

Rod *Trichuris* i mikrobiom - interakcija parazita s mikrobiomom crijeva domaćina

Pletikosić, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:821503>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-02**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Odjel za biologiju

Iva Pletikosić

**ROD *TRICHURIS* I MIKROBIOM -
INTERAKCIJA PARAZITA S
MIKROBIOMOM CRIJEVA DOMAĆINA**

Završni rad

Iva Pletikosić

Split, 21. rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Odjel za biologiju

Iva Pletikosić

**ROD *TRICHURIS* I MIKROBIOM -
INTERAKCIJA PARAZITA S
MIKROBIOMOM CRIJEVA DOMAĆINA**

Završni rad

Iva Pletikosić

Split, 21. rujan 2023.

Ovaj rad, izrađen u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Sanje Puljas i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Tomislava Rončevića, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnik/prvostupnica biologije.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Odjel za biologiju
Rudera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

Završni rad

ROD *TRICHURIS* I MIKROBIOM – INTERAKCIJA PARAZITA S MIKROBIOMOM CRIJEVA DOMAĆINA

Iva Pletikosić

Ljudski mikrobiom stanište je 10^{13} raznolikih mikroorganizama. Većina njih nalazi se u probavnom traktu, odnosno debelom crijevu, u kojem se uslijed kontakta s infektivnim tlom mogu naći organizmi poznati kao “zemljom prenosivi nematodi”. *Trichuris trichiura* vrsta je nematoda iz ove skupine koja nastanjuje probavni trakt preko pola milijarde ljudi koji žive u tropskim područjima. *Trichuris muris* njegov je dobro istražen homolog, te prirodni patogen glodavaca, koji služi kao model za istraživanja trihurijaze u ljudi i općenitog utjecaja prisutnosti crvolikih parazita unutar crijeva domaćina. Od velikog je interesa za znanost njihov utjecaj na mikrobiom u cijelosti, te interakcije koje direktno i indirektno ostvaruju sa crijevnim epitelom i mikrobnim zajednicama domaćina. Razumijevanje mehanizama kojima se ovi organizmi služe da bi uspješno opstali u izazovnom okolišu ljudskog i životinjskog probavnog trakta, kao i modifikacije bakterijskih sastava prostora crijeva koje nastanjuju mogli bi pružiti bolji uvid u principe imunomodulacije, i unaprijediti dosadašnja saznanja o funkciji i značaju određenih crijevnih bakterija za zdravlje i dobrobit čovjeka.

Ključne riječi: ljudski crijevni mikrobiom; rod *Trichuris*; trihurijaza; zanemarene tropske bolesti; interakcija parazit-mikrobiom

Rad pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

Rad sadrži: 20 stranica, 16 slika, 27 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Sanja Puljas

Neposredni voditelj: dr. sc. Tomislav Rončević

Ocjenjivači: izv. prof. dr. sc. Sanja Puljas

doc. dr. sc. Ivica Šamanić

dr. sc. Tomislav Rončević

Rad prihvaćen: 21. rujna 2023.

Basic documentation card

University of Split
Faculty of Science
Department of Biology
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

B. Sc. Thesis

***TRICHURIS* GENUS AND THE MICROBIOME - INTERACTIONS BETWEEN THE PARASITE AND THE GUT MICROBIOME OF THE HOST**

Iva Pletikosić

The human microbiome is the habitat of 10^{13} diverse microorganisms. Most of these are found in the digestive tract, primarily in the large intestine, in which, upon close contact with infected soil, organisms popularly called “soil-transmitted helminths” can also be found. One nematode species belonging to this group is *Trichuris trichiura* which inhabits the digestive tract of more than half a billion people residing in tropical areas. *Trichuris muris*, its well-studied homologue, a natural parasite in rodents, serves as a model for the study of human trichuriasis and the general influence of the presence of worm-like parasites in the gut of their hosts. Their impact on the host microbiome as a whole and the way they interact directly and indirectly with the intestinal epithelium and microbial communities in the host gut is of great interest to the scientific community. Understanding the mechanisms these organisms use to successfully survive in the challenging environment of the human or animal digestive tract, as well as changes in the bacterial composition of the intestinal sites they inhabit could provide greater insight into the principles of immune modulation and build on current knowledge of the function and importance of specific gut bacteria for human health and well-being.

Key words: human gut microbiome; *Trichuris* genus; trichuriasis; neglected tropical diseases; parasite-microbiome interactions

Thesis deposited in library of Faculty of Science, University of Split.

Thesis consists of: 20 pages, 16 figures, 27 references. Original language: Croatian

Supervisor: Assoc. Prof. Sanja Puljas

Assistant Supervisor: Dr. Tomislav Rončević

Reviewers: Assoc. Prof. Sanja Puljas

Assist. Prof. Ivica Šamanić

Dr. Tomislav Rončević

Thesis accepted: 21st September 2023

IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

ROD TRICHURIS I MIKROBIOM - INTERAKCIJA PARAZITA S MIKROBIOMOM CRIJEVA DOMAĆINA

izradila samostalno pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Sanje Puljas i dr. sc. Tomislava Rončevića. U radu sam primijenila metodologiju znanstvenoistraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u diplomskom radu na uobičajen, standardan način citirala sam i povezala s fusnotama s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica

Iva Pletikosić

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1 Humani crijevni mikrobiom	1
1.2 Rod <i>Trichuris</i>	4
2. Razrada teme.....	7
2.1 <i>Trichuris trichiura</i>	7
2.1.1 Životni ciklus	10
2.1.2 Trihurijaza.....	11
2.2 Utjecaj infekcije <i>Trichurisom</i> na mikrobiom	14
2.2.1 Ljudski mikrobiom, miševi i <i>T. muris</i>	14
2.2.2 Životni ciklus <i>T. muris</i>	16
2.2.3 Interakcije <i>Trichuris</i> – mikrobiom.....	17
3. Zaključak	20
4. Literatura.....	21

1. Uvod

1.1 Ljudski crijevni mikrobiom

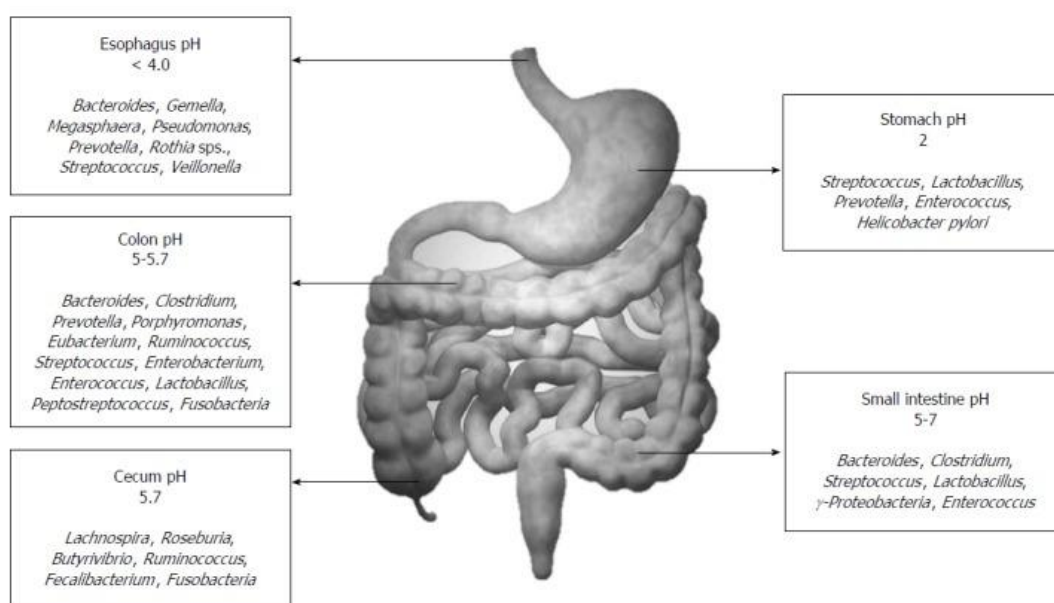
Prosječni ljudski organizam sastavljen je od mnoštva stanica, čije brojke prelaze 10^{14} . Od njih, samo je otprilike desetina animalnih (Savage, 1977). Ostatak otpada na raznoliku zajednicu mikroorganizama poznatu kao *mikrobiom* čovjeka (Davenport et al., 2017).

