

KAROLINA WALKOWIAK, JOANNA PACHOLSKA-BOGALSKA, MONIKA SZYMCZAK,
GRZEGORZ ROSIŃSKI

*Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt
Instytut Biologii Eksperymentalnej
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Umultowska 89, 61-614 Poznań
E-mail: walkarola@gmail.com*

OWADY – ALTERNATYWNE ORGANIZMY MODELOWE DO BADAŃ CHOROÓB CZŁOWIEKA*

WSTĘP

W badaniach etiologii, przebiegu i leczenia chorób człowieka od wielu lat, jako organizmy modelowe wykorzystywane są kręgowce, głównie myszy, szczury czy świnię (DE GREEVE i współaut. 2004, GELSOMINO i współaut. 2013). Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują jednak, że dla potrzeb tego rodzaju badań, zarówno w zakresie analiz porównawczych, jak i przedklinicznych, z powodzeniem mogą być wykorzystywane bezkręgowce, a zwłaszcza owady (BIER i BODMER 2004, WELLS i WELLS 2005, AMBEGAOKAR i współaut. 2010, BIRSE i BODMER 2011, ZONG i współaut. 2013). Krótki cykl życiowy, niskie koszty hodowli, duża liczba potomstwa wydawanego w krótkich okresach, a także zdobycze ostatnich lat, takie jak poznanie genomów kilku gatunków owadów oraz rozwój narzędzi genetycznych i udoskonalenie metod badawczych sprzyjają wykorzystaniu tych zwierząt w szerokim zakresie podstawowych badań fizjologicznych, biochemicznych, genetycznych i molekularnych (WELLS i WELLS 2005, MATSUMOTO i współaut. 2011, NA i współaut. 2013).

Choć pomiędzy owadami a ssakami występują zasadnicze różnice, m.in. w morfologii i anatomii poszczególnych układów, to

istniejące podobieństwa w strukturze, ekspresji i regulacji aktywności genów, przebiegu szlaków sygnalizacyjnych, transporcie międzykomórkowym, a także w synaptogenezie czy mechanizmach indukcji śmierci komórki, stanowią przesłanki przemawiające za wykorzystaniem owadów jako układów modelowych w badaniach chorób człowieka (DE GREEVE i współaut. 2004, AMBEGAOKAR i współaut. 2010, KEIL i STEINBRECHT 2010). Nie bez znaczenia pozostaje też fakt, że badania prowadzone na owadach są zgodne z tzw. zasadą 3R sformułowaną przez RUSSELLA i BURCHA (1959), dotyczącą stosowanej metodyki doświadczalnej, tj. zmniejszenia liczby wykorzystywanych zwierząt (ang. reducing), wykorzystywania modeli alternatywnych (ang. replacing) oraz doskonalenia metod badawczych (ang. refining). Dotychczas w badaniach o znaczeniu biomedycznym wykorzystywano między innymi muchy *Musca domestica* i *Calliphora vicina* oraz szarańczę *Locusta migratoria* do eksperymentów neurobiologicznych, muszkę owocową *Drosophila melanogaster* do badań nad chorobami neurodegeneracyjnymi, kardiologicznymi oraz w zakresie genetyki, farmakologii i biologii molekularnej, a jedwabnika *Bombyx*

*Praca powstała w trakcie realizacji projektu badawczego NCN nr NN303805640.

mori do badań nad cukrzycą (BIER i BODMER 2004, WELLS i WELLS 2005, AMBEGAOKAR

i współaut. 2010, KEIL i STEINBRECHT 2010, MATSUMOTO i współaut. 2011).

WYKORZYSTANIE OWADÓW W MODELOWANIU CHOROÓB NEURODEGENERACYJNYCH

Pomimo znacznie prostszej budowy układu nerwowego muszki owocowej (~200 tysięcy neuronów u muszki, a ~100 miliardów neuronów u ludzi), owad ten wykonuje skomplikowane zadania, takie jak chodzenie, wspinanie się, latanie oraz wykazuje zdolność uczenia się i zapamiętywania (AMBEGAOKAR i współaut. 2010, LENZ i współaut. 2013).

W układzie nerwowym owadów, podobnie jak to ma miejsce u człowieka, dochodzi do różnych zmian w wyniku zachodzących procesów starzenia, co zaznacza się postępującym zanikiem neuronów, gromadzeniem w komórkach lipofuscyny, amyloidu i innych białek. Powstają zwyrodnienia neuroaksonalne, spada poziom neuroprzekaźników, takich jak acetylocholina, kwas gamma-aminomasłowy, serotonina. Dochodzi także do redukcji liczby ich receptorów. Podobnie jak u ludzi, u owadów następuje ograniczenie funkcji poznawczych w wyniku powstawania białkowego prekursora amyloidu (DE GREEVE i współaut. 2004, ZHAO i współaut. 2010).

Muszka owocowa jest jednym z najczęściej badanych gatunków, wykorzystywanym między innymi w badaniach etiologii dystrofii mięśniowej Duchenne'a/Beckera (DMD), choroby Parkinsona, Alzheimerera, Strümpfla, Huntingtona, czy innych chorób ekspansji poliglutaminowych, które związane są z obecnością dużej liczby powtórzeń sekwencji danego trinukleotydu (TERLAU i STÜHMER 1998; TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008a, b; LENZ i współaut. 2013; NA i współaut. 2013). Z uwagi na potrzebę dalszego poszerzenia znajomości przyczyn chorób neurodegeneracyjnych oraz poszukiwanie skutecznych metod leczenia, prowadzone są prace nad modelowaniem neurobiologicznym owada, który stanowiłby dogodny układ doświadczalny do testowania nowych lub udoskonalonych leków, a jednocześnie byłby odpowiedni do prowadzenia dalszych badań nad mechanizmami powstawania i rozwojem chorób człowieka (DE GREEVE i współaut. 2004, WELLS i WELLS 2005, AMBEGAOKAR i współaut. 2010).

