease Activity Score in 28 joints; ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate; NR: Not Reported; NS: Not significant; SJC: Swollen Joint Count; SMD: Standardized Mean Difference; TJC: Tender Joint Count; VAS: Visual Analogic Scale.

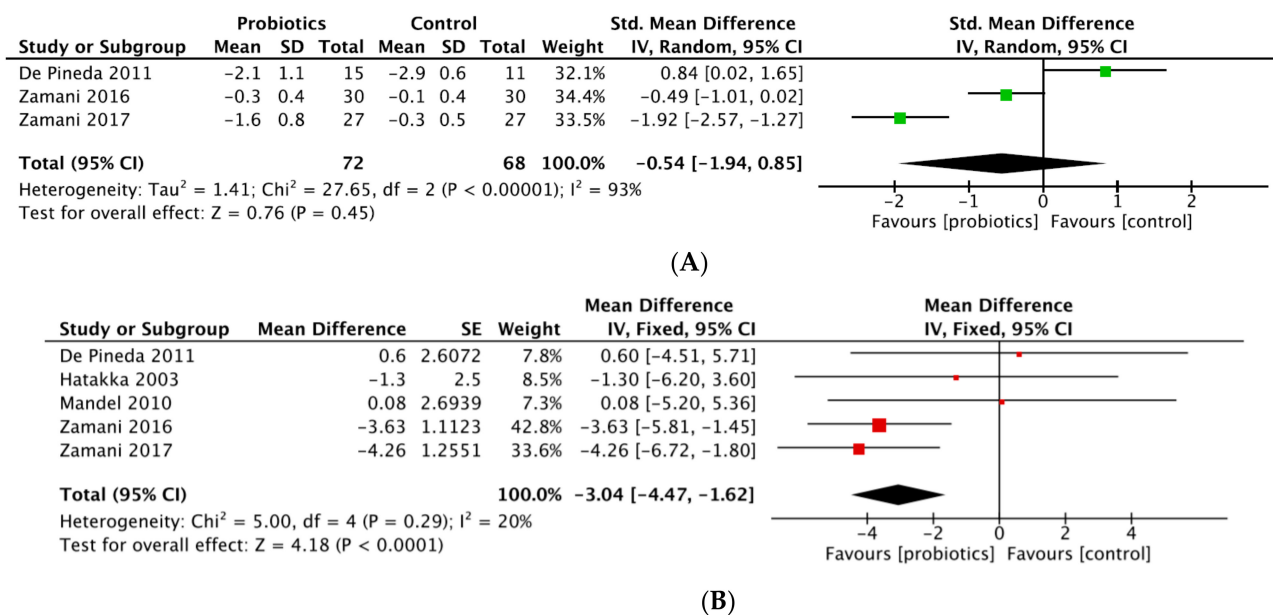


Figure 3. (A) Forest plot of disease activity score variations in rheumatoid arthritis. (B) Forest plot of CRP variations in rheumatoid arthritis.

- DAS28

Six studies provided data on DAS28 [18,20–22,24,25]. A significant improvement of DAS28 was achieved by three trials comparing probiotic supplementation with placebo [18,24,25]. On other hand, three trials concluded with no significant results [20–22], in particular Vadell et al. comparing an anti-inflammatory diet (rich in fatty acid, fibers and probiotics) versus typical Swedish diet, and Nenonen et al. comparing an uncooked vegan diet (fermented wheat drink, wheat grass drink, dietary fiber) with normal diet. The fact that probiotics supplementation was mixed with another dietary intervention in these studies may have been a confounding factor and altered the quality of the results because the efficacy of probiotics is difficult to individualize. Moreover, the cross-over design is questionable, especially because the washout period is arbitrary and does not allow to clearly establish that the first diet taken had no influence on the microbiota composition during the second period of the study (Table 3).

Our meta-analysis included three studies after exclusion of high-risk-of bias studies [18,20,22], and revealed probiotic supplementation did not show a significant effect in reducing DAS28-CRP with a SMD (95% CI) of -0.54 (-1.94 to 0.85) ($p = 0.45$; $I^2 = 93%$; n patients = 143) (Figure 3A). Two former meta-analyses showed significant decrease of DAS28-CRP: Rudbane et al. (SMD (95% CI) -0.58 (-0.97 to -0.19), $p = 0.94$, $I^2 = 0%$, n patients = 106), included only two RCT; and Lowe et al. (-0.28 (-0.5 to -0.05), $p = 0.016$) included four studies (sample size not reported) but compared post-treatment DAS28 values between groups, which is not appropriate as baseline DAS28 values in intervention group and comparators were clearly different in two studies [17,21] (Table 4). In contrast, the meta-analysis from Mohammed et al. concluded there was no significant effect with SMD (95% CI) 0.023 (-0.584 to 0.631), $p = 0.94$, $I^2 = 73%$, n patients = 132, but included a high-risk-of-bias study [18]. *Lactobacillus* was the only strain used in all trials included, except Zamani RCTs, which pooled different probiotic strains.

- Inflammatory markers

We found eight studies provided data on CRP and/or ESR and 3 of them concerned hs-CRP (Table 3) [18,24,25]. In our SLR, three studies provided significant reduction of hs-CRP whereas results of four studies indicated no significant beneficial effects of probiotic supplementation on CRP [19,21–23]. No significant decrease concerning ESR was reported.

Our meta-analysis pooled five RCTs and revealed a significant effect in reducing CRP with a MD (95% CI) of -3.04 mg/L (-4.47 to -1.62 mg/L) ($p < 0.001$) by analyzing a total of 209 patients (Figure 3B). The heterogeneity was moderate ($p = 0.29$; $I^2 = 20\%$). Meta-analysis from Mohammed et al. and Rudbane et al. did not show significant decrease of CRP (respectively, SMD (95% CI) -2.660 mg/L (-6.144 to 0.823), $p = 0.134$, $I^2 = 82\%$; SMD (95% CI) -0.27 mg/L (-0.77 to 0.23), $p = \text{NS}$, $I^2 = 55\%$), pooling 191 and 132 RA patients. The same results were obtained for ESR. Lowe et al., who combined seven studies, concluded there was a statistically significant reduction of CRP (SMD (95% CI) -2.34 mg/L (-4.26 to -0.41), $p = 0.017$, $I^2 = 52\%$). However, two trials with SpA and JIA patients were added and post-treatment values rather than variations were compared between intervention and comparator groups [26,31]. In the sub-population analysis on RA patients, no benefit of probiotics was found (Table 4).

- TJC

We found only one study out of seven with results in favor of probiotics supplementation (MD (95% CI) -0.72 , (-1.19 to -0.25), $p = 0.003$) (Table 3) [18]. The two meta-analysis, with a total of 191 and 153 patients (Table 4) [29,30], did not show a significant difference between probiotic and placebo groups (respectively, SMD (95% CI) 0.379 (-0.578 to 1.336), $p = 0.437$, $I^2 = 71\%$; SMD (95% CI) -0.21 (-0.53 to 0.11), $I^2 = 10\%$). Mohammed et al. included a study with some JIA patients.

- SJC

We found only one study out of seven with results in favor of probiotics supplementation (MD (95% CI) -0.351 , (-0.58 to -0.13), $p = 0.003$) (Table 3) [18]. Two meta-analysis available did not show any significant difference between probiotic and placebo groups (respectively, SMD (95% CI) 0.171 , (-0.391 to 0.733), $p = 0.551$, $I^2 = 54\%$; SMD (95% CI) -0.30 (0.62 to 0.02), $I^2 = 0\%$) by pooling 191 and 153 patients (Table 4) [29,30].

- HAQ

One study showed a significant improvement in the HAQ score in the probiotic group but no between-group differences (MD (95% CI) -0.2 (-0.5 to 0.1), $p = 0.29$) [19], one study showed a positive but not significant influence (MD -0.11 , $p = 0.11$) [21] and one study did not show any significant effects (MD (95% CI) 0.006 (-0.33 to 0.35), $p = 0.97$) [23]. No significant HAQ improve was noticed in two meta-analysis (data not shown) [29,30].

3.4.2. Results in Spondyloarthritis

Studies' results are shown in Table S2 (Supplementary Materials). Two studies concluded no significant decrease in any disease activity markers. Intestinal chronic inflammatory disease was an exclusion criteria for Jenks et al. and about 75% of patients had been taking NSAIDs in both groups at baseline, which may have altered gut microbiota.

3.5. Tolerance Data

Five studies concerning RA reported the absence of any side effects related to probiotic supplementation [18,21,23–25]. One RCT did not report any information on this subject [19]. Vadell et al. described a 30% proportion of patients during the intervention periods who experienced moderate digestive intolerance such as nausea, diarrhea, stomach pain, heartburn and gas but no dropouts were related and most of them were present only at the start of a diet period.

Adverse events from spondyloarthritis RCTs were well documented: Vadell et al. mentioned the occurrence of nausea, increased flatus, diarrhea, vomiting and abdominal pain in the same proportion between the two groups. Brophy et al. reported 5 people in the placebo group and 6 in the probiotic group with adverse events, mainly stomach cramps (3) and indigestion (1) in both groups.

4. Discussion

This work updated the SLR and meta-analysis on probiotics in chronic inflammatory rheumatism and found: (1) a non-significant decrease of DAS28-CRP, (2) a significant decrease of CRP levels with RA patients under probiotics, (3) the absence of efficacy in patients with SpA. This work was used to inform the French Society of Rheumatology guidelines on diet in chronic inflammatory rheumatism.

Bifidobacterium and *Lactobacillus* are known to provide many beneficial effects, in mice and humans. A recent meta-analysis in 2020 reported significant effects in the reduction of blood pressure, lipid profile, BMI and serum glucose [32]. Other evidence has shown their power of reducing intestinal permeability and modulating immune function through direct interaction with the mucosal immune system [33,34]. Immunological studies revealed that probiotics have dose and duration-dependent immunomodulatory effects on B and T cell proliferation and affect pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine regulation [35]. Probiotics administration can restore the normal mucosal barrier function through keeping the balance between intestinal microflora and resistance against harmful bacterial colonization, adherence and translocation [36]. These effects are dependent on the species and strain of bacteria [37]. For instance, oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* attenuates various types of experimental arthritis [38]. Increasing evidence suggests that gut dysbiosis in RA and SpA patients favors inflammation, participating in disease activity and severity [39,40]. However, the data on gut microbiota composition are controversial and the strains contained in probiotics are not specifically decreased.

Concerning RA, although a statistically significant decrease in CRP was identified, cautious interpretation is required before inferring clinical significance. First, the reduction in CRP with a MD (95% CI) of -3.04 mg/L (-4.47 to -1.62 mg/L) may not represent a clinically meaningful change. On the other hand, some studies reported normal baseline values of both CRP and ESR, but they did not provide the data and it could not be extracted a posteriori. That may partially explain the absence of significant results regarding DAS28, of which inflammatory markers are one of the components. This systematic review of the literature provided very different baseline characteristics and inclusion criteria for both RA and SpA patients; e.g., only women were included in Alipour et al. [18], the minimum duration of disease progression at inclusion was variable, it had to be either more than 6 months for Zamani's et al., more than 2 years for Vadell et al., one year for the others or unspecified. Despite this, the average disease duration was more than 5 years in all studies, provided longstanding RA and SpA. Therefore, as studies did not provide newly diagnosed RA and SpA, the results cannot be extrapolated to this population. Another limitation of this meta-analysis is the small sample size, which may affect the reliability and validity of the results. Besides, four studies were monocentric [18,20,22,23], once again limiting the generalization of the results. Those are important limitations to propose the routine use of probiotics in patients with RA.

Concerning DAS28, three studies showed a significant improvement comparing probiotic supplementation with placebo, but results concerning TJC and SJC are not clinically pertinent [18,24,25]. In fact, in Alipour et al., patients in both groups had no or few TJC or SJC. It is important to note that studies included in meta-analyses for evaluation of DAS28, TJC, SJC, CRP, ESR and HAQ are different, which affects the comparability of the results. Furthermore, the control group was different with two studies comparing probiotics with another dietary intervention, no significant effect on DAS-28, CRP, ESR, TJC and SJC was observed in these trials, suggesting a potential confusion bias. Finally, we may suggest that it is not surprising that meta-analysis of Rudbane et al. reports a significant improvement of DAS28 by the fact that the only two studies which reported significant findings were included.

Concerning meta-analyses, as a primary outcome, we analyzed the variation of the values before and after supplementation, as Mohammed et al. and Rudbane et al. did, whereas Lowe et al., who reported significant results, compared final values between each group. This limits their results, as values before intervention were not the same.

The strengths of our meta-analysis are that we compared variations in outcome measures (such as DAS28 and CRP) between the two groups and included only studies which were RCTs with low or moderate risk of bias and homogeneous disease populations and added new studies. We were interested in three types of rheumatism because they are the focus of most of the literature data currently available on probiotics and represent the largest proportion of patients with inflammatory rheumatic disease. Concerning DAS28 and CRP, Alipour et al. was excluded from our analysis as the results were not reported in intention to treat. In Vadell et al. and Nenonen et al., an additional dietary intervention was performed which could influence the results, motivating us to exclude them from the meta-analysis. Inclusion of Alipour et al. did not change the results for DAS-28 (SMD (95% CI) of -0.59 (-1.55 to 0.37), $p = 0.23$; $I^2 = 89\%$; n patients = 189) (data not shown). Furthermore, inulin supplementation (prebiotic) in Zamani et al., 2017 may allow better engraftment of probiotics in the gastrointestinal tract compared to isolated probiotics.

Another strength of our meta-analysis is its methodological quality. We used the “A Measurement Tool for Assessing Systematic Reviews” (AMSTAR2), designed to carry out rapid and reproducible assessments of the quality of conduct of systematic reviews of RCTs. It represents one of the most widely used instruments to date. Analysis of the methodological quality according to this tool revealed that it was critically low for the three previous meta-analyses. Ours had the advantage of being of higher quality because we removed RCTs at high risk of bias and conducted an adequate investigation of publication bias.

The results of Egger’s test revealed the absence of publication bias for DAS28 (p value = 0.96) and a publication bias for CRP (p value = 0.02). This bias disappeared when sensitivity analyses were performed by removing the studies of Pineda et al. (p value = 0.07) or Mandel et al. (p value = 0.08) (data not shown). Ours to date is the only meta-analysis clearly describing publication bias regarding probiotics supplementation in RA, from which it is possible to conclude the reliability of the results regarding DAS28. The search for publication bias was theoretically limited by the small number of RCTs available in the literature, but our search strategy was intended to be as complete as possible, including searching for conference abstract data. The number of RCTs included is consistent with previous meta-analyses or higher. This limits the risk of not having included relevant RCTs.

Regarding spondyloarthritis, only two RCTs assessed the efficacy of probiotics supplementation versus placebo on SpA activity. No significant decrease of activity score or well-being was found. It is important to note the disparity between the type of patients included, from peripheral phenotype to ankylosing spondylitis and sacroiliitis confirmed by MRI. It would have been interesting to evaluate the effect of probiotic supplementation in a more homogeneous group of patients because these phenotype differences may have affected the final results. More studies are needed to assess the efficacy of probiotics in this selected population.

Tolerance data are reassuring; however, adverse events were not primary endpoints, therefore this data may have suffered from a lack of collection and precision in its measurement. All studies reported an excellent observance except that of Brophy et al., which suffered from less than 70% of tablets being taken.

Furthermore, it has been shown that drugs influence the intestinal microbiota composition and as such might impact response to probiotics. At baseline, in general, stable antirheumatic medication between one and three months before inclusion were one of the inclusion criteria in RA studies. Almost all patients with RA appeared to be treated with either DMARD or symptomatic treatments such as glucocorticoids or NSAIDs. Only two studies specify the proportion of patients not taking any medication, that of Mandel et al. where it was equal to 6% in the probiotic group ($n = 1/15$) and 7% in the control group ($n = 1/14$), and Pineda et al. with 4% in the probiotic group ($n = 1/23$) and 13.6% in the control group ($n = 3/22$). However, most of the studies did not mention whether any modification of medication occurred during follow-up, especially biological DMARD (bDMARD), corticosteroids and NSAIDs use, which would be important confounding factors.

Disparity in publication years also influence the medications taken by patients, in particular bDMARD. Baseline rheumatism activities were also very different between studies, which influences microbiota composition and possibility of activity variations with intervention.