U svom radu iz 2001. godine, Nobelovac Joshua Lederberg opisuje mikrobiom kao „ekološku zajednicu mikroorganizama komenzala, simbionata i patogena koji doslovno dijele naš tjelesni prostor“ (Lederberg i McCray, 2001). Lederberga mnogi citiraju kao izumitelja termina (Peterson et al., 2009), dok drugi tvrde da je izraz *mikrobiom* opisivani i u starijoj literaturi (Prescott, 2017), u istom kontekstu kako se upotrebljava i danas, kao: *karakteristična mikrobna zajednica koja nastanjuje dobro definirano stanište s distinktivnim fiziološkim i kemijskim svojstvima te ne uključuje samo navedene organizme, nego i njihov spektar i prostor aktivnosti* (Whipps et al., 1988). U novijim definicijama, u ovaj opis mikrobioma uklapa se i naglasak na genome, odnosno metagenom spomenutih mikroorganizama (Berg et al., 2020). Biotsku komponentu mikrobioma nazivamo *mikrobiota* (Davenport et al., 2017).

Sastav mikrobiote ljudskog tijela varira ovisno o lokaciji, dok se općenito smatra da crijevna mikrobna zajednica igra najznačajniju ulogu u održavanju zdravlja organizma (Hou et al. 2022). Gastrointestinalni trakt sisavaca, odnosno čovjeka, povoljan je ekosustav s mnoštvom resursa potrebnih za rast kompleksne mikrobne zajednice. Sa stabilnom temperaturom od $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ i kontinuiranim prolaskom nutrijenata kroz probavnu cijev, stvara ugodan okoliš za život raznih organizama, od kojih su najbrojnije bakterije, ali uključuje i viruse, gljive, protozoe, a potencijalno i makroskopske eukariote (Lawson et al., 2021).

U svim koracima razvoja pred rođenje, smatra se da je ljudski organizam sterilan te da se probavni trakt primarno kolonizira tijekom i tik nakon poroda, prolaskom kroz porođajni kanal, gdje je izložen mikrobnoj zajednici majčinog spolnog sustava. Sastav crijevne mikrobiote u najranijim stadijima života nakon porođaja uvelike nalikuje vaginalnoj mikrobioti majke. Mnogi unutarnji i vanjski okolišni faktori utječu na kasniji razvoj mikrobiote, ali smatra se da je inicijalni sastav u ranim razvojnim stadijima od velikog značaja u kasnijem oblikovanju mikrobiote kod odraslog organizma (Bull i Plummer, 2014).

U probavnom traktu različite vrste bakterijskih stanica variraju u distribuciji i brojnosti, ovisno o lokaciji. Uvjerljivo najmanje ih je u želucu i dvananesniku - između 10^1 i 10^3 po gramu želučanog odnosno duodenalnog sadržaja, neznatno više u tankom crijevu - između 10^4 i 10^7 te najviše u debelom crijevu - između 10^{11} i 10^{12} (Bull i Plummer, 2014). U različitim regijama duž crijeva su naseljeni specifični mozaici bakterijskih kolonija (Slika 1), a uočena je i velika razlika između bakterijskih zajednica lumena u odnosu na one u blizini i na samome crijevnom epitelu (Bull i Plummer, 2014). Generalno, smatra se da je zdrava mikrobiota većinski sastavljena od koljena Firmicutes i Bacteroidetes, nakon kojih su u brojnosti Actinobacteria i Verrucomicrobia (Jandhyala et al., 2015).



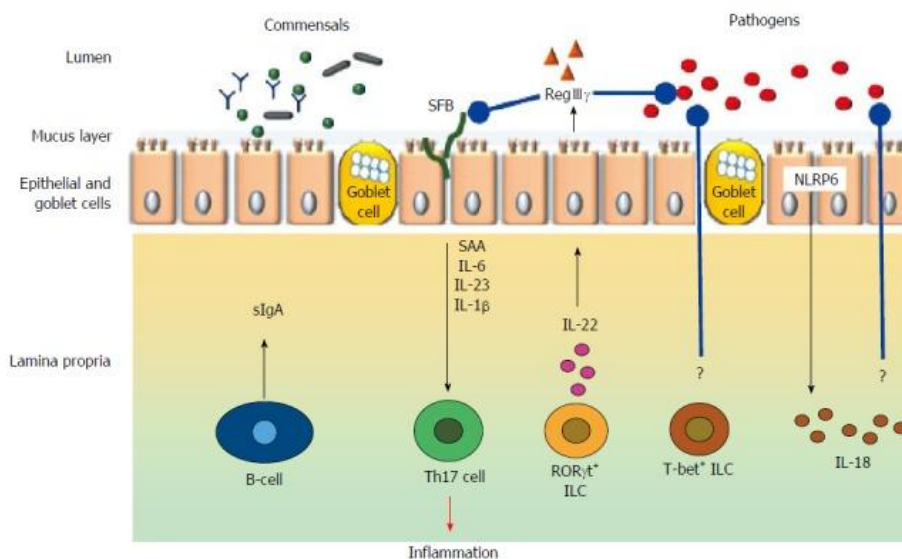
Slika 1: Raznolikost bakterijskih rodova kroz probavni trakt (Jandhyala et al., 2015)

Većina crijevnih bakterija nepatogena je i koegzistira zajedno s enterocitima u svojevrsnoj simbiozi. Čovjek - domaćin, ko-evoluirao je s vlastitim mikrobiomom (Jandhyala et al., 2015). S obzirom na opseg kodirajućih gena prisutnih mikroorganizama koji je značajno veći od onog u samom domaćinu, i raznolikost i značaj njihovih produkata, za ljudski organizam ključna je njihova uloga u metabolizmu. Crijevne bakterije proizvode vitamine, sintetiziraju sve esencijalne i neesencijalne aminokiseline te su odgovorne za biokemijske puteve metabolizma neprobavljivih ugljikohidrata, i mnoštvo drugih funkcija. Osim što time osiguravaju energiju

za vlastiti rast i proliferaciju, također stvaraju domaćinu energiju i supstrate pogodne za apsorpciju (Bull i Plummer, 2014).

Još jedna važna uloga koju ima crijevna mikroflora je održavanje komunikacijskog sustava između crijeva i centralnog živčanog sustava, takozvani *gut-brain axis*. On obuhvaća dvosmjerno hormonalno, imunološko i živčano signaliziranje između bakterija i njihovih metabolita i mozga. Njegov je primarni čimbenik stres, koji utječe na sastav crijevnog epitela i mijenja bakterijsko stanište u crijevima, čime utječe na njihovu rasprostranjenost, raznolikost i distribuciju (Bull i Plummer, 2014).

Također, mikroorganizmi iz crijeva štite ljudsko tijelo od infekcije patogenima. Ovu funkciju obnašaju na nekoliko načina: jednostavnom kompeticijom za nutrijente, kada brojčano „nadjavaju“ patogene kompetitore; zauzimajući svako potencijalno mjesto prijanjanja patogena; sintetizirajući bakteriochine, peptide s antimikrobnim svojstvima; kao i svojom ulogom u ranom razvitku crijevnog epitela, čija pravilna funkcija osigurava adekvatan imunološki odgovor na prisustvo patogena (Bull i Plummer, 2014) (Slika 2).



Slika 2: Imunomodulatorna aktivnost mikrobiote crijeva (Jandhyala et al., 2015)

Uz vlastitu mikrobiotu, probavna cijev čovjeka može biti naseljena i drukčijim organizmima – eukariotima, za koje onda vrijedi naziv crijevna *makrobiota*. Među njima, poznati su patogeni *soil-transmitted helminths* (STH), zapravo nematodi čiji je glavni medij rasprostranjivanja zaraženo tlo. *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* i *Necator*

americanus najznačajniji su predstavnici, svaki s preko 500 milijuna zaraženih diljem svijeta. Ovakav tip infekcije karakterističan je za područja s toplom, vlažnom klimom i nepovoljnim higijenskim uvjetima ljudske populacije koja tamo obitava (Web 1). U slučaju prisutnosti nematoda u crijevu, ostvarit će određene interakcije s crijevnim mikrobiomom, a rezultat njihove „koegzistencije“ odrazit će se na cjelokupno zdravlje organizma, često s teškim posljedicama. U područjima svijeta s visokom stopom zaraze nematodima, pokazalo se da je njihovo prisustvo odgovorno za poteškoće u razvoju zdrave mikrobiote u ranijim fazama života. Pretpostavlja se da imunosupresivna svojstva crijevnih nematoda potiču iz interakcije koju ostvaruju s otprije prisutnim bakterijama, izravno ili uz posredovanje imunološkog sustava (Cortés et al., 2019).

