

Anisakiaza jest jedną z pasożytniczych chorób przewodu pokarmowego pochodzenia zwierzęcego (zoonoza). Ponad 20 000 przypadków anisakidazy odnotowano na całym świecie przed 2010 r. Ostatnie badania wykazały, że całkowita liczba przypadków anisakidazy na całym świecie (prawie wszystkie anisakidazy), wywołanych przez rodzinę Anisakidae, do grudnia 2017 r. wynosiła ponad 76 000. Człowiek staje się przypadkowym gospodarzem inwazyjnych larw L3 *Anisakis simplex* po zjedzeniu zainfekowanej ryby, surowej lub niedogotowanej. Pasożyty te stanowią bardzo poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi, ponieważ mogą przenikać przez błony śluzowe przewodu pokarmowego i powodować poważne problemy żołądkowo-jelitowe, a także ostre reakcje alergiczne.

Jednym ze sposobów zwalczania chorób pasożytniczych jest stosowanie farmaceutyków. Istnieją trzy główne grupy leków przeciw pasożytniczych: makrocykliczne laktony, imidotiazole, benzimidazole. Każda grupa w inny sposób oddziałuje na pasożyta. Skuteczność leków jednak nie zawsze jest zadowalająca, a odpowiedź pasożyta na farmaceutyk może różnić się od opisanych mechanizmów ich działania. Pojawiającym się problemem jest oporność na leki, która często wiąże się ze sposobem metabolizmu cząsteczki leku. Wiele badań wskazuje na związek między ekspresją enzymów metabolicznych a aktywnością i opornością na leki. Aby zrozumieć, w jaki sposób środek farmaceutyczny wpływa na pasożyta oraz aby dowiedzieć się o metabolizmie i skuteczności leku, konieczne są badania „omiczne”. Połączenie badań transkryptomicznych i metabolomicznych pozwoli ocenić wpływ zewnętrznego stresora (leku przeciw pasożytniczego) na profil ekspresji genów, a także, spowodowane przez ten stresor, zmiany biochemiczne. Ponadto należy zwrócić uwagę na interakcję pasożyta ze środowiskiem zewnętrznym. Podczas stosowania leków przeciw pasożytniczych wyeksponować nie tylko organizm docelowy, tj. pasożyta, ale także interakcje pasożyta zarówno z układem odpornościowym, jak i mikrobiotą jelitową gospodarza, ponieważ są to ściśle powiązane części tworzące wspólny ekosystem.

W naszych wcześniejszych badaniach nad wpływem leków na larwy *A. simplex* zauważyliśmy, że odpowiedź pasożyta różni się od mechanizmów opisanych w literaturze. Wyniki naszych wstępnych badań i dane literaturowe skłoniły nas do sformułowania następujących **hipotez badawczych**:

1) Różnice w profilach transkryptomicznych (transkryptomie) po leczeniu przeciw pasożytniczym i zmiany w szlakach biotransformacji (metabolomie) między stosowanymi lekami przeciw pasożytniczymi wskazują na różne działanie poszczególnych leków na *Anisakis simplex*;

2) Metabolity wydalniczo / wydzielnicze *A. simplex* wywołują zmiany w profilach transkryptomicznych komórek ludzkiego układu odpornościowego oraz w profilach transkryptomicznych gatunków bakterii ludzkiej mikrobioty przewodu pokarmowego.

**Celem niniejszego projektu** będzie zbadanie metabolitów wydalniczo/wydzielniczych (*ang. excretory/secretory metabolites, ESMs*) *A. simplex*, powstających w wyniku biotransformacji leków przeciw pasożytniczych oraz zidentyfikowanie genów indukowanych przez te leki. Interakcje pasożytniczych metabolitów wydalniczo/wydzielniczych z komórkami ludzkiego układu odpornościowego i bakteriami ludzkiej mikrobioty przewodu pokarmowego zostaną również określone poprzez zbadanie ich profili transkryptomicznych. W badaniach założonych w projekcie zostaną wykorzystane trzy leki z różnych grup: iwermektyna, pyrantel i albendazol. Sformułowano następujące **cele badawcze** w celu weryfikacji powyższych hipotez: **1)** w celu identyfikacji metabolitów leków przeciw pasożytniczych obecnych w larwach *A. simplex* i medium hodowlanym po inkubacji larw z lekiem; **2)** w celu identyfikacji mRNA obecnych w larwach *A. simplex* hodowanych z lekami przeciw pasożytniczymi i bez nich; **3)** w celu zidentyfikowania mRNA obecnych w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (*ang. peripheral blood mononuclear cells, PBMC*) hodowanych z wydalniczo/wydzielniczymi metabolitami (ESMs) każdego leku przeciw pasożytniczego lub bez nich; **4)** w celu identyfikacji mRNA obecnych u *Bifidobacterium animalis* hodowanych z wydalniczo/wydzielniczymi metabolitami (ESMs) każdego leku przeciw pasożytniczego lub bez nich; **5)** w celu porównania transkryptomów: a) larw *A. simplex*, b) komórek PBMC, c) bakterii *B. animalis* hodowanych z każdym testowanym lekiem/metabolitami lub bez leku/metabolitów w celu identyfikacji genów o różnej ekspresji (DEGs); **6)** zaproponowanie możliwych szlaków metabolicznych iwermektyny, pyrantelu i albendazolu u *A. simplex*, wraz z genami biorącymi udział w ich biotransformacji.

Analiza transkryptomiczna i metabolomiczna larw *A. simplex* po hodowli *in vitro* w obecności leków przeciw pasożytniczych (iwermektyny, pyrantelu, albendazolu) pozwoli udzielić szczegółowych odpowiedzi na bardzo ważne pytania, np. „W jaki sposób leki wpływają na pasożyta?”, czy „W jaki sposób larwy i egzogenne metabolity wpływają na organizm żywiciela (układ odpornościowy, mikroflora jelitowa)?” Badanie to **pozwoli opisać** złożony układ biologiczny poprzez całościowe spojrzenie na **problem anisakidazy z perspektywy wpływu leku na larwy *A. simplex*, a także wpływu metabolitów leków wydalanych / wydzielanych przez pasożyta na żywiciela**. Połączenie badań transkryptomicznych i metabolomicznych jest innowacyjnym przedsięwzięciem, ponieważ wspólne stosowanie tych metod w nauce wciąż jest rzadkie. Takie podejście pozwoli na analizę szlaku metabolicznego od etapu genu do końcowego produktu metabolizmu.