It is currently difficult to conclude whether probiotics are efficient or not because of a high heterogeneity in studies' design due to the use of different strains, quantities and duration of supplementation. In regard to the heterogeneity present between the RCTs, a large heterogeneity exists between the previous meta-analyses, which can explain the differences in their results concerning the DAS28 and the CRP. Indeed, the main limitation is the wide variety of probiotic strains, administration dose and duration among studies with insufficient power to perform subgroup analysis. No study argued for the dosage of probiotics based on a possible pathophysiological rationale or evidence-based medicine. In addition, strains were not adapted to the profile of the patient's initial microbiota; if they were targeted to a possibly deficient one it would have been interesting to see if the effect was significantly increased, which is currently analyzed with the new generation probiotics.

In addition to the limitations of the literature studied, our systematic review may have been impacted by the fact that the initial screening for inclusion and exclusion was undertaken by two reviewers, introducing the risk of human error.

In summary, according to the available evidence, a literature review provided data on probiotic supplementation in patients with established rheumatism and low markers of inflammation, impacting the generalizability of the results. There has been shown to be a significant decrease of CRP concerning RA patients, but clinical relevance is not demonstrated. Probiotic supplementation might decrease RA activity but lack of evidence and heterogeneity lead us to conclude they should not be proposed to patients with inflammatory arthritis to control their disease. However, the good tolerance and potential cardiovascular benefits should be noted and patients who are willing to take them should be informed but not discouraged. Further RCTs and meta-analysis are required in the future to determinate the efficacy of probiotics and in which administration schema.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu14020354/s1>: Table S1: Quality assessment based on Jadad score of randomized controlled trials reviewed. Table S2: Study results in spondylarthritis.

Author Contributions: Conceptualization, C.D.; J.S. (Jérémié Sellam); methodology, C.D.; systematic literature review, P.S., J.-G.L., Y.N. and J.S. (Johanna Sigaux); supervision, J.S. (Jérémié Sellam), and C.D.; writing—original draft preparation, P.S.; writing—review and editing, P.S., J.-G.L., Y.N., J.S. (Johanna Sigaux), T.B., S.C., R.-M.F., J.S. (Jérémié Sellam) and C.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The APC was funded by the Société Française de Rhumatologie.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We acknowledge the Société Française de Rhumatologie.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Food and Agriculture Organization; World Health Organization. *Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Acid Bacteria*; Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation; FAO Food and Nutrition Paper; World Health Organization: Cordoba, Argentina, 2001; Volume 85, pp. 5–35.
2. Wang, P. Probiotic bacteria: A viable adjuvant therapy for relieving symptoms of rheumatoid arthritis. *Inflammopharmacology* **2016**, *24*, 189–196. [[CrossRef](#)]
3. Diamanti, A.P.; Manuela Rosado, M.; Laganà, B.; D'Amelio, R. Microbiota and Chronic Inflammatory Arthritis: An Interwoven Link. *J. Transl. Med.* **2016**, *14*, 233. [[CrossRef](#)]
4. Mielants, H.; De Vos, M.; Cuvelier, C.; Veys, E.M. The Role of Gut Inflammation in the Pathogenesis of Spondyloarthropathies. *Acta Clin. Belg.* **1996**, *51*, 340–349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Tlaskalová-Hogenová, H.; Štěpánková, R.; Hudcovic, T.; Tucková, L.; Cukrowska, B.; Lodinová-Žádníková, R.; Kozáková, H.; Rossmann, P.; Bártová, J.; Sokol, D. Commensal Bacteria (Normal Microflora), Mucosal Immunity and Chronic Inflammatory and Autoimmune Diseases. *Immunol. Lett.* **2004**, *93*, 97–108. [[CrossRef](#)]

6. Sartor, R.B. Review Article: Role of the Enteric Microflora in the Pathogenesis of Intestinal Inflammation and Arthritis. *Aliment Pharmacol. Ther.* **1997**, *11* (Suppl. 3), 17–22; discussion 22–23. [CrossRef] [PubMed]
7. McCulloch, J.; Lydyard, P.M.; Rook, G.A.W. Rheumatoid arthritis: How well do the theories fit the evidence? *Clin. Exp. Immunol.* **1993**, *92*, 1–6. [CrossRef]
8. Danning, C.L.; Boumpas, D.T. Commonly Used Disease-Modifying Antirheumatic Drugs in the Treatment of Inflammatory Arthritis: An Update on Mechanisms of Action. *Clin. Exp. Rheumatol.* **1998**, *16*, 595–604. [PubMed]
9. Delcenserie, V.; Martel, D.; Lamoureux, M.; Amiot, J.; Boutin, Y.; Roy, D. Immunomodulatory Effects of Probiotics in the Intestinal Tract. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2008**, *10*, 37–54.
10. Kano, H.; Kaneko, T.; Kaminogawa, S. Oral Intake of *Lactobacillus Delbrueckii* Subsp. *Bulgaricus* OLL1073R-1 Prevents Collagen-Induced Arthritis in Mice. *J. Food Prot.* **2002**, *65*, 153–160. [CrossRef] [PubMed]
11. So, J.-S.; Kwon, H.-K.; Lee, C.-G.; Yi, H.-J.; Park, J.-A.; Lim, S.-Y.; Hwang, K.-C.; Jeon, Y.H.; Im, S.-H. *Lactobacillus Casei* Suppresses Experimental Arthritis by Down-Regulating T Helper 1 Effector Functions. *Mol. Immunol.* **2008**, *45*, 2690–2699. [CrossRef] [PubMed]
12. Strowski, M.Z.; Wiedenmann, B. Probiotic Carbohydrates Reduce Intestinal Permeability and Inflammation in Metabolic Diseases. *Gut* **2009**, *58*, 1044–1045. [CrossRef] [PubMed]
13. Daien, C.; Czernichow, S.; Letarouilly, J.G.; Nguyen, Y.; Sanchez, P.; Sigaux, J. Dietary Recommendations of the French Society for Rheumatology for Patients with Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases. *Jt. Bone Spine* **2021**, *89*, 105319. [CrossRef] [PubMed]
14. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G.; PRISMA group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *BMJ* **2009**, *339*, b2535. [CrossRef]
15. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. Available online: <https://training.cochrane.org/handbook> (accessed on 23 November 2021).
16. Appendix: Jadad Scale for Reporting Randomized Controlled Trials. In *Evidence-Based Obstetric Anesthesia*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2007; pp. 237–238. ISBN 978-0-470-98834-3.
17. Vaghef-Mehrabany, E.; Alipour, B.; Homayouni-Rad, A.; Sharif, S.-K.; Asghari-Jafarabadi, M.; Zavvari, S. Probiotic Supplementation Improves Inflammatory Status in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Nutrition* **2014**, *30*, 430–435. [CrossRef]
18. Alipour, B.; Homayouni-Rad, A.; Vaghef-Mehrabany, E.; Sharif, S.K.; Vaghef-Mehrabany, L.; Asghari-Jafarabadi, M.; Nakhjavani, M.R.; Mohtadi-Nia, J. Effects of *Lactobacillus Casei* Supplementation on Disease Activity and Inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis Patients: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *Int. J. Rheum. Dis.* **2014**, *17*, 519–527. [CrossRef] [PubMed]
19. Hatakka, K.; Martio, J.; Korpela, M.; Herranen, M.; Poussa, T.; Laasanen, T.; Saxelin, M.; Vapaatalo, H.; Moilanen, E.; Korpela, R. Effects of Probiotic Therapy on the Activity and Activation of Mild Rheumatoid Arthritis—A Pilot Study. *Scand. J. Rheumatol.* **2003**, *32*, 211–215. [CrossRef]
20. Vadell, A.K.E.; Bärebring, L.; Hulander, E.; Gjerdtsson, I.; Lindqvist, H.M.; Winkvist, A. Anti-Inflammatory Diet In Rheumatoid Arthritis (ADIRA)—A Randomized, Controlled Crossover Trial Indicating Effects on Disease Activity. *Am. J. Clin. Nutr.* **2020**, *111*, 1203–1213. [CrossRef]
21. Pineda, M.d.L.A.; Thompson, S.F.; Summers, K.; de Leon, F.; Pope, J.; Reid, G. A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Pilot Study of Probiotics in Active Rheumatoid Arthritis. *Med. Sci. Monit.* **2011**, *17*, CR347–CR354. [CrossRef]
22. Nenonen, M.T.; Helve, T.A. Uncooked, lactobacilli-rich, vegan food and rheumatoid arthritis. *Rheumatology* **1998**, *37*, 274–281. [CrossRef]
23. Mandel, D.R.; Eichas, K.; Holmes, J. *Bacillus Coagulans*: A Viable Adjunct Therapy for Relieving Symptoms of Rheumatoid Arthritis According to a Randomized, Controlled Trial. *BMC Complementary Altern. Med.* **2010**, *10*, 1. [CrossRef]
24. Zamani, B.; Golkar, H.R.; Farshbaf, S.; Emadi-Baygi, M.; Tajabadi-Ebrahimi, M.; Jafari, P.; Akhavan, R.; Taghizadeh, M.; Memarzadeh, M.R.; Asemi, Z. Clinical and Metabolic Response to Probiotic Supplementation in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Int. J. Rheum. Dis.* **2016**, *19*, 869–879. [CrossRef] [PubMed]
25. Zamani, B.; Farshbaf, S.; Golkar, H.R.; Bahmani, F.; Asemi, Z. Synbiotic Supplementation and the Effects on Clinical and Metabolic Responses in Patients with Rheumatoid Arthritis: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Br. J. Nutr.* **2017**, *117*, 1095–1102. [CrossRef] [PubMed]
26. Jenks, K.; Stebbings, S.; Burton, J.; Schultz, M.; Herbison, P.; Highton, J. Probiotic Therapy for the Treatment of Spondyloarthritis: A Randomized Controlled Trial. *J. Rheumatol.* **2010**, *37*, 2118–2125. [CrossRef]
27. Brophy, S.; Burrows, C.L.; Brooks, C.; Gravenor, M.B.; Siebert, S.; Allen, S.J. Internet-Based Randomised Controlled Trials for the Evaluation of Complementary and Alternative Medicines: Probiotics in Spondyloarthropathy. *BMC Musculoskelet. Disord.* **2008**, *9*, 4. [CrossRef] [PubMed]
28. Lowe, J.R.; Briggs, A.M.; Whittle, S.; Stephenson, M.D. A Systematic Review of the Effects of Probiotic Administration in Inflammatory Arthritis. *Complementary Ther. Clin. Pract.* **2020**, *40*, 101207. [CrossRef]
29. Aqaeinezhad Rudbane, S.M.; Rahmdel, S.; Abdollahzadeh, S.M.; Zare, M.; Bazrafshan, A.; Mazloomi, S.M. The Efficacy of Probiotic Supplementation in Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Inflammopharmacology* **2018**, *26*, 67–76. [CrossRef]

30. Mohammed, A.T.; Khattab, M.; Ahmed, A.M.; Turk, T.; Sakr, N.; Khalil, A.M.; Abdelhalim, M.; Sawaf, B.; Hirayama, K.; Huy, N.T. The Therapeutic Effect of Probiotics on Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Control Trials. *Clin. Rheumatol.* **2017**, *36*, 2697–2707. [[CrossRef](#)]
31. Shukla, A.; Gaur, P.; Aggarwal, A. Effect of Probiotics on Clinical and Immune Parameters in Entesitis-Related Arthritis Category of Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* **2016**, *185*, 301–308. [[CrossRef](#)]
32. Dixon, A.; Robertson, K.; Yung, A.; Que, M.; Randall, H.; Wellalagodage, D.; Cox, T.; Robertson, D.; Chi, C.; Sun, J. Efficacy of Probiotics in Patients of Cardiovascular Disease Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr. Hypertens. Rep.* **2020**, *22*, 74. [[CrossRef](#)]
33. Rosenfeldt, V.; Benfeldt, E.; Valerius, N.H.; Paerregaard, A.; Michaelsen, K.F. Effect of Probiotics on Gastrointestinal Symptoms and Small Intestinal Permeability in Children with Atopic Dermatitis. *J. Pediatr.* **2004**, *145*, 612–616. [[CrossRef](#)]
34. Berg, R.D. Bacterial Translocation from the Intestines. *Jikken Dobutsu* **1985**, *34*, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Baharav, E.; Mor, F.; Halpern, M.; Weinberger, A. *Lactobacillus* GG Bacteria Ameliorate Arthritis in Lewis Rats. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 1964–1969. [[CrossRef](#)]
36. Malin, M.; Verronen, P.; Korhonen, H.; Syväoja, E.L.; Salminen, S.; Mykkänen, H.; Arvilommi, H.; Eerola, E.; Isolauri, E. Dietary Therapy with *Lactobacillus* GG, Bovine Colostrum or Bovine Immune Colostrum in Patients with Juvenile Chronic Arthritis: Evaluation of Effect on Gut Defence Mechanisms. *Inflammopharmacology* **1997**, *5*, 219–236. [[CrossRef](#)]
37. Reid, G.; Jass, J.; Sebulsky, M.T.; McCormick, J.K. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 658–672. [[CrossRef](#)]
38. Nowak, B.; Cizek-Lenda, M.; Sróttek, M.; Gamian, A.; Kontny, E.; Górska-Frączek, S.; Marcinkiewicz, J. *Lactobacillus Rhamnosus* Exopolysaccharide Ameliorates Arthritis Induced by the Systemic Injection of Collagen and Lipopolysaccharide in DBA/1 Mice. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **2012**, *60*, 211–220. [[CrossRef](#)]
39. Brusca, S.B.; Abramson, S.B.; Scher, J.U. Microbiome and Mucosal Inflammation as Extra-Articular Triggers for Rheumatoid Arthritis and Autoimmunity. *Curr. Opin. Rheumatol.* **2014**, *26*, 101–107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Chen, J.; Wright, K.; Davis, J.M.; Jeraldo, P.; Marietta, E.V.; Murray, J.; Nelson, H.; Matteson, E.L.; Taneja, V. An Expansion of Rare Lineage Intestinal Microbes Characterizes Rheumatoid Arthritis. *Genome Med.* **2016**, *8*, 43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- **Annexe 2.** Article publié dans la revue *Joint Bone Spine* en 2022 (Impact factor = 5.3) portant sur les recommandations nutritionnelles de la SFR pour les patients atteints de rhumatismes inflammatoires chroniques.



Recommendations and metaanalyses

Dietary recommendations of the French Society for Rheumatology for patients with chronic inflammatory rheumatic diseases

Claire Daien^{a,b,*}, Sébastien Czernichow^{c,d}, Jean-Guillaume Letarouilly^e, Yann Nguyen^f, Pauline Sanchez^a, Johanna Sigaux^{g,h}, Catherine Beauvaisⁱ, Sandra Desouches^j, Robert Le Puillandre^j, Vincent Rigalleau^k, Pauline Rivière^l, Monique Romon^m, Luca Semerano^{g,h}, Raphaële Seror^{n,o}, Sylvie Sfedj^p, Anne Tournadre^q, Danielle Vacher^r, Daniel Wendling^s, René-Marc Flipo^e, Jérémie Sellam^{i,t,**}

^a CHRU Montpellier, Département de Rhumatologie, Montpellier, France

^b University of Montpellier, PhyMedExp, INSERM, CNRS UMR, Montpellier, France

^c Department of Nutrition, Specialized Obesity Center, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Université de Paris, AP-HP, 75015 Paris, France

^d Epidemiology and Biostatistics Sorbonne Paris City Center, UMR1153, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, 75004 Paris, France

^e Department of Rheumatology, Université Lille, CHU Lille, 59000 Lille, France

^f Department of Internal Medicine, Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Nord, Hôpital Beaujon, Université de Paris, 92100 Clichy, France

^g Department of Rheumatology, AP-HP, Hôpital Avicenne, 93017 Bobigny, France

^h INSERM U1125, Université Sorbonne Paris Nord, 93017 Bobigny, France

ⁱ Department of Rheumatology, AP-HP, Sorbonne Université, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

^j Association Française de Spondyloarthrite, 19000 Tulle, France

^k Department of Endocrinology, Diabetology, nutrition, CHU de Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, 33600 Pessac, France

^l 1 ter, impasse Gabrielle-d'Estrées, 37270 Montlouis-sur-Loire, France

^m Faculté de Médecine de Lille, Lille, France

ⁿ Department of Rheumatology, AP-HP, Hôpitaux universitaires Paris-Saclay-Hôpital Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

^o Centre of Immunology of Viral Infections and Auto-immune Diseases (IMVA), INSERM U1184, Université Paris-Saclay, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

^p Association Française des Polyarthritiques et des Rhumatismes inflammatoires chroniques (AFP^{ric}), 75011 Paris, France

^q Department of Rheumatology, Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, INRAE, UNH UMR 1019, 63003 Clermont-Ferrand, France

^r Association nationale de défense contre la polyarthrite rhumatoïde (ANDAR), 75014 Paris, France

^s Service de Rhumatologie, CHU de Besançon, EA 4266 EPILAB, Université de Besançon, 25000 Besançon, France

^t Inserm UMRS_938, FHU PaCeMM, Sorbonne Université, 75012 Paris, France



INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Accepté le 29 septembre 2021

Disponible sur Internet le 10 December 2021

Keywords :

Food intake

Diet

Nutrition

Nutrient

Rheumatoid arthritis

Spondyloarthritis

Psoriatic arthritis

Non-drug therapies

Recommendations

ABSTRACT

This article presents the 1st set of dietary recommendations of the French Society for Rheumatology for patients suffering from chronic inflammatory rheumatic diseases (IRD) made by a working group consisting of 12 rheumatology experts, 3 physician nutrition specialists, 1 internal medicine specialist, 1 registered dietician and 3 representatives from patient associations. This group relied on a systematic literature review and on expert opinions, while taking into consideration not only the joint effects of diet in IRD but also the extra-articular ones. Eight general principles and nine recommendations were established. The general principles emphasize that nutritional advice is not a substitute for pharmacological treatment of IRD and that it is an integral part of the patients' overall care, which could help the patient actively participate in their care. The recommendations propose supporting weight loss in subjects who are overweight or obese, a Mediterranean-type diet and supplementation in polyunsaturated fatty acids, mainly omega-3. Conversely, gluten-free diets (in the absence of celiac disease), vegetarian/vegan diets, fasting and elimination of dairy products should not be proposed. Supplementation with vitamins or trace elements is not indicated for controlling chronic IRD activity, while the use of probiotics or spices is not recommended given the limited or disparate data.

