

Ewa Joachimiak¹

Dorota Włoga¹

Anna Filipek²

Hanna Fabczak^{1,✉}

¹Pracownia Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

²Pracownia Białek Wiązujących Wapń, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

✉Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa; tel.: (22) 589 23 17, e-mail: h.fabczak@nencki.gov.pl

Artykuł otrzymano 10 lipca 2018 r.

Artykuł zaakceptowano 6 sierpnia 2018 r.

Słowa kluczowe: rzęski pierwotne, rzęski ruchome, ciliopatie, transport wewnątrzrzęskowy

Wykaz skrótów: ADPKD – autosomalna dominująca wielotorbielowatość nerek; APC – białko gruczolakowatego polipa okrężnicy; BBS – syndrom Bardet-Biedl; cAMP – 3',5'-cykliczny adenozynomonofosforan; cGMP – 3',5'-cykliczny guanozynomonofosforan; CK1 – kinaza kazeinowa 1; CLS – sygnał lokalizacji rzęskowej; Dvl – białko Dishevelled odpowiedzialne za wiązanie aksyny do kompleksu receptorowego Frizzled/LRP; EGF – nabłonkowy czynnik wzrostu; ERK1/2 – kinaza aktywowana sygnałami zewnątrzkomórkowymi; FGF – czynnik wzrostu fibroblastów; GLI2 i GLI3 – białka zaangażowane w ścieżkę sygnałową Hedgehog (Hh); GPCR – receptory sprzężone z białkami G; Gpr161 – receptor transbłonowy związany z białkiem G; GRK2 – kinaza receptorów związanych z białkiem G typu 2; GSK3β – kinaza syntazy glikogenu 3β; IDA – wewnętrzne ramiona dyneinowe; IFT – kompleks transportu wewnątrzrzęskowego; IGF-like – insulinopodobny czynnik wzrostu; LCA – wrodzona ślepotę Lebera; LDL – lipoproteina; LRP – białko związane z receptorem LDL; MAPK – kinazy aktywowane mitogenami; MIA – modyfikator wewnętrznych ramion dyneinowych; MKS – syndrom Meckela; MMAF – ciliopatie z grupy pierwotnej dyskinezy rzęsek; mTOR – kinaza serynowo-treoninowa; N-DRC – kompleks neksynowy regulujący dyneiny; NPHP-2/inwersyna – białko o nazwie nephrocystyna-2; ODA – zewnętrzne ramiona dyneinowe; OSNs – neurony węchowe; PC1 i PC2 – policystyna 1 i 2; PCD – pierwotna dyskineza rzęsek; PCP

STRESZCZENIE

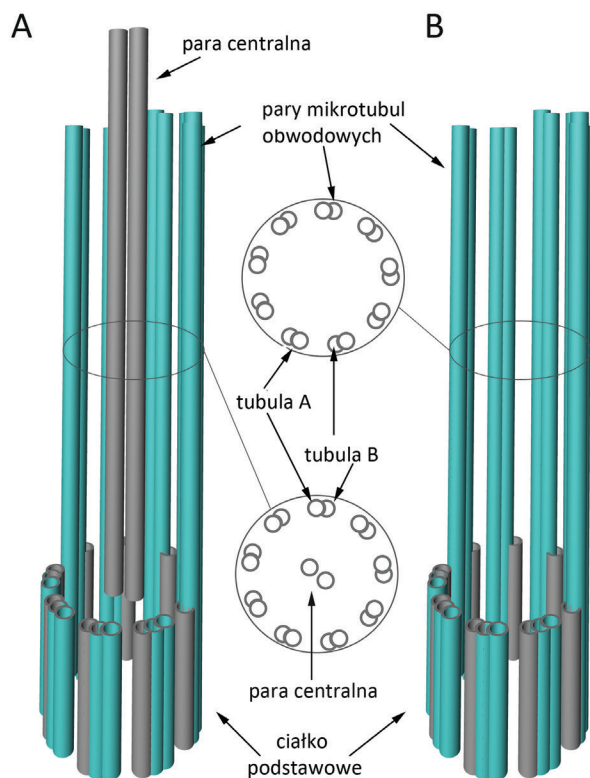
Ciliopatie to choroby genetyczne spowodowane zaburzeniami w funkcjonowaniu rzęsek, wypustek komórkowych utworzonych na bazie mikrotubul. Ciliopatie mogą dotyczyć zmian w obrębie jednego jak też wielu organów jednocześnie. Objawy ciliopatii zależą od rodzaju uszkodzonych tkanek i narządów. Najpowszechniej występującymi są wielotorbielowatość nerek i wątroby, utrata wzroku, wady cewy nerwowej, anomalie mózgu i niepełnosprawność intelektualna, nieprawidłowości szkieletu od polidaktylii do nienormalnie krótkich żeber i kończyn, defekty ektodermalne, otyłość, odwrócenie trzewi, niepłodność i nawracające infekcje dróg oddechowych. Zarówno badania na poziomie podstawowym jak i badania kliniczne dostarczają danych na temat nowych białek rzęskowych, których brak lub mutacje są związane z dysfunkcją rzęsek i w konsekwencji leżą u podstaw ciliopatii. Liczba typów ciliopatii (obecnie znanych jest 35) wciąż wzrasta na skutek identyfikacji coraz większej liczby genów, których mutacje odpowiedzialne są za te schorzenia (obecnie zidentyfikowano 187 takich genów). W tym opracowaniu przedstawiono najważniejsze mechanizmy leżące u podstaw nieprawidłowej budowy i funkcjonowania rzęsek, a tym samym będące przyczyną ciliopatii.

WPROWADZENIE

Rzęski i wici, to zachowane w toku ewolucji organelle zbudowane na bazie cytoszkieletu mikrotubularnego. Zasadniczo rzęski można podzielić na ruchome (ang. *motile cilia*) oraz nieruchome; te ostatnie znane również jako rzęski pierwotne (ang. *primary cilia*). Struktury te odgrywają ważną rolę w regulacji różnych procesów komórkowych, takich jak polaryzacja komórki i tkanki, regulacja cyklu komórkowego i odbieranie różnego typu bodźców (fizycznych, mechanicznych i chemicznych) [Braun i Hildebrandt 2017]. Ponadto rzęski integrują wiele ścieżek sygnałowych, które mają kluczowe znaczenie dla różnicowania narządów i rozwoju kręgowców. U człowieka defekty w funkcjonowaniu rzęsek prowadzą do rozwoju chorób tzw. ciliopatii, powodujących zmiany zarówno w obrębie jednego organu, jak i o podłożu wielonarządowym. Zmiany te mogą obejmować zaburzenia embriogenezy (odwrócenie trzewi, wady cewy nerwowej, rozszczep wargi i podniebienia, wady w obrębie twarzoczaszki), nieprawidłowe funkcjonowanie narządów (zwyrodnienie siatkówki, zaburzenia funkcjonowania nerek, niepłodność, zaburzenia poznawcze, polidaktylia/wielopalcowość, otyłość, cukrzyca, rozstrzenie oskrzeli) [Mitchison i wsp. 2012]. Dysfunkcja rzęsek może być spowodowana zarówno mutacjami w genach kodujących białka strukturalne, jak i białka regulujące proces ciliogenezy, funkcje sensoryczne lub ruch rzęski. Przypuszcza się, że w powstawanie i funkcjonowanie rzęsek może być zaangażowanych kilkaset białek, przy czym funkcja większości z nich nie jest znana [Yuan i Sun 2013]. Badania funkcji białek, których mutacje są przyczyną ciliopatii doprowadziły do poznania mechanizmów odpowiedzialnych za wstępne etapy procesu tworzenia rzęski (ciliogenezy), funkcję ciała podstawowego, strefy przejściowej i transportu wewnątrzrzęskowego. Przyporządkowanie poznawanych białek różnym strukturalnym i procesom zachodzącym w rzęskach umożliwia zrozumienie, na poziomie molekularnym, budowy i funkcji rzęsek, organeli niezbędnych dla zdrowia człowieka.

– szlak sygnałowy związany z polaryzacją komórki i tkanki; PKA – kinaza białkowa A; PKD – policystyczne choroby nerek; PTCH1 – receptor transbłonowy; RS – promienie łączące; SCFβ-TrCP – kompleks ligazy ubikwityny; TCF/LEF – czynnik transkrypcyjny; TGFβ – transformujący czynnik wzrostu beta; T/TH – kompleks niezbędny do stabilnego pozycjonowania domeny motorycznej I1 dyneiny

Podziękowania: Badania prowadzone przez autorów niniejszej pracy przeglądowej są finansowane ze środków na naukę przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki na realizację w latach 2015-2018 projektu Harmonia 6, 2014/14/M/NZ3/00511 (dla DW) oraz przez Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN.



Rycina 1. Schemat przedstawiający aksonemę rzęski ruchomej (A) i pierwotnej (B). Na przekroju poprzecznym rzęski ruchomej widoczne jest 9 par mikrotubul obwodowych składających się z pełnej tubuli A i niepełnej tubuli B oraz widoczna jest dodatkowo para mikrotubul centralnych (wzór $9 \times 2 + 2$). Na przekroju poprzecznym rzęski pierwotnej widoczne jest jedynie 9 par mikrotubul obwodowych składających się z pełnej tubuli A i niepełnej tubuli B (wzór $9 \times 2 + 0$). W obu typach rzęsek mikrotubule obwodowe rzęski są przedłużeniem dwóch z trzech mikrotubul ciała podstawowego. Opis w tekście.

STRUKTURA RZĘSKI

Rzęski, to zachowane w toku ewolucji niewielkie wypustki komórkowe, o długości od 6 do 10 μm i średnicy około 0,2 μm , utworzone na bazie mikrotubul i zlokalizowane na powierzchni prawie wszystkich komórek eukariotycznych. Historycznie wyróżnia się dwie grupy rzęsek: nieruchome rzęski czuciowe, zwane też rzęskami pierwotnymi [Poprzeczko i wsp. 2018], oraz różniące się ultrastrukturą i rolą – rzęski ruchome [Urbańska i wsp. 2018a]. Szkielet rzęski stanowi aksonema, która w obu typach rzęsek zbudowana jest z dziewięciu par mikrotubul obwodowych. W rzęskach ruchomych występują dodatkowo dwie mikrotubule centralne (Ryc. 1). W skład każdej pary obwodowej wchodzi połączone, tzw. tubule A i B. Do mikrotubul obwodowych w ściśle określonym porządku przyłączone są makrokompleksy: wewnętrzne ramiona dyneinowe, IDA (ang. *Inner Dynein Arm*) i zewnętrzne ramiona dyneinowe, ODA (ang. *Outer Dynein Arm*), promienie łączące, RS (ang. *Radial Spokes*), modyfikator wewnętrznych ramion dyneinowych, MIA (ang. *Modifier of Inner dynein Arms*) i kompleks neksynowy regulujący dyneiny, N-DRRC (ang. *Nexin-Dynein Regulatory Complex*). Mikrotubule obwodowe rzęski są przedłużeniem dwóch z trzech mikrotubul ciała podstawowego, struktury homologicznej do centrioli znajdującej się u

podstawy rzęski [Joachimiak 2018a]. Pomiędzy ciałkiem podstawowym a rzęską występuje strefa przejściowa, bariera rzęskowa o specyficznej ultrastrukturze, którą muszą przekroczyć białka dostarczane z cytoplazmy do rzęski [Joachimiak 2018b].

Ruch rzęsek jest wynikiem ruchu ślizgowego (przesuwania się) względem siebie sąsiadujących par mikrotubul obwodowych w wyniku zależnej od ATP aktywności motorycznej ramion dyneinowych [Urbańska i wsp. 2018a]. Wielkość ślizgu ograniczają połączenia neksynowe. Aksonema otoczona jest przez błonę rzęskową, która jest wprawdzie kontynuacją błony komórkowej, ale różni się od niej składem białkowym i lipidowym [Ishikawa i Marshall 2011]. W błonie rzęsek zlokalizowane są liczne receptory, które pośredniczą w odbieraniu i przekazywaniu bodźców płynących ze środowiska.