WYKORZYSTANIE OWADÓW W BADANIACH CHOROBY ALZHEIMERA

Choroba Alzheimerera jest postępującą, degeneracyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego, charakteryzującą się otępieniem z objawami zaburzenia wyższych czynności korowych, takich jak pamięć, orientacja, aktywność ruchowa, czy rozumienie. Wystąpienie tych objawów związane jest z kumulacją białka β -amyloidu oraz wewnątrzkomórkowych splątków neurofibrylarnych, jako efektu kumulacji białka Tau, co skutkuje m.in. pogorszeniem przewodnictwa synaptycznego lub śmiercią neuronów (SANG i JACKSON 2005, AMBEGAOKAR i współaut. 2010, MHATRE i współaut. 2014). W zdrowych komórkach funkcją białek Tau jest stabilizacja mikrotubul znajdujących się w aksonach, a β -amyloid z kolei odpowiada za wiązanie kationów metali, dzięki czemu pełni funkcję antyoksydacyjną.

Najczęściej wykorzystywanym gatunkiem modelowym owada w badaniach zarówno przyczyn i mechanizmu rozwoju tej choroby, jak i w testowaniu skuteczności potencjalnych środków farmakologicznych

dla jej terapii, jest *D. melanogaster* (WELLS i WELLS 2005, MHATRE i współaut. 2014). Dla celów badawczych wykorzystano transgeniczną muszkę owocową, w mózgu której zachodzi ekspresja genów kodujących białkowy prekursor amyloidu (APP695) i enzym β -sekrează (BACE1), biorący udział w obróbce prekursora amyloidu, w efekcie czego występowały objawy naśladujące chorobę Alzheimerera (GREEVE i współaut. 2004, MHATRE i współaut. 2014). U mutantów tych zaobserwowano zmniejszenie aktywności ruchowej, spadek liczby komórek fotoczułych w płatach wzrokowych, zmiany w układzie nerwowym, szczególnie w obrębie połączeń synaptycznych mózgu, takie jak akumulacja i depozycja białka β -amyloidu, zmiany w obrębie synaps, m.in zmniejszenie ilości mitochondriów, redukcja liczby kolców dendrytycznych, a także spadek całkowitej liczby połączeń synaptycznych w obrębie neuronów ruchowych (GREEVE i współaut. 2004, MHATRE i współaut. 2014).

Glutaminian jest jednym z głównych neuroprzekazników w układzie nerwowym ssaków, pośredniczy w przebiegu procesów leżących u podstaw m.in. uczenia się i zapamiętywania.

W doświadczeniach, w których analizowano połączenia synaptyczne typu nerwowo-mięśniowego u larw *Drosophila*, wykazano wpływ złożeń amyloidu na neuroprzekaznictwo glutaminergiczne (CHEN i współaut. 2014, MHATRE i współaut. 2014). Wyniki uzyskane przez zespół CHEN i współaut. (2014) wskazują, że w efekcie pojawienia się β -amyloidu i białek Tau dochodzi do redukcji ilości mitochondriów w obrębie synaps i wzrostu wakuoli presynaptycznych. Te zmiany z kolei skutkują zahamowaniem wydziela-

nia synaptycznego i dochodzi do zmniejszenia wydajności lokomocji (CHEN i współaut. 2014).

W badaniach dotyczących okołodobowych zmian lokomocji, zespół Chena (CHEN i współaut. 2014) skupia się na aktywności ruchowej *D. melanogaster* i jej zdolności do reagowania na bodźce. Zaobserwowane zmiany w behawiorze transgenicznych muszek *Drosophila* dowodzą, że ekspresja β -amyloidu w układzie nerwowym zaburza cykl okołodobowy aktywności ruchowej tego owada (CHEN i współaut. 2014). W efekcie owady wolniej reagują na bodźce oraz są mniej ruchliwe, co jest skorelowane ze wzrostem ekspresji genu kodującego białko amyloidowe.

OWADZI MODEL CHOROBY PARKINSONA

Choroba Parkinsona jest postępującym, zwyrodnieniowym schorzeniem ośrodkowego układu nerwowego o podłożu genetycznym. Choroba ta jest drugą co do częstości występowania wśród schorzeń neurodegeneracyjnych człowieka (AMBEGAOKAR i współaut. 2010). Związana jest z wystąpieniem mutacji w obrębie grupy genów *PARK* (HAYWOOD i STAVELEY 2004, COOKSON 2005, WELLS i WELLS 2005, THENGANATT i JANKOVIC 2014). Geny *PARK* odpowiadają za syntezę białek, m.in. α -synukleiny, parkiny i dardaryny (LRRK2). Pojawienie się objawów choroby związane jest z wystąpieniem zmian ultrastrukturalnych i biochemicznych w komórkach nerwowych istoty czarnej oraz innych rejonów mózgowia odpowiadających za syntezę dopaminy. Wraz ze stopniowym spadkiem ilości neuronów istoty czarnej zmniejsza się ilość dopaminy produkowanej i wydzielanej do prądkowia. Gdy stężenie neuroprzekaznika osiągnie próg 20–30% wartości prawidłowej, dochodzi do nieprawidłowości w funkcjonowaniu prądkowia i innych części mózgu. W obrazie histopatologicznym widoczne są wtręty cytoplazmatyczne – ciała Lewy'ego, których głównym składnikiem jest białko α -synukleina (AMBEGAOKAR i współaut. 2010, THENGANATT i JANKOVIC 2014). LIU i współaut. (2008) wykazali, że u *Drosophila* podczas ekspresji zmutowanego ludzkiego białka LRRK2 w układzie nerwowym następuje utrata neuronów dopaminergicznych i pojawiają się zaburzenia lokomocji. Nad-ekspresja tego białka wywoływała lżejszą postać parkinsonizmu. U mutantów, którym

wstrzyknięto aminę katecholową L-DOPA, prekursora dopaminy, dochodziło do zmniejszenia zaburzeń lokomocji, jednak zabieg ten nie zapobiegał utracie komórek dopaminergicznych.

