

University of Groningen

The microbiome in primary Sjögren's syndrome

van der Meulen, Taco Arend

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

van der Meulen, T. A. (2019). *The microbiome in primary Sjögren's syndrome: the oral, gut and vaginal microbiome of primary Sjögren's syndrome patients*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

CHAPTER 9

Nederlandse samenvatting
(summary in Dutch)



Het primaire Sjögren syndroom (pSS) is een systemische auto-immuunziekte, die wordt gekenmerkt door chronische ontsteking van de speeksel- en traanklieren. Een van de gevolgen hiervan is het droog aanvoelen van de mond (xerostomie) en de ogen (keratoconjunctivitis sicca). Daarnaast hebben veel pSS patiënten ook systemische manifestaties, zoals ernstige vermoeidheid, gewrichtspijn, zenuwpijn en huidafwijkingen. De prevalentie van pSS ligt tussen de 0.02% en 0.1%, met een sterke predispositie voor het vrouwelijk geslacht (ratio vrouw:man = 10:1).

Ondanks dat al veel bekend is over de rol van (variaties in) genen en immunologische processen in de etiologie en pathogenese van pSS, is nog weinig bekend over de omgevingsfactoren die vermoedelijk ook een rol spelen bij het ontstaan van de ziekte. In het bijzonder is nog weinig bekend over de mogelijke rol van micro-organismen die in en op het menselijk lichaam leven (het menselijk microbioom).

In **hoofdstuk 1** wordt uitgelegd wat het menselijk microbioom is en hoe het menselijk microbioom mogelijk van invloed is op het ontstaan van inflammatoire ziekten, zoals pSS. Mogelijk veroorzaakt een verstoorde samenstelling van het menselijk microbioom een chronisch inflammatoire respons wat kan leiden tot pSS. Op basis van deze hypothese, was het belangrijkste doel van het in dit proefschrift beschreven onderzoek om na te gaan of pSS is geassocieerd met een ziekte-specifieke bacteriële samenstelling in de mond, darmen en/of vagina.

In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van de destijds beschikbare kennis over de relatie tussen het menselijk microbioom en systemische ziekten, waarbij de nadruk werd gelegd op reumatoïde artritis (RA), systemische lupus erythematosus (SLE) en pSS. De resultaten van de in dit overzichtsartikel beschreven studies geven aanwijzingen dat het menselijk microbioom betrokken kan zijn bij het ontstaan van systemisch inflammatoire ziekten. Meerdere studies, waarbij de bijdrage van het menselijk microbioom aan het ontwikkelen van RA en SLE werd onderzocht, waren beschikbaar in de literatuur. Echter, er was nog weinig kennis beschikbaar over de samenstelling van het menselijk microbioom van pSS patiënten.

Het doel van de in **hoofdstuk 3** beschreven studie was om te onderzoeken of de bacteriële samenstelling in de mond van patiënten met pSS specifiek is voor de ziekte. Hiervoor werden mondspoelingen van 36 pSS patiënten, 85 symptoom-controles (aangeduid als non-SS sicca patiënten) en 14 gezonde controles onderzocht met 16S ribosomaal RNA (rRNA) gen sequencing. Van alle deelnemers was de ongestimuleerde en gestimuleerde speekselsecretie gemeten. Wanneer werd gekeken naar de totale bacteriële samenstelling in een mondspoeling, bleek 5% te kunnen worden verklaard door het fenotype (pSS, non-

SS sicca, of gezonde controle). Negen procent van deze bacteriële samenstelling kon echter worden verklaard door de gestimuleerde speekselsecretie (in ml/min). De relatieve hoeveelheid van genera *Heamophilus* en *Neisseria* hing positief samen met de gestimuleerde speekselsecretie, terwijl de relatieve hoeveelheid van het genus *Lactobacillus* negatief samen hing met de gestimuleerde speekselsecretie. Opmerkelijk was dat de relatieve hoeveelheid van het genus *Streptococcus* niet samenhing met de speekselsecretie, terwijl dit genus wel significant minder aanwezig was in pSS patiënten dan in non-SS sicca patiënten en gezonde controles. Uit deze resultaten komt naar voren dat de speekselsecretie een grotere invloed heeft op de bacteriële samenstelling van een mondspoeling dan de onderliggende ziekte.

Een mondspoeling geeft een goede inschatting van de algehele bacteriële samenstelling in de mond, maar is een minder goede weergave van de bacteriële samenstelling op de mondmucosa. Daarom werd in **hoofdstuk 4** gebruik gemaakt van uitstrijkjes van het wangslimvlies om te onderzoeken of het microbioom op het wangslimvlies ziekte-specifieke eigenschappen heeft in patiënten met pSS. Daartoe werd de bacteriële samenstelling in uitstrijkjes van de wang van 37 pSS patiënten, 86 non-SS sicca patiënten en 24 gezonde controles bepaald met 16S rRNA gen sequencing. Daarnaast hadden we de beschikking over 16S sequencing data van wanguitstrijkjes van 103 controles uit de algemene bevolking om associaties met pSS te kunnen repliceren. Er werd, zowel in pSS patiënten als in non-SS sicca patiënten, een vergelijkbare dysbiose waargenomen van het microbioom van het wangslimvlies. De gestimuleerde speekselseproductie verklaarde voor een vergelijkbaar percentage de variatie in bacteriële samenstelling in de wanguitstrijkjes als het fenotype van de deelnemers (respectievelijk 4.3% en 3.8%). Multivariate analyse toonde dat, wanneer speekselseproductie in acht werd genomen als mogelijke confounder, er geen significant verschil bestond in de relatieve hoeveelheid van individuele bacteriële taxa tussen pSS patiënten en non-SS sicca patiënten. Ook kon op basis van het microbioom van het wangslimvlies niet worden voorspeld of een patiënt pSS heeft uit een populatie van patiënten met klachten van een droge mond. Negentien bacteriële taxa waren significant geassocieerd met het hebben van pSS in vergelijking met gezonde controles, maar twaalf van deze taxa hingen tevens samen met het niveau van de gestimuleerde speekselseproductie. Uit deze studie kwam naar voren dat het microbioom van het wangslimvlies in pSS patiënten voor een deel kan worden verklaard door een verminderde speekselseproductie en voor een deel door – tot nog toe onbekende – ziekte-specifieke factoren.

