

*Anisakis simplex* jest nicieniem pasożytniczym organizmów morskich występującym na całym świecie. W Morzu Bałtyckim wykazano masowe zapasożycenia śledzi i dorszy inwazyjnymi larwami nicienia. Ich obecność wykazano u 80% odławianych ryb. Głównym źródłem zarażenia tym nicieniem są ryby źle przygotowane do spożycia lub zjadane na surowo. Ponadto postępująca globalizacja przynosi do Polski nowe trendy kulinarne np. japońskie sushi i sashimi, hawajskie lomi-lomi (surowy łosoś), południowoamerykańskie cebiche, hiszpańskie boquerones vinagre, nordyckie gravlax (suszone, wędzone łososie), holenderskie solone i wędzone śledzie oraz inne marynowane czy wędzone na zimno ryby. Znaczący wzrost popularności spożywania potraw z surowych ryb oraz coraz szerszy zasięg występowania tego pasożyta przekłada się na zwiększenie liczby przypadków zachorowań na anisakiozę. Anisakioza jest stosunkowo nową, szybko rozprzestrzeniającą się zoonozą, która stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Jest również problemem ekonomicznym dla rybołówstwa z uwagi na negatywny wpływ na zaufanie konsumentów i związane z tym ograniczenie rynku zbytu potencjalnie zarażonych gatunków ryb.

Zagrożenie dla zdrowia Europejczyków może stanowić spożycie ryb zawierających larwy *A. simplex* w stadium L3 (stadium inwazyjne), ze względu na ich zdolność do penetracji błony śluzowej przewodu pokarmowego, jak i wywoływania u ludzi ciężkich reakcji alergicznych. Trudność w zwalczaniu larw w tym stadium polega na tym, iż są one odporne na mrożenie, gotowanie, marynowanie i solenie. Duża wytrzymałość/odporność larw wzbudza zainteresowanie naukowców starających się opracować metody diagnostyki i leczenia choroby wywołanej przez te pasożyty, jak również wskazać sposoby ich unieszkodliwiania.

U *A. simplex* światło jelita w stadium L3 jest niedrożne. Dopiero u larwy L4 (po trzecim linieniu) jelito udrażnia się i zaczyna funkcjonować. Przypuszcza się, że przejmuje ono część zadań związanych z odżywianiem rozwijającego się organizmu od kutikuli – zewnętrznej okrywy ciała nicienia. Porównanie metabolizmu obu larw występujących u człowieka (L3 i L4) i określenie różnic między nimi ze szczególnym uwzględnieniem tkanek odpowiadających za odżywienie (jelito) i ochronę przed środowiskiem zewnętrznym (kutikula) może przyczynić się do wyjaśnienia mechanizmów biologicznych umożliwiających larwom przeżycie. Metabolizm energetyczny nicienia pasożytniczego opiera się na sacharydach ze względu na przewagę stadiów rozwijających się w warunkach beztlenowych. Wchłanianie glukozy ze światła jelita *A. simplex* nie zostało dotychczas opisane, a o transporcie glukozy przez kutikulę u L3 również niewiele wiadomo. Wyniki badań wstępnych naszego zespołu wykazały obecność mRNA dwóch transporterów glukozy (FGT) u larw L3 *A. simplex* pochodzących z Morza Bałtyckiego. Obecność białka tych samych transporterów została potwierdzona u larw L3 i L4 pochodzących z populacji atlantyckiej. Dodatkowo odnotowano różnice między stadiami L3 i L4.

Wyniki naszych badań wstępnych oraz dane literaturowe skłoniły nas do postawienia następujących hipotez badawczych: 1) występują różnice w globalnym (na poziomie całego organizmu) i tkankowym (na poziomie jelita i kutikuli) profilu transkryptomu (zestaw cząsteczek mRNA) i proteomu (zestaw białek) *A. simplex* między stadiami rozwojowymi L3 i L4 populacji bałtyckiej i atlantyckiej; 2) w komórkach jelita oraz w kutikuli larw L3 i L4 *A. simplex* występują transportery odpowiadające za dostarczanie sacharydów do komórek organizmu. Aby zweryfikować postawione hipotezy zaplanowano realizację następujących celów badawczych: 1) określenie różnic i podobieństw w profilu transkryptomu i proteomu pomiędzy stadiami L3 i L4 *A. simplex* populacji bałtyckiej i atlantyckiej na poziomie całego organizmu i wybranych tkanek; 2) stworzenie repozytorium danych (zbioru danych) w postaci puli transkryptów i białek całego organizmu oraz tkanek *A. simplex*, jako organizmu modelowego w badaniach nad przystosowaniem fizjologicznym i biochemicznym pasożyta do żywiciela oraz immunopatologią chorób pasożytniczych; 3) wytypowanie białek kluczowych dla wzrostu i rozwoju nicienia pasożytniczego; 4) określenie rodzaju i mechanizmu transportu sacharydów ze środowiska zewnętrznego do ciała larw *A. simplex* populacji bałtyckiej.

Materiał badawczy stanowić będą larwy L3 *A. simplex* izolowane ze śledzi i dorszy bałtyckich, natomiast osobniki populacji atlantyckiej będą pochodziły z dorsza atlantyckiego. Larwy w stadium L3 będą hodowane w warunkach *in vitro* do uzyskania stadium L4. W kolejnych etapach badań zostaną zastosowane nowoczesne metody biologii molekularnej (sekwencjonowanie single-cell RNA-seq i analiza LCMS/MS) w celu określenia zestawu genów oraz białek na poziomie całego organizmu oraz na poziomie tkankowym (w komórkach jelita i kutikuli) *A. simplex* populacji bałtyckiej i atlantyckiej. Natomiast w celu określenia sposobu transportu glukozy do ciała pasożyta zastosowane zostaną metody fluorescencyjne.

Realizacja projektu pozwoli poznać i zrozumieć mechanizmy współżycia *A. simplex* z żywicielem ostatecznym (ssakami morskimi) oraz z żywicielem przypadkowym jakim jest człowiek. Wykazanie różnic w profilu transkryptomu oraz proteomu, a także zidentyfikowanie kluczowych białek niezbędnych do przeżycia inwazyjnej larwy L3 i larwy L4 może być w przyszłości przydatnym narzędziem w walce z anisakiozą oraz narzędziem do projektowania kolejnych badań nad parazytozami ludzi i zwierząt w oparciu o organizm *A. simplex*.