Badania prowadzone na owadach pomogły też wyjaśnić wpływ ciał Lewy'ego na powstawanie parkinsonizmu. U transgenicznych muszek z rodzaju *Drosophila*, w mózgu których dochodziło do zwiększenia liczby ciał Lewy'ego, zauważono nadmierną, zależną od wieku, utratę neuronów, podobnie jak ma to miejsce u człowieka (TRINH i współaut. 2008). Warto nadmienić, że α -synukleina budująca ciała Lewy'ego w warunkach fizjologicznych, gdy znajduje się w stanie prawidłowej konformacji przestrzennej, odpowiednim stężeniu i stopniu agregacji, prawdopodobnie zaangażowana jest w regulację transportu pęcherzykowego oraz uwalnianie neuroprzekazników w obrębie synaps (LIU i współaut. 2008, THENGANATT i JANKOVIC 2014). Na podstawie uzyskanych wyników badań zaproponowano modele aktywności neuropatologicznej α -synukleiny, obejmujące potranslacyjne modyfikacje, których wystąpienie związane jest z jej interakcją z innymi białkami i powstawaniem toksycznych złożeń oraz indukcją stresu oksydacyjnego w neuronach, co w efekcie prowadzić może do powstania choroby Parkinsona (TRINH i współaut. 2008). Indukcja stresu oksydacyjnego związana jest prawdopodobnie ze wzrostem ilości złożeń białka i spadku zawartości glutationu (związku o właściwościach przeciwutleniających) oraz jednoczesnego wzrostu poziomu

reaktywnych form tlenu (TRINH i współaut. 2008).

W celu wyjaśnienia roli białka parkin wykorzystano transgeniczne muszki, u których za pomocą RNAi wykonano nokaut genu kodującego białko *PARK1*. W rezultacie za-

obserwowano znacznie przyspieszoną degenerację komórek nerwowych, co potwierdziło korelację między spadkiem ilości białka parkin a wystąpieniem wczesnych objawów choroby Parkinsona (AMBEGAOKAR i współaut. 2010).

OWADZIE MODELE CHORÓB EKSPANSJI POLIGLUTAMINOWYCH

Choroby ekspansji poliglutaminowych spowodowane są wystąpieniem mutacji, w efekcie których powstają ciągi trinukleotydydowych powtórzeń CAG, odczytywane w procesie syntezy białka jako aminokwas glutamina. Do chorób tej podgrupy zaliczyć można chorobę Huntingtona, czy ataksje mózdkowo-rdzeniowe. W chorobach ekspansji trinukleotydydowych w obrazie klinicznym widoczne są inkluzje jądrowe, złożone głównie z białek (WELLS i WELLS 2005, AMBEGAOKAR i współaut. 2010, GREEN i GIORGINI 2012).

Przy wykorzystaniu transgenicznych muszek *Drosophila* z rozwiniętym tzw. traktem poliglutaminowym białek (poliQ białek o zwiększonej ilości glutaminy) zbadano poziom aktywności ataksyny i huntingtyny oraz potencjalną neurotoksyczność tych białek (JACKSON i współaut. 1998, AMBEGAOKAR i współaut. 2010, KRENCH i LITTLETON 2013). Prawdopodobną funkcją huntingtyny jest udział w endocytozie lub transporcie wewnątrzkomórkowym. W związku z mutacją

w obrębie genu kodującego huntingtynę, powstaje białko, które posiada w sekwencji aminokwasowej do 20 reszt glutaminy i nie wykazuje działania *stricte* toksycznego, natomiast w kooperacji z innymi białkami czy peptydami, przyspiesza i wzmacnia wystąpienie zmian neurodegeneracyjnych. Efekt neurotoksyczny tego białka, związany z powstaniem złogów wewnątrzkomórkowych, które przypuszczalnie powodują zmiany w transporcie przez kanały jonowe, zwiększa się, gdy ilość glutaminy w jego cząsteczce przekracza próg 35 reszt glutaminowych (JACKSON i współaut. 1998). W przypadku ataksyny ekspresja zmutowanych genów kodujących białko skutkuje powstaniem produktów podlegających cięciu proteolitycznemu przez kaspazy. Są one następnie transportowane do jądra komórkowego, gdzie grupują się w agregaty, które wpływają na prawidłowe funkcjonowanie czynników transkrypcyjnych (PERUTZ i współaut. 1994).

