

# Overlap syndrome et cholangite sclérosante primitive chez l'enfant et l'adolescent: évaluation de la réponse aux antibiotiques et des modifications subséquentes au niveau de la microflore intestinale et du profil des acides biliaires

Pauline Sambon<sup>1,2</sup>, Amandine Everard<sup>3,4</sup>, Xavier Stephenne<sup>1,2</sup>, Françoise Smets<sup>1,2</sup>, Isabelle Scheers<sup>1,2</sup>, Mina Komuta<sup>5,6</sup>, Giulio G. Muccioli<sup>7</sup>, Patrice D. Cani<sup>3,4</sup>, Etienne Sokal<sup>1,2</sup>

Promoteur : Pr Etienne Sokal



## INTRODUCTION

L'AIH-SC overlap syndrome ou cholangite sclérosante auto-immune (ASC) réfère à la présence simultanée d'une hépatite auto-immune (AIH) et d'une cholangite sclérosante primitive (PSC). En pratique, il est préconisé de traiter la composante PSC par acide ursodésoxycholique (UDCA) et l'AIH par corticostéroïdes (CS) et azathioprine. Le bénéfice des antibiotiques (AB) est de plus en plus reconnu dans la PSC mais reste peu évalué dans l'ASC. Nous avons étudié rétrospectivement la réponse aux AB en tant que traitement initial ou de rattrapage chez des enfants atteints de ASC. Ceux ayant été traités tels que préconisés, dès lors sans AB, constituaient le groupe-contrôle historique. Prospectivement, nous avons analysé le microbiote intestinal et le profil des acides sériques (BAs) avant et après traitement par AB chez des enfants atteints d'ASC ou PSC isolée, et évalué l'existence d'une possible corrélation entre réponse thérapeutique et modifications du microbiote et/ou des BAs.

## MÉTHODE

Les patients atteints d'ASC ou PSC ont été inclus sur bases biologiques, histologiques et/ou radiologiques. En addition à leur thérapie standard, un traitement par métronidazole (MTZ) ou vancomycine orale (OV) a été instauré pour une durée de 14 jours, soit au moment du diagnostic, soit en rattrapage lors d'une rechute. Dans le cas d'une thérapie initiale, un régime sans CS a été adopté. En rattrapage, les AB n'ont été prescrits que si une rémission biologique n'avait pu être obtenue par traitement classique. Prospectivement, des échantillons de sérum et de selles ont été collectés pré- et post-traitement par MTZ. Afin de déterminer la composition du microbiote intestinal, l'isolement de l'ADN, l'amplification et le séquençage ont été effectués en utilisant l'ARNr 16S bactérien. Les BAs ont été évalués par chromatographie liquide d'ultra-performance couplée à une spectrométrie de masse. La bêta-diversité réfère à la dissimilitude entre 2 échantillons de selles appariés. Les critères étudiés pour évaluer l'efficacité des AB ont été la réduction des enzymes hépatique, l'obtention d'une réponse biologique au long cours et, en cas de thérapie initiale, l'éviction des CS.

## MOTS-CLÉS

Overlap syndrome, hépatite auto-immune, cholangite sclérosante primitive, cholangite sclérosante auto-immune, antibiotiques oraux, acides biliaires, microbiote intestinal

## RÉSULTATS

Rétrospectivement, 11 enfants atteints d'ASC ont été inclus, parmi lesquels 7 ont reçu les AB en tant que thérapie initiale. Tous ont montré une baisse significative de leurs AST (-56%,  $p=0.006$ ), ALT (-83%,  $p=0.004$ ) et GGT (-54%,  $p=0.004$ ). Aucun des 7 patients traités au moment du diagnostic n'a nécessité de recours aux CS et tous ont maintenu leur réponse biologique jusqu'au dernier suivi (351 jours [216-888]). Parmi les 4 autres patients, 2 ont rechuté à l'arrêt des AB tandis que les 2 autres ont montré une réponse biologique au long cours. Comparativement au groupe-contrôle historique, les patients ayant reçu des AB ont montré une fréquence statistiquement supérieure de réponse biologique au long cours ( $p=0.034$ ) et d'éviction des CS ( $p=0.019$ ) ainsi qu'une diminution du nombre de rechutes ( $p=0.025$ ) et de la durée de traitement ( $p=0.0003$ ). Prospectivement, 7 patients (4 ASC, 3 PSC) ont été inclus. Tous ont montré une baisse significative de leurs AST (-55%,  $p<0.025$ ), ALT (-56%,  $p<0.025$ ) et GGT (-41%,  $p<0.025$ ) après 14 jours de MTZ. Quatre ont maintenu une réponse biologique au long cours jusqu'au dernier suivi (375 jours [119-502]). Parmi ces 4 patients et contrairement aux 3 patients ayant rechuté, 3 ont présenté une modification de la composition de leur microbiote intestinal après traitement par MTZ, tel qu'exprimé par la variation de la bêta-diversité. Ils ont également montré une augmentation de la concentration totale de BAs (+70%), liée majoritairement à un enrichissement en UDCA et ses conjugués.

## CONCLUSION

Les AB, donnés *per os* et sur une courte durée, pourraient être un traitement efficace de l'ASC ou la PSC, de par l'obtention d'une réponse biologique au long cours lors d'une antibiothérapie au moment du diagnostic, mais également lors de rechutes chez des patients non-contrôlés par traitement classique. Les AB semblent également impacter la composante AIH des ASC, de par la possible éviction des CS en cas d'antibiothérapie initiale. Nous suggérons également les rôles majeurs du microbiote intestinal et des BAs au vu de l'association entre réponse biologique au long cours et modifications positives du microbiote intestinal et du profil des BAs après traitement par MTZ.