1.2 Rod *Trichuris*

Rod *Trichuris* pripada porodici Trichuridae i redu Trichocephalida (još nazivanom i Trichinellida). Spada pod razred Enoplea koji zajedno s razredima Chromadorea i Secernentea tvore koljeno Nematoda (još nazivanom i Nemethelminthes) – oblića. Naziv *Trichuris* dolazi iz grčkih riječi *trichos* (dlaka) i *oura* (rep), zbog svoje karakteristične tanke građe velikog dijela tijela, koji onda prelazi u deblji posteriorni kraj (Slika 3). Saznanjem da je tanki dio tijela zapravo glava organizma, skovan je alternativni naziv – *Trichocephalus* (Roberts et al., 2013).



Slika 3: Mužjak *Trichuris sp.* (Roberts et al., 2013)

Pretpostavlja se da je rod *Trichuris* relativno star te da je ko-evoluirao zajedno s ljudima, kao parazit njihovih predaka. Najstariji dokaz, u obliku jajašaca *T. trichiura* (Slika 4) nađen je u 5000 godina staroj ledenjačkoj mumiji (Roberts et al., 2013).



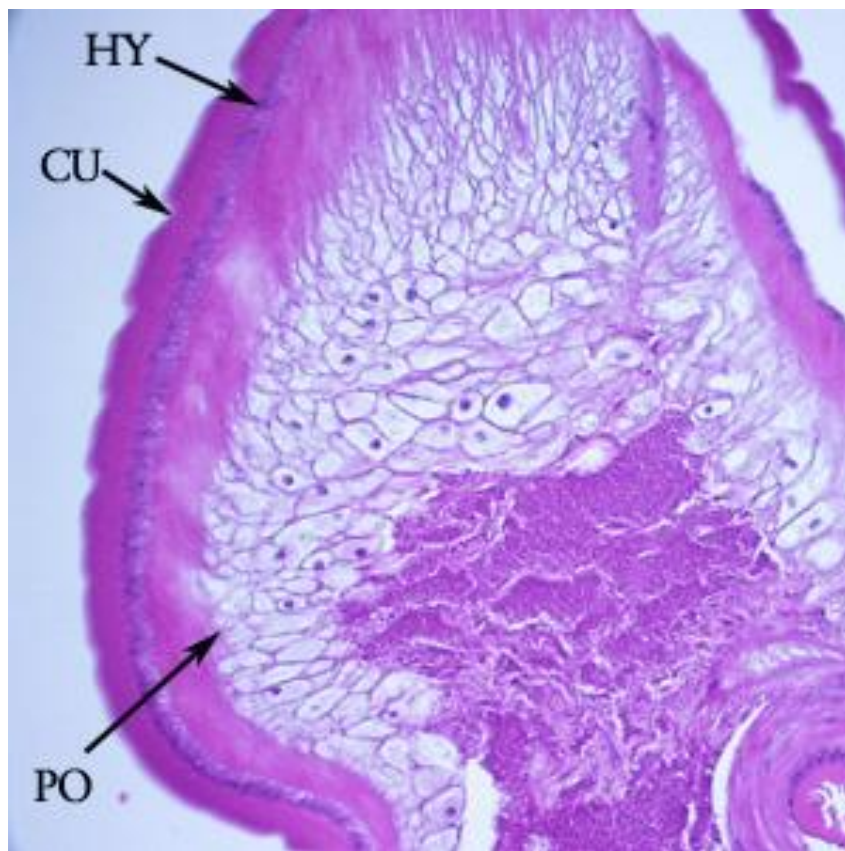
Slika 4: UV mikroskopija, jajašce *T. trichiura* (Web 2)

Rod *Trichuris* broji između 60 i 70 vrsta, koje parazitiraju na raznim sisavcima. Kod domaćih životinja opisane su tri značajne vrste: *T. ovis* kod ovaca, koza i krava; *T. suis* kod svinja i *T. vulpis* kod pasa (kao i kod divljih srodnika - lisica i kojota), te postoje slučajevi zaraze ovom vrstom kod čovjeka. Od velike važnosti u istraživanjima je i *Trichuris muris* koji zaražava miševе i štakore čiji tijek infekcije služi kao vrijedan model za razumijevanje infekcije čovjeka njegovim bliskim srodnikom *Trichuris trichiura*, takozvanom čovječjom glistom, koji parazitira u debelom crijevu stotina milijuna ljudi diljem svijeta (Roberts et al., 2013).

2. Razrada teme

2.1 *Trichuris trichiura*

Pripadnici vrste *T. trichiura* relativno su mali organizmi, duljine između 30 i 50 milimetara. Tijelo im je obloženo debelom kutikulom prožetom anulacijama - transverzalnim procjepima koji olakšavaju kretanje, ispod koje je tanka hipoderma i sloj nakupina longitudinalnih mišića (Web 2) (Slika 5).

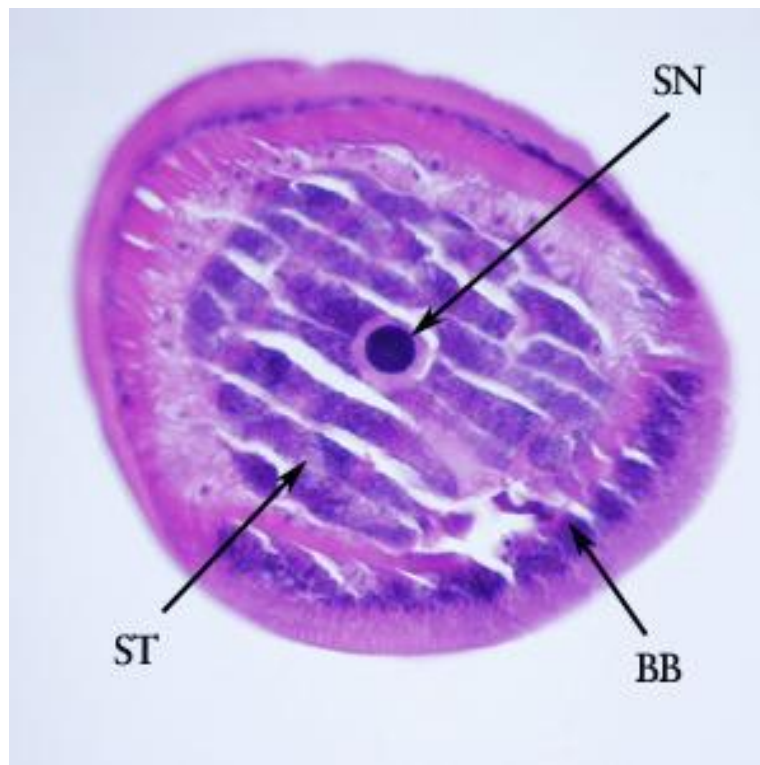


Slika 5: Prerez kroz odraslu jedinku *T. trichiura* - CU označava kutikulu, HY hipodermu, a PO mišićni sloj (Web 2)

Usta su im otvor bez usana, a usna šupljina je malena te se u njoj nalazi kukica. Imaju dugačak jednjak s tankim stijenkama, koji je na anteriornom dijelu osnažen slojem mišića, a na posteriornom dijelu obložen žljezdanim stanicama stihocistama, koje skupno nazivamo

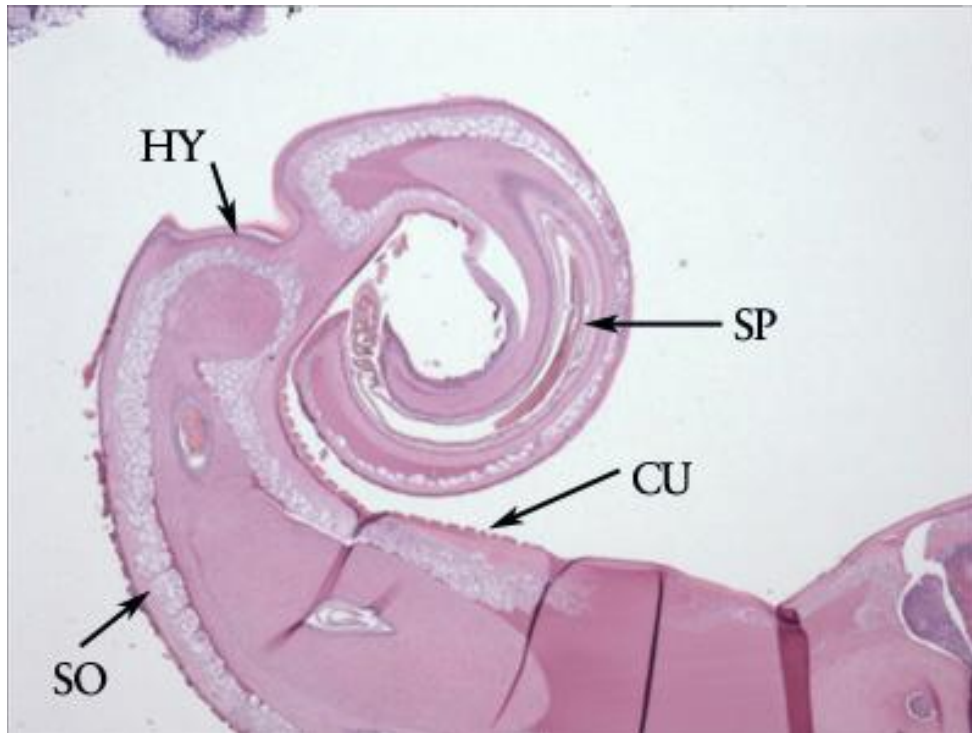
stihosom. Ventralna površina jednjaka obložena je malenim porama koje služe kao otvori za žljezdane stanice (Roberts et al., 2013).