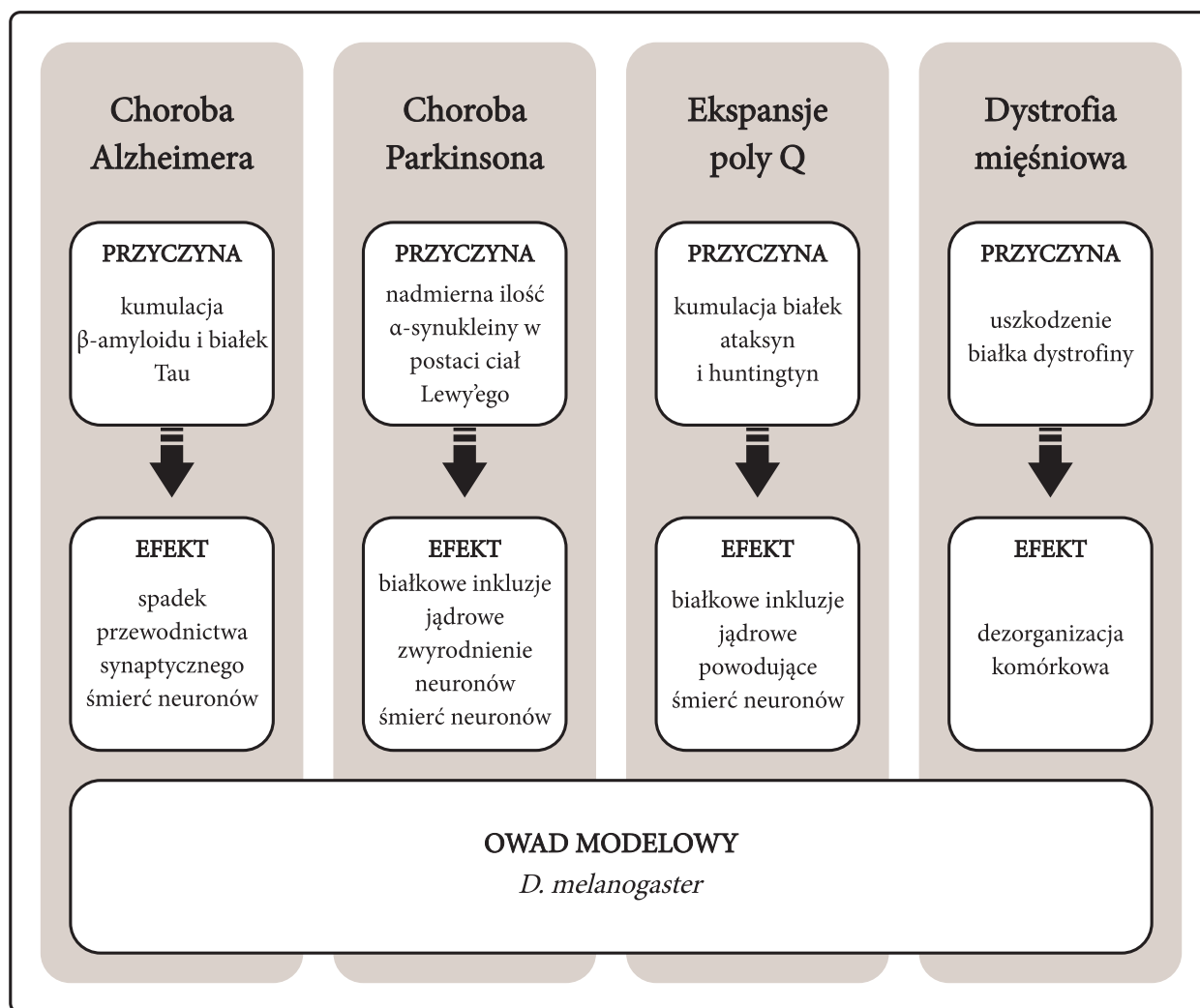
OWADZIE MODELE DLA DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ DUCHENNE'A/BECKERA

Dystrofia mięśniowa występuje pod dwiema postaciami, dystrofii mięśniowej Duchenne'a (DMD) oraz dystrofii mięśniowej Beckera (BMD) o wolniejszym i łagodniejszym przebiegu. Obydwie postacie choroby uwarunkowane są uszkodzeniem genu znajdującego się na chromosomie X, kodującego białko dystrofinę (SANG i JACKSON 2005, WELLS i WELLS 2005, VAN DER PLAS i współaut. 2007). Chorobie tej często towarzyszy kardiomiopatia. Dystrofina łączy inne białka, m.in. dystroglikan, sarkoglikan, sarkospan i syntropinę z cytoszkieletem, dzięki czemu bierze udział w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej i ma wpływ na zachowanie stabilizacji i selektywnej przepuszczalności błony komórkowej (VAN DER PLAS i współaut. 2007, MOSQUEIRA i współaut. 2010). Gen dystrofiny należy do grupy genów konserwowanych ewolucyjnie, a stopień złożoności jego struktury u owa-

dów jest podobny do struktury genu u ssaków.

Sekwencja aminokwasowa dystrofiny izolowanej z *D. melanogaster* wykazuje ponad 54% homologii do sekwencji aminokwasowej dystrofiny ludzkiej (Ryc. 1), a co najważniejsze, zachowane są w niej konserwatywne motywy w regionach odpowiedzialnych za wiązanie się z odpowiednimi białkami, z którymi tworzy kompleksy (MOSQUEIRA i współaut. 2010).

Zespół VAN DER PLAS i współaut. (2007) wykorzystał model owadzi do analizy roli dystrofiny w powstawaniu objawów DMD/BMD, a także badał funkcje izoform dystrofiny, m.in. Dp117, w utrzymaniu integralności mięśni oraz homeostazy synaptycznej u *D. melanogaster*. Uzyskane przez tych autorów dane wskazały, że komórki mięśniowe *Drosophila*, w których poziom Dp117 był niższy, charak-



Ryc. 1. Przykłady zastosowania *D. melanogaster* do badań neurodegeneracyjnych człowieka.

teryzowały się wyższym stopniem dezorganizacji komórkowej. Ponadto duża frakcja komórek wykazywała cechy martwicze (VAN DER PLAS i współaut. 2007). Uzyskane wyniki zwraca

ją uwagę na potencjalnie podobną funkcję innych, ortologicznych genów owadów, które również mogą być zaangażowane w powstawanie czy rozwój tej choroby.