© 2022 Les Auteurs. Publié par Elsevier Masson SAS au nom de Société française de rhumatologie. Cet article est publié en Open Access sous licence CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Corresponding author at: Département de Rhumatologie, Hôpital Lapeyronie, 371, avenue du Doyen-Giraud, Montpellier, France.

** Co-corresponding author at: Hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg-Saint-Antoine, 75012 Paris, France.

Adresses e-mail : c-daien@chu-montpellier.fr (C. Daien), jeremie.sellam@aphp.fr (J. Sellam).

1. Introduction

When caring for patients suffering from chronic inflammatory rheumatic diseases (IRD), non-pharmacological measures are important, as recommended by the French Society for Rheumatology (SFR) [1,2]. In fact, along with medications, these measures help to control the disease activity to improve the patient's overall care. Among non-pharmacological measures, diet could be particularly relevant by modulating the immune and/or inflammatory response and modifying the cardiovascular risk [3]. As such, dietary measures were mentioned in the recommendations specific to rheumatoid arthritis (RA) [1].

Beyond IRD, diet is a topic that interests the general population; it has been the subject of various studies that have led to dietary and nutritional recommendations for the overall health of the French population (PNNS – French national nutrition and health program) [4,5]. Certain modifications to dietary habits in the French general population in recent years have also been identified, such as increased frequency of exclusion diets such as gluten-free diets (in the absence of confirmed celiac disease) [6] or reduction in the intake of meat and dairy products [7]. While data are sparse, this interest in diet is also observed in patients suffering from chronic IRD who may perceive diet as a “natural” way to improve their IRD on a day-to-day basis. Patients may also perceive that certain foods affect their RA symptoms (improvement or worsening), which may cause them to adopt food avoidance strategies [8].

Thus, patients want specific information about dietary habits to adopt for their chronic IRD. Numerous studies have evaluated different types of interventions (exclusion diets, Mediterranean diet, food supplements, fasting, etc.) and there is plenty of information about them – which has not necessarily been validated – in the popular literature and on social media, sometimes having commercial aims. Conversely, there is little information about the potential harmful effects of unsupervised exclusion diets.

This led us to establish recommendations on diet and dietary habits for patients suffering from chronic IRD intended for health professionals (rheumatologists, physician nutrition specialists, dietitians), under the auspices of the SFR, in partnership with learned societies focused on nutrition [Société française de nutrition (SFN); Société francophone nutrition clinique et métabolisme (SFNCM); Association française d'étude et de recherche sur l'obésité (AFERO);

Association française des diététiciens nutritionnistes (AFDN)] and associations for patients suffering from chronic IRD [Association nationale de défense contre l'arthrite rhumatoïde (ANDAR); Association France spondyloarthrites (AFS); Association française des polyarthritiques et des rhumatismes inflammatoires chroniques (AFP^{ric})].

2. Methods

These recommendations were established by following the normalized procedures proposed by the EULAR [9]. A working group designated by the SFR, made up of 12 rheumatology experts, 3 physician nutrition specialists, 1 internal medicine specialist, 1 registered dietician and 3 representatives from patient associations from all over France met to come up with these recommendations. The working group relied on a systematic literature review done by four fellows (J.G.L., Y. N., P. S. and J. Si.) to summarize the data available up to June 2020. This systematic literature review was carried out according to the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) recommendations [10] using the Medline database (via PubMed) and published abstracts from the 2018–2020 conferences of the EULAR and 2018–2019 conferences of the American College of Rheumatology (ACR). This resulted in the preparation of several articles [11–14]. The objective of this systematic literature review was to answer questions that had been previously validated by the working group. These questions pertained to the following populations: adult patients with RA, spondyloarthritis (SpA) or psoriatic arthritis (PsA). Only randomized, controlled studies were included, with no minimum threshold for the number of patients. Table 1 summarizes the interventions studied. These interventions were evaluated using the following criteria: effectiveness on disease activity and its functional impact, extra-articular manifestations and therapeutic response. The secondary effects and adherence to the various diets/foods were also evaluated. After the data from the scientific literature were presented, the experts were separated into small groups to work on the various general principles and recommendations based on the draft made by C.D., J.Se., RM.F. and S.C. The level of evidence was presented with each proposal [15]. Each item was then presented to the entire working group in its modified version. For an item to be retained, more than 75% of participants

Table 1

Number and quality of the randomized controlled trials for each diet, food, nutrient or dietary practice studied in patients who have a chronic inflammatory rheumatic disease.

Intervention studied	Number of studies	Total number of patients	Quality (Jadad score) ^a
Low-calorie diet and weight loss intervention (including bariatric surgery)	1	138	3
Gluten-free diet ^b	3	185	2–3
Vegetarian/Vegan diet ^b	6	322	2
Fasting ^b	3	92	1–2
Elemental diet	4	124	1–3
Dairy and dairy products	0	0	–
Paleo/Seignalet diet, ketogenic diet, Kousmine diet, diet rich/poor/supplemented in starchy foods (bread, cereals, potatoes, pulses), “acidic” foods (tomatoes, etc.)	0	0	–
High-protein diet	2	71	4
Fishery products, mussels, fish oil, added fat, fatty acids, omega-3	40	2126	1–5
Mediterranean-type diet	5	456	0–3
Vitamins (A, B, C, D, E)	13	1556	1–5
Sweeteners, food additives, “organic” foods	0	0	–
Antioxidants, fruits and vegetables	7	374	1–5
Sweets, beverages (alcohol, coffee, tea)	0	0	–
Fiber/prebiotics, probiotics and synbiotics	10	521	2–5
Minerals (calcium, copper, iron, iodine, magnesium, manganese, phosphorus, potassium, selenium, sodium/salt, zinc)	6	191	0–4
Spices (garlic, turmeric, ginger, cinnamon, saffron, etc.)	6	316	2–5

^a The Jadad score was used to evaluate the methodological quality of studies, with 0 being the lowest quality and 5 the highest quality.

^b Combined intervention of fasting, vegetarian/vegan diet, gluten-free diet, fatty acid supplementation.

Table 2
Dietary Recommendations of the French Society for Rheumatology for patients with chronic inflammatory rheumatic diseases.

General principles and recommendations	Level of evidence	Grade	Agreement of working group ^a Mean (SD)	Agreement of review board ^a Mean (SD)
General principles				
A. Nutritional advice is not a substitute for pharmacological treatment of chronic inflammatory rheumatic diseases	NA	NA	9.9 (0.3)	9.8 (0.5)
B. The nutritional advice given to patients affected by chronic inflammatory rheumatic diseases should be based on data from the scientific literature	NA	NA	9.5 (1.0)	9.2 (1.2)
C. Nutritional support is integrated into the overall care of patients affected by chronic inflammatory rheumatic diseases	NA	NA	9.4 (1.2)	9.0 (1.3)
D. Broaching dietary habits can help patients get actively involved in the overall care of their chronic inflammatory rheumatic disease	NA	NA	9.2 (0.9)	8.9 (1.4)
E. The nutritional advice given to patients affected by chronic inflammatory rheumatic disease must take into account the intra- and extra-articular effects, particularly cardiometabolic and bone	NA	NA	9.7 (0.8)	9.5 (0.9)
F. The nutritional advice must take the cultural and socioeconomic context into account	NA	NA	9.3 (1.0)	9.1 (1.2)
G. Nutritional advice is indissociable from the promotion of exercise	NA	NA	9.4 (1.0)	9.1 (1.4)
H. If other nutritional recommendations exist that are specific to a disease, clinical condition or associated treatment, these continue to apply (e.g. undernutrition, obesity, sarcopenia, osteoporosis, etc.)	NA	NA	9.4 (0.9)	9.0 (1.5)
Recommendations				
1. In patients who are overweight or obese, weight loss support should be proposed to control chronic inflammatory rheumatic disease activity; weight loss also has beneficial cardiometabolic and psychological effects		C	9.6 (0.6)	8.5 (1.5)
2. A gluten-free diet should not be proposed as a means to control chronic inflammatory rheumatic disease activity, in the absence of confirmed celiac disease		C	9.8 (0.5)	9.1 (1.3)
3. Fasting or vegan diets should not be proposed to control the activity of chronic inflammatory rheumatic diseases		D	9.7 (0.6)	9.1 (1.8)
4. Eliminating dairy products should not be proposed for managing chronic inflammatory rheumatic disease		C	9.6 (0.7)	9.2 (1.3)
5. Supplementation with polyunsaturated fatty acids, mainly omega-3, of more than 2 g per day, could be proposed for symptomatic relief in patients who have rheumatoid arthritis and likely for those suffering from other chronic inflammatory rheumatic disease		A	8.9 (1.8)	7.9 (2.0)
6. A Mediterranean-type diet could be proposed to patients who have rheumatoid arthritis and likely to those affected by other chronic inflammatory rheumatic disease given its effects on joint symptoms and foremost the cardiometabolic diseases		C	8.8 (2.1)	8.5 (1.7)
7. To control the activity of chronic inflammatory rheumatic diseases, there is no indication for proposing vitamin (B9, D, E, K) or trace element (selenium and/or zinc) supplementation		B	9.6 (0.9)	8.4 (2.1)
8. Given that the data on the effectiveness of probiotics is insufficient and disparate, they are not recommended for controlling chronic inflammatory rheumatic disease activity		B	9.4 (0.6)	8.6 (1.8)
9. Certain supplements (saffron, cinnamon, garlic, ginger, sesamin, pomegranate concentrate) could have beneficial effects on rheumatoid arthritis disease activity but the data are currently too limited to propose their use in current practice		B	9.2 (1.1)	8.1 (2.1)

The recommendation grade reflects the level of evidence: a corresponds to the highest level of evidence, NA: not applicable.

^a Agreement score between 0 and 10 where 10 is complete agreement.

had to be in favor of it. The item was discussed and reformulated if needed, then a 2nd vote was taken, with a score ranging from 0 to 10, where 0 corresponded to complete disagreement with the recommendation and 10 indicating complete agreement. When a consensus was achieved (> 75% of participants giving a score \geq 8) the item was validated. A 3rd vote was taken by email in the week following the meeting. The results of this vote are shown in [Table 2](#).

The recommendations were then reviewed by a review board made up of 51 experts (rheumatologist practicing at a hospital or in private practice, physician nutrition specialist practicing at a hospital or in private practice, registered dietitians). The members of this review board voted on a scale of 0 (completely disagree) to 10

(completely agree). Their comments were considered when writing the text that accompanied the recommendations. The results of this vote are also shown in [Table 2](#).

3. Results

This process resulted in the declaration of eight general principles and nine recommendations ([Table 2](#)). The level of evidence, recommendation grades and strength of agreement of the working group and review board are also given in [Table 2](#) for each recommendation.

3.1. General principles

Principle A: Nutritional advice is not a substitute for pharmacological treatment of chronic inflammatory rheumatic diseases.

It is crucial to start with this first general principle in any discussion with a patient about their diet. In fact, the level of evidence of studies on dietary changes or nutritional supplements is limited, while the interventions that have been studied the most show only a modest effect on symptoms. It is important to emphasize that none of these studies have shown a structural effect. Nutritional advice can thus only be considered as a supplement to pharmacological treatment; it must not delay or replace standard treatments with medications.

The term “nutritional advice” was chosen for most of the general principles. The working group determined that nutritional advice was the result of a discussion with the patient and did not consist of a medical prescription, which seems relevant considering the interventions proposed and the modest effects observed.

Principle B: The nutritional advice given to patients affected by chronic inflammatory rheumatic diseases should be based on data from the scientific literature.

Several beliefs conveyed by different actors (social media, food-processing industry, caregivers, patients, etc.) circulate on the links between diet and IRD. The working group felt it was important to remember that advice given by doctors to patients must be based on scientific data, whereas there is plenty of information in plain-language medical websites, social networks and the internet that do not have sufficiently robust scientific evidence to justify their application in daily practice. The purpose of these recommendations is, among others, to recall the currently available data to help healthcare professionals in their discussions with patients. Obviously, these recommendations could eventually change as our knowledge expands.

Principle C: Nutritional support is integrated into the overall care of patients affected by chronic inflammatory rheumatic diseases.

Diet is a very important factor for health in general. It is one of the main determinants of the composition of our gut microbiota, which can itself impact health through local modifications (gut permeability, gut immunity) or more systemic ones (stimulation of nerve endings and gut–brain axis, systemic release of microbiota-derived metabolites, hormones, antigens, etc.) [16–18]. Diet affects cardiovascular risk, cancer risk, mood, etc. [19]. The purpose of this general principle is to motivate doctors who care for patients affected by IRD to become interested in this topic. While data in IRD is still limited, it appears important to listen to patients' feel and their dietary habits. The 2018 update of the SFR recommendations on RA and SpA management already emphasized the need

for overall care of patients, with nutritional advice included within non-pharmacological measures [1,2].

Principle D: Broaching dietary habits can help patients get actively involved in the overall care of their chronic inflammatory rheumatic disease.

We know how important it is for patients to play an active role in their health. Patient education is an important tool for making this happen. It is widely recommended in the overall care of patients affected by IRD [20]. Changing how one eats is also a means for patients to actively participate in treating their disease, beyond medication compliance. Getting involved in one's care empowers patients and develops self-efficacy, which can have beneficial effects on physical health and coping ability [21].

Principle E: The nutritional advice given to patients affected by chronic inflammatory rheumatic diseases must take into account the intra- and extra-articular effects, particularly cardiometabolic and bone.

While the level of evidence of studies on how diet affects joint symptoms is limited and the observed effects are modest, it is important to consider nutritional advice that also takes into consideration the extra-articular manifestations of these interventions. In fact, patients with IRD are at increased risk of cardiovascular events and death, along with increased risk of osteoporosis due to chronic inflammation and use of certain treatments [22]. These extra-articular components carried weight in the risk/benefit ratio that was evaluated when coming up with the different recommendations.

Principle F: The nutritional advice must take the cultural and socioeconomic context into account.

It is important to remember that these recommendations cannot be considered without context. Of course, clinicians must take into account different factors specific to the patient, such as the cultural and socioeconomic context, to adapt their discussions. It is also important to remember that eating is a source of pleasure and social interaction and that exclusion diets can have a negative psychosocial impact, in addition to the risk of deficiencies.

Principle G: Nutritional advice is indissociable from the promotion of exercise.

This work does not encompass physical activity. Thus, we did not make any recommendations on this topic. However, it was apparent to the working group that promoting exercise was an important part of the nutritional support, particularly for a weight loss goal. Some believe that exercise is also an element of the Mediterranean diet. The development of specific recommendations about exercise in IRD was placed on the research agenda (Box 1).