Ta se tvorevina u literaturi naziva *bacillary band* i distinktivna je morfološka karakteristika roda *Trichuris* te se smatra da ima značajnu ulogu u parazitizmu i samoodržavanju unutar organizma domaćina. Ekskretorni/sekretorni produkti anteriornog dijela parazita, za koje se pretpostavlja da je odgovoran *bacillary band* (Slika 6), služe kao pokretači interakcija između domaćina i parazita (Schachter et al., 2020).



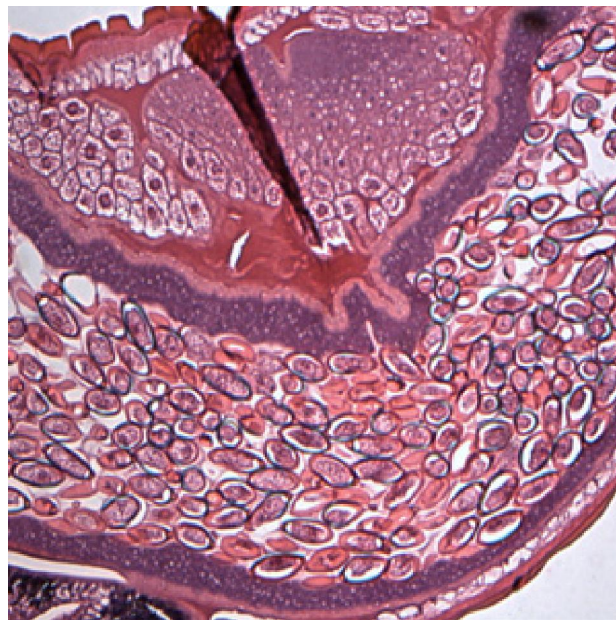
Slika 6: Prerez kroz anteriorni dio *T. trichiura* - BB označava *bacillary band*, ST stihocistu, a SN jezgru stihosoma (Web 2)

T. trichiura razdvojenog su spola, a mužjaci su manji od ženki - oba spola imaju po jednu gonadu. Mužjaci imaju jedinstvenu kopulatornu spikulu okruženu tvrdim omotačem. Ejakulacijski kanal i crijevo spajaju se u jednu cijev anteriorno od kloake, koja se nalazi blizu vrha repa. Kod mužjaka, rep je karakteristično zavijen (Slika 7).



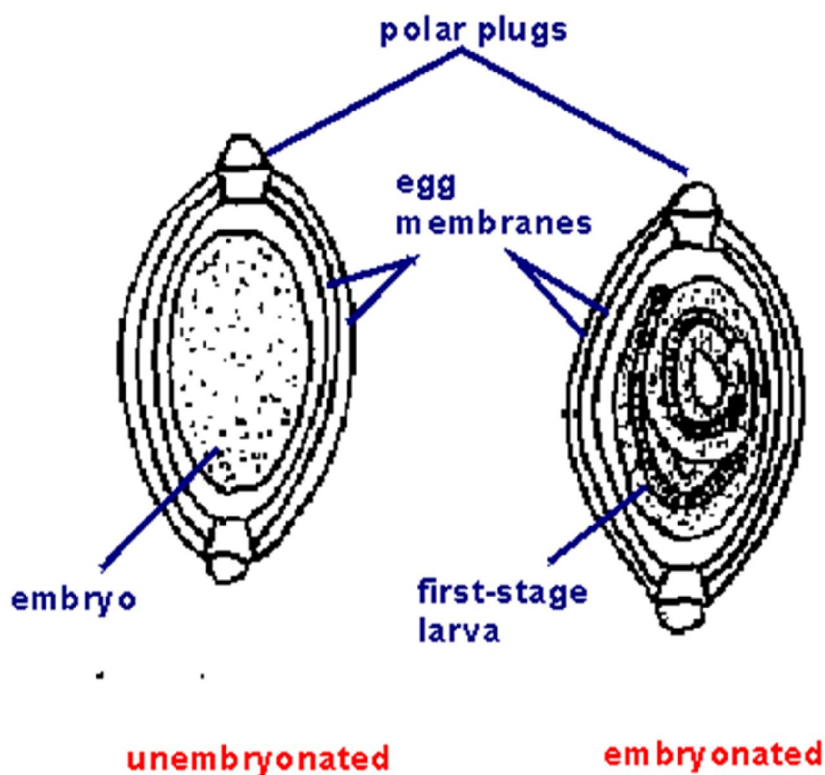
Slika 7: Prerez kroz odraslog mužjaka *T. trichiura* - CU označava kutikulu, HY hipodermu, SO somatske mišićne stanice, SP kopolatornu spikulu (Web 2)

Kod ženki, spolni otvor nalazi se kod spojnice jednjaka i crijeva. Maternica je puna nerazvijenih jajašaca (Roberts et al., 2013) (Slika 8).



Slika 8: Prerez kroz gravidnu ženku *T. trichiura* - vidljiva su nerazvijena jajašca (Web 2)

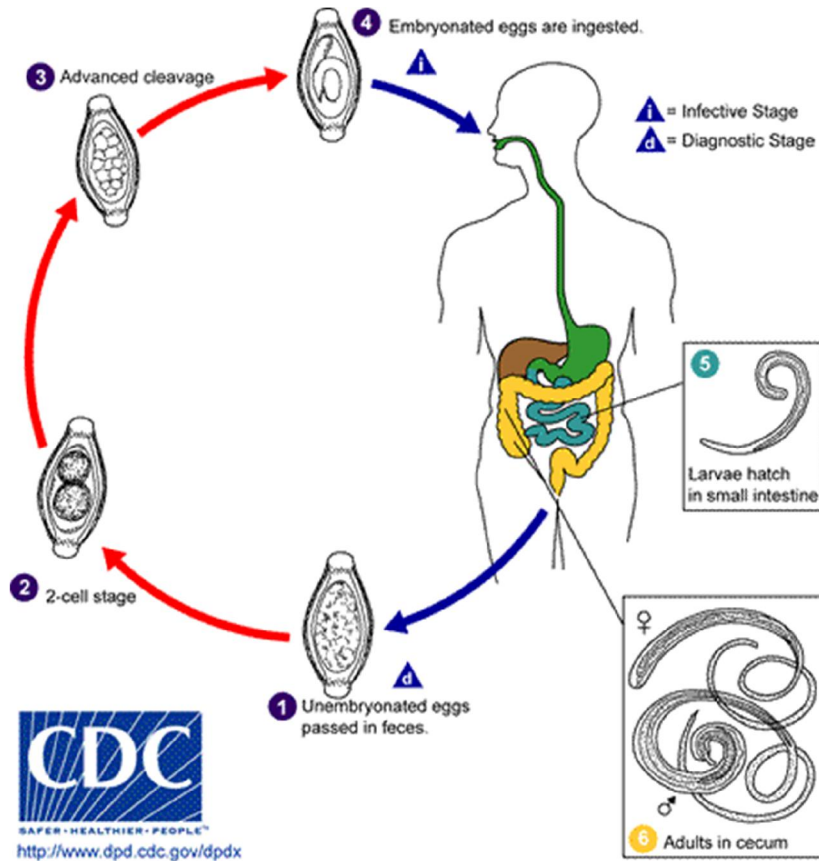
Jajašca su karakterističnog oblika. Procesom embrionacije u njima se razvijaju ličinke (Roberts et al., 2013) (Slika 9).