OWADZIE MODELE DO BADAŃ CHOROBY UKŁADU KRWIONOŚNEGO CZŁOWIEKA

Wiele właściwości fizjologicznych, biochemicznych i molekularnych komórek naczyń grzbietowego (serca owada) wskazuje, że zwierzęta te są dogodnymi organizmami modelowymi w badaniach chorób serca człowieka, tak o podłożu strukturalnym, jak i funkcjonalnym (MERY i współaut. 2008, BIRSE i BODMER 2011, ŚLAMA i LUKAŚ 2011, QIAN i BODMER 2012, ŚLAMA 2012, MAGNY i współaut. 2013, VISWANATHAN i współaut. 2013, ZONG i współaut. 2013). Podobnie jak u lu-

dzi, aktywność kurczliwa naczyń grzbietowego owadów indukowana jest endogennie za pomocą miogenego mechanizmu depolaryzacji komórek i modulowana na drodze nerwowej (JOHNSON i współaut. 2002, ŚLAMA i ROSIŃSKI 2005, ŚLAMA i LUKAŚ 2011). Cykl skurczowo-rozkurczowy pracy tego narządu kontrolowany jest przez określone struktury generujące potencjał czynnościowy; u człowieka stanowi je ośrodek bodźcotwórczy, a jego odpowiednikiem u owadów są węzły

regulujące, zlokalizowane najprawdopodobniej w końcowych segmentach miokardium (MARKOU i THEOPHILIDIS 2000, SLAMA 2012, SLAMA i LUKAŚ 2011). Ponadto, badania molekularne wykazały duże podobieństwo zestawu genów zaangażowanych w formowanie i funkcjonowanie serca ludzkiego i owadziego (WOLF i współaut. 2006, BUECHLING i współaut. 2009, YU i współaut. 2010, ABRAHAM i WOLF 2013). Znaczne podobieństwa stwierdzono także w sposobie oddziaływania różnych substancji farmakologicznych na aktywność mechaniczną i bioelektryczną serca owadów i człowieka (MARKOU i THEOPHILIDIS 2000, JOHNSON i współaut. 2002, FELICIANO i współaut. 2011). W ostatnich latach obserwujemy znaczny postęp w badaniach zmian parametrów czynnościowych serca owada w warunkach *in vivo*, będących następstwem określonych mutacji genetycznych, starzenia się lub działających na nie czynników chemicznych. Stało się to możliwe dzięki opracowaniu precyzyjnych technik badawczych optoelektronicznych, termograficznych, mikrograwimetrycznych, mikrohydraulicznych, elektrokardiograficznych, tomografii optycznej z użyciem światła częściowo spójnego (ang. optical coherence tomography, OCT), mikroskopii fluorescencyjnej, wykorzysta-

jącej specyficzną dla miokardium ekspresję białek GFP (ang. green fluorescent protein) czy USG metodą Dopplera (SLAMA i ROSIŃSKI 2005, CHOMA i współaut. 2010, MA i współaut. 2010, SETZU i współaut. 2012). Istotnym uzupełnieniem repertuaru metod wykorzystywanych w badaniach serca owadów są techniki stosowane w biotestach *in vitro*, np. elektrofizjologiczne, mikrodensytometryczne czy mikroskopii wideo połączonej z analizą obrazu dynamicznego, pozwalające na pomiary szeregu parametrów mechanicznych, bioelektrycznych i hemodynamicznych tego narządu (ROSIŃSKI 1995, MARCINIAK i współaut. 2008). Z pomocą biotestów *in vivo* oraz *in vitro* testowano na sercu kilku gatunków owadów różne substancje farmakologiczne o aktywności kardiotropowej np. glikoalkaloidy izolowane z roślin z rodziny Solanaceae, digoksynę czy terfenadynę, oddziałujące na kanały dla jonów wapnia, potasu i sodu w rozruszniku, wpływające na częstotliwość i amplitudę skurczu, zespół długiego odstępu QT oraz wykazujące działanie pro- i antyarytmiczne w czynności tego narządu (JOHNSON i współaut. 2002, AKASAKA i OCORR 2009, FELICIANO i współaut. 2011, SZYMCZAK i współaut. 2014).

OWADZI MODEL W BADANIACH CHOROÓB SERCA ZWIĄZANYCH ZE STARZENIEM

Podczas starzenia się organizmu ludzkiego stopniowo wzrasta ryzyko wystąpienia chorób serca. Szersze poznanie podłoża genetycznego oraz czynników fizjologicznych i środowiskowych, przyczyniających się do powstawania tych chorób jest wymagane dla opracowania bardziej precyzyjnych i czułych metod diagnozowania i skutecznych sposobów leczenia schorzeń tego narządu. Dlatego przy opracowywaniu nowych metod istotnym jest zastosowanie odpowiedniego modelu zwierzęcego, który pozwalałby ocenić ryzyko wystąpienia chorób serca i mógł być wykorzystany w poszukiwaniu właściwych terapii dla określonych schorzeń (BIER i BODMER 2004, OCORR i współaut. 2007).