Box 1 : Research agenda

Draw up recommendations on exercise in IRD
 Draw up recommendations on the detection and treatment of undernutrition, sarcopenia, overweight and obesity in IRD
 Evaluate the impact of weight loss (medical or surgical) on IRD activity through new high-quality studies
 Evaluate the impact of dietary interventions on patient-related outcome measures
 Evaluate the impact of a gluten-free diet, lactose/dairy-free diet using an exclusion diet design in both groups with addition of gluten/lactose vs. placebo through new high-quality studies
 Evaluate the impact of intermittent fasting through new high-quality studies
 Evaluate the impact of organic foods or highly processed foods on the activity of rheumatic diseases through new high-quality studies
 Evaluate the impact of preventive dietary interventions in subjects at high risk for rheumatic diseases
 Study the link between the response to dietary changes and the gut microbiota in patients with IRD

Principle H: If other nutritional recommendations exist that are specific to a disease, clinical condition or associated treatment, these continue to apply (e.g., undernutrition, obesity, sarcopenia, osteoporosis, etc.).

This general principle was proposed to highlight the fact that these recommendations must not prevail over those that could be issued in other clinical situations where the proposed nutritional interventions have a higher level of evidence. After discussion, the working group determined that in most cases, these recommendations do not go against the nutritional recommendations issued for other clinical conditions. Thus, the initial proposal which was “the other specific nutritional recommendations prevail” was replaced by “continue to apply”. Celiac disease, which was initially listed, was removed since recommendation 2 on gluten-free diets already states “in the absence of confirmed celiac disease”. Obviously, the proposed list is not exclusive. We can add gout – a joint condition in which dietary measures have a proven impact and are an integral component of the treatment recommendations [23] – heart failure, kidney failure, irritable bowel disease flare-ups, etc. The decision to list undernutrition, obesity, sarcopenia and osteoporosis was made because it appeared to the working group that these conditions were often present concurrently with IRD. Detection and treatment of undernutrition and sarcopenia in patients with IRD could be the subject of a specific discussion and recommendations, thus was included in the research agenda (Box 1).

3.2. Recommendations

Recommendation 1: In patients who are overweight or obese, weight loss support should be proposed to control chronic inflammatory rheumatic disease activity; weight loss also has beneficial cardiometabolic and psychological effects.

Only one randomized controlled trial on patients suffering from PsA was found during the systematic literature review [24]. In that study, 138 overweight or obese patients starting TNF inhibitor therapy were randomized into two arms: calorie-restricted diet (about 30% of total energy needs) or no restrictions on eating. Minimal disease activity (MDA) was reached more often by the patients in

the low-calorie diet than by the others (hazard ratio = 1.85 [95% CI: 1.019–3.345]). Patients who lost more than 5% of their bodyweight, independent of which arm they were assigned to, had a 4-fold greater likelihood of achieving MDA than the others (odds ratio = 4.20 [1.82–9.66], $P < 0.001$).

Outside randomized trials, several studies have shown a link between obesity and the severity of IRD [25,26]. Observational studies also suggest a beneficial effect of weight loss (through calorie reduction or bariatric surgery) on RA and PsA disease activity [27–30]. Randomized controlled trials also found a beneficial effect of weight loss through dieting on psoriasis [31].

Moreover, being overweight is associated with increased risk of cardiovascular events, depression and cancer; their reduction is a major objective of France’s health advisory council (Haut Conseil de la Santé Publique – HCSP). Note that in observational studies, weight loss is associated with increased mortality in patients with RA and other chronic diseases. This paradox can likely be explained by the fact that the weight loss itself is related to the underlying chronic disease, contributing to mortality [32].

The detection of overweight and obesity in IRD was not taken up in these recommendations. Like sarcopenia and undernutrition, the detection of overweight and obesity in patients affected by IRD could be the subject of specific discussions and recommendations. It was also added to the research agenda (Box 1).

Recommendation 2: A gluten-free diet should not be proposed as a means to control chronic inflammatory rheumatic disease activity, in the absence of confirmed celiac disease.

A gluten-free diet is becoming more widespread in the general population for its supposed beneficial effects on health (apart from celiac disease) [6]. This may also be the case in patients affected by IRD. Some patients report that their symptoms improved after they eliminated gluten from their diets [33]. No randomized study has looked at the effects of a gluten-free diet alone. Two randomized controlled studies combined a gluten-free diet with a vegan diet [34,35], with or without prior fasting [36]. The outcomes were evaluated by an independent observer in the first study and open in the other. The diet was followed for 1 year and for 3.5 months, respectively (preceded by a 10-day fast). A large portion of the patients in the “intervention” group dropped out from the study before it ended [42% (16/38) and 37% (10/27), respectively]. Note that these are old studies in which patients were not optimally treated (no information about the type of treatment in the first study and no methotrexate in the second). In the first study, the effectiveness was only determined in the patients who finished the study (per protocol analysis), which greatly limits the conclusions, in a population that bears little resemblance to the current patient population. In the subgroup of patients who finished the study, the changes in DAS28 were greater in the intervention group [DAS28 went from 5.3 to 4.3 ($P < 0.001$) and 5.3 to 5.0 ($P = 0.19$), respectively, in the intervention and control groups]. In the second study, where an intention to treat analysis was done, the number of painful and swollen joints was less during the follow-up period in the intervention group. Nevertheless, it is important to note that on average, patients in the intervention group still had 18 painful joints and 8 swollen joints, thus they were not anywhere near the current treatment target for RA (remission or low activity). Also, structural progression was observed in both groups. In these two studies, the patients in the “intervention” group lost a significant amount of weight (mean \approx 4.2 and 6 kg, respectively), contrary to patients in the control groups (mean \approx 0.7 and 0 kg, respectively). This weight loss could, at least in part, explain the observed effect.

A double-blind French study with a gluten-free diet in both arms and the addition of products that contain gluten or not, is on-going for SpA but not in RA (research agenda) [37].

Beyond the effects on joint symptoms, the cost of gluten-free products is on average double that of the standard corresponding foods and following a strict gluten-free diet may have impact on patient's lives socially [38,39]. Moreover, two American cohort studies suggest that, in the general population, the consumption of gluten could be associated with a reduction in the occurrence of cardiovascular events and diabetes. Given that the cardiovascular risk in patients with IRD is increased and the data on joint symptoms for a gluten-free diet are insufficient and open to criticism, proposing a gluten-free diet to patients with IRD is not recommended [37].

Recommendation 3: Fasting or vegan diets should not be proposed to control the activity of chronic inflammatory rheumatic diseases.

Three controlled studies have been done on the effect of fasting in RA: one with a short-term assessment of a 7-day fast in 13 patients (crossover study) [40] and two with a 7–10 day fast followed by lactovegetarian diet for 9 weeks [41] ($n = 26$) or gluten-free vegan diet for 3.5 months then lactovegetarian diet for 9 months [36] (study described in the previous section, $n = 53$). The first study found a short-term beneficial effect of fasting but provided no information about the maintenance of the joint effects once eating had resumed [40]. The second study found a beneficial effect of fasting in 5 of 15 patients but it was not maintained during the period in which the lactovegetarian diet was followed. In the study by Kjelsen-Kragh et al., the beneficial joint effect was achieved at the end of the fasting period and the vegetarian diet was able to maintain this effect without providing additional benefit [36]. Nevertheless, here again, a per protocol analysis was done, which did not include the large number of patients who dropped out (10/27 in the intervention group and 9/26 in the control group), which makes the results difficult to interpret.

Two studies in patients suffering from RA combined a vegetarian diet with either fish oil high in omega-3 [42] or drinks rich in *Lactobacillus* [43]. In the groups that did not receive omega-3 supplementation in the first study, only the pain level on VAS improved in the vegetarian diet relative to the Western diet [no effect on the number of painful or swollen joints, nor on the Health Questionnaire Assessment (HAQ)] [42]. The other study found no significant effect of a vegetarian diet on parameters of RA disease activity [43].

Thus, data on vegetarian or vegan diets do not suggest any relief of joint symptoms, and while an extended 7-day fast may have beneficial effects, these do not appear to be maintained once the subject starts eating again, which considerably limits its relevance. It is important to remember that extended fasting must be supervised strictly by a health care practitioner and the patients must be informed of the risks incurred. Structural effectiveness of this type of diet has not been demonstrated. Other variations of shorter fasts, such as intermittent fasting, have not been evaluated in IRD (research agenda).

Recommendation 4: Eliminating dairy products should not be proposed for managing chronic inflammatory rheumatic disease.

The belief that dairy products have harmful effects is widespread in society, and their consumption in France has decreased in recent years [7]. Nevertheless, no study has supported this

hypothesis in IRD. Again, the only relevant data comes from the study by Kjelsen-Kragh et al.: reintroduction of dairy products after the vegan diet period did not alter the joint symptoms [36]. To our knowledge, no other controlled study in humans or animals has been done on the effects of dairy products, or their elimination, in IRD. The intestinal mucosa of RA patients is not hyper-reactive to cow's milk proteins and there was no correlation between the intolerance felt by patients and the reactivity of their intestinal mucosa [44].

Dairy products are the main dietary source of calcium. Patients with IRD have a higher risk of developing osteoporosis because of the nature of their disease and the frequent and prolonged exposure to corticosteroids. A recent meta-analysis confirms the beneficial effects of 12 to 24 months of calcium supplementation on bone mineral density, particularly in countries where dietary intake of calcium is low [45]. Another meta-analysis of cohorts reports a protective effect of high intake of dairy products on the risk of hip fracture, with a 13% reduction in risk (relative risk RR=0.87 [95% CI: 0.76–1.00]) [46]. This reduction in fracture risk was observed with fermented dairy products (RR=0.75 [0.66–0.86] and RR=0.68 [0.61–0.77] for yogurt and cheese, respectively) but not with milk (RR=0.91 [0.74–1.12]). However, this study was criticized because of the large variability in how different studies defined consumption categories, leading to potential classification bias and numerous potential confounding factors [47]. Furthermore, fermented dairy products also appear to have cardiovascular benefits. A recent meta-analysis of 20 cohort studies found a 4% reduction in cardiovascular events (stroke, myocardial infarct, ischemic cardiopathy, sudden cardiac death) (RR=0.96 [95% CI: 0.94–0.98] associated with consumption of fermented dairy products, along with a 27% reduction in the risk of type 2 diabetes (RR=0.73 [0.70–0.76] and 20% reduction in the risk of metabolic syndrome (RR=0.80 [0.74–0.87]) associated with the consumption of yogurt [48]. The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis 5MESA study, which followed the progression of coronary artery calcifications by coronary CT angiography in 5273 participants, found a protective effect of consuming whole milk with lower cardiac calcium score at enrollment and slower progression during the follow-up period after adjusting for multiple factors (OR=0.765 [0.60–0.98]) [49]. Thus, the working group proposed following the recommendations set out for the general population by the PNNS, which is two servings of dairy products per day for adults. It may be interesting to favor consuming fermented dairy products, which are easily digested and could provide greater beneficial extra-articular effects.

Recommendation 5: Supplementation with polyunsaturated fatty acids, mainly omega-3, of more than 2 g per day, could be proposed for symptomatic relief in patients who have rheumatoid arthritis and likely for those suffering from other chronic inflammatory rheumatic diseases.

The term “essential polyunsaturated fatty acids” (PUFA) refers to the large families of omega-3 (mainly found in the fish and marine algae oils) and omega-6 (mainly found in vegetable oils). These are labelled as essential since they are needed by the body but cannot be synthesized by it; they can only be provided by exogenous sources. Contrary to other recommendations, this one is based on extensive literature data with, at the time of the literature search, 43 randomized placebo-controlled trials and several meta-analysis studies, which justifies a grade A recommendation. The literature review that was done for the development of these recommendations made it possible to conduct a new meta-analysis grouping 31 of these studies and capturing 1464 patients affected by IRD [13].

Most of these studies were done on patients suffering from RA (26 of the 31 studies; 1014 of the 1464 patients) thus the recommendation is focused on this population. PUFA supplementation led to a significant decrease in all the clinical parameters studied, with a large effect in the VAS activity, moderate on VAS pain, the DAS28 and the HAQ, and a weak effect on morning stiffness. It also leads to significant reduction in the erythrocyte sedimentation rate (ESR), but not in C-reactive protein (CRP). Furthermore, most studies involved 3 to 6 months of supplementation. The analyses after 1 month found no significant effect, suggesting that supplementation must last at least 3 months. There is no data on the maintenance of the beneficial effects after the end of supplementation or how often the treatment courses should be repeated. As for the dose, the working group decided to specify that supplementation with at least 2 g per day of PUFA is preferred. While the meta-analysis found no difference in the effect on joint symptoms relative to the dose used, the literature overwhelmingly features supplementation of at least 2 g per day (25 of the 29 studies specified the dose used). Data on supplementation with less than 2 g per day was found in a limited number of patients ($n = 224$). Most of the studies revolve around omega-3 supplementation and less frequently on other PUFAs (omega-6, omega-9). Moreover, while the data are only based on a few studies and are subject to discussion, a recent meta-analysis suggests a protective effect of PUFA supplementation on the risk of cardiovascular events only at doses of 2 g per day or more [50].

As for the source of the PUFAs, the literature mainly focusses on omega-3 from animal sources, since 23 of the 31 studies included in the meta-analysis were on fish oils [mainly contributing eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA)]. Thus, this source is likely preferable.

In practice, one can propose supplementation by capsule, favoring fish oils (mainly EPA and DHA) with dosages of 2–3 g/day for 3 to 6 months, which will be reevaluated based on the effects observed by the patient. Supplementation with higher doses or for very long durations were associated with an increased risk of bleeding, thus it is preferable to follow these dosages and prescription duration [51,52]. To date, there is no data on the prescription of repeated courses, thus it is difficult to propose a frequency or number of courses to use when the patient feels beneficial effects. We should also encourage patients to increase their intake of PUFAs (mainly omega-3) from foods, particularly by adopting a Mediterranean-type diet (recommendation 6).

Recommendation 6: A Mediterranean-type diet could be proposed to patients who have rheumatoid arthritis and likely to those affected by other chronic inflammatory rheumatic diseases given its effects on joint symptoms and foremost the cardiometabolic diseases.

Five randomized controlled trials on the effect on joint symptoms of a Mediterranean diet in IRD have been conducted: three in Scandinavian countries, one in England and one in Mexico [53–57] (Table S1) [See the supplementary material associated with this article online]. Three were open and two had an independent observer. The quality of the methodology was mediocre (Jadad score between 0 and 3). The term “Mediterranean-type diet” can encompass different realities that adapt to the socio-cultural context; the details of these interventions are described in Supplemental Table 1. Along with the dietary changes, one study provided probiotics [53] and another prescribed a formal exercise program [57]. Three studies found a significant improvement in the joint symptoms [54–56], one study found no difference between the control and intervention arms, although both arms received a formal exercise program [57]. Lastly, the final

study found no significant improvement in the main endpoint analyzed using a linear mixed-effects model; however the DAS28-ESR was significantly reduced during the intervention periods relative to the control periods in non-adjusted analysis (crossover study) [53]. While the few studies on this topic have mediocre quality, there is evidence in favor of a beneficial effect on joint symptoms for a Mediterranean-type diet in RA.

Moreover, the PREDIMED primary prevention study of 7447 subjects at high cardiovascular risk showed about a 30% reduction in major cardiovascular events with a Mediterranean-type diet supplemented with olive or nut oil relative to a low-fat diet [58].

Thus, the working group felt it was important to propose a Mediterranean-type diet in patients affected by IRD, primarily for its cardiometabolic effects and potentially for its effects on joint symptoms. Note that this recommendation is consistent with the recommendations of the PNNS (Table S1).

Recommendation 7: To control the activity of chronic inflammatory rheumatic disease, there is no indication for proposing vitamin (B9, D, E, K) or trace element (selenium and/or zinc) supplementation.

The systematic literature review done to support the conclusions of the working group on the use of vitamin supplements in IRD was published elsewhere [11]. Thirteen randomized controlled trials have been done, all in RA: eight on vitamin D, two on vitamin E, two on folic acid (vitamin B9) and one on vitamin K. The studies on vitamin K, folic acid, vitamin D (meta-analysis of two studies) and on vitamin E (meta-analysis of two studies) found no significant effect on joint symptoms. A preliminary study in 15 RA patients had suggested a beneficial effect of selenium supplementation [59]; however its findings were refuted by other studies on large sample sizes [60,61]. Two trials with small sample sizes found no significant joint effects in RA patients of zinc supplementation [62,63]. Thus, there is no reason to prescribe vitamins (D, E, B9, K), selenium or zinc for joint symptoms. Vitamin D supplementation continues to have a role in preventing or treating fracture risk in case of deficiency. In the same way, use of folic acid in addition to methotrexate is not challenged.

Recommendation 8: Given that the data on the effectiveness of probiotics is insufficient and disparate, they are not recommended for controlling chronic inflammatory rheumatic disease activity.