Slika 7: Izgled nerazvijenih vs. razvijenih jajašaca *T. trichiura* (Web 3)

2.1.1 Životni ciklus

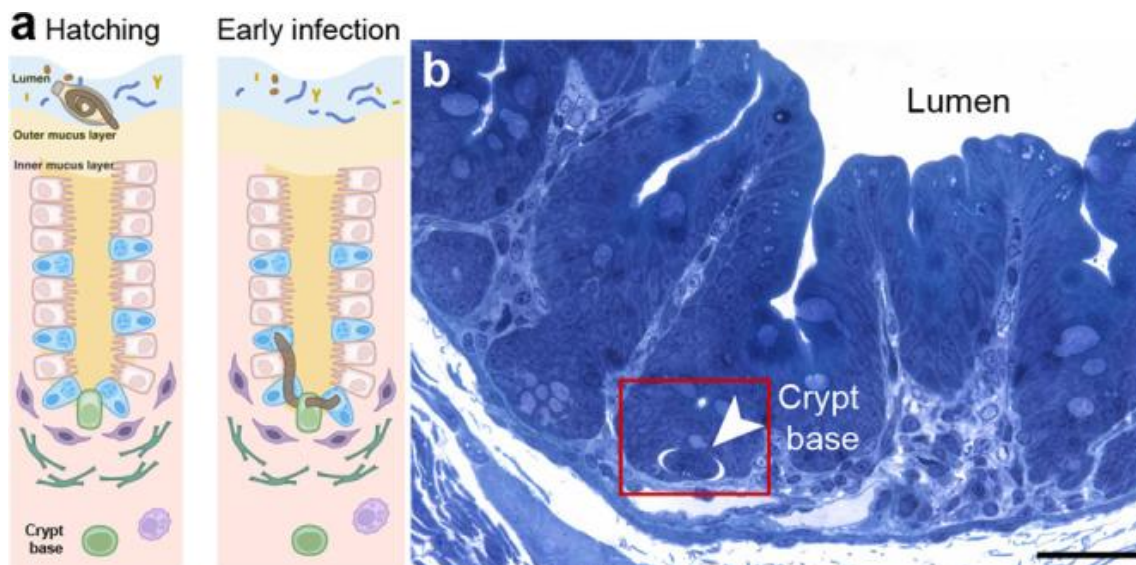
Nerazvijena jajašca iz stolice dospijevaju u tlo. U tlu prolaze dvostaničnu fazu te fazu naprednog brazdanja prije razvitka embrija. Potrebno je 2 do 4 tjedna da postanu infektivna. Nakon konzumacije jajašaca kontaminiranim rukama ili hranom, jajašca se izlegu unutar tankog crijeva. Ličinke sazrijevaju u debelom crijevu gdje nastavljaju živjeti fiksirani u epitelu. Nakon parenja, ženke počinju ispuštati jajašca 60 do 70 dana od inicijalne infekcije (Slika 10).



Slika 8: Životni ciklus *T. trichiura* (Web 2)

2.1.2 Trihurijaza

S obzirom na to da je prosječni životni vijek odrasle jedinice u crijevu 1 godinu, a najduži i do 4 godine, svojim brzim mehanizmom reprodukcije jedinice *T. trichiura* ostvaruju velike brojke unutar organizma domaćina. Ženke proizvedu i do 20 000 jajašaca u danu. Embriji se razvijaju u vlažnom i sjenovitom tlu, a za razvitak im je potrebno oko tri tjedna. Ukoliko su konzumirana, prije ulaska u Lieberkühnovne kripte u debelom crijevu, jajašca s infektivnim mladima izleći će se u tankom crijevu domaćina. Prema novijim istraživanjima, medijator ovog procesa je domaćinova vlastita mikrobiota (Duque-Correa et al. 2022). U debelom crijevu, pokretne ličinke probijaju epitelne stanice na bazama kripte (Slika 11), te nastavljaju s razvojem i stvaraju svojevrsne „tunele“ kroz epitel natrag prema lumenu. Sve veći posteriorni kraj u daljnjim fazama razvoja probija kroz epitel i strši u lumen crijeva, dok anteriorni kraj ostaje prikačen za mukozni sloj crijeva (Roberts et al., 2013).



Slika 9: a) Shematski prikaz početnog stadija infekcije *Trichurisom*; b) Toluidine blue-obojeni uzorci caecuma miševa inficiranih s *T. muris* (Duque-Correa et al. 2022)

Istraživanja na miševima s *T. muris* pokazala su da je vjerojatno fizikalna ili kemijska degradacija crijevne sluzi mehanizam kojim ličinke uspijevaju proći mukozni sloj crijeva u ranom stadiju infekcije, a mnogojezgrene citoplazmatske mase koje „prokopavaju“ ličinke opisuju kao sincicijalne tunele. Ove formacije omogućuju siguran okoliš i kontinuirani izvor nutrijenata za parazita. Prilikom njihovog nastanka, ličinke moraju probiti niz mitotski aktivnih stanica crijevnog epitela, za koje je otkriveno da u prva 24 sata infekcije uopće ne reagiraju na invaziju (Dugue-Correa et al. 2022).

Uvjeti za opstanak *T. trichiura* unutar ljudske populacije na određenom području nisu zahtjevni, u prvom redu uključuju toplu, kišovitu klimu, tlo koje dobro zadržava vlagu, i sjenovitost uz takve higijenske uvjete da se ljudski izmet direktno ili indirektno na njega odlaže. Korištenje zaraženog tla u agrikulturi jedan je od glavnih načina prenošenja parazita, kao i preko vektora, kućnih muha, ili transportnih domaćina, kokoši i svinja (Roberts et al., 2013). Procjenjuje se da je trenutno između 450 milijuna i 1 milijarde ljudi na svijetu pogođeno ovom infekcijom (Viswanath et al., 2023) te su česti slučajevi paralelne zaraze *T. trichiura* i *A. lumbricoides*.

Manje od 100 jedinki može izazvati težu kliničku sliku kod zaraženih *Trichurisom*. Mnoge su infekcije bez simptoma, a teži se slučajevi obično pojavljuju kod zaražene djece, kod kojih je za *T. trichiura* poznato da uzrokuje kognitivnu disfunkciju. Simptomi uključuju proljev, bol u abdomenu, krv u stolici, rektalne tenezme, anemiju i usporeni rast. Pojačano krvarenje kod

disrupcije mukoznog sloja crijeva može uzrokovati smrt, a teži slučajevi tenezama prolaps crijeva (Slika 12). Samo hranjenje parazita domaćinovu krvlju od manjeg je značaja u usporedbi s oštećenjem crijevnog epitela koji nastupa kod ozbiljnijih infekcija, a može uzrokovati kronično krvarenje i cijeli niz lančanih reakcija koje mogu nastupiti kao njegova posljedica (Roberts et al., 2013).



Slika 10: Prolaps crijeva pacijenta zaraženog *T. trichiura* (Roberts et al., 2013)

2.2 Utjecaj infekcije *Trichurisom* na mikrobiom

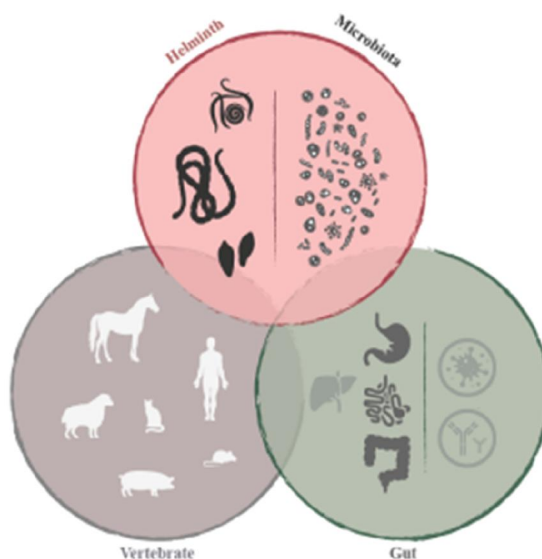
2.2.1 Ljudski mikrobiom, miševi i *T. muris*

