

De udspekulerede snylttere

Omdrejningspunktet for mit PhD-projekt var noget så grupvækkende som parasitiske rundorme og hvordan disse snylttere manipulerer med deres vært, for at sikre deres egen overlevelse.

Parasitisme bliver ofte omtalt som den mest succesfulde livsform og organismer der ikke er parasitter, er som regel værter for parasitter. Én af de allervigtigste grunde til parasitternes succes, er de har en udtalt evne til at modulere deres værts immunrespons, således at de kan overleve i lange perioder uden at blive udskilt. Generelt ved vi dog meget lidt om de specifikke mekanismer og molekyler involveret i dette.

Min forskning viser, at parasitiske rundorme udskiller bittesmå transportpartikler, kaldet exosomer, som kan smelte sammen med celler fra værtsorganismen og overføre nogle meget fascinerende molekyler, kaldet mikroRNA. Disse molekyler har den underfundige egenskab at de kan nedtone, og i nogle tilfælde helt blokere, specifikke biologiske processer i kroppen. Hvilke biologiske processer mikroRNA-molekylerne regulerer, afhænger af deres molekylære struktur. I min PhD har jeg undersøgt tre arter af parasitiske rundorme og vist at de alle tre udskiller mikroRNA-molekyler som, ud fra deres struktur, potentielt set er i stand til at blokere eller nedtone dele af den immunrespons, som værtsorganismen har igangsat for at bekæmpe dem. Med andre ord, ser det ud til at parasitterne, på ægte sci-fi-vis, kan bruge mikroRNA-molekyler, overført til værtsorganismens celler via exosomer, til at manipulere med deres vært og undvige dennes forsøg på at smide dem på porten.

En større afdækning af parasitters generelle biologi og hvordan de interagerer med deres vært er ikke kun spændende ud fra et videnskabeligt synspunkt. Denne type viden er helt afgørende for at kunne udvikle nye metoder til mere effektiv diagnostik og behandling af parasitinfektioner, hvilket der er stærkt brug for, da tilgængelige metoder er utilstrækkelige. Dette vil ikke kun forbedre sundhed og trivsel for mennesker og dyr verden over, men højst sandsynligt også have positive økonomiske konsekvenser for husdyrproducenter.

Min forskning har fokuseret på tre arter af parasitiske rundorme, som er hyppigt forekomne hos danske grise, nemlig svinets spolorm, knudeorm og piskeorm. I mange tilfælde er disse infektioner årsag til sygdom og mistrivsel, og en reduceret vægtøgning medfører nedsat produktivitet og dermed økonomiske tab for producenten. På grund af et meget nært slægtsskab og ligheder i deres værter fysiologi, kan disse parasitinfektioner i grise, bruges som model for lignende parasitinfektioner i mennesker. I Danmark er rundormsinfektioner i mennesker

meget sjældne, men i tropiske og sub-tropiske egne af verden, er antallet af personer inficeret med disse snyltere, estimeret til at være mere end 1,5 milliarder. Disse infektioner er ofte kroniske og associeret med mistrivsel, forringet næringsstofoptag og, for inficerede børn, en reduceret vækst.

Både for grise og mennesker, smitter rundormsinfektioner ved fækal-oral transmission, dvs. ved at bittesmå parasitæg, som udskilles med værtens fæces, ved et uheld, bliver spist af den nye vært i forbindelse med indtag af vand eller føde. Diagnostik af disse infektioner er baseret på detektion af parasitæg i fæcesprøver. Men paradoksalt nok betyder dette så, at det ikke er muligt at opdage infektionen, før parasitterne er veletablerede i deres vært og i fuld gang med ægproduktionen. De inficerede værter kan således have nået at smitte hele stalden, eller landsbyen, før infektionen opdages. Der er derfor et stort behov for at udvikle alternative metoder til diagnostik, som kan identificere infektionen på et tidligere stadie, inden ægudskillelsen er gået igang.