FUNKCJA RZESK RUCHOMYCH I NIERUCHOMYCH

Podział na rzęski ruchome i pierwotne jest podziałem uproszczonym. U człowieka wyróżnia się cztery typy rzęsek [Falk i wsp. 2015]: Typ I to rzęski ruchome o strukturze $9 \times 2 + 2$, występujące na apikalnej powierzchni komórek nabłonkowych wyścielających drogi układu oddechowego (jama nosa, zatoki przynosowe, gardło, oskrzela i tchawica), ucho środkowe, trąbkę Eustachiusza, komory mózgu i kanału środkowego rdzenia kręgowego (nabłonek ependymalny) oraz jajowody. Synchroniczny ruch rzęsek komórek nabłonka umożliwia przemieszczanie i usuwanie śluzu wraz z zanieczyszczeniami (tj. kurzem, bakteriami) z górnych dróg oddechowych, cyrkulację płynu mózgowo-rdzeniowego w komorach mózgu, oraz transport zapłodnionej komórki jajowej w jajowodzie w kierunku macicy. Wici, organelle homologiczne do rzęsek, występują jako pojedyncze wypustki i umożliwiają ruch plemników [Fliegauf i wsp. 2013; Urbańska i wsp. 2018a]. Typ II to ruchome rzęski nodalne o strukturze $9 \times 2 + 0$, występujące na powierzchni komórek węzła zarodkowego. Nie mają one pary centralnej i promieni łączących, natomiast do mikrotubul obwodowych dołączone są zewnętrzne ramiona dyneinowe. Dzięki takiej budowie, rzęski wykonują ruch rotacyjny, który umożliwia przemieszczanie się płynu zarodkowego i powstanie lewo-prawostronnej asymetrii organów wewnętrznych. Do typu III należy nieruchoma rzęska o strukturze $9 \times 2 + 0$ (rzadko $9 \times 2 + 2$), kinocilium, występująca jako pojedyncza wypustka w komórkach ucha wewnętrznego [Sobkowicz i wsp. 1995]. Odbieranie bodźców dźwiękowych, jak również utrzymanie równowagi wymagają prawidłowego funkcjonowania komórek czuciowych zlokalizowanych w uchu wewnętrznym, na powierzchni których, oprócz stereocilii - struktur zbudowanych na bazie cytoszkieletu aktynowego, występują pojedyncze kinocilia – rzęski. Typ IV to nieruchome rzęski o strukturze $9 \times 2 + 0$, noszące nazwę rzęsek pierwotnych (ang. *primary cilia*), które występują jako pojedyncze wypustki i są obecne prawie we wszystkich komórkach człowieka podczas fazy G₀/G₁ i na początku fazy S cyklu komórkowego. Dzięki receptorom występującym licznie w błonie rzęskowej, organelle te biorą udział w percepcji i przekazywaniu bodźców chemicznych lub fizycznych płynących ze środowiska do komórki. Tym samym rzęski pierwotne odgrywają niezwykle ważną rolę w prawidłowym

Tabela 1. Najczęściej występujące ciliopatie związane z defektem rzęski pierwotnej.

Typ Ciliopatii/ Zespół [Częstość występowania w populacji]	Mutacje w genach	Fenotyp rzęski	Zmiany patologiczne
JOUBERTA [1:80 000 do 1:100 000]	<i>NPHP1, AH11, NPHP6/CEP290, NPHP8/FTM/RPGRIPI1L, TMEM67/MKS3, ARL13B, CC2D2A/MKS6 INPP5E, TMEM216, OFD1, BD92/MKS10,</i>	rzęski krótkie, zdeformowane (zaburzona ścieżka sygnałowa Hh) /	bezdech, ataksja, opóźnienie umysłowe, nadciśnienie, rozszczep wargi i podniebienia, barwnikowe zwyrodnienie siatkówki, polidaktylia
WRODZONA ŚLEPOTA LEBERA [1: 80 000]	<i>AIP1, CABP4, CCT2, NPHP6/CEP290, CLUAP1, CRB1, CRX, DTHD1, GDF6, GUCY2D, IFT140, PHP5/IQCB1, KCNJ13, LCA5, LRAT, NMNAT1, PRPH2, RD3, RDH12, RPE65, FTM/ NPHP8/RPGRIPI1/MKS5, SPATA7, TULP1</i>		degeneracja komórek fotoreceptorowych
ALSTRÖMA [1:10 000 do 1:15 000]	<i>ALMS1</i>	wada pozycjonowania rzęsek, rzęski skrócone	otyłość, niski wzrost, zwyrodnienie siatkówki, utrata słuchu, cukrzyca typu 2, hipogonadyzm, kardiomiopatia, wielopalcowatość (polidaktylia)
BARDET-BIEDLA [1:10 000 do 1:15 000]	<i>BBS 1-12, MKS1/BBS13, NPHP6/CEP290, TTC8, PTHB1, TRIM32,</i>	rzęski krótkie	otyłość; degradacja siatkówki; zaburzenia czynności nerek; upośledzenie umysłowe, hipogonadyzm
SENIORA - LØKENA; [1:1 000 000]	<i>NPHP1, NPHP4, PHP5/IQCB1, NPHP6/CEP290, SDCCAG8</i>	rzęski skrócone (zaburzona ścieżka sygnałowa Hippo)	torbiele nerek, zmniejszona wielkość nerek, przewlekła niewydolność nerek u dzieci, retinopatia barwnikowa
JEUNEGO [1:100.000 do 1:130 000]	<i>IFT80, IFT144, DYNC2H1, THM1</i>	brak wad rzęsek (zaburzona ścieżka sygnałowa Hh)	zahamowanie rozwoju ściany klatki piersiowej i hipoplazja płuc, polidaktylia
AUTOSOMALNA DOMINUJĄCA WIELOTORBIELOWATOŚĆ NEREK [1:400 do 1:1000]	<i>IFT88, PKD1, PKD2</i>	rzęski krótkie (zaburzona ścieżka sygnałowa Hh, mTOR, klasyczna Wnt)	torbiele nerek, wątroby, trzustki u dorosłych
AUTOSOMALNA RECESYWNA TORBIELOWATOŚĆ NEREK [1:10 000 do 1:40 000]	<i>PKD1, PKD2</i>	rzęski wydłużone	torbiele nerek w wieku niemowlęcym
NEFRONOFTYZA NPHP1, 2, 3 [1:50 000]	<i>INVS, NPHP3, Nek8, NPHP1,</i>	rzęski wydłużone	niewydolność nerek u dzieci i młodych dorosłych
SENSENBRENNERA [1: 100 000]	<i>IFT122, IFT43, IFT121, TULP4</i>	rzęski krótkie	niski wzrost, skrócenie kończyn, krótka i wąska klatka piersiowa, brachydaktylia, dolichocefalia, kraniosynostoza, niewydolność nerek oraz zmiany ektodermalne
MECKEL-GRUBERA [1:33 000 do 1:140 000]	<i>MKS1/BBS13, TMEM67/MKS3, MKS5/Rpgrip1/FTM/NPHP8, CC2D2A/MKS6; NPHP6/CEP290, BD91, BD92/MKS10, TMEM216,</i>	rzęski wydłużone	torbiele nerek, wady rozwojowe ośrodkowego układu nerwowego, wady cewy nerwowej, zwłóknienie wątroby, wrodzone wady serca, polidaktylia, rozszczep podniebienia
USTNO-TWARZOWO-PALCOWY TYPU I [1: 50 000 do 250 000]	<i>OFD1, SCLT1, C2CD3</i>	rzęski krótkie (zaburzona ścieżka sygnałowa Hh, klasyczna Wnt, NOCH)	rozszczep wargi i podniebienia, wady w obrębie twarzoczaszki, wady cewy nerwowej, polidaktylia, syndaktylia, torbiele nerek, niepełnosprawność intelektualna
ELLISA VAN CREVELDA [1:60 000; w populacji Amiszów 1:200].	<i>EVC1 i EVC2, IFT121</i>	brak wad rzęski, (zaburzona ścieżka sygnałowa Hh)	niski wzrost, skrócenie żeber, polidaktylia, zmiany ektodermalne, zaburzenia sercowo-naczyniowe
ZESPÓŁ USHERA [1:25 000]	<i>MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, SANS, USH2A, VLRG1, WHRN, USH3A, PDZD7,</i>	zaburzenie pozycjonowania sterocilii	zaburzenia narządów słuchu, wzroku i równowagi

Informacje zestawione w tabeli 1 przygotowano na podstawie informacji na stronie Genetics Home Reference <https://ghr.nlm.nih.gov/>

rozwoju i funkcjonowaniu większości tkanek i narządów, a więc w utrzymaniu prawidłowej homeostazy organizmu. [Shillingford i wsp. 2006; Berbari i wsp. 2009; Cardenas-Ro-

driguez i Badano 2009; Poprzeczko i wsp. 201]. Zmodyfikowane rzęski pierwotne tworzą zewnętrzny segment komór-

rek fotoreceptorowych siatkówki oka kręgowców i łączą go z ciałem komórki (segmentem wewnętrznym).

TRANSPORT DO RZĘSKI

Wyniki badań proteomicznych, wspartych genomiką porównawczą z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych wskazują, że do powstania rzęsek i ciałek podstawowych koniecznych jest ponad 1000 białek [Yuan i Sun 2013]. Funkcja przeważającej większości tych białek jest nieznaną. Również szczególnie procesu biogenezy rzęski w dużej mierze pozostają niewyjaśnione [Poprzeczko i wsp. 2018]. Wiadomo, że w rzęsce nie dochodzi do syntezy białek oraz, że brak jest systemu odpowiedzialnego za ich degradację. Wiąże się to z koniecznością dostarczenia do rzęski wszystkich elementów strukturalnych niezbędnych do jej budowy i białek regulatorowych kontrolujących jej prawidłową pracę oraz usunięciem z rzęski uszkodzonych składników aksonemy [Nachury i wsp. 2010; Ishikawa i Marshall 2011].

Transport do rzęski jest procesem bardzo złożonym i nie w pełni poznany. W przypadku małych białek rozpuszczalnych, o masie cząsteczkowej do 40 kD, proces ten przebiega na zasadzie dyfuzji. Białka o większej masie cząsteczkowej oraz białka transbłonowe posiadają w swojej sekwencji sygnał lokalizacji rzęskowej, CLS (ang. *ciliary localization sequences*), i są dostarczane do rzęski na drodze transportu pęcherzykowego. Sygnał CLS umożliwia połączenie białka do kompleksów transportujących [Poprzeczko i wsp. 2018]. W białkach rozpuszczalnych motywy CLS są bardzo słabo scharakteryzowane i różne w zależności od białka. Dla przykładu w białkach GLI2 i GLI3 (ang. *glioma-associated oncogene homolog*), zaangażowanych w ścieżkę sygnałową Hedgehog, Hh (Ryc. 3, Tab. 1), CLS składa się z około 300 reszt aminokwasowych i jest zlokalizowany w centralnej części białka [Santos i Reiter 2014], natomiast w cząsteczce kinezyny Kif17 sygnał CLS jest krótki, zawiera reszty aminokwasów zasadowych i jest homologiczny do sygnału lokalizacji jądrowej [Fanabashi i wsp. 2017]. Po opuszczeniu aparatu Golgiego białka transbłonowe zamknięte w pęcherzykach błonowych i posiadające sekwencję CLS są kierowane do rzęski. Pęcherzyk łączy się z błoną u nasady rzęski lub z fragmentem błony tworzącym tzw. kieszeń rzęskową. Najczęściej występującą sekwencją CLS jest 4-aminokwasowa sekwencja VxPx zidentyfikowana na końcu karboksylowym takich białek transbłonowych, jak: receptory związane z białkami G, GPCR, kanały jonowe regulowane przez cykliczne nukleotydy i polycystyny. Stwierdzono, że mutacja w obrębie sekwencji VxPx rodopsyny (białka fotoreceptorowego znajdującego się w komórkach siatkówki kręgowców) powoduje szybkie obumieranie komórek, najprawdopodobniej na skutek gromadzenia się zmutowanej formy rodopsyny w ciele komórki. W przypadku części białek obecność sekwencji VxPx nie wystarcza, aby białko było kierowane do rzęski. Wiele receptorów GPCR takich jak receptor somatostatyny, serotoninowy 6, hormonu koncentrującego melaninę, dopaminowy 1 posiada dodatkową sekwencję AxxxQ wymaganą do lokalizacji rzęskowej. Należy jednak zaznaczyć, że sekwencje VxPx i AxxxQ nie są jedynymi znanymi motywami CLS [Malicki i Avidor-Reiss 2014].

W transporcie pęcherzykowym biorą udział różne kompleksy białkowe. Niefunkcjonalność tych kompleksów spowodowana mutacjami białek uniemożliwia transport do rzę-

ski i w konsekwencji jest przyczyną wielu ciliopatii. Jednym z kompleksów zaangażowanych w transport pęcherzykowy jest BBS (ang. *Bardet-Biedl Syndrome*, Tab. 1), kompleks zbudowany z ośmiu białek BBS (BBS-1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 18), współdziałający z małą GTPazą, Arl6/BBS3, która opłaszczca pęcherzyki transportowe. U człowieka, Arl6/BBS3 była pierwszą zidentyfikowaną GTPazą powiązaną z ciliopatią, tzw. zespołem Bardet-Biedla. Inne kompleksy białkowe, kompleks NPHP (ang. *nephronophthitis*) oraz kompleks MKS (ang. *Meckel syndrome*, Tab. 1), lokalizują się w strefie przejściowej, na granicy rzęski i ciała komórki [Joachimiak 2018b]. Ważną rolę w transporcie do rzęski odgrywają również białka Tubby oraz białka podobne do Tubby, zwane TULP [Prevo i wsp. 2017], których mutacje są, m.in., przyczyną wrodzonej ślepoty Lebera (LCA) (Tab. 1).

