

*Anisakis simplex* to jeden z najbardziej rozpowszechnionych nicieni pasożytniczych (Nematoda) organizmów morskich. Charakteryzuje się złożonym cyklem rozwojowym, w którym człowiek może być przypadkowym żywicielem. Nicienie mogą powodować wyniszczające choroby lub inicjować stany nadwrażliwości immunologicznej. Spożywanie surowych lub niedogotowanych ryb zawierających larwy może stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia, gdyż pasożyty są w stanie przenikać przez błony śluzowe przewodu pokarmowego, powodując w efekcie uszkodzenia ścian żołądka i jelit oraz inicjując reakcje alergiczne. Zmiany patologiczne wywołane przez nicienie z rodzaju *Anisakis* są znane jako anisakiaza (*ang. anisakiasis*). Do 2010 roku odnotowano 20 000 przypadków tej choroby, a częstość jej występowania nadal wzrasta. Zgodnie z modelem ilościowej oceny ryzyka, częstość występowania anisakiazy w Europie wzrosła z 500 do ~8000 przypadków rocznie. W związku z tym *A. simplex* uznano za organizm niebezpieczny biologicznie. Pasożytnicze nicienie mogą powodować silny ból brzucha, nudności i wymioty. Obecność larw *Anisakis* w ścianie jelita indukuje odpowiedź immunologiczną typu Th2 charakteryzującą się u żywiciela zwiększoną produkcją eozynofili, wzrostem wydzielania cytokin, objawami podobnymi do choroby Crohna. Co ciekawe, ekspozycja na larwy *Anisakis* została także zakwalifikowana jako potencjalny czynnik ryzyka gruczolakoraka żołądka lub okrężnicy. Larwy *Anisakis* i ich wydzieliny wpływają na odpowiedź immunologiczną żywiciela. Przełomowym wydarzeniem było odkrycie, że egzosomy będące pęcherzykami zewnątrzkomórkowymi, są w stanie wnikać do komórek żywiciela. Stwierdzono, że egzosomy działają jako cząsteczki sygnałowe w interakcjach pasożyt-żywiciel, co prowadzi do zmian patologicznych u żywiciela. Wykazano również, że egzosomy zawierają miRNA czyli niekodujące RNA biorące udział w post-transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów. Ostatnie badania sugerują, że miRNA związane z egzosomami odgrywa zasadniczą rolę w interakcjach pasożyt-żywiciel. Oprócz miRNA, egzosomy zawierają białka, które również mogą odgrywać rolę w wielu aspektach komunikacji pasożyt-żywiciel. Mimo dotychczasowej identyfikacji potencjalnych celów w diagnostyce i farmakoterapii zarażeń nicieniami, wciąż istnieje konieczność poszerzenia badań w tym zakresie, a dowody na to, że egzosomy mogą działać jako cząsteczki sygnałowe w interakcjach pasożyt-żywiciel, mogą otworzyć drogę do poznania nowych strategii kontroli tych chorób. Dokładniejszy opis funkcji egzosomów u nicieni może zarówno zmienić nasze rozumienie adaptacji pasożyta do żywiciela, jak i rozwinąć możliwe metody leczenia chorób o podłożu immunologicznym. Nasze wstępne badania wykazały, że larwy L3 *A. simplex* uwalniają egzosomy zawierające RNA i białka. Wykazaliśmy także, że istnieją różnice w wydzielaniu cytokin przez komórki jelita żywiciela w odpowiedzi na egzosomy *A. simplex*. Wstępne wyniki badań w oparciu o dane literaturowe umożliwiły sformułowanie następujących hipotez badawczych: **i) egzosomy wydzielane przez larwy L3 *A. simplex* transportują miRNA i specyficzne białka do komórek jelita żywiciela w celu modulowania ich odpowiedzi odpornościowej; ii) komórki żywiciela odpowiadają na larwy L3 *A. simplex* zmianami w ich transkryptomach i proteomach, jak również zmianami w profilu ekspresji miRNA i białek ich egzosomów.** W celu zweryfikowania powyższych hipotez określono następujący ogólny cel badawczy: *Poznanie mechanizmu komunikacji opartego na egzosomach między larwami *A. simplex* i komórkami żywiciela.* Realizacja celu opiera się na wykorzystaniu modelu badawczego w postaci larw L3 *A. simplex* oraz linii komórkowej jelita ludzkiego (Caco-2). Podejście transkryptomyczne i proteomiczne (Small RNA-seq, RNA-seq, LC-MS/MS) zostanie zastosowane do zbadania zawartości egzosomów wydzielanych przez larwy i komórki żywiciela hodowane oddzielnie i razem. W związku z tym proponowane badania mają na celu zbadanie egzosomów wydzielanych przez larwy L3 *A. simplex* i scharakteryzowanie ich miRNA i białek w celu oceny potencjalnej roli egzosomów pasożyta w odpowiedzi żywiciela na zarażenie. Mechanizmy obronne żywiciela będą również badane przez analizę profili transkryptomycznych i proteomicznych zarówno komórek gospodarza (mRNA, białek), jak i egzosomów (miRNA, białka) wydzielanych przez te komórki. Charakterystyka zawartości egzosomów i komórek żywiciela oraz ocena potencjalnej roli tych czynników w modulacji odpowiedzi immunologicznej pomoże zrozumieć mechanizmy wczesnej fazy zarażenia i późniejsze przeżycie pasożyta w ciele żywiciela. Ponadto analiza genów i ekspresji białek w komórkach jelita żywiciela, dostarczy cennych informacji dotyczących mechanizmów immunologicznych, które określają przeżycie nicieni w ciele gospodarza.

Badanie indukowanych przez pasożyta zmian w profilach transkryptomycznych i proteomicznych komórek jelita żywiciela (człowieka), jak również badanie zawartości egzosomów wytwarzanych przez larwy i komórki żywiciela hodowane osobno lub razem, stanowią nowe podejście w badaniach nicieni pasożytniczych. To złożone podejście umożliwi po raz pierwszy zbadanie jednocześnie egzosomów larw i komórek żywiciela, gdyż wydzielanie egzosomów przez pasożytnicze nicienie i reakcja ich żywicieli nie zostały jeszcze gruntownie zbadane. Nowatorstwo obecnego projektu wiąże się również z faktem, że zawartość egzosomów i komórek gospodarza zostanie poddana zarówno analizie transkryptomicznej, jak i proteomicznej. Uzyskane wyniki powinny zapewnić lepsze zrozumienie procesów molekularnych leżących u podstaw rozwoju zarażenia *A. simplex* u ludzi. Ta wiedza z kolei pozwoli znaleźć skuteczne metody leczenia choroby. Możliwe jest również, że wyniki niniejszego projektu pomogą w opracowaniu przyszłych badań prowadzących do obniżenia liczby zachorowań związanych z zarażeniami *A. simplex*.