Der findes en række medikamenter der effektivt behandler rundormsinfektioner, men ligesom vi har fået store udfordringer med at komme bakterier til livs, som har udviklet resistens overfor antibiotika, ses der en stigende grad af resistens overfor traditionelle ormemedler. Der er således en stor risiko for at rundormsinfektioner kan blive meget svære at komme af med i fremtiden og det er derfor af stor vigtighed at udvikle alternative metoder til behandling.

Formålet med dette PhD-projektet var derfor at få en bedre forståelse af interaktionen mellem parasitiske rundorme og deres vært, med et særligt fokus på mikroRNA og exosomer, og prøve at identificere molekyler, som på sigt vil kunne bruges som diagnostiske markører eller som targets i et nyt form for ormemediel.

Da jeg startede projektet op, var idéen om at parasitter udskiller exosomer, som kan aflevere mikroRNA-molekyler til værtsorganismens celler og på den måde manipulere med værtens proteinsyntese, intet andet end en sød fantasi. Om det rent faktisk hang sådan sammen, kunne vi kun gisne om. Der var lavet meget lidt forskning på området på det tidspunkt og det var primært indenfor kræftområdet. Denne forskning viste dog helt tydeligt at kræftceller producerer exosomer, som fremmer metastasernes vækst og spredning, og at mikroRNA-molekyler spiller en rolle i denne sammenhæng. Det var disse fund som gav os til idéen til at undersøge om exosomer og mikroRNA også er på spil i forbindelse med parasitinfektioner.

Første trin var selvfølgelig at undersøge hvorvidt mine tre parasitarter overhovedet udskiller exosomer. For at finde ud af dette, var jeg nødt til at få fat i nogle parasitter og jeg sprang derfor i mine vaders og drog på skattejagt i bunkevis af grisetarme. Piskeorm og knudeorm er hhv. 3-8 cm og 8-13 mm lange

og kunne derfor godt være lidt svære at finde. Spolorm derimod kan blive op til 40 cm lange og er voldsomt livlige, så de var meget nemme at spotte. Da jeg havde fået halet tilstrækkeligt med orm med mig hjem i laboratoriet, narrede jeg, de ellers meget udspekulerede snyltere, til at tro, at de stadig var inde i en varm tarm, ved at holde dem i en 37 °C varm inkubator. Her kunne de svømme rundt og boltre sig i en næringsrig "suppe", som indeholdt alt hvad de havde brug for. Håbet var så, at såfremt de udskiller exosomer, ville de have udskilt dem i "suppen", i løbet af de tre dage de var der. For at finde ud af om dette var tilfældet, fjernede jeg ormene efter de tre dage og gav "suppen" en voldsom tur i centrifugen. Jeg indstillede maskinen til intet mindre end 30.000 omdrejninger i minuttet, som burde være nok til at nedfælde selv de mindste strukturer. Det var et stort øjeblik, da jeg efterfølgende kunne se bittesmå exosomer på omkring 100 nm i mikroskopet, for det betød, at der var god grund til at fortsætte vores arbejde.

Så nu havde vi vist at disse tre parasitarter udskiller exosomer. Næste skridt var at undersøge, om disse strukturer indeholder mikroRNA-molekyler og jeg gik derfor i gang med opløse exosomerne og undersøge deres indhold ved en sekventeringsanalyse. Endnu engang havde vi heldet med os, for analysen viste, at exosomerne var spækket med mikroRNA. Så langt, så godt. Nu ville jeg gerne vide hvilke biologiske processer disse mikroRNA-molekyler kunne være involveret i reguleringen af. Måden mikroRNA er i stand til at regulere biologiske processer, er ved at gå ind og blokere tilblivelsen af specifikke proteiner og hvilke proteiners dannelse der blokeres, afhænger af mikroRNA-molekylernes struktur. Det viste sig at flere af de identificerede molekyler har en struktur, der potentielt set gør, at de vil kunne blokere dannelsen af proteiner, der er involveret i den immunologiske respons, som grisen sætter i gang, når den udsættes for en parasitinfektion.