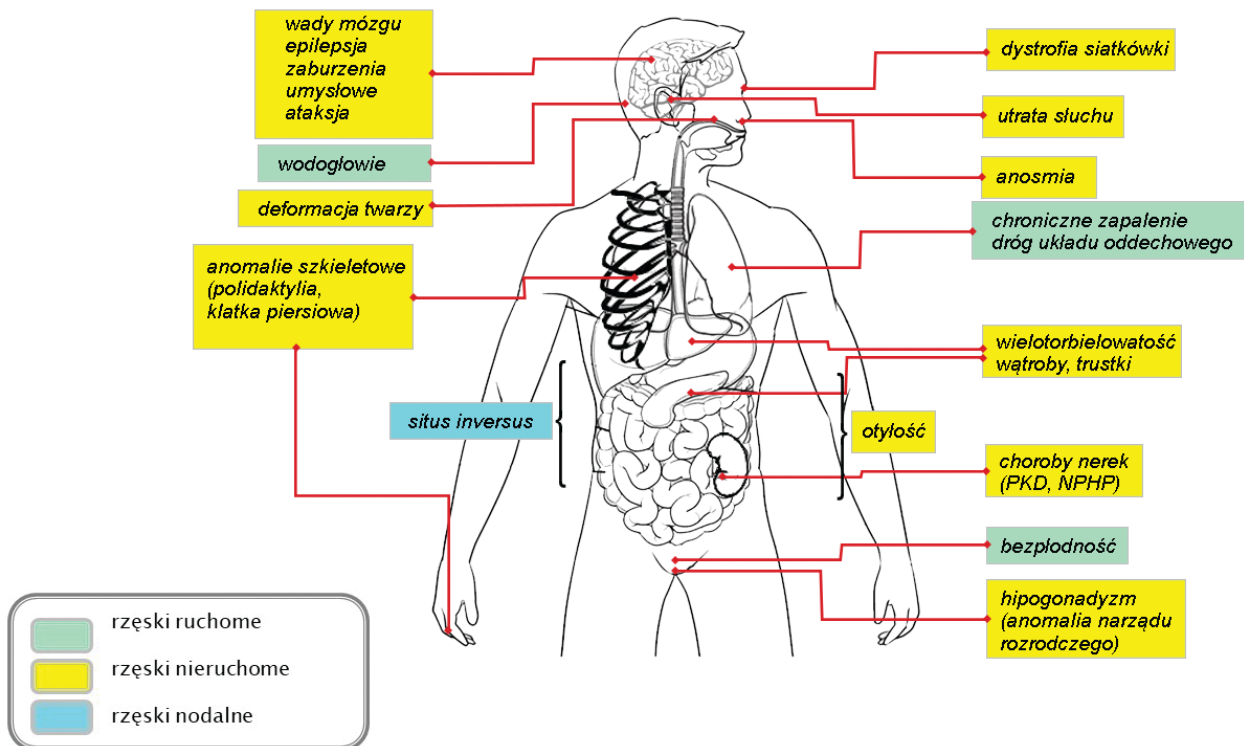
W procesie łączenia się pęcherzyka rzęskowego z błoną okołorzęskową uczestniczą również białka z rodziny Rab (Rab8, Rabin 8 i Rab 11) zaangażowane w fuzję pęcherzyków transportowych i tworzenie błony rzęskowej we wczesnych etapach ciliogenezy [Madhivanan i Aguilar 2014; Poprzeczko i wsp. 2018].

Wspomniane wyżej kompleksy białek biorące udział w transporcie pęcherzykowym, oddziałują ze sobą. I tak, kompleksy MKS i NPHP łączą się ze sobą poprzez tzw. kompleks inwersynowy, w skład którego wchodzi inwersyna (zwana też NPHP2), NPHP3, kinaza Nek8 i jej prawdopodobne regulatory, Anks3 i Anks6 [Garcia-Gonzalo i Reiter 2017; Joachimiak 2018b] (Tab. 1). Obecność kinazy sugeruje, że kompleks inwersynowy może brać udział w regulacji oddziaływania pomiędzy kompleksami MKS i NPHP lub między nimi a kompleksami transportu wewnątrzrzęskowego IFT (ang. *intraflagellar transport*) poprzez fosforylację elementów tych kompleksów [Joachimiak 2018b]. Ostatnie badania na komórkach fotoreceptorowych *Danio rerio* wykazały, że brak białka Cc2d2a (element kompleksu MKS), którego dysfunkcja powoduje u ludzi zespół Jouberta i Meckela-Grubera, zaburza regulowaną przez Rab8, fuzję pęcherzyków transportowych z błoną u nasady rzęski [Ojeda Naharros i wsp. 2017].

W transport wewnątrzrzęskowy wzdłuż aksonemy zaangażowane są dwa kompleksy białek, IFT A i IFT B, różniące się składem białkowym oraz kierunkiem ruchu [Ishikawa i Marshall 2011]. Kompleks IFT B składa się z 16 podjednostek (IFT-172, 88, 81, 80, 74, 70, 57, 56, 54, 52, 46, 38, 27, 25, 22, 20) i jest odpowiedzialny za transport białek od podstawy rzęski do jej czubka (IFT wstępujący, ang. *anterograde IFT*). Białkiem motorycznym umożliwiającym przemieszczanie się kompleksu IFT B wzdłuż mikrotubul obwodowych aksonemy jest kinezyna 2. Transport w odwrotnym kierunku umożliwia kompleks IFT A (IFT zstępujący, ang. *retrograde IFT*), w skład którego wchodzi 6 podjednostek (IFT-144, 140, 139, 122, 121, 43). Ruch kompleksu IFT A generuje dyneina 2, cytoplazmatyczne białko motoryczne [Kozminski i wsp. 1993; Poprzeczko i wsp. 2018].

CILIOPATIE ZWIĄZANE Z DYSFUNKCJĄ RZĘSEK RUCHOMYCH

Brak lub upośledzona aktywność rzęsek ruchomych prowadzi do tzw. pierwotnej dyskinezy rzęsek (PCD, ang. *primary ciliary dyskinesia*). Rzęski ruchome tworzone są przez komórki nabłonkowe wyściełające niektóre drogi wewnętrzne



Rycina 2. Schemat przedstawiający, jak defekty rzęsek ruchomych i nieruchomych mogą wpływać na zaburzenia funkcjonowania organów/ciliopatie. Ciliopatie spowodowane głównie przez defekty rzęsek ruchomych i defekty rzęsek pierwotnych zaznaczono odpowiednio kolorem zielonym i żółtym, a ciliopatie związane z wadami rzęsek nodalnych w wyniku, których następuje odwrócenie ułożenia narządów wewnętrznych (łac. *situs inversus*) – kolorem niebieskim. NPHP (Nefronoptyza) nephronophthisis; PKD wielotorbielowość nerek (występująca w ciliopatiach: SLS, ADPKD, ARPKD; Tabela 1).

lub komory narządów (patrz wyżej FUNKCJA RZESK RUCHOMYCH I NIERUCHOMYCH). Objawami PCD są przewlekłe zapalenie oskrzeli, zapalenie zatok i niedodma (co przypisuje się nieprawidłowemu usuwaniu śluzu z górnych dróg oddechowych) oraz niepłodność mężczyzn (Ryc. 2).

Mniej powszechne przejawy PCD to zmniejszenie płodności u kobiet (wynikające z niewłaściwego transportu komórek jajowych przez jajowody) i bóle głowy oraz wodogłowie (przypuszczalnie wynikające z zaburzeń cyrkulacji płynu mózgowo-rdzeniowego spowodowanych ruchem rzęsek na powierzchni ependymy). PCD jest recesywną, autosomalną chorobą dziedziczną. Jest ona najczęściej spowodowana przez upośledzenie organizacji lub aktywności wewnętrznych lub zewnętrznych ramion dyneinowych, promieni łączących lub kompleksu neksynowego regulującego dyneiny, oraz pary centralnej (Tab. 2). Wszystkie te elementy strukturalne aksonemy są niezbędne do generacji prawidłowego ruchu rzęsek. Około połowa pacjentów z PCD ma klasyczną triadę objawów tj. odwrócenie trzewi, zapalenie zatok przynosowych i rozstrzenie oskrzeli diagnozowanych jako zespół Kartagenera (ang. *Kartagener's syndrome*). Za prawidłową asymetrię ciała człowieka (położenie narządów wewnętrznych) odpowiedzialne są rzęski wężla zarodkowego, struktury pojawiającej się na wczesnym etapie rozwoju embrionalnego [Reiter i Leroux 2017]. W wężle zarodkowym występują dwa typy rzęsek, ruchome rzęski nodalne tworzone przez komórki w centralnej części wężla i rzęski pierwotne tworzone przez komórki na obrzeżach wężla. Komórki tworzące nieruchome rzęski produkują białka sygnałowe niezbędne do powstania lewo-prawostronnej asymetrii ciała zarodka.

Wiadomo, że rzęski pierwotne odbierają bodźce świadczące o przepływie płynu w wężle zarodkowym, natomiast charakter tych bodźców nie jest do końca poznany. Mogą to być zarówno bodźce mechaniczne jak i chemiczne. Ruch rotacyjny rzęsek nodalnych generuje przepływ płynu skierowany w lewo względem powierzchni wężla zarodkowego (sygnał mechaniczny). Bodziec mechaniczny przekazywany jest na peryferycznie umiejscowione rzęski pierwotne, co inicjuje transmisję sygnału do warstwy mezodermi bocznej i zmianę symetrii zarodka z bilateralnej na asymetryczną. Rotacyjny ruch rzęsek nodalnych generuje również lewostronny przepływ do warstwy bocznej (ang. *lateral plate*) różnych morfogenów produkowanych przez wężel zarodkowy. W efekcie następuje asymetryczna aktywacja kaskady ekspresji genów w tym genu *NODAL* należącego do rodziny genów transformującego czynnika wzrostu beta, TGFβ i asymetryczna transkrypcja genów regulowanych przez ten czynnik. Lewo-prawostronna asymetria jest również regulowana przez jony Ca²⁺ (i kanały zbudowane z polycystyny 1 (PC1) i polycystyny 2 (PC2), czynnik wzrostu fibroblastów, FGF, który kontroluje ścieżkę sygnałową Hh (podrozdział: ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA HEDGEHOG W RZĘSCE PIERWOTNEJ) i długość rzęsek podczas rozwoju zarodkowego [Yoshida i Hamada 2014; Mitchison i Valente 2017]. Gdy ruch rzęsek nodalnych jest zaburzony, wówczas układ organów wewnętrznych względem długiej osi ciała jest kształtowany w sposób przypadkowy, a efektem tego jest odwrócenie ułożenia narządów wewnętrznych u około połowy pacjentów z PCD.

Dotychczas zidentyfikowano 37 loci, mutacje których powodują około 50–60% wszystkich przypadków PCD (Tab.

2) [Reiter i Leroux 2017]. Ostatnie badania doprowadziły do identyfikacji nowych genów, których mutacje są przyczyną ciliopatii. Analizy przeprowadzone na klasycznych organizmach modelowych ciliopatii (*Tetrahymena* i *Chlamydomonas*) wykazały, że delecje białek FAP43 lub FAP44 (ang. *Flagellar Associated Protein 43, 44*), wchodzących w skład kompleksu T/TH, (ang. *Tether/Tether Head*) niezbędnego do stabilnego pozycjonowania domeny motorycznej I1 dyneiny, wywołują dysfunkcję rzęsek [Fu i wsp. 2018; Kubo i wsp. 2018; Urbańska i wsp. 2018b]. Ostatnie badania na komórkach plemników ssaków, w tym człowieka, udowodniły, że mutacje genów kodujących CFAP43 i CFAP44 (homologów białek FAP43 i FAP44 u ssaków) powodują ciliopatię z grupy PCD, zwaną MMAF (ang. *Multiple Morphological Anomalies of the Flagella*). Charakteryzuje się ona wieloma anomaliami wici, które powodują ich nieprawidłowe funkcjonowanie i w konsekwencji prowadzą do bezpłodności [Sha i wsp. 2017; Tang i wsp. 2017; Coutton i wsp. 2018]. Większość form PCD jest powiązana z genami kodującymi białka rzęskowe, które są niezbędne do generacji ruchu. Jednak nie wszystkie geny związane z PCD kodują białka znajdujące się w rzęsce. Na przykład, mutacje w genach *DNAAF2*, *DNAAF3*, *DNAAF4/DYX1C1* są odpowiedzialne za PCD, ale kodują cytoplazmatyczne białka, które biorą udział w formowaniu prekompleksów ramion dyneinowych przed ich transportem do rzęski [Omran i wsp. 2008; Mitchison i wsp. 2012; Tarkar i wsp. 2013].