Nine randomized controlled trials have been conducted on probiotics in chronic IRD. In RA, three studies found beneficial effects on joint symptoms [64–66], one study found a significant difference in univariate analysis only [53] and three found no significant effect [67–69] (SLR performed [14]). Among the positive studies, one used strains of *Lactobacillus (L.) casei* for 8 weeks and the other two used *L. acidophilus*, *L. casei* and *Bifidobacterium (B.) bifidum* also for 8 weeks. The number of colony forming units (CFU) was in the order of 10^8 to 10^9 CFU/strain/day. In SpA, the two available studies (197 patients total) are negative [70,71]. Since the studies used different strains for various durations and the results were heterogeneous, it is currently difficult to make broad conclusions about their efficacy in IRD, and thereby to recommend they be prescribed. The working group has chosen to specify in its recommendation that “current” data were insufficient and disparate, so as to not completely rule out the role of probiotics, especially in RA.

Recommendation 9: Certain supplements (saffron, cinnamon, garlic, ginger, sesamin, pomegranate concentrate) could have beneficial effects on rheumatoid arthritis disease activity but the data are currently too limited to propose their use in current practice.

Our systematic literature review revealed a certain number of recent studies with good methodological quality that found a beneficial effect on joint symptoms in RA patients. Thus, several spices or supplements could have clinically significant beneficial effects [12]. This is the case for saffron (1 study, 66 patients, 100 mg/day) [72], cinnamon (1 study, 36 patients, 2 g/day) [73], garlic (1 study, 70 patients, 1 g powder \approx 2.5 g fresh garlic/day) [74], ginger (1 study, 63 patients, 1.5 g powder/day) [75], sesamin (1 study, 44 patients, 200 mg/day) [76] and pomegranate concentrate (1 study, 55 patients, 500 mg/day) [77]. These spices have been used for several thousands of years in Asia because of their anti-inflammatory properties. Nevertheless, while the results of the above studies appear interesting, they are too preliminary to recommend the use of these spices and supplements in practice. We also do not know if spices mixed into food and cooked at typical doses have the same properties as the encapsulated spice concentrates tested in these studies. Thus, the working group has chosen to list potentially relevant supplements using the conditional to facilitate the discussions with patients about existing studies, without going as far as recommending them. Note that other studies, namely on turmeric, have been done but their quality was not sufficient to be cited in the recommendation [78,79].

4. Discussion

The arrival of targeted therapies revolutionized the treatment of IRDs. However, the care of patients with IRD should be comprehensive and not restricted to solely pharmacological measures. Diet is an integral part of the life of individuals whether or not they have IRD and is closely linked to their health [80]. Thus, altering their diet could be a means for them to impact their disease in this overall approach.

These recommendations consist of eight general principles and nine recommendations. They are based on a systematic literature review done specifically for this project in order to analyze and summarize published scientific data [11–13]. This is actually the subject of one of the general principles (principle B). We have observed that, for certain interventions, sometimes seen as successful by patients (fasting, gluten-free diet, etc.), the data taken from controlled clinical trials are tenuous and often of poor quality. For this reason, certain food exclusion diets (gluten-free, no dairy products, vegetarian, vegan, fasting) were not recommended, while acknowledging that it is necessary to conduct high-quality studies to decide on their role in controlling IRD activity (research agenda). Other diets such as the ones described by Kousmine and Signalet or other Paleo diets, despite the intensive promotional activities associated with them, have not been the subject of any randomized controlled trials in IRD. Consequently, these diets are not recommended.

Along with the principle on the importance of relying on scientific data, the other general principles were used to place the nutritional advice detailed in these recommendations into the appropriate context. On one hand, this contextualism is centered on the patient and their IRD (nutritional advice only considered as a supplement to pharmacological treatment, nutritional advice that allows patients to be involved in their care, articular and also extra-articular effects of the nutritional interventions, consideration of the concurrent health conditions that justify specific nutritional

recommendations and the benefits on combining exercise with nutritional advice). On the other hand, this is an integration of nutritional advice into a patient's day-to-day life within their family, social and professional environment.

The positive recommendations are those about omega-3 supplements and the Mediterranean-type diet. While no current national or international recommendation on the treatment of IRD proposes routine supplementation with omega-3, the depth and quality of the literature on essential PUFA led us to formulate a specific grade A recommendation, in contrast to the daily practice of rheumatologists. Of note, such supplements are not reimbursed in France. The intake of Omega-3 can be in the form of dietary supplements or by following a Mediterranean-type diet. These recommendations are particularly relevant in patients who want to act on their IRD through diet or natural supplements, in combination with their drug treatments, and in patients who have residual subjective symptoms (joint pain, morning stiffness) despite their primary long-term therapy [81].

Several recommendations are negative, i.e., they recommend not taking certain nutrients (vitamins, trace elements, etc.) or not adopting certain diets (gluten-free, fasting, vegetarian, vegan) to control IRD activity. This is justified by the fact that the scientific data do not show the benefits of these dietary interventions for a given objective, or because the scientific data are insufficient or low quality. In these studies, food exclusion diets are often the reason that patients drop out, evidence that these diets are difficult to follow over long periods of time [34–36].

The research agenda mentions themes to dig deeper into, which will help to increase our knowledge and could eventually result in these recommendations being changed. In fact, it is important not to go directly from scientific data generated in experimental cell culture or animal studies to clinical practice without first doing controlled clinical trials.

While certain food exclusion diets are not recommended here, some patients will follow them or ask their doctors about them. For patients who want to or have already followed a food exclusion diet, it is vital to support them, ideally with the help or the supervision of a dietician. One of the first steps is to encourage patients to record the foods they consume so they can see if they are associated with joint symptoms. In patients who already follow an exclusion diet, we can discuss with them whether they have seen any beneficial effects. One can propose gradual reintroduction of certain foods to determine if it makes the symptoms worse. In case of a gluten-free diet, we recommend the consumption of fiber, by proposing food such as quinoa, wild rice, legumes, artichokes, nuts and grains, etc. In case of dairy-free diets, we can recommend the consumption of products high in calcium such as red or white beans, broccoli, spinach, cabbage, high-calcium tofu, sardines with bones, calcium-rich mineral water, etc. In case of vegetarian/vegan diets, we can make sure the patients have sufficient intake of protein, iron, vitamin B12, zinc and calcium; supplementation may be necessary. In all, it is useful to remind patients of the risk of social isolation when one is on a restrictive diet [82] while meals are an important event in many cultures because of the social interaction and associated pleasure [83].

Other than the quality of the scientific literature on the subject of diet and IRD activity, another limitation is the lack of data about the effect of diet on patient-reported outcomes, especially fatigue. Determining the effect of nutritional advice on these parameters would be a major advance in the knowledge about diet during IRD (research agenda). Lastly, there may be large inter-individual differences in the sensitivity of patients to diet, which would limit the conclusions of these studies. In fact, one of the mechanisms by which diet acts on the immune system is by altering the gut microbiota. The composition of the gut microbiota is subjected to large inter-individual variability (80–90%), much more than the human

genome (0.01%) [84,85]. Thus it will be important to study the interaction between the response to dietary changes and gut microbiota in patients suffering from IRD (research agenda) in the same manner that the interactions between disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) response and gut microbiota are being studied [86].

In France, there are dietary recommendations for the general population provided by the PNNS, which is a public health plan that aims to improve the health of the population by acting on nutrition, given that good nutrition is a protective factor for health [5]. The recommendations made here agree with the nutritional advice from the PNNS, which promotes eating in a way consistent with the Mediterranean-type diet.

5. Conclusion

To conclude, these are the first national and international recommendations on diet in patients affected by chronic IRD. It will be important to update them regularly given how quickly the literature on this subject changes and expands.

Disclosure of interest

C.D. occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): AbbVie, Abivax, BMS, Fresenius Kabi, Novartis, Pfizer, Sandoz, Sanofi, Roche-Chugai, UCB; support for research and conferences: AbbVie, Amgen, BMS, MSD, Pfizer, Roche, Sanofi, UCB.

S.C. occasional work (advice, symposiums, training courses): Lilly, Janssen, BMS, Fresenius Kabi, Novonordisk, Servier, Bariatek, Fitforme. Financial participation: Mygoodlife.

J.G. L. occasional work (expert opinions): Sêmeia; support for research and conferences: Galapagos, Gilead, Janssen, Novartis, Pfizer, Sandoz.

Y.N. support for research and conferences: Sanofi-Genzyme, Takeda.

P.S., R. LP., P.R., S.S., D.V. declare that they have no competing interest.

J. Si occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): Sandoz, Pfizer; support for research and conferences: Pfizer, Lily, BMS, Novartis, UCB, Janssen, Celgène, Sanofi, Sandoz, Fresenius Kabi.

C.B. occasional work: BMS, AbbVie, MSD, Mylan, Pfizer, Roche, Sanofi, UCB. Research grant BMS, Fresenius Kabi, Lilly, Mylan.

S.D. occasional work: AbbVie, Janssen, Pfizer.

V.R. Support for research and conferences: Amgen, Bayer, GSK, Novo, Lilly, Pfizer, Takeda, Schering-Plough, MSD, Novartis, Abbott, Sanofi-Aventis, Lifescann, Merck, AstraZeneca, BioMarin, Lucan Pharma, Servier, Roche, Merck-Lipha-Santé, Nestlé homecare, ASDIA, ISIS-Diabète, Vital-Air, Orkin, Pharmadom, Guerbet, Icomed, DinnoSanté, Gilead Science and Comité Interprofessionnel de la Dinde en France.

M.R. Fondation AG2R La Mondiale, Fondation Roquette and Fondation Crédit Mutuel Nord Europe.

L.S. occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): AbbVie, BMS, Fresenius Kabi, MSD, Pfizer, Sanofi; support for research and conferences: AbbVie, Amgen, BMS, MSD, Menarini, Pfizer, Roche, Sanofi.

R.S. occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): GSK, BMS, Fresenius Kabi, Boehringer, Janssen, Biogen; support for research and conferences: GSK, Amgen, Sanofi, Sandoz.

A.T. occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): AbbVie, Sanofi-Aventis, MSD Chibret,

Novartis, Lilly France, Roche, Pfizer, Fresenius Kabi; support for research and conferences: Novartis, Roche, Pfizer, UCB.

D.W. occasional work: AbbVie, BMS, MSD, Pfizer, Roche-Chugai, Amgen, Nordic Pharma, UCB, Novartis, Lilly, Sandoz, Grunenthal, Janssen, Galapagos. Indirect interests: AbbVie, Pfizer, Roche-Chugai, MSD, UCB, Mylan, Fresenius Kabi.

J. Se. occasional work (expert opinion, advice, symposiums, clinical studies, training courses): Roche, Chugai, Pfizer, BMS, MSD, Biogen, Abbvie, Sandoz, Janssen, Novartis, Fresenius Kabi, Sanofi. Indirect interests (research grants): Pfizer, MSD, Schwa Medico.

Acknowledgements

We are thankful to the review board who reviewed and commented on these recommendations: Arniaud Denis, Bailly Florian, Bald Christina, Baratto Régine, Belkhir Rakiba, Berenbaum Francis, Berthelot Jean-Marie, Bertin Eric, Brocq Olivier, Chalès Gérard, Charrière Sybil, Clément Karine, Combe Bernard, Coupaye Muriel, Courvoisier Natacha, Debrus Grégory, Dechelotte Pierre, Deprouw Camille, Dernis Emmanuelle, Eyraud Evelyne, Feve Bruno, Gervais Elisabeth, Gossec Laure, Goupille Philippe, Gibert Eric, Grodard-Humbert Ghislain, Hudry Christophe, Hamant Laurie, Hennequin Véronique, Henry Desailly Isabelle, Jousse Joulin Sandrine, Khanine Vanessa, Lecerf Jean-Michel, Le Goff Benoît, Lellouche Henri, Lucas-Martini Léa, Moisan Christine, Molto Anna, Pham Thao, Poilverd Rosemarie, Poivret Didier, Pouplin Sophie, Rehailia Nassima, Richette Pascal, Ruysen-Witrand Adeline, Salliot Carine, Saraux Alain, Senbel Eric, Soubrier Martin, Thomas Thierry, Vittecoq Olivier.

We are thankful to the presidents of our partner learned societies: Béatrice Morio (SFN), Ghislain Grodard-Humbert (AFDN), Muriel Coupaye (AFERO), Pierre Dechelotte (SFNCM).

We are thankful to Sandrine Rollot (AFP^{pic}), Sonia Trope (ANDAR), Delphine Lafarge (AFS).

We are thankful to Catherine Reillat and Véronique Gordin (SFR).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data (Table S1) associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2021.105319>.

Références

- [1] Daïen C, Hua C, Gaujoux-Viala C, et al. Update of French Society for Rheumatology recommendations for managing rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2019;86:135–50.
- [2] Wendling D, Lukas C, Prati C, et al. 2018 update of French Society for Rheumatology (SFR) recommendations about the everyday management of patients with spondyloarthritis. *Joint Bone Spine* 2018;85:275–84.
- [3] Semerano L, Julia C, Aitisha O, et al. Nutrition and chronic inflammatory rheumatic disease. *Joint Bone Spine* 2017;84:547–52.
- [4] Hercberg S, Chat-Yung S, Chaulia M. The French National Nutrition and Health Program: 2001–2006–2010. *Int J Public Health* 2008;53:68–77.
- [5] <https://www.mangerbouger.fr/>. n.d.
- [6] Perrin L, Allès B, Julia C, et al. Organic food consumption and gluten-free diet, is there a link? Results in French adults without coeliac disease. *Br J Nutr* 2021;125:1067–78.
- [7] Dubuisson C, Lioret S, Touvier M, et al. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br J Nutr* 2010;103:1035–48.
- [8] Sparks JA, Lin T-C, Camargo CA, et al. Rheumatoid arthritis and risk of chronic obstructive pulmonary disease or asthma among women: a marginal structural model analysis in the Nurses' Health Study. *Semin Arthritis Rheum* 2018;47:639–48.
- [9] van der Heijde D, Aletaha D, Carmona L, et al. 2014 Update of the EULAR standardised operating procedures for EULAR-endorsed recommendations. *Ann Rheum Dis* 2015;74:8–13.
- [10] Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med* 2009;6:e1000100.