Ljudski mikrobiom postaje predmet intenzivnog proučavanja suvremene mikrobiologije. Put do saznanja na ovom području otežava osmišljavanje adekvatnih neinvazivnih metoda u potrazi za vrijednim rezultatima. Stoga, većina istraživanja provodi se na modelnim organizmima, od kojih su se prikladnima pokazali glodavci, prvenstveno štakori i miševi. Genom čovjeka i miša sadržajno se preklapa oko 85%, dok se ljudski i mišji mikrobiom preklapaju čak 90% po pitanju koljena i rodova mikroorganizama. Međutim, razlikuju se u omjeru i vrstama unutar koljena Bacteroidetes i Firmicutes. Humane Bacteroidetes pretežito su sastavljene od porodica Prevotellaceae i Bacteroidaceae, a mišje od Muribaculaceae, poznate pod starim nazivom S24-7. Za humane Firmicutes značajna je porodica Ruminococcaceae, dok je red Clostridiales brojniji kod miševa. Razlikuju se i po pitanju specifičnih rodova, gdje ljudski mikrobiom odlikuju rodovi *Faecalibacterium*, *Megasphaera*, *Asteroleplasma*, *Succinivibrio* i *Paraprevotella*, a mišji rod *Mucispirillum*. Uzevši njihove razlike u obzir, korištenje miševa kao modela u svrhu proučavanja mikrobioma kontinuirano nastavlja donositi korisne informacije (Hou et al. 2022). U ovakvim istraživanjima često je korištenje gnotobiotskih miševa, s ciljem boljeg razumijevanja odnosa domaćina s jednim, ili specifičnom kombinacijom mikroorganizama, kao i međusobnog djelovanja domaćina, njegove vlastite mikrobiote i potencijalnih prisutnih crijevnih eukariota, poput nematoda (Lawson et al., 2021).

Istraživanja interakcija crijevnih makroparazita s mikrobiomom domaćina započela su još 1960-ih godina kada je parazitolog Richard B. Wescott eksperimentalno zarazio skupinu divljeg tipa i skupinu sterilnih miševa nematomom *Nematospiroides dubius*, danas poznatim pod nazivom *Heligmosomoides polygyrus*, prirodnim nametnikom glodavaca. Njegovo otkriće pokazalo je da konvencionalno prisutni mikroorganizmi unutar probavila sisavaca imaju značajan utjecaj na razvoj i patogenost crijevnih makroparazita (Wescott, 1968).

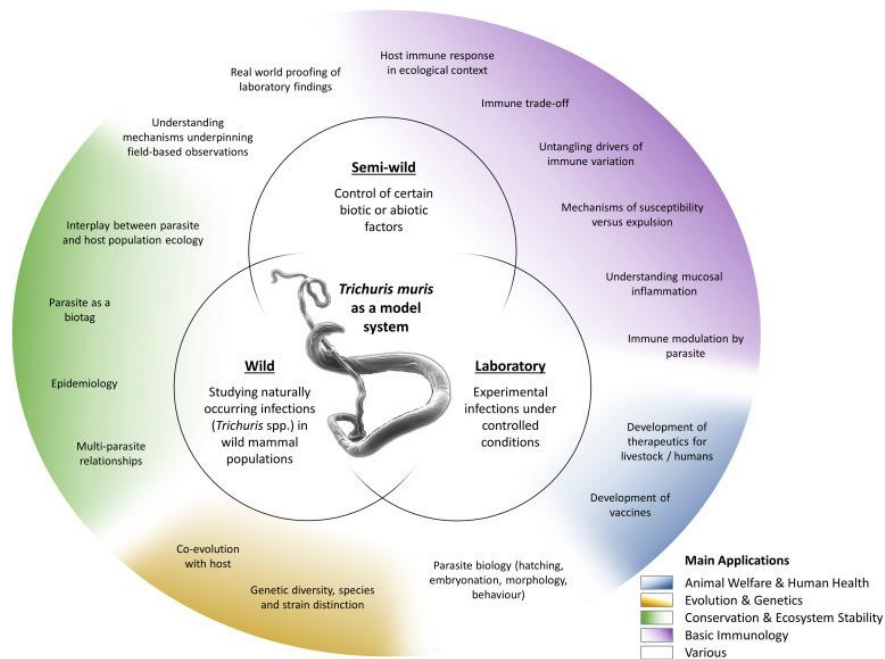
Suvremena istraživanja na području makroparazitskih infekcija probavne cijevi potvrđuju ove podatke i ukazuju na kvantitativne i kvalitativne promjene u mikrobiomu domaćina uslijed infekcije, kao i parazitski-inducirano potiskivanje upale i općeg imunološkog odgovora na patogene. Naravno, vrsta nematoda, njegov način hranjenja, vrste interakcija koje ostvaruje s mukoznim slojem crijeva kao i njegova lokacija unutar probavne cijevi uvelike modificira

njegov utjecaj na mikrobiotu naseljenog dijela trakta, odnosno na mikrobiom u cijelosti (Cortés et al., 2019) (Slika 13).



Slika 11: Ilustracija povezanosti između probavnog trakta kralježnjaka, mikrobiote i nematoda (Cortés et al., 2019)

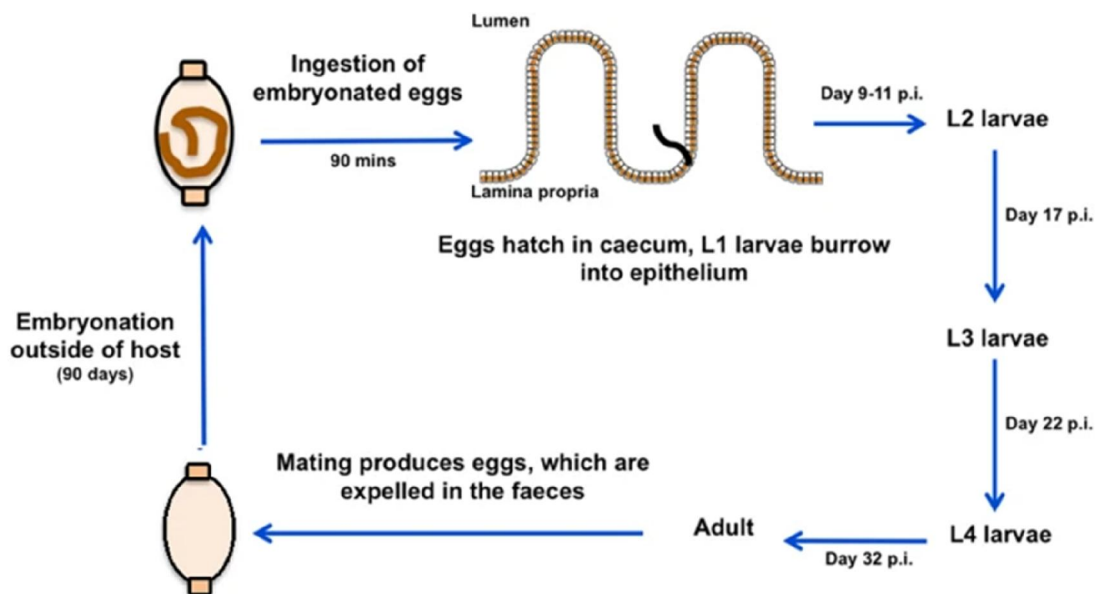
U kontekstu istraživanja humane trihurijaze, od iznimnog je značaja *Trichuris muris*, bliski srodnik *T. trichiura*. *T. muris* njegov je idealan model, jer je prirodni parazit divljeg miša te je iznimno morfološki sličan *T. trichiura*. Nadalje, zauzima identičnu nišu unutar crijeva te uzrokuje isti antigenski odgovor kao *T. trichiura* kod ljudi, a genom je visoko očuvan između ove dvije vrste (Mair et al., 2021). Zbog svoje odabrane nastambe unutar debelog crijeva domaćina, koja je najbogatiji dio probavnog sustava glede sastava i brojnosti mikroorganizama, *T. muris* također služi kao model za proučavanje interakcija s mikrobiotom domaćina (Lawson et al., 2021) (Slika 14).



Slika 12: Koristi proučavanja *T. muris* (Mair et al., 2021)

2.2.2 Životni ciklus *T. muris*

S obzirom na veću jednostavnost proučavanja, životni ciklus *T. muris* egzaktnije je opisan u literaturi u odnosu na *T. trichiura* (Slika 15). U slučaju mišjeg parazita nakon konzumacije fekalno-oralnim putem, jajašca se izlegu unutar tankog crijeva oslobađajući ličinke L1, koje probijaju u kripte crijevnog epitela. Larve prolaze kroz četiri faze: L1, L2, L3, L4, te sazrijevaju u debelom crijevu gdje nastavljaju živjeti fiksirani u epitelu. Odrasli mužjak i ženka se pare i jajašca se oslobađaju u lumen, gdje izlaze iz domaćina putem fecesa. Prolaze kroz proces sazrijevanja prije nego postanu infektivni (Shears i Grencis, 2022).