CILIOPATIE WYWOŁANE DYSFUNKCJĄ RZĘSEK PIERWOTNYCH

W błonie rzęsek pierwotnych zlokalizowane są receptory szlaków sygnałowych (np. receptor PTCH1, rodopsyna, receptory węchowe i smakowe) [Singla i Reiter 2006; Barbari i wsp. 2009; Cardenas-Rodriguez i Badano 2009], zaangażowane w przekazywanie bodźców płynących ze środowiska do komórki. W związku z tym, rzęski są postrzegane jako „anteny” umożliwiające przyjmowanie różnorodnych bodźców, w tym: mechanicznych (ugięcie), fizycznych (światło) i chemicznych (np. czynniki wzrostu, cząsteczki zapachowe), które odgrywają kluczową rolę w komunikacji pomiędzy komórką a środowiskiem. Rzęski pełniąc funkcję centrów sygnałowych nie tylko przyjmują sygnał ale i przekazują go do komórki, a tym samym wpływają na procesy takie jak podział, migracja czy różnicowanie. Dlatego uszkodzenia rzęsek pierwotnych prowadzą do bardzo zróżnicowanych zaburzeń fizjologicznych i rozwojowych, którym towarzyszy wiele objawów klinicznych (Tab. 1, Ryc. 2), zależnie od upośledzonego narządu. Ciliopatie związane z rzęskami pierwotnymi mogą być spowodowane: (i) upośledzeniem tworzenia lub stabilności rzęsek, (ii) zaburzeniami procesu przekazywania sygnałów lub (iii) dysfunkcją kompleksów transportu (BBS, MKS, NPHP, IFT). W konsekwencji powoduje to upośledzenie ścieżek sygnałowych.

CILIOPATIE ZWIĄZANE Z DYSFUNKCJĄ RZĘSEK W NARZĄDACH ZMYŚŁÓW

W błonie rzęskowej komórek narządów zmysłów odbierających bodźce wzrokowe, słuchowe, smakowe i węchowe lokalizują się receptory GPCR. Rzęski węchowe wytwarzane przez neurony węchowe, OSNs są miejscem zachodzenia chemorecepcji. Każdy OSN ma od 10 do 30 rzęsek węchowych o strukturze aksonemii 9 x 2+2 ale pozbawionych ramion dyne-

inowych. Receptory GPCRs zlokalizowane w ich błonie rzęskowej odbierają sygnały chemiczne (cząsteczki zapachowe) płynące ze środowiska [McEwen i wsp. 2008; Jenkins i wsp. 2009], które włączają kaskadę sygnałową rozpoczynającą się aktywacją białka G (G_{olf}). Aktywne białko G_{olf} uruchamia cyklazę adenylanową typu III, co powoduje wzrost stężenia cAMP i otwarcie regulowanych przez cAMP kanałów wapniowych i napływ Ca^{2+} do wnętrza komórki. W wyniku podwyższenia poziomu Ca^{2+} następuje aktywacja i otwarcie kanałów chlorkowych zależnych od Ca^{2+} i wypływjonów Cl^- z komórki, w wyniku czego następuje depolaryzacja błony neuronu [Kleene 2008]. Brak rzęsek lub ich dysfunkcja wynikająca z mutacji genów kodujących białka zaangażowane w kaskadzie sygnałowej jest u ludzi przyczyną zaburzeń/lub utraty powonienia (anosmia) [McEwen i wsp. 2008], które towarzyszy między innymi takim ciliopatiom jak zespół Bardeta-Biedla i wrodzona ślepotą Lebera [Iannaccone i wsp. 2005] (Tab. 1). W mysim modelu wykazano, że mutacje w genach kodujących białka kompleksu BBS prowadzą do defektu tworzenia rzęski przez neurony węchowe [Kulaga i wsp. 2004], a brak genu *NPHP2* jest odpowiedzialny za wybiórczą utratę białek G w rzęsce i deficyt w szlaków sygnałowych tej organelli [McEwen i wsp. 2007].

Zewnętrzny segment komórek fotoreceptorowych (pręcików i czopków) siatkówki ssaków jest przykładem zmodyfikowanej rzęski pierwotnej pełniącej funkcje sensoryczne. W segmencie tym fotoreceptor, rodopsyna, wbudowany jest w dyski błonowe i otaczającą je błonę rzęskową [Jan i Revel 1974]. Oprócz rodopsyny w zewnętrznym segmencie komórki fotoreceptorowej (rzęsce) zlokalizowane są pozostałe elementy kaskady sygnałowej takie jak: białko G (transducyna), fosfodiesteraza cGMP, kanały jonowe zależne od cGMP i cyklaza guanylanowa. Podobnie jak w przypadku innych rzęsek, również w komórkach fotoreceptorowych wszystkie te elementy muszą być dostarczone z ciała komórki (segment wewnętrzny) do segmentu zewnętrznego. Łącznikiem między tymi dwiema strukturami jest aksonema. System transportu w komórkach fotoreceptorowych jest bardzo wydajny; w ciągu 1 min z segmentu wewnętrznego do segmentu zewnętrznego przemieszczane jest 2000 cząsteczek rodopsyny i $0,1 \mu m^2$ błon budujących dyski. Badania na mysich modelach potwierdziły, że kompleksy IFT i BBS są niezbędne w tworzeniu i utrzymaniu funkcjonalnej rzęski pierwotnej (tzw. łącznika) w komórkach fotoreceptorowych [Marszalek i wsp. 2000; Pazour i wsp. 2002a; Hsu i wsp. 2017].

Brak funkcjonalności rzęski jest przyczyną apoptozy komórek fotoreceptorowych i w efekcie degeneracji siatkówki np. retinopatii barwnikowej siatkówki lub dystrofii czopkowo-pręcikowej, które są typowymi cechami klinicznymi wielu znanych ciliopatii np. Zespołów Bardeta-Biedla, Meckel-Grubera, Alstroma czy Juberta. Schorzeniom tym towarzyszy poza degeneracją siatkówki również otyłość, polidaktylia i zaburzenia nerek (nefropatie) (Tab. 1) [Prevo i wsp. 2017].

W przypadku formy recesywnej wrodzonej ślepoty Lebera [Thomson i wsp. 2018] zidentyfikowano 25 genów, których mutacje są odpowiedzialne za wywołanie tej choroby (Tab. 1). Są to geny odpowiedzialne, między innymi, za kodowanie białek zaangażowanych w transport pęcherzyko-

wy (np. TULP1) lub zlokalizowanych w strefie przejściowej (kompleksy białkowe NPHP, MKS oraz IFT; patrz rozdział TRANSPORT DO RZĘSKI) [Joachimiak 2018b]).

RZĘSKA PIERWOTNA JAKO POTENCJALNY SENSOR PRZEPŁYWU PŁYNÓW

Udział rzęsek pierwotnych w procesie przekazywania bodźców mechanicznych nie jest do końca wyjaśniony. Do niedawna uważano, że rzęski pierwotne są potencjalnym sensorem przepływu Ca^{2+} po stymulacji mechanicznej w wielu typach komórek (komórki nabłonkowe wyścielające kanaliki nerkowe, drogi żółciowe, przewody trzustki, komórki węzła zarodkowego, komórki śródbłonna, chondrocyty, komórki mięśni gładkich [McGrath i wsp. 2003; Praetorius i Spring 2003; Masyuk i wsp. 2006; McGlashan i wsp. 2006; Lu i wsp. 2008; Nauli i wsp. 2008]). Funkcję rzęski pierwotnej, jako potencjalnego mechanosensora w komórkach nabłonkowych wyścielających kanaliki nerkowe wiązano z obecnością w rzęskach dwóch białek receptorowych, polycystyny 1, PC1 i polycystyny 2, PC2, kodowanych odpowiednio przez geny *PKD1* i *PKD2* [Genetics Home Reference <https://ghr.nlm.nih.gov/>]. Mutacje w tych genach związane są z jedną z najczęściej występujących ciliopatii (1:400–1:1000 żywych urodzeń), autosomalną dominującą wielotorbielowatością nerek, ADPKD (ang. *autosomal dominant polycystic kidney disease*), zwaną także autosomalnym dominującym zwyrodnieniem wielotorbielowatym nerek (Tab. 1) [Genetics Home Reference <https://ghr.nlm.nih.gov/>].

Mechanizm działania PC1 i PC2 nie jest do końca wyjaśniony. Przez wiele lat uważano, że kompleks utworzony przez białka PC1 i PC2, zlokalizowany jest w błonie rzęsek pierwotnych komórek nabłonkowych kanalików nerkowych [Pazour i wsp. 2002b; Yoder i wsp. 2002], tworząc mechanosensoryczny kanał jonowy, bezpośrednio odpowiadający za zmiany poziomu Ca^{2+} w rzęsce [Praetorius i Spring 2003]. PC1, pełniąc funkcję mechanoreceptora, pod wpływem stymulacji mechanicznej rzęsek, na skutek przepływu płynu w kanalikach rzęskowych, aktywowałby kanał jonowy utworzony przez PC2. W efekcie następowałby przejściowy wzrost poziomu Ca^{2+} w rzęsce, aktywacja receptorów rianodynowych w siateczce śródplazmatycznej, uwalnianie Ca^{2+} z magazynów wewnątrzkomórkowych i indukcja kaskady sygnałowej regulowanej przez Ca^{2+} . Jednak badania ostatnich lat [Delling i wsp. 2016] przeprowadzone na wielu typach komórek z zastosowaniem bardzo czułych metod rejestracji zmian poziomu Ca^{2+} w rzęsce wykluczyły poprzednią hipotezę. Aktualne odkrycia poddają w wątpliwość źródła Ca^{2+} , jak też udział tych jonów w inicjacji kaskady sygnałowej w odpowiedzi na stymulację mechaniczną. Dodatkowo, kompleks białkowy PC1 i PC2 zidentyfikowano nie tylko w błonie rzęskowej, ale też w błonie plazmatycznej [Hanaoka i wsp. 2000] i w błonach organelli wewnątrzkomórkowych [Harris i Torres 2009]. Z drugiej strony nie ulega wątpliwości, że mutacje w obu białkach, PC1 i PC2, są przyczyną zaburzenia kaskady sygnałowej związanej z jonami Ca^{2+} . Przy właściwie funkcjonujących białkach tworzących kanał jonowy obserwuje się wyższy poziom Ca^{2+} w komórce, który z jednej strony hamuje aktywność cykazy adenylowej 6 (AC6), enzymu syntetyzującego cAMP, zaś z drugiej – zwiększa się aktywność fosfodiesterazy, enzymu hydrolizującego cAMP do AMP. W efekcie prowadzi to do zmniejszenia

stężenia cAMP i obniżenia aktywności kinazy aktywowanej mitogenami, MAPK oraz kinazy aktywowanej sygnałami zewnątrzkomórkowymi, ERK1/2, i zahamowania proliferacji komórek. Mutacje w genach kodujących białka PC1 lub PC2 mogą być przyczyną zmniejszonego/braku napływu Ca^{2+} do cytoplazmy/komórki, co powoduje zaburzenia przebiegu procesów omówionych powyżej, a efektem tego jest zwiększona/niekontrolowana proliferacja komórek prowadząca do tworzenia cyst [Praetorius i Spring 2003]. Zwiększenie proliferacji może również następować w wyniku stymulacji komórek przez nabłonkowy czynnik wzrostu, EGF, który uwalnia się z płynu wypełniającego cysty podobnie jak insulinopodobny czynnik wzrostu IGF-like, lub poprzez aktywację ścieżki kinazy mTOR. Pacjenci z mutacjami w genie *PKD1* wykazują nieprawidłową aktywację szlaku mTOR w komórkach nabłonka nerki [Shillingford i wsp. 2006]. Wykazano, że rapamycyna, inhibitor szlaku mTOR, hamuje rozwój torbieli w mysich modelach policystycznych choroby nerek (PKD) oraz u pacjentów z PKD po przeszczepie nerki. Leczenie rapamycyną może także pobudzać apoptozę komórek w nabłonku zmienionym chorobowo, co zmniejsza tworzenie torbieli u pacjentów z PKD [Shillingford i wsp. 2006]. Badania *in vitro* sugerują że uginanie rzęsek pod wpływem przepływającego płynu powoduje obniżenie aktywności ścieżki mTOR, co prowadzi do obniżenia proliferacji komórek. W procesie tym prawdopodobnie bierze udział kinaza Lkb1 obecna w rzęsce pierwotnej [Boehlke i wsp. 2010].