# Overlap syndrome and primary sclerosing cholangitis in childhood and adolescence: response to antibiotics and related changes in gut microflora and bile acid profile

## INTRODUCTION

The concurrent occurrence of autoimmune hepatitis (AIH) and primary sclerosing cholangitis (PSC) is referred to as AIH/PSC overlap syndrome or autoimmune sclerosing cholangitis (ASC) in children. Though not evidence-based, it is standard practice to treat the AIH component with corticosteroids (CS) and azathioprine, and the PSC component with ursodeoxycholic acid (UDCA). Antibiotics (AB) are increasingly being reported to have favorable effects in PSC, but their role in ASC is poorly evaluated. We retrospectively investigated the response to oral ABs as initial or rescue therapy in ASC children. A historical control group included ASC patients receiving the recommended treatment. We prospectively analyzed the gut microbiota and serum bile acid (BA) profile before and after AB therapy in children with either ASC or PSC alone, and evaluated whether changes in gut microbiota and/or BAs correlated with the therapeutic response.

## METHODS

Our study included patients who had been diagnosed with ASC or PSC based on biochemical, histological, and radiological findings. In addition to their standard treatment, they received metronidazole (MTZ) or oral vancomycin (OV) for 14 days as induction or rescue therapy. When AB had been administered upon diagnosis, a CS-free induction regimen was chosen, while AB were administered as rescue therapy only if patients had not achieved biochemical remission with standard treatment. Stool and serum samples were prospectively collected before and after AB therapy. DNA isolation, amplification, and sequencing were performed in order to profile the microbiota composition using the bacterial 16sRNA, while serum BAs were assessed by ultra-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. The beta-diversity measured the dissimilarity between each matched stool samples. The endpoints used to assess AB efficacy included decrease in liver enzymes, subsequent sustained biochemical remission, and, when AB were given upon diagnosis, CS avoidance.

## KEY WORDS

Overlap syndrome, autoimmune hepatitis, primary sclerosing cholangitis, autoimmune sclerosing cholangitis, oral antibiotics, bile acids, microbiota

## RESULTS

Our study retrospectively included 11 patients with ASC, of whom seven had received oral ABs upon diagnosis. All patients showed a significant decrease in AST (-56%,  $p=0.006$ ), ALT (-83%,  $p=0.004$ ), and GGT (-54%,  $p=0.004$ ) levels. All seven patients of the initial AB group did not need CS and continued to be in remission until last follow-up (351 days [216-888]). Among the four patients of the rescue AB group, two relapsed after stopping AB, while the remaining two showed a sustained biochemical remission until last follow-up. Compared to the historical control group treated with CS, a higher proportion of long-term biochemical remission ( $p=0.034$ ) and long-term CS-free maintenance therapy ( $p=0.019$ ) was observed among patients receiving AB, as well as a lower proportion of relapses ( $p=0.025$ ) and a shorter therapy duration ( $p=0.0003$ ). Prospectively, seven patients (four ASC, three PSC) were included. All patients showed a significant decrease in AST (-55%,  $p<0.025$ ), ALT (-56%,  $p<0.025$ ), and GGT (-41%,  $p<0.025$ ) levels under MTZ therapy. Four children subsequently showed a sustained biochemical remission until last follow-up (375 days [119-502]). Among these four patients, and contrarily to relapsing patients, three exhibited a widely different microbial composition before and after MTZ therapy, as expressed by the beta-diversity variation. They showed an increased total serum BA concentration (+70%), primarily due to the large increment of UDCA and its glycine- and taurine conjugates, finally accounting for nearly 40% of the total serum BA pool.

## CONCLUSION

We showed that short-term oral AB therapy could be an effective treatment of ASC and PSC by achieving a sustained biochemical remission when administered as an induction regimen but also as a rescue therapy in otherwise uncontrolled disease. In ASC patients, AB additionally impacted the AIH component by achieving a CS-free treatment, especially when given at diagnosis. Furthermore, intestinal microbiota and BAs may play a major role in these diseases, since sustained biochemical remission was associated with positive changes in gut microbiota communities and BA profile after AB therapy.

## AFFILIATIONS

- 1 Cliniques universitaires St Luc, Service de Gastroentérologie & Hépatologie Pédiatrique, Bruxelles, Belgium
- 2 Université catholique de Louvain, Service de Gastroentérologie & Hépatologie Pédiatrique, Bruxelles, Belgium
- 3 Université catholique de Louvain, Louvain Drug Research Institute, Metabolism and Nutrition, Bruxelles, Belgium
- 4 Université catholique de Louvain, WELBIO, Walloon Excellence in Life sciences and BIOTEchnology, Bruxelles, Belgium
- 5 Cliniques universitaire St Luc, Service d'Anatomie pathologique, Hepato-Biliary- Pancreas pathology, Bruxelles, Belgium
- 6 Université catholique de Louvain, Service d'Anatomie pathologique, Hepato-Biliary- Pancreas pathology, Bruxelles, Belgium
- 7 Université catholique de Louvain, Louvain Drug Research Institute, Bioanalysis and Pharmacology of Bioactive Lipids, Bruxelles, Belgium