



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Comprehensive metabolomics of the experimental opisthorchiasis

Kokova, D.

Citation

Kokova, D. (2021, September 15). *Comprehensive metabolomics of the experimental opisthorchiasis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3210397>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3210397>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <https://hdl.handle.net/1887/3210397> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Kokova, D.

Title: Comprehensive metabolomics of the experimental opisthorchiasis

Issue Date: 2021-09-15



Appendices

Nederlandse samenvatting

Opisthorchiasis: een kort overzicht

Ongeveer 46 miljoen mensen zijn geïnfecteerd met de zuigwormen van de familie *Opisthorchiidae* (*Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis felinus*, *Clonorchis sinensis*); 600 miljoen mensen lopen het risico op infectie [1]. *O. felinus* veroorzaakt de meeste besmettingen in Europa, vooral in West-Siberië (Russische Federatie). In het laatste decennium van de 20e eeuw (1990-2000) was in deze Siberische regio tot 80% van de bevolking besmet met *O. felinus* [2]. Ondanks de beschikbaarheid van betaalbare behandelingen en relatief eenvoudige diagnostiek zorgt de infectie vandaag de dag nog steeds voor druk op de Russische gezondheidszorg. Ook worden er gevallen van besmetting met *O. felinus* gemeld in het Verre Oosten, Zuidoost-Azië en Oost-Europa alsook in Noord-Amerika, wat grotendeels kan worden toegeschreven aan de wereldwijde mobiliteit en migratie.

De klinische presentatie van opisthorchiasis is niet erg specifiek, noch voor acute, noch voor chronische vormen van de ziekte. Een chronische infectie met *O. felinus* leidt echter tot talrijke lokale en systemische complicaties van het hepatobiliaire systeem van de gastheer [3]. Epidemiologische en dierstudies tonen aan dat infecties met *O. viverrini* en *C. sinensis* kunnen leiden tot cholangiocarcinoma (galwegkanker), hetgeen heeft geresulteerd in de classificatie, door het International Agency for Research on Cancer, van deze parasieten bij de groep I carcinogenen [3]. Het verband tussen opisthorchiasis en cholangiocarcinoom heeft geleid tot een toename van het aantal publicaties, voornamelijk over parasitologie en epidemiologie en de laatste jaren over diagnose en behandeling. Daarnaast zijn moleculair-gebaseerde benaderingen zoals genomica, transcriptomica en proteomica toegepast om de gastheer-pathogeen-interactie op moleculair niveau te ontrafelen. Het metabooloom is echter in het geheel niet onderzocht. Om deze leemte op te vullen concentreerden wij ons op de mechanismen van de ontwikkeling van *O. felinus*-geassocieerde pathologieën aan de hand van metabolomica.

Het bepalen van een onderzoeksstrategie

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van metabolomica-onderzoeken naar infecties met trematoden. Er zijn geen relevante publicaties over *Opisthorchis* sp. gevonden, maar het overzicht belicht de onderzoeken naar andere trematoden zoals *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*), *Schistosoma japonicum* (*S. japonicum*), *Fasciola hepatica* (*F. hepatica*) en *Echinostoma caproni* (*E. caproni*). Dit literatuuronderzoek heeft geleid tot twee conclusies die relevant zijn voor dit onderzoek: a) de belangrijkste kenmerken van de metabolische respons van de gastheer op trematode-infecties kunnen worden beschreven als een ontregeling van het aminozuur- en lipidenmetabolisme, alsook veranderingen in de microbiota-gerelateerde metabolieten; en b) een overwegend case-control opzet en analyse van één enkel type biofluidum geeft slechts een beperkt overzicht van de mogelijke metabolische aanpassing van de gastheer aan de infectie. Op basis van de informatie uit deze literatuurstudie hebben wij de hiaten opgevuld en hebben we de volgende aspecten in onze studie opgenomen: i) longitudinale gegevensbemonstering; ii) bemonstering van twee verschillende lichaamsvloeistoffen (urine en plasma); iii) twee verschillende *O. felineus*-infecties (mild en ernstig) vergeleken met een controlegroep (PBS-vehikel); en iv) zowel mannelijke als vrouwelijke proefdieren.

