

Streszczenie

Rzęski ruchowe są ewolucyjnie zakonserwowanymi organellami komórkowymi, które tworzą wypustki na powierzchni wielu komórek eukariotycznych. Patogenne warianty w genach kodujących białka strukturalne rzęsek lub białka zaangażowane w ich biogenezę, prowadzą do rozwoju chorób genetycznych zwanych ciliopatiami. Sztandarowym przykładem ciliopatii związanej z dysfunkcją rzęsek ruchowych jest pierwotna dyskineza rzęsek (*primary ciliary dyskinesia*, PCD; OMIM244400). PCD jest rzadką chorobą dziedziczną głównie autosomalnie w sposób recesywny, którą charakteryzuje duża heterogenność genetyczna i kliniczna. Objawy PCD obejmują m.in. nawracające infekcje dróg oddechowych, ucha i zatok oraz ograniczoną płodność lub bezpłodność; ponadto u około 50% pacjentów z PCD obserwuje się odwrócenie narządów ciała.

Chociaż znanych jest aktualnie ponad 50 genów zaangażowanych w patogenezę tej choroby, u około 30% pacjentów genetyczne podłoże PCD pozostaje nieznane. Poszukiwanie nowych wariantów i genów odpowiadających za wystąpienie tej choroby, w połączeniu z potwierdzeniem ich roli w funkcjonowaniu rzęsek ruchowych, stanowi wciąż aktualne wyzwanie badawcze. Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zoptymalizowanie i praktyczne zastosowanie *Schmidtea mediterranea* jako organizmu modelowego do potwierdzenia związku wybranych genów z zaburzeniami funkcji rzęsek ruchowych i patogenezą PCD. Ruch *S. mediterranea* zależy od komórek wielorzęskowych nabłonka pokrywającego brzuszną stronę ich ciała; wyciszenie genów związanych z rzęskami objawia się zaburzeniem ruchu robaków. Chociaż *S. mediterranea* jest opisywana jako model do badania rzęsek ruchowych, niewiele jest doniesień naukowych opisujących użycie tego organizmu jako modelu *in vivo* do potwierdzenia roli badanych genów w patogenezie PCD.

Niniejsza rozprawa doktorska stanowi zbiór czterech prac, w których zweryfikowano możliwość użycia płazińca (planarii), *S. mediterranea*, do badania genów zaangażowanych w patogenezę PCD. Pierwsza publikacja (praca przeglądowa) opisuje aktualny stan wiedzy na temat możliwości wykorzystania planarii do badania rzęsek ruchowych oraz ciliopatii związanych z dysfunkcją tych organelli. Pozostałe publikacje to prace oryginalne, których celem było potwierdzenie roli zidentyfikowanych patogennych wariantów w genach *CFAP221* i *CFAP300* oraz genu *POLR2K* (którego fragment ulega delecji razem z częścią znanego genu PCD, *SPAG1*), w patogenezie PCD.

W celu potwierdzenia roli badanych genów w funkcjonowaniu rzęsek ruchowych i patogenezie PCD, przeprowadzono ich wyciszenie przy użyciu metody interferencji RNA (*RNA interference*, RNAi) w modelu płazińca. Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie roli *CFAP221* i *CFAP300* w patogenezie badanej choroby oraz wskazały na brak zaangażowania genu *POLR2K* w PCD. Badania z wykorzystaniem *S. mediterranea* udowodniły ewolucyjne zakonserwowanie roli *CFAP300*, *CFAP221* i *SPAG1* w funkcjonowaniu rzęsek ruchowych. Planarie z wyciszonym *CFAP300*, *SPAG1* poruszały się kilka razy wolniej od kontroli, czemu towarzyszyła zmiana wzorca ruchu; efekt wyciszenia był podobny do silnego wpływu obecności patogennych wariantów na funkcję komórek nabłonka oddechowego pacjentów. Wpływ wyciszenia *CFAP221* na funkcjonowanie rzęsek ruchowych u robaków był subtelniejszy, zgodny z fenotypem obserwowanym u pacjenta. Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie, że *Schmidtea mediterranea* stanowi prosty, tani i łatwo dostępny model do badania genów potencjalnie zaangażowanych w patogenezę PCD.