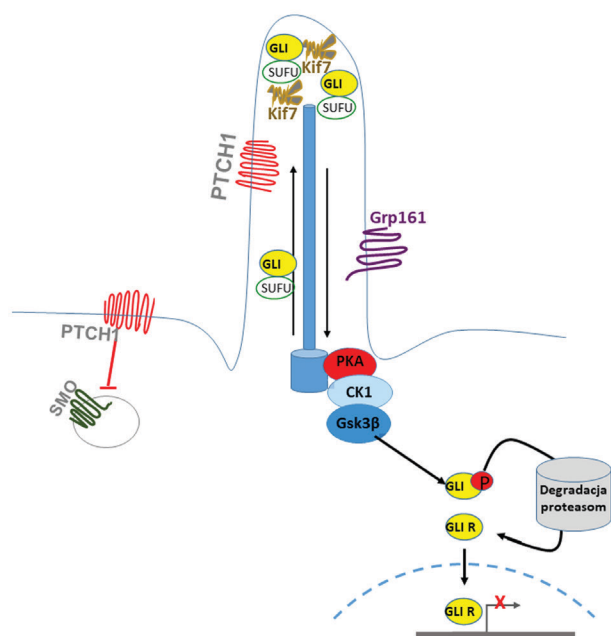
ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA W RZĘSCIE Hh PIERWOTNEJ

Rzęski pierwotne są niezbędne do prawidłowego przebiegu rozwoju embrionalnego zarodka ssaków [Huangfu i wsp. 2003]. Analiza fenotypowa, genetyczna i biochemiczna zarodków myszy wykazała, że zaburzenia w rozwoju często spowodowane są zmianami w ścieżce sygnałowej Hh [Goetz i Anderson 2010]. Ścieżka sygnałowa Hh u ssaków odgrywa ważną rolę w proliferacji komórek, utrzymaniu różnych populacji komórek macierzystych i progenitorowych, regulacji procesów przeciwzapalnych, gojeniu ran, angiogenezie i utrzymaniu homeostazy tkanek, a także w rozwoju kończyn, rdzenia kręgowego, serca oraz mózgu. Nadmierna aktywacja szlaku sygnałowego Hh przyczynia się do patologii i progresji nowotworów [Schou i wsp. 2015]. U ssaków najlepiej zbadanym białkiem z rodziny Hedgehog jest morfogen, Sonic Hedgehog (Shh), białko o charakterze hydrofobowym, wydzielane przez komórki autokrynnie i parakrynnie.

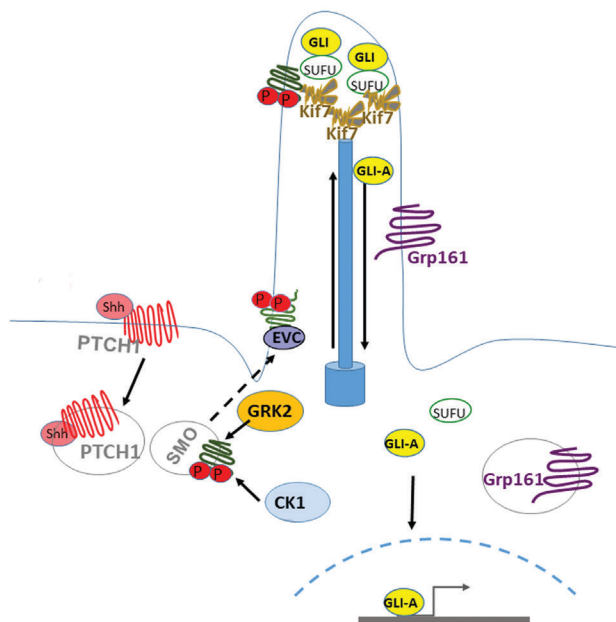
Pod nieobecność Shh, transbłonowe receptory PTCH1 i Gpr161 zlokalizowane są w błonie rzęskowej. PTCH1 hamuje przemieszczanie do rzęski, receptora SMO (ang. *Smoothened*) obecnego w błonie pęcherzyków znajdujących się w cytoplazmie. Z kolei aktywny receptor Gpr161 pobudza cyklazę adenyloową powodując wzrost stężenia cAMP i aktywację kinazy PKA, zlokalizowanej u podstawy rzęski. Kinaza PKA razem z kinazą CK1, i GSK3 β fosforyluje cytoplazmatyczną pulę czynników transkrypcyjnych GLI (GLI 1-3), powodując ich częściową proteolizę do formy nieaktywnej GLI-R (głównie GLI3), która po translokacji do jądra hamuje transkrypcję genów docelowych. Pełnej długości białka GLI2 i GLI3 są obecne w rejonie czubka rzęski, w formie nieaktywnej w kompleksie z białkiem SUFU.

ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA HEDGEHOG (Hh)

A wyłączona



B włączona



Rycina 3. Schemat przebiegu ścieżki sygnałowej Hedgehog w rzęskach pierwotnych. W nieobecności białka Shh, ścieżka sygnałowa Hh wyłączona (A) i w obecności białka Shh, ścieżka sygnałowa Hh włączona (B). Opis w tekście.

Przyłączenie Shh do PTCH1 powoduje internalizację kompleksu PTCH1 i Shh oraz receptora Grp161 do cytoplazmy (co hamuje aktywność kinazy PKA). W tym samym czasie receptor SMO jest fosforylowany na końcu karboksylowym przez kinazę CK1 i GRK2 i tworzy dimer, który z udziałem kinezy Kif3A przemieszcza się do podstawy rzęski, gdzie zakotwicza się z białkami EVC i EVC2 (ang. *Ellisa-van Cre-*

velda) w błonie okołorzęskowej. Aktywny receptor SMO jest transportowany do czubka, gdzie pośredniczy w dysocjacji GLI2 i GLI3 od białka SUFU i ich uaktywnieniu do formy GLI-A (Ryc. 3) [Gorojankina 2016]. Tak więc, aktywacja GLI i powstanie GLI-A wiąże się z przejściowym zahamowaniem dwóch głównych inhibitorów GLI, kinazy PKA i białka SUFU. Mechanizm działania SMO na PKA i SUFU nie jest do końca wyjaśniony. Uważa się, że przy udziale białka z rodziny kinezyn-4, Kif7, GLI odłącza się od SUFU, a w kolejnym etapie GLI-A przemieszcza się do jądra, gdzie uruchamia transkrypcję genów docelowych (np. *HOX*, *WNT*, *FGF-4*, *VEGF*, *CAPN1*, *NRP*) [Schou i wsp. 2015; Gorojankina 2016].

Kluczowe dla ścieżki sygnałowej Hh są białka kompleksów IFT A i IFT B. Są one odpowiedzialne za transport poszczególnych elementów kaskady sygnałowej między rzęską i komórką. W zarodkach myszy mutacje genów kodujących białka IFT172 i IFT88 powodują zmiany charakterystyczne dla zaburzeń w ścieżce sygnałowej Hh [Huangfu i wsp. 2003; Huangfu i Anderson 2005; Ashe i wsp. 2012]. Myszy pozbawione genu *IFT172* miały fenotyp identyczny, jak te z usuniętym genem kodującym SMO. Podobny fenotyp obserwowano w przypadku mutacji genu kodującego kinezę Kif3a, białko motoryczne odpowiedzialne za transport kompleksów IFT B do rzęski. Oprócz kompleksów IFT również strefa przejściowa odgrywa ważną rolę w lokalizacji cząsteczek sygnałowych w rzęsce. Dlatego wiele defektów rozwojowych związanych z ciliopatiami, takich jak polidaktylia w zespole BBS i wady kanału nerwowego w zespole Meckela-Grubera (MKS), mogą wynikać z uszkodzenia ścieżki sygnałowej Hh w rzęsce [Reiter i Leroux 2017] (Tab. 1).

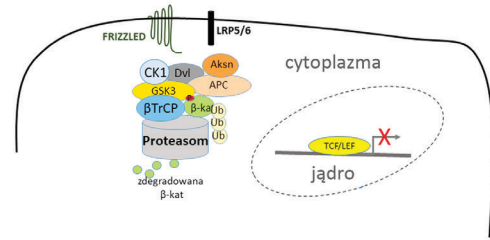
Jak wynika z danych literaturowych, rola rzęsek pierwotnych w ścieżce sygnałowej Hh jest złożona. Rzęski mogą działać zarówno jako pozytywne jak i negatywne regulatory tej ścieżki. Udział rzęsek w szlaku sygnałowym Hh umożliwił wyjaśnienie przyczyny fenotypów związanych ze zmianami rozwojowymi, wynikającymi z zaburzeń tej ścieżki sygnałowej, które są obserwowane w wielu ciliopatiach (Tab. 1), takie jak wady cewy nerwowej [Echelard i wsp. 1993; Haycraft i wsp. 2005; Huangfu i Anderson 2005], polidaktylia [Hui i Joyner 1993; Riddle i wsp. 1993], niedorozwój płuc [Warburton i wsp. 2000] i coloboma (rozszerzenie różnych struktur anatomicznych oka) [Schimmenti i wsp. 2003]. Wszystkie te zaburzenia występują w najcięższej ciliopatii określanej jako zespół Meckela-Grubera [Hartill i wsp. 2017] (Tab. 1). Polidaktylia jest cechą kilku innych ciężkich ciliopatii, w tym zespołu Jouberta, zespołu Bardeta-Biedla i zespołu ustno-twarzowo-palcowego typu I [Waters i Beales 2011].

ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA WNT W RZĘSCE PIERWOTNEJ

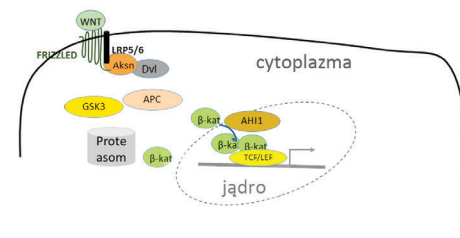
Szlaki sygnałowe Wnt odgrywają ważną rolę w regulacji embriogenezy, różnicowania i proliferacji komórek (Wnt klasyczny/kanoniczny) lub migracji i polaryzacji komórek (Wnt nieklasyczny/niekanoniczny), a przez to w morfogenezie narządów. Białka Wnt są glikoproteinami działającymi zarówno para-, auto- i endokrynnie, a ich synteza, wydzielanie i transport są ściśle regulowane. Głównym receptorem klasycznej ścieżki sygnałowej jest białko Frizzled zlokalizowane w błonie komórkowej w kompleksie z receptorem LRP5/6. Po związaniu Wnt przez receptor Frizzled, dochodzi do ak-

KLASYCZNA ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA WNT

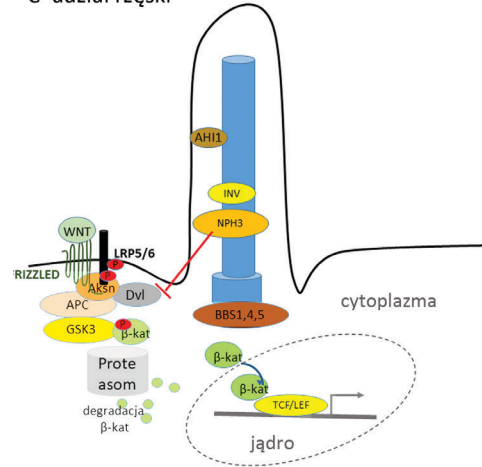
A wyłączona



B włączona



C udział rzęski



Rycina 4. Schemat ścieżki klasycznej Wnt. Przy braku Wnt, ścieżka sygnałowa wyłączona: β-katenina tworzy kompleks z aksyną/APC/GSK3-β/CK1 i ulega fosforylacji z udziałem kinaz GSK3-β i CK1, co umożliwia jej ubiquitytację przez ligazę SCFβ-TrCP i degradację w proteasomie 26S (A). Związanie liganda Wnt z receptorem, ścieżka sygnałowa włączona, indukuje przyłączenie aksyny do ufosforylowanego receptora LRP (ang. Lipoprotein Receptor-related Protein). W kolejnym etapie kompleks aksyna/APC/GSK3-β/CK1 ulega rozpadowi, β-katenina z udziałem AHI (Ahi-1/Jbn) przemieszcza się do jądra, gdzie aktywuje czynnik transkrypcyjny TCF/LEF. Sygnał Wnt, po stymulacji receptora Frizzled, jest przekazywany przez białko Dishevelled (Dvl), które po przyłączeniu do błony wiąże aksynę (Aksn) (B). W regulacji sygnału/ścieżki Wnt udział rzęski pierwotnej polega na kontroli degradacji Dvl przez białka rzęskowe, Inv i NPH3, oraz przekierowaniu AHI1 do rzęski, co uniemożliwienie przemieszczania się β-kateniny do jądra (C).