- [11] Nguyen Y, Sigaux J, Letarouilly J-G, et al. Efficacy of oral vitamin supplementation in inflammatory rheumatic disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* 2020;13:107.
- [12] Letarouilly J-G, Sanchez P, Nguyen Y, et al. Efficacy of spice supplementation in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Nutrients* 2020;12:3800.
- [13] Sigaux J, Mathieu S, Nguyen Y, et al. Impact of type, dose and duration of oral polyunsaturated fatty acid supplementation on disease activity in inflammatory rheumatic diseases: a systematic literature review and meta-analysis. [Submitted 2021].
- [14] Sanchez P, Letarouilly J-G, Nguyen Y, et al. Efficacy of probiotics supplementation in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis: a systematic literature review and meta-analysis of randomized controlled trials. [Submitted 2021].
- [15] Oxford Centre for Evidence-based Medicine. Levels of evidence (March 2009). CEBM; 2009 [http://www.cebm.net/oxford-centre-evidence-based-medicine-levels-evidence-march-2009/ (accessed April 24, 2016)].
- [16] Mayer EA, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. *J Clin Invest* 2015;125:926–38.
- [17] Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:55–71.
- [18] Singh RK, Chang H-W, Yan D, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med* 2017;15:73.
- [19] Onvani S, Haghghatdoost F, Surkan PJ, et al. Adherence to the Healthy Eating Index and Alternative Healthy Eating Index dietary patterns and mortality from all causes, cardiovascular disease and cancer: a meta-analysis of observational studies. *J Hum Nutr Diet* 2017;30:216–26.
- [20] Geenen R, Overman CL, Christensen R, et al. EULAR recommendations for the health professional's approach to pain management in inflammatory arthritis and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2018;77:797–807.
- [21] Martínez-Calderon J, Meeus M, Struyf F, et al. The role of self-efficacy in pain intensity, function, psychological factors, health behaviors, and quality of life in people with rheumatoid arthritis: a systematic review. *Physiother Theory Pract* 2020;36:21–37.
- [22] Dougados M, Soubrier M, Antunez A, et al. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann Rheum Dis* 2014;73:62–8.
- [23] Pascart T, Latourte A, Flipo R-M, et al. 2020 recommendations from the French Society of Rheumatology for the management of gout: urate-lowering therapy. *Joint Bone Spine* 2020;87:395–404.
- [24] di Minno MND, Peluso R, Iervolino S, et al. Obesity and the prediction of minimal disease activity: a prospective study in psoriatic arthritis. *Arthritis Care Res* 2013;65:141–7.
- [25] Vidal C, Barnetche T, Morel J, et al. Influence of body mass index on disease activity and radiographic joint damage in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol* 2015;42:2261–9.
- [26] Daïen C, Sellam J. Obesity and inflammatory arthritis: impact on occurrence, disease characteristics and therapeutic response. *RMD Open* 2015;1:e000012.
- [27] Sparks JA, Halperin F, Karlson JC, et al. Impact of bariatric surgery on patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2015;67:1619–26.
- [28] Kreps DJ, Halperin F, Desai SP, et al. Association of weight loss with improved disease activity in patients with rheumatoid arthritis: a retrospective analysis using electronic medical record data. *Int J Clin Rheumatol* 2018;13:1–10.
- [29] Weijers JM, Müskens WD, van Riel PLCM. Effect of significant weight loss on disease activity: reason to implement this non-pharmaceutical intervention in daily clinical practice. *RMD Open* 2021;7:e001498.
- [30] Egeberg A, Sørensen JA, Gislason GH, et al. Incidence and prognosis of psoriasis and psoriatic arthritis in patients undergoing bariatric surgery. *JAMA Surg* 2017;152:344–9.
- [31] Mahil SK, McSweeney SM, Kloczko E, et al. Does weight loss reduce the severity and incidence of psoriasis or psoriatic arthritis? A critically appraised topic. *Br J Dermatol* 2019;181:946–53.
- [32] Baker J, Billig E, Cannon GW, et al. Weight loss and risk of death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:S613–4.
- [33] Bruzzese V, Scolieri P, Pepe J. Efficacy of gluten-free diet in patients with rheumatoid arthritis. *Reumatismo* 2021;72:213–7.
- [34] Elkan A-C, Sjöberg B, Kolsrud B, et al. Gluten-free vegan diet induces decreased LDL and oxidized LDL levels and raised atheroprotective natural antibodies against phosphorylcholine in patients with rheumatoid arthritis: a randomized study. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R34.
- [35] Hafström I, Ringertz B, Spångberg A, et al. A vegan diet free of gluten improves the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: the effects on arthritis correlate with a reduction in antibodies to food antigens. *Rheumatology* 2001;40:1175–9.
- [36] Kjeldsen-Kragh J, Haugen M, Borchgrevink CF, et al. Controlled trial of fasting and one-year vegetarian diet in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1991;338:899–902.
- [37] Couderc M, Pereira B, Schaeferbeke T, et al. GlutenSpA trial: protocol for a randomised double-blind placebo-controlled trial of the impact of a gluten-free diet on quality of life in patients with axial spondyloarthritis. *BMJ Open* 2020;10:e038715.
- [38] Wolf RL, Leibold B, Lee AR, et al. Hypervigilance to a gluten-free diet and decreased quality of life in teenagers and adults with celiac disease. *Dig Dis Sci* 2018;63:1438–48.
- [39] Missbach B, Schwingshackl L, Billmann A, et al. Gluten-free food database: the nutritional quality and cost of packaged gluten-free foods. *PeerJ* 2015;3:e1337.
- [40] Udén AM, Trang L, Venizelos N, et al. Neutrophil functions and clinical performance after total fasting in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1983;42:45–51.
- [41] Sköldstam L, Larsson L, Lindström FD. Effect of fasting and lactovegetarian diet on rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1979;8:249–55.
- [42] Adam O, Beringer C, Kless T, et al. Anti-inflammatory effects of a low arachidonic acid diet and fish oil in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2003;23:27–36.
- [43] Nenonen MT, Helve TA, Rauma AL, et al. Uncooked, lactobacilli-rich, vegan food and rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1998;37:274–81.
- [44] Lidén M, Kristjánsson G, Valtysdóttir S, et al. Self-reported food intolerance and mucosal reactivity after rectal food protein challenge in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2010;39:292–8.
- [45] Shi Y, Zhan Y, Chen Y, et al. Effects of dairy products on bone mineral density in healthy postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Osteoporos* 2020;15:48.
- [46] Bian S, Hu J, Zhang K, et al. Dairy product consumption and risk of hip fracture: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2018;18:165.
- [47] Byberg L, Warensjö Lemming E. Milk consumption for the prevention of fragility fractures. *Nutrients* 2020;12:2720.
- [48] Companys J, Pla-Pagà L, Calderón-Pérez L, et al. Fermented dairy products, probiotic supplementation, and cardiometabolic diseases: a systematic review and meta-analysis. *Adv Nutr* 2020;11:834–63.
- [49] Ghosh S, He W, Gao J, et al. Whole milk consumption is associated with lower risk of coronary artery calcification progression: evidences from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Eur J Nutr* 2021;60:1049–58.
- [50] Rizos EC, Markozannes G, Tsapas A, et al. Omega-3 supplementation and cardiovascular disease: formulation-based systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis. *Heart* 2021;107:150–8.
- [51] Bhatt DL, Steg PG, Miller M, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia. *N Engl J Med* 2019;380:11–22.
- [52] Clarke J, Herzberg G, Peeling J, et al. Dietary supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acids worsens forelimb motor function after intracerebral hemorrhage in rats. *Exp Neurol* 2005;191:119–27.
- [53] Vadell AKE, Bärebring L, Hulander E, et al. Anti-inflammatory Diet In Rheumatoid Arthritis (ADIRA) – a randomized, controlled crossover trial indicating effects on disease activity. *Am J Clin Nutr* 2020;111:1203–13.
- [54] Sköldstam L, Hagfors L, Johansson G. An experimental study of a Mediterranean diet intervention for patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:208–14.
- [55] Hansen GV, Nielsen L, Kluger E, et al. Nutritional status of Danish rheumatoid arthritis patients and effects of a diet adjusted in energy intake, fish-meal, and antioxidants. *Scand J Rheumatol* 1996;25:325–30.
- [56] McKellar G, Morrison E, McEntegart A, et al. A pilot study of a Mediterranean-type diet intervention in female patients with rheumatoid arthritis living in areas of social deprivation in Glasgow. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1239–43.
- [57] García-Morales JM, Lozada-Mellado M, Hinojosa-Azaola A, et al. Effect of a dynamic exercise program in combination with Mediterranean diet on quality of life in women with rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 2020;26:S116–22.
- [58] Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin olive oil or nuts. *N Engl J Med* 2018;378:e34.
- [59] Peretz A, Neve J, Duchateau J, et al. Adjuvant treatment of recent onset rheumatoid arthritis by selenium supplementation: preliminary observations. *Br J Rheumatol* 1992;31:281–2.
- [60] Tarp U, Overvad K, Thorling EB, et al. Selenium treatment in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1985;14:364–8.
- [61] Peretz A, Siderova V, Nève J. Selenium supplementation in rheumatoid arthritis investigated in a double-blind, placebo-controlled trial. *Scand J Rheumatol* 2001;30:208–12.
- [62] Simkin PA. Oral zinc sulphate in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1976;2:539–42.
- [63] Mattingly PC, Mowat AG. Zinc sulphate in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1982;41:456–7.
- [64] Zamani B, Farshbaf S, Golkar HR, et al. Synbiotic supplementation and the effects on clinical and metabolic responses in patients with rheumatoid arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr* 2017;117:1095–102.
- [65] Zamani B, Golkar HR, Farshbaf S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Rheum Dis* 2016;19:869–79.
- [66] Alipour B, Homayouni-Rad A, Vaghef-Mehrabany E, et al. Effects of Lactobacillus casei supplementation on disease activity and inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis patients: a randomized double-blind clinical trial. *Int J Rheum Dis* 2014;17:519–27.
- [67] de los Angeles Pineda M, Thompson SF, Summers K, et al. A randomized, double-blinded, placebo-controlled pilot study of probiotics in active rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit* 2011;17:CR347–54.
- [68] Hatakka K, Martio J, Korpela M, et al. Effects of probiotic therapy on the activity and activation of mild rheumatoid arthritis – a pilot study. *Scand J Rheumatol* 2003;32:211–5.
- [69] Mandel DR, Eichas K, Holmes J. Bacillus coagulans: a viable adjunct therapy for relieving symptoms of rheumatoid arthritis according to a randomized, controlled trial. *BMC Complement Altern Med* 2010;10:1.
- [70] Brophy S, Burrows CL, Brooks C, et al. Internet-based randomised controlled trials for the evaluation of complementary and alternative medicines: probiotics in spondyloarthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2008;9:4.

- [71] Jenks K, Stebbings S, Burton J, et al. Probiotic therapy for the treatment of spondyloarthritis: a randomized controlled trial. *J Rheumatol* 2010;37:2118–25.
- [72] Hamidi Z, Aryaeian N, Abolghasemi J, et al. The effect of saffron supplement on clinical outcomes and metabolic profiles in patients with active rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res* 2020;34:1650–8.
- [73] Shishehbor F, Rezaeyan Safar M, Rajaei E, et al. Cinnamon consumption improves clinical symptoms and inflammatory markers in women with rheumatoid arthritis. *J Am Coll Nutr* 2018;1–6. <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2018.1460733>.
- [74] Moosavian SP, Paknahad Z, Habibagahi Z, et al. The effects of garlic (*Allium sativum*) supplementation on inflammatory biomarkers, fatigue, and clinical symptoms in patients with active rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Phytother Res* 2020;34:2953–62.
- [75] Aryaeian N, Mahmoudi M, Shahram F, et al. The effect of ginger supplementation on IL2, TNF α , and IL1 β cytokines gene expression levels in patients with active rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *Med J Islam Repub Iran* 2019;33:154.
- [76] Helli B, Shahi MM, Mowla K, et al. A randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial, evaluating the sesamin supplement effects on proteolytic enzymes, inflammatory markers, and clinical indices in women with rheumatoid arthritis. *Phytother Res* 2019;33:2421–8.
- [77] Ghavipour M, Sotoudeh G, Tavakoli E, et al. Pomegranate extract alleviates disease activity and some blood biomarkers of inflammation and oxidative stress in rheumatoid arthritis patients. *Eur J Clin Nutr* 2017;71:92–6.
- [78] Amalraj A, Varma K, Jacob J, et al. A novel highly bioavailable curcumin formulation improves symptoms and diagnostic indicators in rheumatoid arthritis patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled, two-dose, three-arm, and parallel-group study. *J Med Food* 2017;20:1022–30.
- [79] Chandran B, Goel A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phytother Res* 2012;26:1719–25.
- [80] Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, et al. The Nutrinet-Santé Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010;10:242.
- [81] Nagy G, Roodenrijs NM, Welsing PM, et al. EULAR definition of difficult-to-treat rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2021;80:31–5.
- [82] Zarkadas M, Dubois S, MacIsaac K, et al. Living with coeliac disease and a gluten-free diet: a Canadian perspective. *J Hum Nutr Diet* 2013;26:10–23.
- [83] <https://www.credoc.fr/publications/les-diners-des-francais-representations-et-opinions>. n.d.
- [84] Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, et al. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 2008;452:872–6.
- [85] Kurilshikov A, Medina-Gomez C, Bacigalupe R, et al. Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition. *Nat Genet* 2021;53:156–65.
- [86] Artacho A, Isaac S, Nayak R, et al. The pretreatment gut microbiome is associated with lack of response to methotrexate in new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2021;73:931–42.

- **Annexe 3.** Article de thèse publié dans la revue *Rheumatology* en 2022 (Impact factor = 7,6).

Original article

Rheumatoid arthritis is associated with increased gut permeability and bacterial translocation that are reversed by inflammation control

Rachel Audo ^{1,2}, Pauline Sanchez¹, Benjamin Rivière³, Julie Mielle⁴, Jian Tan⁴, Cédric Lukas¹, Laurence Macia⁴, Jacques Morel ^{1,2} and Claire Immediato Daien ^{1,2}

Abstract

Objective. To assess how RA and DMARDs affect gut permeability.

Methods. To explore colonic mucosa integrity, tight junction proteins zonula occludens-1, occludin and claudin 2 were quantified by immunohistochemistry on colonic biopsies in 20 RA patients and 20 age- and sex-matched controls. Staining intensity was assessed by two blinded independent readers. To explore intestinal permeability, serum concentrations of lipopolysaccharide binding protein (LBP), soluble CD14 (sCD14) and zonulin-related proteins (ZRPs) were evaluated by ELISA in another cohort of 59 RA patients: 21 patients naive for DMARDs [17 before and after introduction of a conventional synthetic DMARD (csDMARD)], 38 patients with severe RA [before and after introduction of a biological DMARD (bDMARD)] and 33 healthy controls.

Results. ZO-1 protein was less expressed in the colon of RA patients than controls [mean score 1.6 (s.e.m. 0.56) vs 2.0 (0.43), $P=0.01$], while no significant difference was detected for occludin and claudin-2. RA patients had higher serum LBP and sCD14 concentrations than controls. LBP and sCD14 levels were significantly correlated with the 28-joint DAS ($r=0.61$, $P=0.005$ and $r=0.57$, $P=0.01$, respectively) while ZRP did not. bDMARD responders had significantly reduced LBP and sCD14 concentrations, unlike bDMARD non-responders and patients treated with csDMARDs.

Conclusion. RA patients have altered colonic tight junction proteins and increased serum biomarkers of intestinal permeability. There was a correlation between serological markers of intestinal permeability and disease activity as well as bDMARD response. These results suggest a link between impaired gut integrity and systemic inflammation in RA.

Key words: RA, microbiota, gut permeability, gut homeostasis, DMARDs

Rheumatology key messages

- Patients with RA had altered gut barrier integrity with decreased ZO-1 in the colon.
- Serum markers of gut permeability were increased in RA and positively correlated with disease activity.
- Disruption of gut integrity was reversible, as effective bDMARDs decreased gut permeability biomarkers.

Introduction

RA is the most frequent chronic inflammatory rheumatic disease. Its development is driven by genetic and environmental factors. The gut microbiota, defined by the trillions of bacteria inhabiting the gut, has recently been

highlighted as central in health [1]. Dysbiosis, defined as imbalanced gut microbiota composition, has been reported in RA patients, despite discrepancies about the species involved [2–4].

The gut microbiota is tightly controlled by the host through the gut epithelium and the mucosal immune system. Conversely, changes in gut microbiota composition can impair both the gut epithelial integrity and mucosal

¹Department of Rheumatology, Montpellier University Hospital, ²PhyMedExp, Inserm U1046, CNRS UMR 9214, ³Department of Pathology and Onco-Biology, Montpellier University Hospital, University of Montpellier, Montpellier, France and ⁴Charles Perkins Centre, University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia
Submitted 2 March 2022; accepted 1 August 2022

Correspondence to: Claire Immediato Daien, Department of Rheumatology, Hôpital Lapeyronie, 371 av du Doyen Giraud, Montpellier 34295, France. E-mail: c-daien@chu-montpellier.fr

immune function. Dysbiosis promotes increased gut permeability, which increases exposure of the immune cells to bacterial antigens, leading to a pro-inflammatory response [2].

The epithelial intercellular tight junctions (TJs) provide a physical barrier between the gut lumen and the host. These TJs are mainly composed of claudins and occludins. The intracellular domains of these transmembrane proteins are associated with scaffold molecules such as zonula occludens-1 (ZO-1) that provide a structural scaffold to the TJs. Zonulin is an enterotoxin secreted by intestinal epithelial cells in response to dietary and microbial stimuli that disengages ZO-1 from the TJ complex and therefore increases permeability [5].

Gut permeability can be assessed through functional assays (i.e. absorption of lactulose/mannitol, chromium-51 ethylenediaminetetraacetic acid or polyethylene glycol) as well as colonic immunohistochemistry to quantify and visualize TJ proteins or by indirect methods of measurement of bacterial product translocation. In the latter method, the lipopolysaccharide (LPS) binding protein (LBP), which is known as a marker of clinical endotoxemia, is also considered as a valid marker of gut permeability [6], and the soluble form of CD14 (sCD14), co-receptor for LPS [7], can be used as a marker of bacterial translocation. Despite some controversy [8], serum zonulin has been correlated with increased intestinal permeability in numerous reports [8–12]. Zonulin belongs to a group of proteins structurally and functionally related to the precursor of haptoglobin 2 [8, 11, 13]. As commercial ELISAs not only detect zonulin, but also other proteins from this family [8, 11, 13], the term zonulin-related proteins (ZRPs) is now often used rather than the term zonulin when using ELISA to detect it.