Slika 13: Životni ciklus *T. muris* (Shears i Grecis, 2022)

2.2.3 Interakcije *Trichuris* - mikrobiom

Iako u sadašnjem trenutku mnogo istraživanja nedostaje da bi se ušlo u srž problematike „trokuta“ interakcija između crijevnih parazita, mikrobioma i njihovih domaćina, podatci koji su na raspolaganju dovoljni su za razumijevanje opće slike.

Još 2010. Hayes i suradnici došli su do otkrića da prisustvo poznatog stanovnika debelog crijeva, *Escherichia coli* pospješuje, a možda i uvjetuje izlijeganje *T. muris* iz jajašaca (Hayes et al., 2010). Drugo istraživanje iz 2015. godine pokazalo je značajne promjene u sastavu mikrobiote C57/BL/6 miševa - najčešće korišteni, genetski identični soj miševa - uslijed infekcije *T. muris*. Najveće razlike u odnosu na kontrolu bile su u velikom prisustvu bakterija iz rodova *Prevotella* i *Parabacteroides*. Kao posljedica toga, došlo je do smanjenog metaboliziranja ugljikohidrata i povezanog povećanja u količini aminokiselina u crijevu, čime se stvorio povoljniji okoliš za razvitak *T. muris* (Houlden et al., 2015).

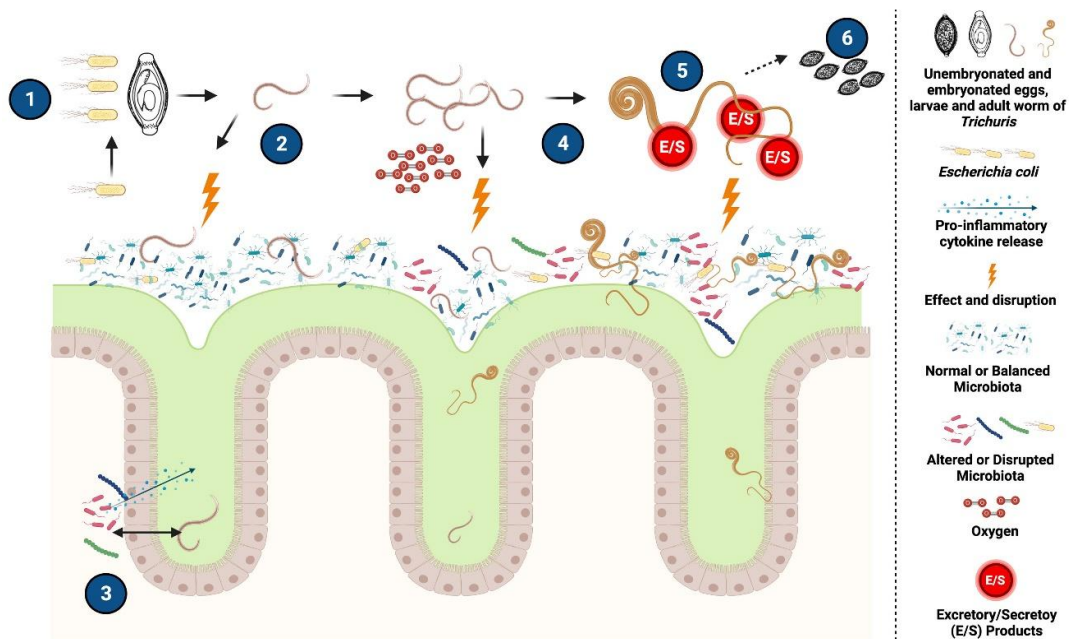
Nadalje, na miševima tretiranim deksametazonom, te tolerantima na glukozu, s povećanim razinama inzulina u odnosu na divlji tip eksperimentalno je potvrđeno povećanje brojnosti *E. coli* i roda *Bacteroides* uslijed kronične infekcije *T. muris*, kao i značajno oštećenje crijevnog epitela, te promjene u imunološkom odgovoru (Schachter et al., 2020). Usporednim

proučavanjem infekcije *T. trichiura* kod ljudi i *T. muris* kod miševa sekvenciranjem gena 16S rRNA izdvojeno je 11 bakterijskih rodova od interesa za daljnja proučavanja: *Escherichia/Shigella*, *Prevotella 2* i *Prevotella 9*, *Bacteroides*, *Subdoligranulum*, *Collinsella*, *Blautia*, *Clostridium sensu stricto 1*, pripadnici Lachnospiraceae NK4A136 skupine te Ruminococcaceae UCG 014 skupine. Najznačajnije interakcije imale su *Escherichia coli*, čija je već pretpostavljena pozitivna asocijacija s infekcijom *Trichurisom* ovim putem potvrđena te rod *Blautia* koji je prethodno pokazivao negativne asocijacije s infekcijom *Trichurisom*, u istraživanjima na svinjama s *T. suus* (Rosa et al., 2021).

Kao i kod miševa i svinja, istraživanja na divljim tropskim primatima inficiranim s *Trichuris sp.* ukazuju na veći diverzitet i brojnost mikroorganizama unutar probavnog trakta (Barelli et al., 2021), kao i ona provedena striktno na ljudima zaraženima *T. trichiura*, gdje je nađeno značajno povećanje brojnosti unutar porodice Paraprevotellaceae unatoč pretpostavkama temeljenima na starijim istraživanjima (Lee et al., 2014). Kupritz i suradnici (2021) nedavno su otkrili pozitivnu asocijaciju infekcije *T. trichiura* s rodovima *Treponema* i *Anaerovibrio* i porodicama Rikenellaceae i Prevotellaceae, kao i značajne promjene u omjeru koljena Firmicutes i Bacteroidetes u korist Firmicutes.

U preglednom radu iz 2022., Castañeda i suradnici (2022) predložili su potencijalni princip interakcija mikrobioma i *Trichurisa* u tijeku infekcije (Slika 16):

1. inicijalni izlazak ličinki iz jajašaca potpomognut je prisustvom *E. coli*
2. sama prisutnost jajašaca i izlegnutih ličinki ostvaruje direktne interakcije s mikrobiotom domaćina i tako uzrokuje promjene u crijevu, ili preko upalnog procesa kojeg je uzrokovao parazit
3. lokalizirane upale uslijed oštećenja tkiva crijevnog epitela mijenjaju sastav ili uzrokuju translokaciju komenzalne mikrobiote tih specifičnih epitelnih dijelova u lumen crijeva
4. prisustvo parazita mijenja količinu kisika u crijevima, negativno utječući na striktno anaerobe važne za zdravlje crijeva, primjerice *Faecalibacterium*; povećava se brojnost fakultativnih aeroba poput porodice Enterobacteriaceae koje daljnje potpomažu napredovanje infekcije
5. odrasle jedinke *Trichuris sp.* izlučuju ekskretorne i sekretorne produkte bacilarnog pojasa - a koje mogu imati direktan utjecaj na specifične bakterije iz mikrobiote domaćinova crijeva
6. jajašca koja su proizvele odrasle jedinke izbacuju se fekalno.



Slika 14: Potencijalni mehanizmi interakcija crijevnih mikroorganizama s parazitom roda *Trichuris* (Castañeda et al., 2022)

Iako su direktne interakcije između parazita i mikrobioma domaćina evidentno značajne, sve je veći interes za proučavanje onih posredovanih metabolitima parazita i njihovog imunomodulatornog efekta koji se odražava na crijevne mikrobne zajednice. Ekskretorni/sekretorni produkti parazita iz roda *Trichuris* kao što je protein p43 pokazali su se kao jaki inhibitori citokina, čija je normalna funkcija važna za izbacivanje parazitskih organizama iz domaćina. Ovakav mehanizam parazitu iz roda *Trichuris* omogućava dulji opstanak, čime osigurava progresiju infekcije u teži stadij (Castañeda et al., 2022).

3. Zaključak

Homo sapiens, osim što je bipedalni sisavac s impresivno razvijenim živčanim sustavom, također je i svi svoji mikroorganizmi. Zapravo, on je kompleksni ekološki sustav, ili skup njih, unutar biogenog, svjesnog, raznolikog staništa. Samo ljudsko crijevo u manje od 10 metara cijevi sadržava 12 430 puta više mikroorganizama nego što je trenutno ljudi na Zemlji. Ovaj kompleksni sustav u sustavu je kod velikog broja stanovnika svijeta, pretežito toplih i vlažnih područja s neadekvatnim sanitarnim standardima, ugrožen prisustvom parazitskih nematoda. Njihov je cilj jednostavan - i prokariotsku, i eukariotsku komponentu čovjeka okrenuti u svoju korist.