U owadów, podobnie jak u człowieka, wraz z wiekiem spada wydolność pracy serca i dochodzi do powstawania zaburzeń w jego aktywności kurczliwej (BIER i BODMER 2004; OCORR i współaut. 2007; TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008a, b; NISHIMURA i

współaut. 2011). Podczas starzenia u owadów zwiększa się częstość występowania zaburzeń rytmu serca, dochodzi do zmian parametrów bioelektrycznych i hemodynamicznych, dezorganizacji komórkowej miokardium oraz bardziej chaotycznego ułożenia miofibryli (OCORR i współaut. 2007, YU i współaut. 2010, NISHIMURA i współaut. 2011). Ponadto, w starzejącym się sercu owada następują zmiany ekspresji kilku genów ortologicznych, których fenotypy pod względem morfologicznym i czynnościowym są podobne do ludzkich odpowiedników tych genów (Tabela 1). Chaotycznemu ułożeniu miofibryli w starzejącym się sercu muszki owocowej towarzyszy równoczesny spadek ekspresji homologu ludzkiego genu *KSNQ1*, kodującego podjednostkę α kanału potasowego (MERY i współaut. 2008). Kanał ten u ludzi zaangażowany jest w repolaryzację błony kardiocytów, a u *Drosophila* odgrywa istotną rolę w zachowaniu prawidłowej częstości rytmu pracy serca (OCORR

Tabela 1. Przykładowe konserwatywne ludzkie geny, mające udział w rozwoju chorób serca człowieka oraz ich ortologi u *Drosophila* sp. (wg BIER i BODMER 2004; WOLF i współaut. 2006; MERY i współaut. 2008; TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008a, b; MA i współaut. 2010, VISWANATHAN i współaut. 2013).

Geny ludzkie	Produkt białkowy genu	Zespół chorobowy	Geny ortologiczne <i>Drosophila</i> sp.	Nieprawidłowości w budowie i funkcjonowaniu miokardium <i>Drosophila</i> sp.
<i>MYH7</i>	Ciężki łańcuch β miozyny	Kardiomiopatia przerostowa, rozstrzeniowa i restrykcyjna	<i>Mhc</i>	Rozszerzenie miokardium, zaburzona funkcja skurczu
<i>TNNI3</i>	Troponina I mięśnia sercowego		<i>wupA</i>	Zaburzone właściwości skurczowo-rozkurczowe, powiększenie miokardium
<i>SAGD</i>	δ -sarkoglikan	Kardiomiopatia rozstrzeniowa	<i>Scga, \beta, \delta</i>	Oslabienie siły skurczu, powiększenie średnicy miokardium w cyklu skurczowo-rozkurczowym
<i>DMD</i>	Dystrofina		<i>Dys</i>	Rozszerzenie i rozciągnięcie miokardium
<i>TPMI</i>	Tropomiozyna	Kardiomiopatia rozstrzeniowa i przerostowa	<i>Tm1,2</i>	Zaburzone właściwości skurczowo-rozkurczowe, powiększenie miokardium
<i>TTN</i>	Tytyna		<i>bt, sls</i>	Zaburzony układ miofibryli
<i>CSRP3</i>	Białko LIM mięśnia sercowego		<i>Mlp60A,84B</i>	Zaburzenia fazy rozkurczu i rytmu pracy serca
<i>KCNH2</i>	Podjednostka α kanału potasowego	Zespół długiego QT typu 2	<i>sei</i>	Zaburzenia rytmu i akcji miokardium
<i>SCN5A</i>	Podjednostka α kanału sodowego typu V	Zespół długiego QT typu 3	<i>para</i>	

i współaut. 2007). W sercu muszki owocowej wykryto także spadek ekspresji genu dystrofiny, jednego z białek wchodzących w skład macierzy zewnątrzkomórkowej. Zmniejszenie ilości tego białka powoduje wystąpienie zaburzeń organizacji miofibryli w sercu (TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008a), podobnie jak ma to miejsce u sasków (NISHIMURA i współaut. 2011). U mutantów *Drosophila* sp., nieposiadających jednej z izoform dystrofiny lub posiadających jej skrócone formy, dochodzi do powiększenia miokardium (TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008a, b). Przy wykorzystaniu transgenicznych muszek owocowych przeprowadzono badania, w których analizowano ekspresję zmienionego ludzkiego genu, kodującego δ -sarkoglikan, tj. kompleks składający się z 4 białek, wchodzący w skład wieloelementowego kompleksu glikoprote-

in związanych z dystrofiną, którego funkcją jest stabilizacja struktury glikoprotein. Stwierdzono, że u tych mutantów występuje osłabienie funkcji skurczowej miokardium, podobnie jak ma to miejsce u ludzi. Miokardium mutantów (δ sg^{S151A}), u których kompleks ten jest niefunkcjonalny, charakteryzuje się nie tylko upośledzeniem zdolności skurczowej, ale i znacznym powiększeniem (WOLF i współaut. 2006, TAGHLI-LAMALLEM i współaut. 2008b).

Uzyskane wyniki badań miokardium owadów mogą dostarczyć szeregu cennych danych przed rozpoczęciem prac na organizmach modelowych kręgowców i przyczynić się do szerszego poznania przyczyn powstających w sercu zmian patologicznych i w perspektywie kolejnych lat być może wskazać na możliwości ich leczenia u ludzi.

OWADY – ALTERNATYWNE ORGANIZMY MODELOWE DO BADAŃ CHOROÓB CZŁOWIEKA

Streszczenie

W ostatniej dekadzie nastąpił gwałtowny wzrost zainteresowania wykorzystaniem bezkręgowców, w tym owadów, jako organizmów modelowych w badaniach chorób człowieka. Opublikowano liczne prace, w których wykazano możliwość wykorzystania owadzich modeli w badaniach chorób neurodegeneracyjnych, cukrzycy, otyłości, czy chorób serca. Szybki rozwój technik biologii molekularnej, biotestów fizjologicznych i farmakologicznych, a także poznanie genomów muszki *Drosophila melanogaster*, chrząszcza *Tribolium castaneum*, jedwabnika *Bombyx mori*

i pszczoły *Apis mellifera* dodatkowo stanowią silne wsparcie metodologiczne tego kierunku badań. Poznano szereg genów owadów, będących ortologami genów ludzkich, odpowiedzialnych za rozwój różnych chorób, zidentyfikowano wiele białek kodowanych przez te geny, scharakteryzowano ich fenotypy morfologiczne i fizjologiczne, a także opisano działanie u owadów niektórych leków stosowanych w chorobach neurodegeneracyjnych i kardiologicznych człowieka.