In RA, most of the previous studies failed to conclude about gut permeability [14]. Indeed, early studies explored gut permeability in long-standing RA and were limited in their design, with either a very limited number of patients or no control groups, and methodological issues [14]. Only two recent studies using state-of-the-art methods (i.e. histological analysis and biological markers in blood) found increased gut permeability in early RA [12, 15]. Tajik *et al.* [12] investigated gut epithelial permeability in RA patients focusing on the ileal TJs, but did not evaluate the colonic permeability. Increased gut permeability in RA still needs to be better documented, and whether RA patients also have impaired colonic epithelial integrity is unknown. In addition, whether dysbiosis and subsequent gut permeability, if confirmed, is a cause or a consequence of the disease is still an unresolved question. It has been suggested that the dysbiosis of RA patients might be improved by controlling inflammation with DMARDs [3, 16]. However, whether control of inflammation also improves gut permeability in RA remains poorly explored.

In the present study we investigated whether RA patients had increased gut epithelial permeability through the characterization of TJ proteins in colonic biopsies and the quantification of serum biomarkers of gut integrity at

different stages of disease. We also characterized the influence of different DMARDs on these markers.

Materials and methods

Patients and controls for colonic biopsies

In France, biopsies performed in routine care are conserved for 20 years. We identified RA patients who underwent colonoscopy for cancer screening with normal histology and then identified age- and sex-matched controls (University Hospital of Montpellier, Montpellier, France). As approved by the Institutional Review Board of Montpellier Hospital (2018_IRB-MTP_12-12), all subjects gave their informed consent, in accordance with the 2013 Declaration of Helsinki, to use the remaining tissues for the present research. Control subjects neither suffered from any systemic disease nor received anti-inflammatory or immunomodulatory drugs. They were matched with the RA patients on age (5 years) and sex. To be included, RA patients had to fulfil the ACR/EULAR 2010 criteria. RA patients' biopsies were taken from 2012 to 2017 (median 2015) and control biopsies were from 2014 to 2017 (median 2016). The use of NSAIDs, glucocorticoids and DMARDs was reported, as well as disease characteristics, which are detailed in Table 1. The colonic biopsies were analysed as detailed in Supplementary Table S1 (available at *Rheumatology* online) and the staining intensity of ZO-1, claudin 2 and occludin was assessed by two independent blinded assessors using a score from 0 to 4. The interassessor reproducibility was very good with $\kappa = 0.93$ (s.e. 0.07).

Patients and controls for sera

Healthy subjects were either blood donors or patients seen in the Department of Rheumatology (University Hospital of Montpellier) for mild osteoarthritis or

TABLE 1 Patients' characteristics for colonic biopsy analysis

Characteristics	Controls	RA
<i>N</i>	20	20
Females, % (<i>n</i>)	50 (10)	60 (12)
Age, years, median (IQR)	65 (49–68)	63 (43–69)
Disease duration, years, median (IQR) (/19)	NA	20 (8–28)
RF positive, % (<i>n</i>)	NA	50 (10)
ACPA positive, % (<i>n</i>) (/19)	NA	63 (12)
Erosions, % (<i>n</i>)	NA	70 (14)
Corticosteroids, % (<i>n</i>)	0	20 (4)
NSAIDs, % (<i>n</i>)	0	5 (1)
Ongoing csDMARD, % (<i>n</i>) (/18)	NA	39 (7)
Ongoing bDMARD, % (<i>n</i>)	NA	60 (12: 7 TNFi, 2 TCZ, 3 RTX)
DAS28, median (IQR) (/14)	NA	3.9 (2.2–5.0)

Data are for the 20 RA patients, unless stated (/n). NA: not applicable; RTX: rituximab; TNFi: TNF inhibitor; TCZ: tocilizumab.

mechanical pain with no general pathology or infection and receiving no immunomodulatory drugs. They were gender- and age-matched with the RA patients. To be included, RA patients had to fulfil the ACR/EULAR 2010 criteria and were not treated with a biologic DMARD (bDMARD) or glucocorticoid <10 mg/day. Ongoing and recent infection was an exclusion criterion. Patients were defined as naive RA if they had never received any DMARD [conventional synthetic DMARD (csDMARD) or bDMARD] ($n=21$). Patients were defined as severe RA if they had failed at least one csDMARD ($n=38$) and required the initiation of a TNF inhibitor. A total of 55 of the 59 RA patients were followed after introduction of a csDMARD ($n=17$: methotrexate, $n=13$; leflunomide, $n=3$; sulfasalazine, $n=1$) or introduction of TNF inhibitors [$n=38$: etanercept, $n=33$ (86%); certolizumab, $n=5$ (16%)]. RA patients and controls were recruited from 2008 to 2015 [controls: median 2012 (range 2011–2015); naive RA: median 2010 (range 2008–2015); severe RA: median 2010 (range 2008–2012)]. Disease activity was assessed using the 28-joint DAS (DAS28). Responders were defined using the EULAR response criteria (good or moderate) [17]. An additional group of five patients who were insufficient responders to TNF inhibitors were treated with tocilizumab and were also evaluated for LBP, sCD14 and ZRPs in sera. All subjects signed a written informed consent for the study in accordance with the 2013 Declaration of Helsinki and as approved by the Medical Ethics Committee of Nîmes Hospital, France (CPP_2012-A00592-41). Characteristics of the subjects are detailed in Table 2.

Gut permeability and bacterial translocation assessment in humans

Fasting blood samples were collected, immediately centrifuged and stored at -80°C until analysis. ZRP [8, 11, 13], sCD14 and LBP were assessed in patients' sera using

commercially available ELISA kits according to manufacturer's instructions. LBP (DY870-05) and sCD14 (DY383) were purchased from R&D Systems (Minneapolis, MN, USA) and ZRP were evaluated using a zonulin kit (PK-EL-K5600, from PromoCell GmbH, Heidelberg, Germany).

Cytokines

Cytokines (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , VEGF) were determined using a proteomic approach on an Evidence Investigator biochip system (Randox, Mauguio, France). The CRP level was determined by an immunoturbidimetric method with the Olympus AU2700 biochemistry analyser (Beckman-Coulter, Villepinte, France) and Randox full-range CRP reagent (Randox Laboratories, Mauguio, France).

Statistical analysis

Continuous variables were presented as median [interquartile range (IQR)] or mean (S.E.M.). The qualitative variables were expressed as numbers and percentages. Mann-Whitney tests were used to compare values of controls, naive RA and severe RA. The Wilcoxon matched-pairs signed-rank test was used to compare values before and after therapy. Correlations with clinical parameters were performed using Spearman's test. P -values <0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

RA patients have altered colonic epithelial TJs

The colonic biopsies of 20 patients with RA and 20 matched controls were analysed to assess colonic

TABLE 2 Patients' characteristics for serum analysis

Characteristics	Controls	All RA	Naive RA	Severe RA ^a
<i>N</i>	33	59	21	38
Women, %	78	96	95	97
Age, years, median (IQR)	48 (37–60)	57 (46–65)	52 (41–65)	59 (51–64)
Disease duration, years, median (IQR)	NA	3 (1–8)	0 (0–1.5)	6 (3–20)
DAS28, median (IQR)	NA	4.1 (3.6–5.3)	4.1 (3.5–5.2)	4.4 (3.3–5.2)
RF positive, %	NA	68	48	81
Erosive disease, %	NA	61	29	84
Glucocorticoids, %	0	66.1	66.7	65.8
Glucocorticoids, mg/day, median (IQR)	0	3 (0–7)	0 (0–5)	5 (0–9)
AINS, %	NA	23.7	42.8	13.2
Number of previous bDMARDs, median (IQR)	0	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)
Number of previous csDMARDs, median (IQR)	0	38	0 (0–0)	38
Drug initiated	0		MTX, $n=17$; LEF, $n=3$; SFZ, $n=1$	TNFi, $n=38$
Combination of bDMARD and csDMARD, %	0	54.2	0	84.2 (MTX, $n=24$; LEF, $n=8$)
Patients with data for EULAR response evaluation, n	NA	41	15	26

^aSevere RA is defined as RA requiring initiation of a bDMARD. NA: not applicable; TNFi: TNF inhibitor; TCZ: tocilizumab.

epithelial integrity by measuring ZO-1, claudin-2 and occludin by immunohistochemistry. RA patients had a significantly lower expression of ZO-1 than healthy controls [mean 1.61 (s.e.m. 0.13) vs 2.00 (0.09) for RA and controls, respectively; Mann–Whitney $P=0.01$], while the expression of claudin-2 [mean 1.65 (s.e.m. 0.14) vs 1.72 (0.16), $P=0.68$] and occludin [2.74 (s.e.m. 0.18) vs 2.54 (0.18), $P=0.26$] were similar (Fig. 1A–C).

We found no correlation between ZO-1 expression and the participants' age (Spearman's $r=-0.24$, $P=0.31$), DAS28 ($r=0.10$, $P=0.70$) or disease duration ($r=0.04$, $P=0.86$) in RA patients. The expression levels of ZO-1 were similar in RA patients regardless of the use of glucocorticoids, csDMARDs, bDMARDs, RF and/or ACPA positivity or the presence of erosions.

RA is characterized by increased gut permeability and bacterial translocation

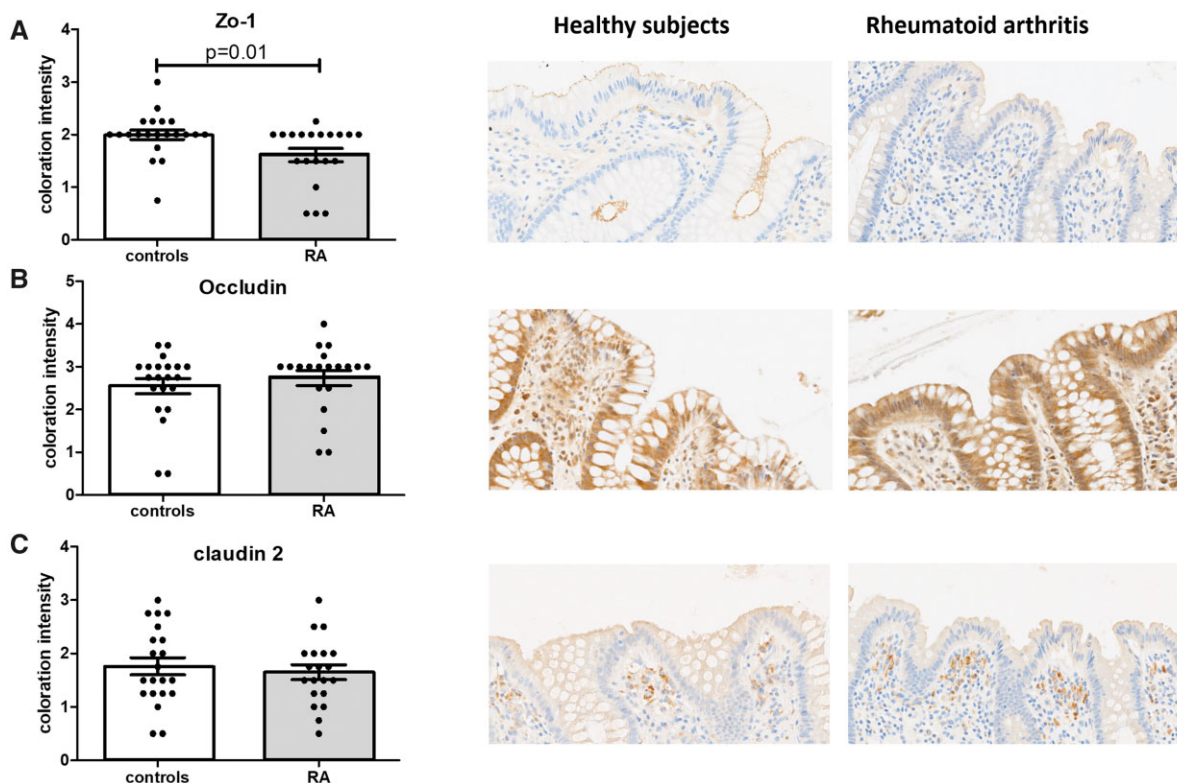
To determine whether impaired colonic epithelial integrity in RA could affect gut permeability, and thus the translocation of bacterial products from the colon to the blood, we quantified the bacterial products in the blood, i.e. LBP and sCD14. We found that RA patients (including patients never treated with a csDMARD and severe patients who did not respond to csDMARD) had significantly higher levels of serum LBP and sCD14 compared with healthy controls (Fig. 2A and B). Serum ZRP levels

were higher, yet not significantly, in patients with severe RA compared with controls (Fig. 2C). It is known that NSAIDs promote damage to the epithelial lining of the gut [14, 18] and the use of NSAIDs was reported in ~43% of naive RA patients (Table 2). However, when naive RA patients with NSAIDs were excluded from the analysis, LBP and sCD14 were still increased compared with controls ($P=0.0018$ and $P=0.0017$, respectively; Supplementary Fig. S1, available at *Rheumatology* online). Impaired gut permeability in RA patients naive for DMARDs correlated with disease activity, as shown by the positive correlations between DAS28 and serum LBP and sCD14 levels ($r=0.61$, $P=0.005$ and $r=0.57$, $P=0.01$, respectively; Fig. 2D–F). LBP also correlated with CRP ($r=0.45$, $P=0.045$), ESR ($r=0.72$, $P=0.001$) and TNF- α ($r=0.68$, $P=0.002$), but not with the other cytokines tested. To confirm that the increase in LBP and sCD14 was not related to infection, we measured the activity of phospholipid transfer protein (PLTP), a protein involved in LPS clearance found to be increased in plasma during infection [19], and no correlation was found with DAS28 or CRP ($r=-0.174$, $P=0.50$ and $r=-0.16$, $P=0.5037$, respectively; $n=17$).

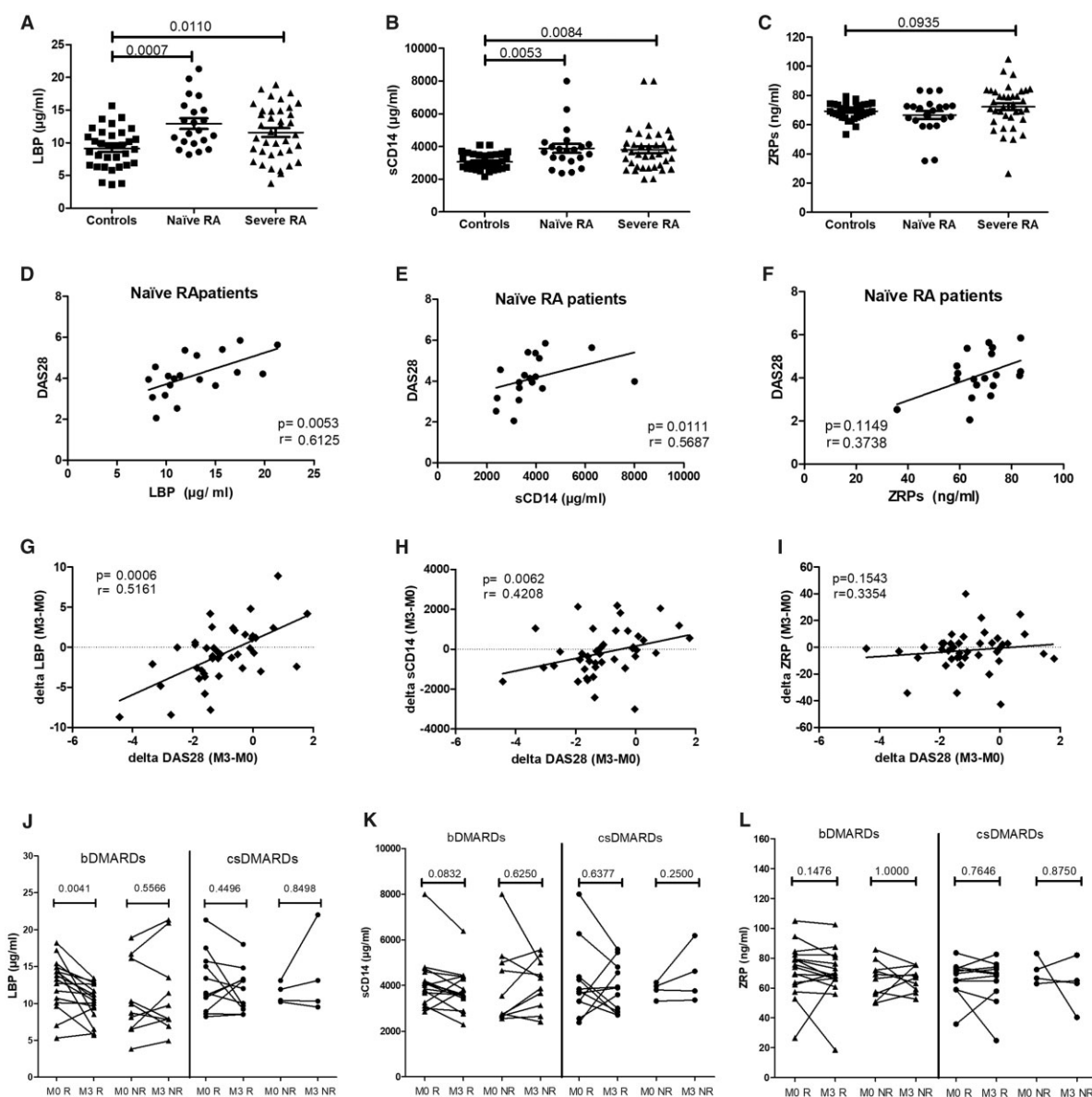
bDMARDs restored gut integrity in EULAR responders

To determine whether RA disease activity could modulate gut permeability, we assessed levels of LBP, sCD14

Fig. 1 TJ markers in the colon of long-standing RA patients compared with age- and gender-matched controls



Quantitative scoring of intensity was performed by two independent readers blinded to the biopsy status. Mean (s.d.) scores and representative pictures are presented for (A) ZO-1, (B) occludin and (C) claudin-2.