Het doel van de in **hoofdstuk 5** beschreven studie was om te onderzoeken of het darm en mond microbioom specifiek is voor pSS, in vergelijking met het darm en mond microbioom van SLE patiënten en controlepersonen uit de algemene bevolking. Ontlasting monsters van 39 pSS patiënten, 30 SLE patiënten en 965 populatie controles werden geanalyseerd met 16S rRNA gen sequencing. Daarnaast werd het microbioom van wanguitstrijkjes en

mondspoelingen van dezelfde pSS en SLE patiënten met elkaar vergeleken. De bacteriële samenstelling van de ontlasting van pSS en SLE patiënten verschilde significant van dat van populatie controles, maar niet tussen pSS en SLE patiënten. Het darm microbioom van pSS en SLE patiënten werd gekenmerkt door een lagere absolute hoeveelheid aan verschillende bacteriën ('richness'), een lagere ratio tussen de fyta Firmicutes en Bacteroidetes, en een hogere relatieve hoeveelheid van *Bacteroides* species. Ondanks dat eerdere studies een relatie hebben aangetoond tussen *Bacteroides* species en de aanwezigheid van anti-Ro/SSA autoantilichamen, werd in onze studie geen verband gevonden tussen bacteriën in de ontlasting en anti-Ro/SSA autoantilichamen in het bloed van pSS en SLE patiënten.

De bacteriële samenstelling in de mond (zowel van het wangslimvlies als in mondspoelingen), verschilde significant tussen pSS patiënten en SLE patiënten. Het fenotype van een patiënt (pSS of SLE) verklaarde 8 tot 9% van de variatie in bacteriële samenstelling in de mond. Bovendien werd aangetoond dat de relatieve hoeveelheid van twee genera (namelijk *Actinomyces* en *Lactobacillus*) in de mond significant correleert met de relatieve hoeveelheid in de darm. Deze bevinding duidt op een mogelijk direct verband tussen het oraal en darm microbioom.

Uit de resultaten, zoals die beschreven staan in **hoofdstuk 5**, kan worden opgemaakt dat pSS en SLE patiënten vergelijkbare veranderingen laten zien in het darm microbioom ten opzichte van algemene populatie controles. Dit kan erop wijzen dat het darm microbioom betrokken is bij het ontstaan van pSS en SLE, hoewel de verschillen ten opzichte van populatie controles ook een gemeenschappelijk effect van deze ziekten kunnen zijn.

In **hoofdstuk 6** wordt een case-control studie beschreven waarin het vaginaal microbioom wordt vergeleken tussen negen premenopauzale vrouwen met pSS en acht leeftijd-gematchte premenopauzale controles. Van de patiënten en controles werd een cervicovaginale spoeling en uitstrijkje van de endocervix geanalyseerd met 16S rRNA gen sequencing om de bacteriële samenstelling te bepalen. Vrouwen met pSS hadden meer vaginale droogheidsklachten, terwijl de zuurgraad (pH) in de vagina nagenoeg hetzelfde was als in de controles. Ondanks het relatief lage aantal aan patiënten in deze studie konden toch vier van de vijf bekende vaginale bacteriële gemeenschapstypen worden gevonden in beide groepen. De distributie van de bacteriële gemeenschapstypen verschilde niet tussen vrouwen met en zonder pSS. Ook was er geen verschil in de distributie van de drie meest voorkomende vaginale bacteriële genera (*Lactobacillus*, *Gardnerella* en *Streptococcus*) tussen beide groepen. Hieruit kon worden opgemaakt dat de bacteriële samenstelling in cervicovaginale spoelingen en endocervicale uitstrijkjes niet significant wordt beïnvloed door pSS. De resultaten van dit onderzoek suggereren verder dat de unieke bacteriële samenstelling in de vagina – gedomineerd door de aanwezigheid van zuur-producerende

lactobacillen – minder afhankelijk is van droogte dan de bacteriële samenstelling in de mond. In de vagina is de aanwezigheid van lactobacillen een indicatie voor een gezond vaginaal microbioom en essentieel voor het handhaven van een lage pH waarde, waardoor groei van andere bacteriën wordt geremd. De resultaten van dit onderzoek geven aan dat vaginale droogte, dat veel voorkomt bij vrouwen met pSS, geen negatief effect heeft op de homeostase van het vaginale ecosysteem.

In **hoofdstuk 7** worden de resultaten van de onderzoeken, beschreven in **hoofdstukken 3-6**, bediscussieerd in breder perspectief en worden er suggesties gedaan voor toekomstig onderzoek naar de relatie tussen het menselijk microbioom en pSS.