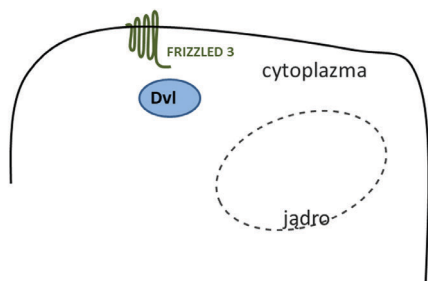
β-kateniny do jądra i aktywację dalszych genów docelowych Wnt [Whewey i wsp. 2018].

Podczas gdy rola rzęsek w klasycznej ścieżce sygnałowej może budzić kontrowersje to prawidłowy przebieg procesu

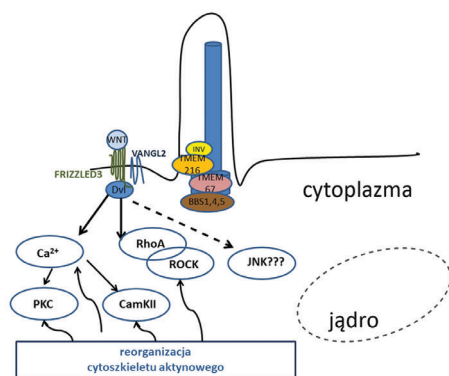
tywacji białka Dishevelled Dvl, białka odpowiedzialnego za wiązanie aksyny do kompleksu receptorowego Frizzled/LRP, i zahamowania aktywności kompleksu degradującego β-kateninę składającego się z 4 białek: GSK3 β, aksyny, CK1 i APC (białko gruczolakowatego polipa okrężnicy). Kompleks ten, kiedy jest aktywny, fosforyluje β-kateninę, która następnie ulega ubiquitytacji z udziałem ligazy SCF^{β-TrCP} i degradacji w proteasomie [Koziański Dobrzyń 2013]. Przyłączenie białek Wnt do receptora Frizzled prowadzi do powstania aktywnego kompleksu receptorowego (Frizzled/LRP), który przyłączając aksynę powoduje rozpad kompleksu degradującego β-kateninę. W konsekwencji dochodzi do akumulacji aktywnej formy β-kateniny oraz jej translokacji do jądra komórkowego (Ryc. 4). Udział rzęsek pierwotnych w klasycznej ścieżce Wnt jest kontrowersyjny [Clevers i Nusse 2012]. Niektóre badania potwierdzają rolę rzęski w przewodzeniu sygnału w szlaku Wnt, inne zaś wykluczają taką możliwość. Na przykład *Danio rerio* z mutacją w genach kodujących białka kompleksu IFT (pozbawiony rzęsek) zachowuje zarówno klasyczny jak i nieklasyczny szlak sygnałowy Wnt [Huang i Schier 2009]. Podobnie, w mutantach myszy pozbawionych rzęsek lub z defektami białek kompleksu IFT A nie obserwuje się zaburzeń w odpowiedzi fibroblastów pochodzących z tych embrionów na cząsteczki Wnt. Komórki w hodowli *in vitro* wykazują prawidłową ekspresję Wnt, aktywację transgenicznego reportera i odpowiedź na ligandy Wnt [Ocbina i wsp. 2009]. Podobnie nie znaleziono zaburzeń klasycznej ścieżki sygnałowej Wnt u myszy pozbawionych NPHP2/inwersyny, mysiego homologa białka nephrocystyny-2 kodowanego przez *NPHP2*, którego mutacja jest przyczyną np. choroby zwyrodnieniowej nerek (nephrofyzy; Tab. 1). Jednak wcześniejsze badania sugerowały, że NPHP2/inwersyna hamuje klasyczną ścieżkę sygnałową Wnt wpływając na degradację cytoplazmatycznego białka z rodziny Dishevelled, Dvl1, kodowanego przez *DVL1* i zaangażowanego w regulację klasycznego szlaku sygnałowego Wnt przez bezpośrednie działanie na receptory Frizzled [Simons i wsp. 2005] (Ryc. 4). Podobnie, mutacja w genie *NPHP3* kodującym inne białko budujące kompleks NPHP strefy przejściowej rzęski zaburza szlak Wnt [Bergmann i wsp. 2008]. Późniejsze badania przeprowadzone na komórkach i zwierzętach transgenicznych wykazały, że rzęski pierwotne odgrywają niezwykle ważną rolę w hamowaniu klasycznego szlaku sygnałowego Wnt. Wady funkcjonowania rzęsek lub ich brak prowadzi do nadmiernej aktywacji sygnału Wnt i zespołu Meckela-Grubera [Whewey i wsp. 2018]. Odwrotnie, myszy ze zmutowanym *AHI1*, kodującym białko rzęskowe Ahi-1/Jbn wykazują brak klasycznej aktywności ścieżki Wnt, co prowadzi do torbielowatości nerek. Co ciekawe, badania ultrastrukturalne nie wykazały defektu w budowie rzęski pierwotnej u tych myszy [Lancaster i wsp. 2009]. Mutacje genu *AHI1* u ludzi powodują zespół Jouberta, ciężką ciliopatię wielonarządową, której jednym z objawów jest wielotorbielowatość nerek [Ferland i wsp. 2004] (Tab. 1). Ahi-1/Jbn pełni w komórce funkcję modulatora szlaku Wnt przez sekwestrację β-kateniny w cytoplazmie i ułatwienie jej jądrowej lokalizacji, gdzie β-katenina oddziałując z czynnikami transkrypcyjnymi TCF/LEF aktywuje transkrypcję genów docelowych szlaku sygnałowego Wnt [Lancaster i wsp. 2011]. Nie jest jednak wiadomo, jaka jest rola rzęski pierwotnej w tym procesie. Wydaje się, że w rzęście pierwotnej, następuje sekwestracja Ahi-1/Jbn, co ogranicza, ale nie całkowicie hamuje przemieszczanie

NIEKLASYCZNA ŚCIEŻKA SYGNAŁOWA WNT/PCP

A wyłączona



B włączona/udział rzęski



Rycina 5. Nieklasyczny szlak sygnałowy Wnt/PCP z udziałem rzęski pierwotnej. Przy braku liganda białko Dvl zlokalizowane jest w cytoplazmie (A). Po aktywacji receptora Frizzled 3 następuje, z udziałem białek strefy przejściowej (Inwersyna, TMEM216, TMEM67), aktywacja i przyłączenie białka Dvl do receptora oraz włączenie i wyłączenie ścieżki sygnałowej z udziałem jonów Ca^{2+} , GTPazy RhoA i zależnej od Rho kinazy ROCK oraz prawdopodobnie kinazy JNK (ang. c-Jun N-terminal kinase) prowadzącej do reorganizacji cytoszkieletu aktynowego (B). Przygotowane na podstawie [Kohn i Moon 2005; Whewey i wsp. 2018].

ciliogenezy [Poprzczycki i wsp. 2018] jest niezbędny w nieklasycznym szlaku Wnt odpowiedzialnym za aktywację szlaku sygnałowego związanego z polaryzacją komórki i tkanki, PCP (ang. *planar cell polarity*), który jest niezależny od β -kateniny i czynników transkrypcyjnych TCF/LEF [Gomez-Orte i wsp. 2013] (Ryc. 5). Szlak sygnałowy PCP reguluje prawidłową polarność komórki i jej migrację, a jego zaburzenia prowadzą m. in. do anomalii w rozwoju embrionalnym w wyniku nieprawidłowej koordynacji ruchu komórek podczas gastrulacji i neurulacji (np. zamykanie cewy nerwowej). Głównymi komponentami szlaku sygnałowego PCP są receptory transbłonowe, Frizzled i Vangl (ang. *Van Gogh Vang lub Vang-like*). Na powiązania tych białek z procesem ciliogenezy brak jest jednoznacznych dowodów. Dodatkowo w nieklasycznym szlaku Wnt/PCP włączone są białka cytoplazmatyczne Dvl i Prickle (Pk) oraz białka zaangażowane w proces ciliogenezy budujące rzęski lub ciała podstawowe. Należą do nich Odf1, inwersyna/PHP2 (tworząca kompleks z Dvl), białka tworzące kompleks BBS, oraz transbłonowe białko TMEM216 i TMEM67/MKS/Meckelin. Białka Dvl1, Odf1, TMEM216 i TMEM67 są niezbędne w zakotwiczeniu ciałek podstawowych w trakcie ciliogenezy [Kohn i Moon 2005; Park i wsp. 2001; Pazour i wsp. 2002b; Prevo i wsp. 2017]. Ponadto Dvl1, reguluje nagromadzenie mikrofilamentów aktyny w warstwie podbłonowej, zaś

obniżenie poziomu TMEM216 powoduje nie tylko zaburzenia ciliogenezy, ale również zwiększoną aktywację białka RhoA i Dvl1. Mutacje TMEM216 i TMEM67/MKS/Meckelin związane są z zespołami Meckela oraz Jouberta [Valente i wsp. 2010; Wallingford i Mitchell 2011] (Tab. 1).

Defekty w funkcjonowaniu białek regulujących biogenezę ciała podstawowego i jego migrację oraz kotwiczenie do błony komórkowej prowadzą do złożonych zaburzeń PCP, przejawiających się w wadach cewy nerwowej i defektach ucha wewnętrznego, gdzie kinocilium w komórkach ucha wewnętrznego jest niezbędne dla polaryzacji wiązki stereocylii. [Falki i wsp. 2015]. Brak lub dysfunkcja kinocilium zdiagnozowano w zespole Ushera (ang. *Usher syndrome*, Tab. 1). Dlatego też wady w funkcjonowaniu rzęsek mogą prowadzić do dziedzicznych form wrodzonej głuchoty, obok barwnikowego zwyrodnienia siatkówki w zespole Ushera [Soruch i wsp. 2014] (Tab. 1).

Dalsze dowody sugerujące związek między rzęskami i ścieżką sygnałową PCP pochodzą z badań na myszach ze zmutowanymi genami kodującymi białka kompleksu BBS, które odpowiedzialne za zespół Bardet-Biedla. Utrata genów *BBS1*, *BBS4* lub *BBS6* powodowała fenotyp myszy z otwartymi powiekami i zdezorganizowanym ułożeniem stereocylii w uchu wewnętrznym, czyli cech charakterystycznych w zaburzonej ścieżce sygnałowej PCP [Ross i wsp. 20065].

NPHP2/inwersyna i Dvl1 są również komponentami klasycznego szlaku Wnt. Jednak w przeciwieństwie do szlaku klasycznego, gdzie NPHP2/inwersyna jest negatywnym regulatorem, w nieklasycznej ścieżce Wnt, promuje ona ścieżkę sygnałową PCP, co może wskazywać, że białko to zlokalizowane u podstawy rzęski pełni funkcję przełącznika pomiędzy szlakiem WNT/PCP a WNT/ β -katenina [Simons i wsp. 2005].

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

W ostatnim czasie uzyskano wiele danych wskazujących na rolę rzęski w etiologii chorób człowieka. Identyfikacja monogenicznych podstaw ludzkich ciliopatii wykazała powiązania pomiędzy zaburzeniami licznych szlaków sygnałowych a patogenezą tych chorób. Jak dotąd, diagnostyka ciliopatii związanych z dysfunkcją rzęsek ruchomych opiera się na analizie ultrastruktury rzęsek przy użyciu mikroskopii elektronowej i obserwacji zmian ruchu rzęsek w materiale pobranym od pacjentów (Tab. 2). Taka strategia często zawodzi i jest bardzo czasochłonna. Identyfikacja nowych genów, których mutacje mogą być przyczyną zmian fenotypowych, w znacznym stopniu zwiększa szansę pacjentów na prawidłową diagnostykę (badania genetyczne). W przypadku ciliopatii związanych z dysfunkcją rzęsek pierwotnych heterogeniczność genetyczna oraz zmiany fenotypowe, charakterystyczne dla różnych zespołów chorobowych (Tab. 1) stanowią poważne wyzwanie dla lekarzy zajmujących się diagnostyką tych zaburzeń. Dlatego pacjent bardzo często otrzymuje odmienne diagnozy od klinicystów różnych specjalności. Testy genetyczne i sekwencjonowanie całego genomu mogą więc stanowić niezwykle przydatne narzędzie diagnostyczne pozwalające na reklasyfikację złożonych fenotypów ciliopatii w oparciu o identyfikowane mutacje genetyczne. Aby jednak nastąpił dalszy postęp zarówno w diagnostyce jak i leczeniu osób cierpiących z powodu ciliopatii niezbędne są badania mające na celu pełniejsze

Tabela 2. Geny, których mutacje są związane z Pierwotną Dyskinezą Rzęsek (PCD).