Så nu vidste vi at disse tre parasitarter udskiller exosomer og at disse indeholder nogle meget interessante mikroRNA-molekyler. Men for at de vil kunne spille en rolle i parasit-værtsinteraktion, skal de kunne smelte sammen med værtsceller og på denne vis overføre mikroRNA-molekylerne. For at undersøge om de er i stand til dette, gik jeg i laboratoriet igen, farvede exosomerne røde, smed dem ned til en bunke levende tarmceller og fulgte med i hvad der skete gennem mikroskopet. Efter 15 minutters længselsfuld venten skete der endelig noget. Den røde farve fra exosomerne begyndte ligeså stille at vise sig inde i tarmcellerne og efter 50 min var den røde farve så kraftig, at der ikke var nogen tvivl; parasiternes exosomer var virkelig blevet optaget i tarmcellerne. For at være sikre på, at det nu også ville betyde at mikroRNA-molekylerne ville blive overført til værtscellerne, farvede jeg exosomerne med en grøn farve, som specifikt farver RNA. Da vi fulgte optaget af

exosomerne denne gang, så vi til vores store glæde, at også den grønne farve blev inkorporeret i tarmcellerne, hvilket var bevis for at der var blevet overført RNA.

Så nu ved vi altså at svinets spolorm, knudeorm og piskeorm udskiller exosomer, som indeholder nogle meget interessante mikroRNA-molekyler, og som kan smelte sammen med tarmceller og overføre RNA. Og det var så langt jeg nåede i min PhD.

Næste skridt er at undersøge hvad der rent faktisk sker i værtsorganismens celler, når parasiternes exosomer og mikroRNA bliver optaget. En meget fascinerende tanke, er at parasitter bruger denne strategi, til at manipulere med deres værts immunrespons og at dette er én af grundene til, at de kan overleve så længe uden at blive smidt ud, og endda i nogle tilfælde er i stand til at etablere en kronisk infektion. Vi er lige nu i fuld gang med at afdække dette i laboratoriet og vores tidlige resultater indikerer at parasiternes exosomer rent faktisk er i stand til at påvirke immunresponsen til deres egen fordel, men der er stadig en del arbejde at gøre, før dette endeligt kan bekræftes. Men teorien er uomtvisteligt enormt fascinerende – i hvert fald set med en parasitologs briller.

Herudover ligger vi mange kræfter i at undersøge parasiternes mikroRNA nærmere. For det første, prøver vi at vurdere deres potentiale som diagnostiske markører, der kan bruges til at detektere infektionerne før parasitter producerer æg og spredes til næste vært. For det andet, undersøger vi om vi kan identificere nogle mikroRNA-molekyler, der er så essentielle for parasiternes overlevelse, at hvis man fremstiller en pille, der kan gå ind og blokere disse molekylers funktion, vil medføre at parasitterne dør.

Håbet er, at vi med mere effektive metoder til behandling og diagnostik af parasitinfektioner, kan mindske antallet af inficerede grise i Danmark, hvilket ikke kun er vigtigt ud fra et ønske om at forbedre dyrenes velfærd. En lavere forekomst af parasitter vil også have økonomiske fordele for svineproducenterne, i og med at problemerne med reduceret vægtøgning hos grisene, som følge af infektionerne, højst sandsynligt vil blive mindsket. Som nævnt, kan infektioner med svinets spolorm, piskeorm og knudeorm, bruges som model for infektioner med tilsvarende infektioner i mennesker, som er hyppigt forekomne i Afrika, Sydamerika og Asien. Også her, forventes forbedrede metoder til behandling og diagnostik at have vidtrækkende, positive sundhedsmæssige – og samfundsøkonomiske konsekvenser.

Resultaterne af dette PhD-projekt, og det arbejde der forsætter som følge deraf, har således bidraget med ny, fundamental viden om det komplekse samspil der eksisterer mellem parasitter og deres vært. Håbet er, at denne viden vil bane vej til forbedret kontrol med parasitinfektioner, til gavn for både mennesker og dyr.