INSECTS – ALTERNATIVE MODEL ORGANISMS FOR STUDIES OF HUMAN DISEASES

Summary

Over the last decade the interest of using invertebrates, including insects, as model organisms in studies of human diseases has rapidly increased. Until now, hundreds of papers which demonstrate the possibility of using insect models in studies on human neurodegenerative diseases, diabetes, obesity or heart diseases were published. The rapid development of molecular biology techniques, physiological and pharmacological bioassays, as well as genome sequencing of fruit fly *Drosophila melanogaster*, red flour beetle *Tribolium castaneum*, silkworm

Bombyx mori and honey bee *Apis mellifera* also provides a strong methodological support for this research approach. As a result of these studies a number of insect genes, orthologs of human genes known to be responsible for the development of various diseases, and many proteins encoded by these genes were identified. Also morphological and physiological phenotypes of different genes and the action of some drugs applied in neurodegenerative and cardiac diseases in humans have been characterized in insects.

LITERATURA

- ABRAHAM D. M., WOLF M. J., 2013. *Disruption of sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase function in Drosophila leads to cardiac dysfunction*. PLoS One 8, e77785.
- AKASAKA T., OCORR K., 2009. *Drug discovery through functional screening in the Drosophila heart*. Meth. Mol. Biol. 577, 235–249.
- AMBEGAOKAR S. S., ROY B., JACKSON G. R., 2010. *Neurodegenerative models in Drosophila: polyglutamine disorders, Parkinson disease, and amyotrophic lateral sclerosis*. Neurobiol. Dis. 40, 29–39.
- BIER E., BODMER R., 2004. *Drosophila, an emerging model for cardiac disease*. Gene 342, 1–11.
- BIRSE R. T., BODMER R., 2011. *Lipotoxicity and cardiac dysfunction in mammals and Drosophila*. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 46, 376–385.
- BUECHLING T., AKASAKA T., VOGLER G., RUIZ-LOZANO P., OCORR K., BODMER R., 2009. *Non-autonomous modulation of heart rhythm, contractility and morphology in adult fruit flies*. Dev. Biol. 328, 483–492.
- CHEN K. F., POSSIDENTE B., LOMAS D. A., CROWTHER D. C., 2014. *The central molecular clock is robust in the face of behavioural arrhythmia in a Drosophila model of Alzheimer's disease*. Dis. Model. Mech. 7, 445–458.
- CHOMA M. A., SUTER M. J., VAKOC B. J., BOUMA B. E., TEARNEY G. J., 2010. *Heart wall velocimetry and exogenous contrast-based cardiac flow imaging in Drosophila melanogaster using Doppler optical coherence tomography*. J. Biomed. Opt. 15, 056020–056026.
- COOKSON M. R., 2005. *The biochemistry of Parkinson's disease*. Annu. Rev. Biochem. 74, 29–52.
- DE GREEVE P., DE LEEUW W., VAN ZUTPHEN B. F., 2004. *Trends in animal use and animal alternatives*. Altern. Lab. Anim. 32, 13–19.
- FELICIANO D. F., BASSANI R. A., OLIVEIRA P. X., BASSANI J. W., 2011. *Pacemaker activity in the insect (T. molitor) heart: role of the sarcoplasmic reticulum*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 301, R1838–R1845.
- GELSOMINO S., LUCÀ F., NEDIANI C., ORLANDINI S.Z., BANI D., RUBINO A.S., RENZULLI A., LORUSSO R., CONSOLO A., LO CASCIO A., MAESSEN J., GENSINI G. F., 2013. *Early hemodynamic and biochemical changes in overloaded swine ventricle*. Tex. Heart Inst. J. 40, 235–245.
- GREEN E. W., GIORGINI F., 2012. *Choosing and using Drosophila models to characterize modifiers of Huntington's disease*. Biochem. Soc. Trans. 40, 739–745.
- GREEVE I., KRETZSCHMAR D., TSCHÄPE J. A., BEYN A., BRELLINGER C., SCHWEIZER M., NITSCH R. M., REIFGERSTE R., 2004. *Age-dependent neurodegeneration and Alzheimer-amyloid plaque formation in transgenic Drosophila*. J. Neurosci. 24, 3899–3906.
- JACKSON G. R., SALECKER I., DONG X., YAO X., ARNHEIM N., FABER P. W., MACDONALD M. E., ZIPURSKY S. L., 1998. *Polyglutamine-expanded human hunting-*