Mutacje w genach	Lokalizacja w rzęście	Fenotyp rzęski	Miejsce zmian patologicznych
<i>HYDIN, STK36, SPAG17</i>	Para centralna	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki
<i>DRC1, GAS8/DRC4, CCDC65/DRC2,</i>	Białka kompleksu N-DRC	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki
<i>DNAH5, C21ORF59/CFAP298, DNAH11, DNAL1, DNAH8, DNAI1, DNAI2, CCDC103, TXNCD3 NME8/</i>	Białka ODA,	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki, <i>situs inversus</i>
<i>DNAH1/HDHC7</i>	Białka IDA	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki
<i>CCDC114, ARMC4, CCDC151, TTC25</i>	Białka kompleksu kotwiczącego ODA	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki, <i>situs inversus</i>
<i>DNAAF1, DNAAF2, DNAAF3, DNAAF4, DNAAF5, LRRC6, SPAG1, ZMYND10, C21ORF59/CFAP298, LRRC6, PIH1D3</i>	Białka odpowiedzialne za organizację ODA i IDA		górne drogi oddechowe, mózg, plemniki, <i>situs inversus</i>
<i>RSPH1, RSPH4A, RSPH3, RSPH9</i>	Promienie łączące	rzęski nieruchome	górne drogi oddechowe, mózg, plemniki

Geny odpowiedzialne za zespół Kartagenera (wytluszczone). Częstość występowania PCD w populacji 1:16 000. Informacje zestawione w tabeli 1 przygotowano na podstawie informacji na stronie Genetics Home Reference <https://ghr.nlm.nih.gov/>

zrozumienie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw rozwoju tych chorób.

PIŚMIENNICTWO

- Ashe A, Butterfield NC, Town L, Courtney AD, Cooper AN, Ferguson C, Barry R, Olsson F, Liem KF Jr, Parton RG, Wainwright BJ, Anderson KV, Whitelaw E, Wicking C (2012) Mutations in mouse *Ift144* model the craniofacial, limb and rib defects in skeletal ciliopathies. *Hum Mol Genet* 21: 1808-1823
- Berbari NF, O'Connor AK, Haycraft CJ, Yoder BK (2009) The primary cilium as a complex signaling center. *Curr Biol* 19: R526-535
- Bergmann C, Fliegauf M, Brüchele NO, Frank V, Olbrich H, Kirschner J, Schermer B, Schmedding I, Kispert A, Kränzlin B, Nürnberg G, Becker C, Grimm T, Girschick G, Lynch SA, Kelehan P, Senderek J, Neuhaus TJ, Stallmach T, Zentgraf H, Nürnberg P, Gretz N, Lo C, Lienkamp S, Schäfer T, Walz G, Benzing T, Zerres K, Omran H (2008) Loss of nephrocystin-3 function can cause embryonic lethality, Meckel-Gruber-like syndrome, *situs inversus*, and renal-hepatic-pancreatic dysplasia. *Am J Hum Genet* 82: 959-970
- Boehlke C, Kotsis F, Patel V, Braeg S, Voelker H, Bredt S, Beyer T, Janusch H, Hamann C, Gödel M, Müller K, Herbst M, Hornung M, Doerken M, Köttgen M, Nitschke R, Igarashi P, Walz G, Kuehn EW (2010) Primary cilia regulate mTORC1 activity and cell size through Lkb1. *Nat Cell Biol* 12: 1115-1122
- Braun DA, Hildebrandt F (2017) Cilipathies. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9: a028191
- Cardenas-Rodriguez M, Badano JL (2009) Ciliary biology: understanding the cellular and genetic basis of human ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 151C: 263-280
- Clevers H, Nusse R (2012) Wnt/beta-catenin signaling and disease. *Cell* 149: 1192-1205
- Coutton C, Vargas AS, Amiri-Yekta A, Kherraf ZE, Ben Mustapha SF, Le Tanno P, Wambergue-Légrand C, Karaouzen T, Martinez G, Crouzy S, Daneshpour A, Hosseini SH, Mitchell V, Halouani L, Marrakchi O, Makni M, Latrous H, Kharouf M, Deleuze JF, Boland A, Hennebicq S, Satre V, Jouk PS, Thierry-Mieg N, Conne B, Dacheux D, Landrein N, Schmitt A, Stouvenel L, Lorès P, El Khouri E, Bottari SP, Fauré J, Wolf JP, Pernet-Gallay K, Escoffier J, Gourabi H, Robinson DR, Nef S, Dulouost E, Zouari R, Bonhivers M, Touré A, Arnoult C, Ray PF (2018) Mutations in *CFAP43* and *CFAP44* cause male infertility and flagellum defects in *Trypanosoma* and human. *Nat Commun* 9: 686
- Delling M, Indzhukulian AA, Liu X, Li Y, Xie T, Corey DP, Clapham DE (2016) Primary cilia are not calcium-responsive mechanosensors. *Nature* 531: 656-660
- Echelard YJ, Epstein DJ, St-Jacques B, Shen L, Mohler J, McMahon JA, McMahon AP (1993) Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell* 75: 1417-1430
- Falk N, Lösl M, Schröder N, Gießl A (2015) Specialized cilia in mammalian sensory systems. *Cells* 4: 500-519
- Ferland RJ, Eyaid W, Collura RV, Tully LD, Hill RS, Al-Nouri D, Al-Rumayyan A, Topcu M, Gascon G, Bodell A, Shugart YY, Ruvolo M, Walsh CA (2004) Abnormal cerebellar development and axonal decussation due to mutations in *AHI1* in Joubert syndrome. *Nat Genet* 36: 1008-1013
- Fliegauf M, Benzing T, Omran H (2007) When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 880-893
- Fu G, Wang Q, Phan N, Urbanska P, Joachimiak E, Lin J, Włoga D, Nicastro D (2018) The I1 dynein-associated tether and tether head complex is a conserved regulator of ciliary motility. *Mol Biol Cell* 29:1048-1059
- Funabashi T, Katoh Y, Michisaka S, Terada M, Sugawa M, Nakayama K (2017) Ciliary entry of KIF17 is dependent on its binding to the IFT-B complex via IFT46-IFT56 as well as on its nuclear localization signal. *Mol Biol Cell* 28: 624-633
- Garcia-Gonzalo FR, Reiter JF (2017) Open Sesame: How Transition Fibers and the Transition Zone Control Ciliary Composition. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9: a028134
- Genetics Home Reference <https://ghr.nlm.nih.gov/>
- Goetz SC, Anderson KV (2010) The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet* 11: 331-344
- Gomez-Orte E, Saenz-Narciso B, Moreno S, Cabello J (2013) Multiple functions of the noncanonical Wnt pathway. *Trends Genet* 29: 545-553
- Gorojankina T (2016) Hedgehog signaling pathway: a novel model and molecular mechanisms of signal transduction. *Cell Mol Life Sci* 73:1317-1332
- Hanaoka K, Qian F, Boletta A, Bhunia AK, Piontek K, Tsiokas L, Sukhatme VP, Guggino WB, Germino GG (2000) Co-assembly of polycystin-1 and -2 produces unique cation-permeable currents. *Nature* 408: 990-994
- Harris PC, Torres V E (2009) Polycystic kidney disease. *Annu Rev Med* 60: 321-337
- Hartill V, Szymanska K, Sharif SM, Wheway G, Johnson CA (2017) Meckel-Gruber syndrome: an update on diagnosis, clinical management, and research advances. *Front Pediatr* 5: 244
- Haycraft CJ, Banizs B, Aydin-Son Y, Zhang Q, Michaud EJ, Yoder BK (2005) *Gli2* and *Gli3* localize to cilia and require the intraflagellar transport protein *polaris* for processing and function. *PLoS Genet* 1: e53

- Hsu Y, Garrison JE, Kim G, Schmitz AR, Searby CC, Zhang Q, Datta P, Nishimura DY, Seo S, Sheffield VC (2017) BBSome function is required for both the morphogenesis and maintenance of the photoreceptor outer segment. *PLoS Genet* 13:e1007057
- Huang P, Schier AF (2009) Dampened Hedgehog signaling but normal Wnt signaling in zebrafish without cilia. *Development* 136: 3089-3098
- Huangfu D, Liu A, Rakeman AS, Murcia NS, Niswander L, Anderson KV (2003) Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature* 426: 83-87
- Huangfu D, Anderson KV (2005) Cilia and Hedgehog responsiveness in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 11325-11330
- Hui CC, Joyner AL (1993) A mouse model of greig cephalopolysyndactyly syndrome: the extra-toes1 mutation contains an intragenic deletion of the *Gli3* gene. *Nat Genet* 3: 241-246
- Iannaccone A, Mykytyn K, Persico AM, Searby CC, Baldi A, Jablonski MM, Sheffield VC (2005) Clinical evidence of decreased olfaction in Bardet-Biedl syndrome caused by a deletion in the *BBS4* gene. *Am J Med Genet A* 132A: 343-346
- Ishikawa H, Marshall WF (2011) Ciliogenesis: building the cell's antenna. *Nature Rev Mol Cell Biol* 12: 222-234
- Jan LY, Revel J-P. (1974) Ultrastructural localization of rhodopsin in the vertebrate retina. *J Cell Biol* 62: 257-273
- Jenkins PM, McEwen DP, Martens JR (2009) Olfactory cilia: linking sensory cilia function and human disease. *Chem Senses* 34: 451-464
- Joachimiak E (2018a) Budowa ciałka podstawowego i centrioli. *Kosmos* 67: 151-162
- Joachimiak E (2018b) Na granicy ciałka podstawowego i rzęski - bariera rzęskowa. *Kosmos* 67: 171-178
- Kohn AD, Moon RT (2005) Wnt and calcium signaling: beta-catenin-independent pathways. *Cell Calcium* 38: 439-446
- Kleene SJ (2008) The electrochemical basis of odor transduction in vertebrate olfactory cilia. *Chem Senses* 33: 839-859
- Koziński K, Dobrzyń A (2013) Wnt signaling pathway - its role in regulation of cell metabolism. *Postępy Hig Med Dośw* 67: 1098-1108
- Kozminski KG, Johnson KA, Forscher P, Rosenbaum JL (1993) A motility in the eukaryotic flagellum unrelated to flagellar beating. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 5519-5523
- Kubo T, Hou Y, Cochran DA, Witman GB, Oda T (2018) A microtubule-dynein tethering complex regulates the axonemal inner dynein f (I1). *Mol Biol Cell* 29: 1060-1074
- Kulaga HM, Leitch CC, Eichers ER, Badano JL, Lesemann A, Hoskins BE, Lupski JR, Beales PL, Reed RR, Katsanis N (2004) Loss of BBS proteins causes anosmia in humans and defects in olfactory cilia structure and function in the mouse. *Nat Genet* 36: 994-998
- Lancaster MA1, Louie CM, Silhavy JL, Sintasath L, Decambre M, Nigam SK, Willert K, Gleeson JG (2009) Impaired Wnt-beta-catenin signaling disrupts adult renal homeostasis and leads to cystic kidney ciliopathy. *Nat Med* 15: 1046-1054
- Lancaster MA, Schroth J, Gleeson JG (2011) Subcellular spatial regulation of canonical Wnt signalling at the primary cilium. *Nat Cell Biol* 13: 700-707
- Lu CJ, Du H, Wu J, Jansen DA, Jordan KL, Xu N, Sieck GC, Qian Q (2008) Non-random distribution and sensory functions of primary cilia in vascular smooth muscle cells. *Kidney Blood Press Res* 31: 171-184
- Madhivanan K, Aguilar RC (2014) Ciliopathies: The trafficking connection. *Traffic* 15: 1031-1056
- Malicki JJ, Avidor-Reiss T (2014) From the cytoplasm into the cilium: Bon voyage. *Organogenesis* 10: 138-157
- Marszalek JR, Liu X, Roberts EA, Chui D, Marth JD, Williams DS, Goldstein LS (2000) Genetic evidence for selective transport of opsin and arrestin by kinesin-II in mammalian photoreceptors. *Cell* 102: 175-187
- Masyuk AI, Masyuk TV, Splinter PL, Huang BQ, Stroope AJ, LaRusso NF (2006) Cholangiocyte cilia detect changes in luminal fluid flow and transmit them into intracellular Ca²⁺ and cAMP signaling. *Gastroenterology* 131: 911-920
- McEwen DP, Jenkins PM, Martens JR (2008) Olfactory cilia: our direct neuronal connection to the external world. *Curr Top Dev Biol* 85: 333-370
- McEwen DP, Koenekoop RK, Khanna H, Jenkins PM, Lopez I, Swaroop A, Martens JR (2007) Hypomorphic CEP290/NPHP6 mutations result in anosmia caused by the selective loss of G proteins in cilia of olfactory sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 15917-15922
- McGlashan SR, Haycraft CJ, Jensen CG, Yoder BK, Poole CA (2006) Articular cartilage and growth plate defects are associated with chondrocyte cytoskeletal abnormalities in *Tg737orp* mice lacking the primary cilia protein polaris. *Matrix Biol* 26: 234-246
- McGrath J, Somlo S, Makova S, Tian X, Brueckner M (2003) Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell* 114: 61-73
- Mitchison HM, Schmidts M, Loges NT, Freshour J, Dritsoula A, Hirst RA, O'Callaghan C, Blau H, Al Dabbagh M, Olbrich H, Beales PL, Yagi T, Mussaffi H, Chung EM, Omran H, Mitchell DR (2012) Mutations in axonemal dynein assembly factor DNAAF3 cause primary ciliary dyskinesia. *Nat Genet* 44: 381-389
- Mitchison HM, Valente EM (2017) Motile and non-motile cilia in human pathology: from function to phenotypes. *J Pathol* 241: 294-309
- Nachury MV, Seeley ES, Jin H (2010) Trafficking to the ciliary membrane: How to get across the periciliary diffusion barrier? *Annu Rev Cell Dev Biol* 26: 59-87
- Nauli SM, Kawanabe Y, Kaminski JJ, Pearce WJ, Ingber DE, Zhou J (2008) Endothelial cilia are fluid shear sensors that regulate calcium signaling and nitric oxide production through polycystin-1. *Circulation* 117: 1161-1171
- Ocbina PJ, Tuson M, Anderson KV (2009) Primary cilia are not required for normal canonical Wnt signaling in the mouse embryo. *PLoS ONE* 4: e6839
- Ojeda Naharros I, Gesemann M, Mateos JM, Barmettler G, Forbes A, Ziegler U, Neuhaus SCF, Bachmann-Gagescu R (2017) Loss-of-function of the ciliopathy protein *Cc2d2a* disorganizes the vesicle fusion machinery at the periciliary membrane and indirectly affects Rab8-trafficking in zebrafish photoreceptors. *PLoS Genet* 13: e1007150
- Omran H, Kobayashi D, Olbrich H, Tsukahara T, Loges NT, Hagiwara H, Zhang Q, Leblond G, O'Toole E, Hara C, Mizuno H, Kawano H, Fliegauf M, Yagi T, Koshida S, Miyawaki A, Zentgraf H, Seithe H, Reinhardt R, Watanabe Y, Kamiya R, Mitchell DR, Takeda H (2008) *Ktu*/*PF13* is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 456: 611-616
- Park TJ, Mitchell BJ, Abitua PB, Kintner C, Wallingford JB (2008) Disheveled controls apical docking and planar polarization of basal bodies in ciliated epithelial cells. *Nat Genet* 40: 871-879
- Pazour GJ, Baker SA, Deane JA, Cole DG, Dickert BL, Rosenbaum JL, Witman GB, Besharse JC (2002a) The intraflagellar transport protein, IFT88, is essential for vertebrate photo-receptor assembly and maintenance. *J Cell Biol* 157: 103-113
- Pazour GJ, San Agustin JT, Follit JA, Rosenbaum JL, Witman GB (2002b) Polycystin-2 localizes to kidney cilia and the ciliary level is elevated in *orp* mice with polycystic kidney disease. *Curr Biol* 12: R378-380
- Poprzeczko M, Joachimiak E, Włoga D, Fabczak H (2018) Biogeneza rzęski pierwotnej. *Kosmos* 67: 179-194
- Praetorius HA, Spring KR (2003) The renal cell primary cilium functions as a flow sensor. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 12: 517-520
- Prevo B, Scholey JM, Peterman EJG (2017) Intraflagellar transport: mechanisms of motor action, cooperation, and cargo delivery. *FEBS J* 284: 2905-2931
- Reiter JF, Leroux M R (2017) Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18: 533-547
- Riddle RD, Johnson RL, Laufer E, Tabin C (1993) Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA. *Cell* 75: 1401-1416
- Ross AJ1, May-Simera H, Eichers ER, Kai M, Hill J, Jagger DJ, Leitch CC, Chapple JP, Munro PM, Fisher S, Tan PL, Phillips HM, Leroux MR, Henderson DJ, Murdoch JN, Copp AJ, Eliot MM, Lupski JR, Kemp DT, Dollfus H, Tada M, Katsanis N, Forge A, Beales PL. (2005). Disruption