Fig. 2 Disease control normalized intestinal permeability and bacterial translocation biomarkers in sera from RA patients

Gut permeability was assessed in sera using commercial ELISAs for (A) LBP, (B) sCD14 and (C) ZRP in patients with RA naive to any DMARD ($n=21$), severe RA ($n=43$) and controls ($n=33$). Values are presented as mean (s.e.m.). The correlation is shown between disease activity measured by the DAS28 and gut permeability markers (D) LBP, (E) sCD14 and (F) ZRP at baseline in naive RA patients. The correlation is shown between variations of disease activity measured by Δ DAS28 (M3-M0) and variations in gut permeability markers (G) LBP, (H) sCD14 and (I) ZRP (M3-M0). (J) LBP, (K) sCD14 and (L) ZRP were assessed before and 3 months after introduction of bDMARDs or csDMARDs. Responders (R; good or moderate response) and non-responders (NR) were defined using EULAR response criteria. The Wilcoxon matched-pairs signed-rank test was used.

and ZRP before and after DMARDs. We observed a significant correlation between changes in disease activity (DAS28) and improved gut epithelial integrity as shown by the correlation between disease severity and LBP or sCD14 levels ($r=0.52$, $P=0.0006$ and $r=0.42$, $P=0.006$, respectively) (Fig. 2G and H). Changes in CRP

levels also correlated with LBP and sCD14 variations ($r=0.56$, $P=0.0002$ and $r=0.35$, $P=0.026$, respectively; Supplementary Fig. S2, available at *Rheumatology* online). We then assessed the specific effect of bDMARDs (TNF inhibitors) compared with csDMARDs on gut permeability. Interestingly, only patients who responded to

TNF inhibitor treatment had significantly reduced gut permeability, as shown by a reduction in LBP ($P=0.0041$) and a decrease in sCD14 ($P=0.08$), while non-responder had no changes (Fig. 2J and K). On the other hand, ZRP levels were not affected by anti-rheumatic therapy (Fig. 2I, L). An additional group of five patients treated with tocilizumab, another bDMARD targeting IL-6, was included to assess whether the effects observed with TNF inhibitors were class dependent or not. All tocilizumab-treated patients achieved a good ($n=3$) or moderate ($n=2$) clinical response and had decreased LBP and sCD14 at 3 months (Supplementary Fig. S3, available at *Rheumatology* online), suggesting that both anti-TNF and anti-IL-6R drugs improved gut permeability. Altogether, these results suggest that both cytokine blockade and efficient control of inflammation are required to improve gut permeability.

Gut permeability in RA patients is not associated with subsequent response to DMARDs

As gut permeability correlates with inflammation and drug response, we explored whether we could identify responder vs non-responder based on their basal gut integrity status. We found no correlation between EULAR response at 3 months and baseline markers of gut permeability (Supplementary Fig. S4, available at *Rheumatology* online).

Discussion

In the present study we establish that patients with established RA had an altered gut barrier integrity in the colon, with a decrease of colonic ZO-1; patients with RA had increased serological gut permeability markers, which positively correlated with disease activity; and a clinical response to bDMARDs correlated with a decrease in these gut permeability markers. To our knowledge, this is the first study to investigate TJs in the colon of patients with RA and changes in gut permeability induced by DMARDs.

Early studies that explored gut permeability in long-standing RA were limited in their design, with either a very small number of patients or no control groups, making it difficult to conclude about gut leakage in RA. The only possible conclusion from these previous studies was a detrimental effect of NSAIDs on gut integrity, which is well known [14, 18]. Two recent studies described increased gut permeability in early RA [12, 15]. Tajik *et al.* [12] analysed using a lactulose/mannitol absorption test and TJ on ileal mucosal biopsies in nine new-onset and five established RA patients. They found a significant decrease of both occludin and claudin-1 in new-onset and established RA patients compared with controls. In addition, they showed an increase of zonulin in patients with early RA and also before development of the disease. Here we described for the first time an alteration of epithelial TJs in the colon of RA patients, with a

decrease of the key component of TJ protein ZO-1. The other study, from Matei *et al.* [15] found an increase of LPS in pre-RA subjects—defined as patients with serological evidence of arthritis and pain, but no synovitis, and an increase of LBP in early and established RA. In the present study, we confirmed the increase of the gut permeability markers LBP and sCD14 in the sera of RA patients, including early RA. In addition, we demonstrated a link between systemic inflammation and these markers of gut permeability, with a significant correlation of LBP and sCD14 with DAS28. Many studies have associated zonulin/ZRPs in sera to a leaky gut, including in RA [8–12]. The commercial kits used to detect zonulin in sera are controversial [20, 21] and are suspected of detecting a larger family of proteins that are structurally related, named ZRPs [8, 11, 13]. This may explain why we did not detect significant changes in RA patients. Alternatively, other mechanisms independent of zonulin might participate in leaky gut in established RA [22, 23].

Dysbiosis and subsequent gut leakage have been observed in numerous disease models, with the unanswered question of whether it is a cause or a consequence of the disease. In mice, restoration of the intestinal barrier, either by directly targeting intestinal epithelial barrier function or using zonulin antagonist, was found to attenuate arthritis [12, 15]. Zonulin/ZRPs was found to be increased in patients with RA and in individuals at risk who may develop RA in the future [12], and LPS was increased in pre-RA [15], also suggesting that gut barrier disruption precedes disease development. It is interesting to note that in both studies only half of the at-risk subjects presented markers of gut disruption, suggesting that in other patients, disease may be driven by other environmental factors such as smoking or periodontitis [24]. Identifying gut leakage in patients at risk of RA could guide the evaluation of prevention strategies targeting the intestinal barrier, e.g. fibre or short-chain fatty acid supplementation, specifically in this population.

On the other hand, systemic inflammation also induces dysbiosis and gut barrier disruption. In this study, inflammation and disease activity correlated with the gut permeability biomarkers and their decrease after DMARD treatment correlated with a decrease of these biomarkers, confirming a dynamic link between the gut integrity and systemic inflammation. In line with this, we found that patients who responded to DMARDs had significantly reduced gut permeability biomarkers while non-responders did not. Our data highlight the need to explore gut permeability in at-risk subjects before any symptoms occur (i.e. first degree relatives and/or ACPA-positive asymptomatic subjects), as the presence of systemic inflammation by itself induces increased gut permeability. Furthermore, the presence of arthralgia is often associated with the use of NSAIDs, which also induces gut leakage. Interestingly, the effect of the inflammation's control on gut permeability was only found in patients treated with bDMARDs (in combination with csDMARDs), suggesting the implication of specific

cytokines as previously proposed [15, 22, 23]. In line with this, we found a significant correlation between LBP and TNF- α concentrations. To our knowledge, this is the first study comparing the effect of different DMARDs on gut permeability in RA. The clinical relevance of using early bDMARDs targeting TNF- α or IL-6 rather than csDMARDs alone in patients with increased gut permeability deserves to be explored in prospective study.

Our study suffers from some limitations. Due to the retrospective design, we were unable to obtain sera and colon biopsies from the same patients. For future studies, it would be ideal to have both to confirm the validity of those biomarkers in the context of inflammation. However, the invasive nature of such a procedure, especially if it has to be repeated over time, limits the feasibility. Another limitation is the use of NSAIDs, especially in patients naive to DMARDs and constituting the csDMARD-treated group during follow-up. However, we confirmed the increase of LBP and sCD14 in the subgroup of naive RA patients without NSAIDs. The use of NSAIDs was only reported in one of the two recent studies on RA gut permeability [15]. One could argue that the use of NSAIDs in the csDMARDs group could hide the impact of csDMARDs on gut permeability. However, NSAIDs use was on demand and decreased as patients improved. We would thus expect permeability markers to decrease in naive RA patients who respond to csDMARD treatment, in contrast to what we observed. Therefore the impact of csDMARDs on gut barrier dysfunction in RA seems limited.

In conclusion, we confirmed that RA is associated with increased gut permeability, as TJs were altered in colonic tissue of RA patients and serum biomarkers of gut permeability were significantly increased in both early and established RA patients. Serum biomarkers of intestinal permeability appear to be related to disease activity and effective control of disease activity by bDMARDs targeting TNF- α or IL-6 normalized gut permeability, suggesting a dynamic crosstalk between the gut and systemic inflammation. The effect was not observed in patients treated with csDMARDs, highlighting the potential implication of these cytokines in gut permeability.

Acknowledgements

We acknowledge Frederique Lorcy for immunohistochemistry experiments (Department of Pathology and Oncobiology, Montpellier University Hospital). We also thank Dr Laurent Lagrost and Valérie Deckert (INSERM, LNC UMR1231, Dijon, France; University of Bourgogne and Franche-Comté) for PLTP data.

Funding: C.D. received a grant from the French Society of Rheumatology. L.M. is a fellow of the a'Beckett Foundation.

Disclosure statement: The authors have declared no competing interests.

Data availability statement

Data available from the authors upon reasonable request.

Supplementary data

Supplementary data are available at *Rheumatology* online.

References

- 1 Daien CI, Pinget GV, Tan JK, Macia L. Detrimental impact of microbiota-accessible carbohydrate-deprived diet on gut and immune homeostasis: an overview. *Front Immunol* 2017;8:548.
- 2 Horta-Baas G, Romero-Figueroa MDS, Montiel-Jarquín AJ *et al.* Intestinal dysbiosis and rheumatoid arthritis: a link between gut microbiota and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Immunol Res* 2017;2017:4835189.
- 3 Zhang X, Zhang D, Jia H *et al.* The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat. Med* 2015;21:895–905.
- 4 Chu XJ, Cao NW, Zhou HY *et al.* The oral and gut microbiome in rheumatoid arthritis patients: a systematic review. *Rheumatology* 2021;60:1054–66.
- 5 Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res* 2020; 9:69.
- 6 Seethaler B, Basrai M, Neyrinck AM *et al.* Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2021;321:G11–7.
- 7 Uhde M, Ajamian M, Caio G *et al.* Intestinal cell damage and systemic immune activation in individuals reporting sensitivity to wheat in the absence of coeliac disease. *Gut* 2016;65:1930–7.
- 8 Fasano A. Zonulin measurement conundrum: add confusion to confusion does not lead to clarity. *Gut* 2021;70:2007–8.
- 9 Sapone A, de Magistris L, Pietzak M *et al.* Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* 2006;55:1443–9.
- 10 Ciccia F, Guggino G, Rizzo A *et al.* Dysbiosis and zonulin upregulation alter gut epithelial and vascular barriers in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2017;76:1123–32.
- 11 Wang X, Memon AA, Palmér K *et al.* The association of zonulin-related proteins with prevalent and incident inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol* 2022;22:3.
- 12 Tajik N, Frech M, Schulz O *et al.* Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis. *Nat Commun* 2020;11:1995.
- 13 Jian C, Kanerva S, Qadri S, Yki-Järvinen H, Salonen A. In vitro effects of bacterial exposure on secretion of zonulin

- family peptides and their detection in human tissue samples. *Front Microbiol* 2022;13:848128.
- 14 Hecquet S, Totoson P, Martin H *et al.* Intestinal permeability in spondyloarthritis and rheumatoid arthritis: a systematic review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 2021;51:712–8.
- 15 Matei DE, Menon M, Alber DG *et al.* Intestinal barrier dysfunction plays an integral role in arthritis pathology and can be targeted to ameliorate disease. *Med (N Y)* 2021;2:864–83.e9.
- 16 Picchianti-Diamanti A, Panebianco C, Salemi S *et al.* Analysis of gut microbiota in rheumatoid arthritis patients: disease-related dysbiosis and modifications induced by etanercept. *Int J Mol Sci* 2018;19:2938.
- 17 van Gestel AM, Prevoo ML, van 't Hof MA *et al.* Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996;39:34–40.
- 18 Ho KY, Cardoso MS, Chaiamnuay S *et al.* Practice advisory on the appropriate use of NSAIDs in primary care. *J Pain Res* 2020;13:1925–39.
- 19 Gautier T, Deckert V, Nguyen M *et al.* New therapeutic horizons for plasma phospholipid transfer protein (PLTP): targeting endotoxemia, infection and sepsis. *Pharmacol Ther* 2022;236:108105.
- 20 Massier L, Chakaroun R, Kovacs P, Heiker JT. Blurring the picture in leaky gut research: how shortcomings of zonulin as a biomarker mislead the field of intestinal permeability. *Gut* 2021;70:1801–2.
- 21 Scheffler L, Crane A, Heyne H *et al.* Widely used commercial ELISA does not detect precursor of haptoglobin2, but recognizes properdin as a potential second member of the zonulin family. *Front Endocrinol* 2018;9:22.
- 22 Al-Sadi R, Guo S, Ye D, Ma TY. TNF- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier is regulated by ERK1/2 activation of Elk-1. *Am J Pathol* 2013;183:1871–84.
- 23 Al-Sadi R, Ye D, Boivin M *et al.* Interleukin-6 modulation of intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by JNK pathway activation of claudin-2 gene. *PLoS One* 2014;9:e85345.
- 24 Choi YY, Lee KH. Periodontitis as a risk factor for rheumatoid arthritis: a matched-cohort study. *Int Dent J* 2021;71:516–21.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.

RÉSUMÉ

Objectif : Evaluer comment la polyarthrite rhumatoïde (PR) et les traitements de fond de la maladie (DMARD) affectent la perméabilité intestinale.

Matériel et méthodes : Pour explorer l'intégrité de la muqueuse colique, les protéines de jonction serrée que sont ZO-1, occludine et claudine 2 ont été quantifiées par immunohistochimie sur des biopsies coliques de 20 patients atteints de PR et 20 témoins appariés selon l'âge et le sexe. L'intensité de la coloration a été évaluée par deux lecteurs indépendants et en aveugle. Pour explorer la perméabilité intestinale, les concentrations sériques de la protéine de liaison au LPS (LBP), du sCD14 et des protéines liées à la zonuline (ZRP) ont été analysées par ELISA dans une autre cohorte de 59 PR : 21 patients naïfs de DMARD (17 avant et après l'introduction d'un DMARD synthétique conventionnel (csDMARD)), 38 patients avec une PR sévère (avant et après l'introduction d'un DMARD biologique (bDMARD)), et 33 témoins sains.

Résultats : La protéine ZO-1 était moins exprimée dans le côlon des patients atteints de PR que dans celui des témoins (score moyen \pm erreur standard de la moyenne [SEM] de $1,6 \pm 0,56$ vs $2,0 \pm 0,43$; $p = 0,01$), tandis qu'aucune différence significative n'a été détectée pour l'occludine et la claudine-2. Les patients atteints de PR avaient des concentrations sériques de LBP et de sCD14 plus élevées que les témoins. Les taux de LBP et de sCD14 étaient significativement corrélés avec le DAS28 ($r=0,61$, $p=0,005$ et $r=0,57$, $p=0,01$, respectivement) alors que les ZRP ne l'était pas. Les répondeurs aux bDMARD avaient des concentrations de LBP et de sCD14 significativement réduites contrairement aux non-répondeurs aux bDMARD et aux patients traités avec des csDMARD.

Conclusion : Les patients atteints de PR présentent une altération des protéines des jonctions serrées coliques et une augmentation des marqueurs sériques de la perméabilité intestinale. Il existe une corrélation entre ces marqueurs sériques et l'activité de la maladie ainsi que la réponse aux bDMARD. Ces résultats suggèrent un lien entre l'altération de la barrière intestinale et l'inflammation systémique dans la PR.

Mots clés : Polyarthrite rhumatoïde ; microbiote ; perméabilité intestinale ; barrière intestinale ; DMARD.