Trichuris trichiura poznat je primjerak ovakvog životnog stila, koji parazitira na stotinama milijuna humanih domaćina, velikim dijelom dječje dobi, i izaziva stanje poznato kao trihurijaza. Kao i kod srodnika koji parazitiraju na životinjama, *T. muris* kod miševa i *T. suis* kod svinja, utječe na imunološki odgovor, čini značajnu štetu crijevnom epitelu, te modificira sastav i brojnost crijevne mikrobiote. Osim što je sama njegova prisutnost u probavnom traktu direktan činitelj disbalansa u zajednicama crijevnih mikroorganizama, ovaj parazitski rod odlikuje se sposobnošću stvaranja imunomodulatornih ekskretornih i sekretornih produkata iz svojih specifičnih žljezdanih tvorevina koje indirektno suzbijaju normalne ekosustave crijeva na dijelovima koje naseljava.

Iako uvelike zanemarena niša proučavanja, saznanja s ovog područja parazitologije i mikrobiologije mogla bi dati mnoge odgovore na pitanja vezana za modifikaciju imunološkog odgovora uslijed infekcije različitim vrstama patogena, kao i otvoriti vrata daljnjem istraživanju izlučenih molekula kojima se *Trichuris* sp. i slični organizmi služe za ublažavanje upalnih procesa tijekom svog života kao strano tijelo unutar domaćina. Proučavanje tipova bakterija koje reagiraju na prisustvo *Trichuris* sp. i ostalih crijevnih parazita može generirati više saznanja o samim njihovim ulogama unutar ljudskog i animalnog organizma te dati bolji uvid u potencijalne posljedice njihovih disbioza.

Saznanja o mikrobiomu svakim se danom šire. Unatoč tome, čini se da svakim narednim korakom ukazuju na količinu informacija koja je još uvijek nepoznata, a možda ključna u razumijevanju kompleksnosti organizma čovjeka. Svakako, postoji šansa da je jedan od vrijednih načina za pristupiti toj tematici upravo ovaj, "parazitski", uvođenjem dodatnog eukariota u prokariotsko-eukariotski miks.

4. Literatura

1. Savage, D. C. (1977). Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. Annual Review of Microbiology, 31(1), 107–133. doi:10.1146/annurev.mi.31.100177.000543
2. NIH HMP Working Group, Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., Di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. Genome research, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
3. Lederberg, J., & McCray, A. T. (2001). Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. The scientist, 15(7), 8-8.
4. Bull, M. J., & Plummer, N. T. (2014). Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. Integrative medicine (Encinitas, Calif.), 13(6), 17–22.
5. Davenport, E. R., Sanders, J. G., Song, S. J., Amato, K. R., Clark, A. G., & Knight, R. (2017). The human microbiome in evolution. BMC biology, 15(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0454-7>
6. Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Nageshwar Reddy, D. (2015). Role of the normal gut microbiota. World journal of gastroenterology, 21(29), 8787–8803. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>
7. Susan L. Prescott, History of medicine: Origin of the term microbiome and why it matters, Human Microbiome Journal, Volume 4, 2017, Pages 24-25, ISSN 2452-2317, <https://doi.org/10.1016/j.humic.2017.05.004>.
8. Whipps, J. M., Lewis, K., & Cooke, R. C. (1988). Mycoparasitism and plant disease control. *Fungi in biological control systems, 1988*, 161-187.
9. Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D. et al. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. Microbiome 8, 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
10. Hou, K., Wu, ZX., Chen, XY. et al. (2022). Microbiota in health and diseases. Sig Transduct Target Ther 7, 135. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
11. Cortés, A., Peachey, L., Scotti, R., Jenkins, T. P., & Cantacessi, C. (2019). Helminth-microbiota cross-talk – a journey through the vertebrate digestive system. Molecular and Biochemical Parasitology, 111222. doi:10.1016/j.molbiopara.2019.111222

12. Lawson, M. A. E., Roberts, I. S., & Grensis, R. K. (2021). The interplay between *Trichuris* and the microbiota. *Parasitology*, 148(14), 1–8. Advance online publication. <https://doi.org/10.1017/S0031182021000834>
13. Roberts, L. S., Janovy, J., Nadler, S. (2013). Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' *Foundations of Parasitology*, 9th Edition
14. Duque-Correa, M. A., Goulding, D., Rodgers, F. H., Gillis, J. A., Cormie, C., Rawlinson, K. A., Bancroft, A. J., Bennett, H. M., Lotkowska, M. E., Reid, A. J., Speak, A. O., Scott, P., Redshaw, N., Tolley, C., McCarthy, C., Brandt, C., Sharpe, C., Ridley, C., Moya, J. G., Carneiro, C. M., ... Berriman, M. (2022). Defining the early stages of intestinal colonisation by whipworms. *Nature communications*, 13(1), 1725. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29334-0>
15. Viswanath, A., Yarrarapu S. N. S., Williams M. (2023). *Trichuris trichiura* Infection. [Updated 2023 Aug 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507843/>
16. Schachter, J., Alvarinho de Oliveira, D., da Silva, C. M., de Barros Alencar, A. C. M., Duarte, M., da Silva, M. M. P., Ignácio, A. C. P. R., & Lopes-Torres, E. J. (2020). Whipworm Infection Promotes Bacterial Invasion, Intestinal Microbiota Imbalance, and Cellular Immunomodulation. *Infection and immunity*, 88(3), e00642-19. <https://doi.org/10.1128/IAI.00642-19>
17. Wescott, R. B. (1968). Experimental *Nematospiroides dubius* infection in germfree and conventional mice. *Experimental Parasitology*, 22(2), 245–249. doi:10.1016/0014-4894(68)90099-4
18. Mair, I., Else, K. J., & Forman, R. (2021). *Trichuris muris* as a tool for holistic discovery research: from translational research to environmental bio-tagging. *Parasitology*, 148(14), 1–13. Advance online publication. <https://doi.org/10.1017/S003118202100069X>
19. Hayes, K. S., Bancroft, A. J., Goldrick, M., Portsmouth, C., Roberts, I. S., & Grensis, R. K. (2010). Exploitation of the intestinal microflora by the parasitic nematode *Trichuris muris*. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5984), 1391–1394. <https://doi.org/10.1126/science.1187703>
20. Rosa, B. A., Snowden, C., Martin, J., Fischer, K., Kupritz, J., Beshah, E., et al. (2021). Whipworm-Associated Intestinal Microbiome Members Consistent Across Both

- Human and Mouse Hosts. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 11. doi: 10.3389/fcimb.2021.637570
21. Barelli, C., Donati, C., Albanese, D., Pafčo, B., Modrý, D., Rovero, F., & Hauffe, H. C. (2021). Interactions between parasitic helminths and gut microbiota in wild tropical primates from intact and fragmented habitats. *Scientific reports*, 11(1), 21569. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01145-1>
 22. Lee, S. C., Tang, M. S., Lim, Y. A., Choy, S. H., Kurtz, Z. D., Cox, L. M., et al. (2014). Helminth Colonization Is Associated With Increased Diversity of the Gut Microbiota. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e2880–e2880. doi: 10.1371/journal.pntd.0002880
 23. Kupritz, J., Angelova, A., Nutman, T. B., Gazzinelli-Guimaraes, P. H. (2021). Helminth-Induced Human Gastrointestinal Dysbiosis: A Systematic Review and Meta-Analysis Reveals Insights Into Altered Taxon Diversity and Microbial Gradient Collapse. *MBio* 12. doi: 10.1128/MBIO.02890-21
 24. Castañeda, S., Paniz-Mondolfi, A., Ramírez, J. D. (2022). Detangling the Crosstalk Between *Ascaris*, *Trichuris* and Gut Microbiota: What's Next?. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 25 May 2022 Sec. Parasite and Host. 12. doi: 10.3389/fcimb.2022.852900

Mrežni izvori:

1. (Web 1) <https://www.cdc.gov/parasites/sth/index.html>
2. (Web 2) <https://www.cdc.gov/dpdx/trichuriasis/index.html>
3. (Web 3) <http://www.biology.ualberta.ca/parasites/ParPub/diagram/comp/aphas04c.htm>