- of Bardet-Biedl syndrome ciliary proteins perturbs planar cell polarity in vertebrates. *Nat Genet* 37: 1135-1140
- Santos N, Reiter JF (2014) A central region of Gli2 regulates its localization to the primary cilium and transcriptional activity. *J Cell Sci* 127: 1500-1510
- Schimmenti LA, de la Cruz J, Lewis RA, Karkera JD, Manligas GS, Roessler E, Muenke M. (2003) Novel mutation in sonic hedgehog in nonsyndromic colobomatous microphthalmia. *Am J Med Genet A* 116A: 215-221
- Schou KB, Pedersen LB, Christensen ST (2015) Ins and outs of GPCR signaling in primary cilia. *16: 1099-1113*
- Sha YW, Wang X, Xu X, Su ZY, Cui Y, Mei LB, Huang XJ, Chen J, He XM, Ji ZY, Bao H, Yang X, Li P, Li L. (2017) Novel Mutations in CFAP44 and CFAP43 Cause Multiple Morphological Abnormalities of the Sperm Flagella (MMAF). *Reprod Sci* 1: 933719117749756
- Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, Low SH, Hedgepeth R, Brown N, Flask CA, Novick AC, Goldfarb DA, Kramer-Zucker A, Walz G, Pirotek KB, Germino GG, Weimbs T. (2006) The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 5466-5471
- Simons M, Gloy J, Ganner A, Bullerkotte A, Bashkurov M, Krönig C, Schermer B, Benzing T, Cabello OA, Jenny A, Mlodzik M, Polok B, Driever W, Obara T, Walz G (2005) Inversin, the gene product mutated in nephronophthisis type II functions as a molecular switch between Wnt signaling pathways. *Nat Genet* 37:537-543
- Singla V, Reiter JF (2006) The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science* 313: 629-633
- Sobkowicz HM, Slapnick SM, August BK (1995) The kinocilium of auditory hair cells and evidence for its morphogenetic role during the regeneration of stereocilia and cuticular plates. *J Neurocytol* 24: 633-653
- Sorusch N, Wunderlich K, Bauss K, Nagel-Wolfrum K, Wolfrum U (2014) Usher syndrome protein network functions in the retina and their relation to other retinal ciliopathies *Adv Exp Med Biol* 801: 527-533
- Su CY, Menuz K, Carlson JR (2009) Olfactory perception: receptors, cells, and circuits. *Cell* 139: 45-59
- Tang S, Wang X, Li W, Yang X, Li Z, Liu W, Li C, Zhu Z, Wang L, Wang J, Zhang L, Sun X, Zhi E, Wang H, Li H, Jin L, Luo Y, Wang J, Yang S, Zhang F (2017) Biallelic mutations in cfap43 and cfap44 cause male infertility with multiple morphological abnormalities of the sperm flagella. *Am J Hum Genet* 100: 854-864
- Tarkar A, Loges NT, Slagle CE, Francis R, Dougherty GW, Tamayo JV, Shook B, Cantino M, Schwartz D, Jahnke C, Olbrich H, Werner C, Raidt J, Pennekamp P, Abouhamed M, Hjejij R, Köhler G, Griese M, Li Y, Lemke K, Klana N, Liu X, Gabriel G, Tobita K, Jaspers M, Morgan LC, Shapiro AJ, Letteboer SJ, Mans DA, Carson JL, Leigh MW, Wolf WE, Chen S, Lucas JS, Onoufriadis A, Plagnol V, Schmidts M, Boldt K; UK10K, Roepman R, Zariwala MA, Lo CW, Mitchison HM, Knowles MR, Burdine RD, Loturco JJ, Omran H (2013) DYX1C1 is required for axonemal dynein assembly and ciliary motility. *Nat Genet* 45: 995-1003
- Thompson JA, De Roach JN, McLaren TL, Lamey TM (2018) Leber Congenital Amaurosis: Identification of disease-causing variants and personalised therapies. *Adv Exp Med Biol* 1074: 265-271
- Urbańska P, Joachimiak E, Bazan R, Fabczak H, Włoga D (2018a) Budowa rzęsek-od ultrastruktury do funkcji. *Kosmos* 67: 195-206
- Urbanska P, Joachimiak E, Bazan R, Fu G, Poprzeczko M, Fabczak H, Nicastro D, Włoga D (2018b) Ciliary proteins Fap43 and Fap44 interact with each other and are essential for proper cilia and flagella beating. *Cell Mol Life Sci* doi: 10.1007/s00018-018-2819-7
- Valente EM, Logan CV, Mougou-Zerelli S, Lee JH, Silhavy JL, Brancati F, Iannicelli M, Travaglini L, Romani S, Illi B, Adams M, Szymanska K, Mazzotta A, Lee JE, Tolentino JC, Swistun D, Salpietro CD, Fede C, Gabriel S, Russ C, Cibulskis K, Sougnez C, Hildebrandt F, Otto EA, Held S, Diplas BH, Davis EE, Mikula M, Strom CM, Ben-Zeev B, Lev D, Sagie TL, Michelson M, Yaron Y, Krause A, Boltshauser E, Elkhartoufi N, Roume J, Shalev S, Munnich A, Saunier S, Inglehearn C, Saad A, Alkindy A, Thomas S, Vekemans M, Dallapiccola B, Katsanis N, Johnson CA, Attié-Bitach T, Gleeson JG (2010) Mutations in TMEM216 perturb ciliogenesis and cause Joubert, Meckel and related syndromes. *Nat Genet* 42: 619-625
- Wallingford JB, Mitchell B (2011) Strange as it may seem: the many links between Wnt signaling, planar cell polarity, and cilia. *Genes Dev* 25: 201-213
- Warburton D, Schwarz M, Tefft D, Flores-Delgado G, Anderson KD, Cardoso WV (2000) The molecular basis of lung morphogenesis. *Mech Dev* 92: 55-81
- Waters AM, Beales PL (2011) Ciliopathies: an expanding disease spectrum. *Pediatr Nephrol* 26: 1039-1056
- Whewy G, Nazlamova L, Hancock JT (2018) Signaling through the primary cilium. *Front Cell Dev Biol* 6: 8
- Yoder BK, Hou X, Guay-Woodford LM (2002) The polycystic kidney disease proteins, polycystin-1, polycystin-2, polaris, and cystin, are co-localized in renal cilia. *J Am Soc Nephrol* 13: 2508-2516
- Yoshida S, Hamada H (2014) Roles of cilia, fluid flow, and Ca²⁺ signaling in breaking of left-right symmetry. *Trends Genet* 30:10-17
- Yuan S, Sun Z (2013) Expanding horizons: ciliary proteins reach beyond cilia. *Annu Rev Genet* 47: 353-576

Ciliopatias - diseases caused by abnormal cilia functioning

Ewa Joachimiak¹, Dorota Włoga¹, Anna Filipek², Hanna Fabczak^{1,✉}

¹Laboratory of Cytoskeleton and Cilia Biology, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, 3 Pasteura St., 02-093 Warsaw, Poland

²Laboratory of Calcium Binding Proteins, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, 3 Pasteura St., 02-093 Warsaw, Poland

✉e-mail: h.fabczak@nencki.gov.pl

Key words: primary cilia, motile cilia, ciliopatias, basal body

ABSTRACT

Ciliopathies are a group of genetic diseases caused by defects in the function of cilia, that are cellular organelles composed of a microtubule-based core. Ciliopathies present with pathological changes in one or many organs at the same time. Symptoms of ciliopathies depend on the type of damaged tissues and organs. The most common are polycystic kidney and liver, blindness, dysfunction of neural tube, brain anomalies, mental retardation, abnormalities in skeletal system from polydactyly to abnormal short ribs and limbs, abnormalities in ectoderms, obesity, *situs inversus*, infertility and infections of the upper airways. Both basic and clinical studies provide data regarding novel ciliary proteins the lack or mutation of which are associated with cilia dysfunction and which, in consequence, may give rise to ciliopathies. The number of ciliopathies (35 known at present) is still increasing due to identification of additional genes (187 identified up to now) directly connected with these diseases. In this work, the most important mechanisms responsible for abnormal cilia formation and functioning, that constitute the primary cause of ciliopathies, are presented.