Time-resolved onderzoek van opisthorchiasis

De gegevens in **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 4** tonen aan dat de sterkste metabolische respons op *O. felineus*-infectie in zowel urine- als plasmabiovoelstoffen wordt waargenomen tussen de 2e en 10e week na infectie, wat gerelateerd is aan de acute fase van opisthorchiasis. Tijdens deze periode bereiken de wormen de galbuis, waar ze uitgroeien tot volwassen wormen en eieren gaan produceren. De maximale metabolische respons op *O. felineus*-infectie werd waargenomen in de 4e week na infectie, het moment waarop de eerste eieren kunnen worden gedetecteerd in faecesmonsters van de gastheer. De metabolische reactie van de gastheer op acute opisthorchiasis heeft een paar algemene kenmerken: veranderingen in het metabolisme van aminozuren, een verhoogde hoeveelheid urinegalzuren en een verschuiving in het vet- en energiemetabolisme van de gastheer. Maar de reactie is niet specifiek voor *O. felineus*-infectie en kan door gewone metabolische stress worden veroorzaakt.

Weefsel-specifiek onderzoek van opisthorchiasis

Hoofdstuk 6 presenteert een integratieve metabolomische benadering die zich richt op de vraag hoe verschillende organen en functionele systemen van de gastheer door de infectie worden beïnvloed, en hoe de gastheer zich aan een chronische infectie aanpast. Zes delen van het lichaam (lever, milt, nier en drie delen van de darmen), bloedserum, urine en ontlasting zijn in deze studie opgenomen. Omdat er voor faecesmonsters geen gestandaardiseerd protocol is om metabolomica-analyses uit te voeren, is **hoofdstuk 5** gewijd aan de ontwikkeling van een NMR-gebaseerde metabolomica-workflow voor faeces.

Het onderzoek dat in hoofdstuk 6 wordt beschreven, toont aan dat met 26 metabolieten van lever, milt en jejunum en zes serumvetzuren een metabole handtekening voor chronische opisthorchiasis kon worden opgesteld. De verhoogde serumvetzuren behoren tot het linolzuurmetabolisme; onevenketenvetzuren hebben een sterke invloed op de gegevens. De metabolische veranderingen binnen de individuele organen kunnen worden verklaard als een immuunregulatiereactie. Onze analyse toont aan dat de milt metabolisch sterk beïnvloed wordt, wat een indicatie kan zijn van zijn sleutelrol in de metabolische respons op lange termijn op *O. felineus*-infectie.

Conclusies

Dit is de eerste keer dat de metabolische respons van de gastheer op *O. felineus*-infectie uitgebreid is bestudeerd. Door een longitudinale onderzoeksofzet konden we aantonen dat de metabole respons op opisthorchiasis twee duidelijke stadia kent: acuut en chronisch. Het acute stadium wordt gekenmerkt door veranderingen in het metabolisme van lipiden, energie en essentiële aminozuren bij de gastheer. Dit komt overeen met gewone metabolische stress en wordt veroorzaakt door het binnendringen van de parasiet en het begin van eiproduktie. In het chronische stadium lijkt er een aanpassing plaats te vinden wanneer de metabolische veranderingen in de biofluiden (bloed en urine) afvlakken. Bijgevolg worden acute en chronische opisthorchiasis gekenmerkt door verschillende metabolische omstandigheden. In het begin veroorzaakt de infectie met *O. felineus* metabolische stress, waarna een overgang plaatsvindt naar een metabole homeostase die wordt aangedreven door systemische veranderingen in het vetmetabolisme en het orgaanspecifieke aminozuurmetabolisme. Het multi-compartimentele metabolomica-onderzoek toont aan dat chronische

opisthorchiasis de metabolische activiteit van het jejunum, de lever en de milt onderdrukt, wat het risico van het ontwikkelen van geassocieerde pathologieën kan verhogen.

Referenties

1. Fürst T, Keiser J, Utzinger J. Global burden of human food-borne trematodiasis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2012;12: 210–221. doi:10.1016/S1473-3099(11)70294-8
2. Fedorova OS, Kovshirina Y V., Kovshirina AE, Fedotova MM, Deev IA, Petrovskiy FI, et al. Opisthorchis felinus infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics. *Parasitol Int.* 2017;66: 365–371. doi:10.1016/j.parint.2016.07.010
3. Mairiang E, Mairiang P. Clinical manifestation of opisthorchiasis and treatment. *Acta Tropica.* Elsevier; 2003. pp. 221–227. doi:10.1016/j.actatropica.2003.03.001
4. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *The lancet oncology.* *Lancet Oncol*; 2009. pp. 321–322. doi:10.1016/S1470-2045(09)70096-8