- tina transgenes induce degeneration of Drosophila photoreceptor neurons.* Neuron 21, 633–642.
- JOHNSON E., SHERRY T., RINGO J., DOWSE H., 2002. *Modulation of the cardiac pacemaker of Drosophila: cellular mechanisms.* J. Comp. Physiol B. 172, 227–236.
- HAYWOOD A. F., STAVELEY B. E., 2004. *Parkin counteracts symptoms in a Drosophila model of Parkinson's disease.* BMC Neurosci. 5, 14.
- Keil T. A., STEINBRECHT R. A., 2010. *Insects as model systems in cell biology.* Meth. Cell Biol. 96, 363–394.
- KRENCH M., LITTLETON J. T., 2013. *Modeling Huntington disease in Drosophila: Insights into axonal transport defects and modifiers of toxicity.* Fly (Austin) 7, 229–236.
- LENZ S., KARSTEN P., SCHULZ J. B., VOIGT A., 2013. *Drosophila as a screening tool to study human neurodegenerative diseases.* J. Neurochem. 127, 453–460.
- LIU Z., WANG X., YU Y., LI X., WANG T., JIANG H., REN Q., JIAO Y., SAWA A., MORAN T., ROSS C. A., MONTTELL C., SMITH W. W., 2008. *A Drosophila model for LRRK2-linked parkinsonism.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA 105, 2693–2698.
- MA L., BRADU A., PODOLEANU A., BLOOR J. W., 2010. *Arrythmia caused by a Drosophila tropomyosin mutation is revealed using a novel optical coherence tomography instrument.* Plos One 5, e14348.
- MAGNY E. G., PUEYO J. I., PEARL F. M., CESPEDES M. A., NIVEN J. E., BISHOP S. A., COUSO J. P., 2013. *Conserved regulation of cardiac calcium uptake by peptides encoded in small open reading frames.* Science 341, 1116–1120.
- MARCINIAK P., GRODECKI S., KONOPIŃSKA D., ROSIŃSKI G., 2008. *Structure activity relationships for the cardiotropic action of the Led-NPF-I peptide in the beetles Tenebrio molitor and Zophobas atratus.* J. Pept. Sci. 14, 329–334.
- MARKOU T., THEOPHILIDIS G., 2000. *The pacemaker activity generating the intrinsic myogenic contraction of the dorsal vessel of Tenebrio molitor (Coleoptera).* J. Exp. Biol. 203, 3471–3483.
- MATSUMOTO Y., SUMIYA E., SUGITA T., SEKIMIZU K., 2011. *An invertebrate hyperglycemic model for the identification of anti-diabetic drugs.* PLoS One 6, e18292.
- MERY A., TAGHLI-LAMALLEM O., CLARK K., BECKERLE M., WU X., OCORR K., BODMER R., 2008. *The Drosophila muscle LIM protein, Mlp84B, is essential for cardiac function.* J. Exp. Biol. 211, 15–23.
- MHATRE S. D., SATYASI V., KILLEN M., PADDOCK B. E., MOIR R. D., SAUNDERS A. J., MARENDA D. R., 2014. *Synaptic abnormalities in a Drosophila model of Alzheimer's disease.* Dis. Model Mech. 7, 373–385.
- MOSQUEIRA M., WILLMANN G., RUOHOLA-BAKER H., KHURANA T. S., 2010. *Chronic hypoxia impairs muscle function in the Drosophila model of Duchenne's muscular dystrophy (DMD).* PLoS One. 5, e13450.
- NA J., MUSSELMAN L. P., PENDSE J., BARANSKI T. J., BODMER R., OCORR K., CAGAN R., 2013. *A Drosophila model of high sugar diet-induced cardiomyopathy.* PLoS Genet. 9, e1003175.
- NISHIMURA M., OCORR K., BODMER R., CARRY J., 2011. *Drosophila as a model to study cardiac aging.* Exp. Gerontol. 46, 326–330.
- OCORR K., REEVES N., WESSELLS R., FINK M., CHEN V., AKASAKA T., YASUDA S., METZGER J., GILES W., POSAKONY J., BODMER R., 2007. *KCNQ potassium channel mutations cause cardiac arrhythmias in Drosophila that mimic the effects of aging.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 3943–3948.
- QIAN L., BODMER R., 2012. *Probing the polygenic basis of cardiomyopathies in Drosophila.* J. Cell Mol. Med. 16, 972–977.
- PERUTZ M. F., JOHNSON T., SUZUKI M., FINCH J. T., 1994. *Glutamine repeats as polar zippers: their possible role in inherited neurodegenerative diseases.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 5355–5358.
- ROSIŃSKI G., 1995. *Metaboliczne i miotropowe neuropeptydy owadów.* Wydawnictwo Naukowe UAM, Seria Zoologia 22.
- RUSSELL W. M. S., BURCH R. L., 1959. *The principles of humane experimental technique.* Methuen, London.
- SANG T. K., JACKSON G. R., 2005. *Drosophila models of neurodegenerative disease.* NeuroRx 2, 438–446.
- SETZU M., BIOLCHINI M., LILLIU A., MANCA M., MURONI P., PODOGHE S., BASS C., ANGIOY A. M., NICHOLS R., 2012. *Neuropeptide F peptides act through unique signaling pathways to affect cardiac activity.* Peptides 33, 230–239.
- SLAMA K., 2012. *A new look at the comparative physiology of insect and human hearts.* J. Insect Physiol. 58, 1072–1081.
- SLAMA K., LUKAŚ J., 2011. *Myogenic nature of insects heartbeat revealed by neuromuscular paralysis caused by the sting of a braconid wasp.* J. Insect Physiol. 57, 251–259.
- SLAMA K., ROSIŃSKI G., 2005. *Delayed pharmacological effects of proctolin and CCAP on heartbeat in pupae of the tobacco hornworm, Manduca sexta.* Physiol. Entomol. 30, 14–28.
- SZYM CZAK M., MARCINIAK P., ROSIŃSKI G., 2014. *Mio-kardium owada – model do badań biomedycznych.* Postępy biologii komórki. Post. Biol. Kom. 41, 59–78.
- TAGHLI-LAMALLEM O., AKASAKA T., HOGG G., NUDEL U., YAFFE D., CHAMBERLAIN J. S., OCORR K., BODMER R., 2008a. *Dystrophin deficiency in Drosophila reduces lifespan and causes a dilated cardiomyopathy phenotype.* Aging Cell 7, 237–249.
- TAGHLI-LAMALLEM O., BODMER R., CHAMBERLAIN J. S., 2008b. *Genetics and pathogenic mechanisms of cardiomyopathies in the Drosophila model.* Drug Discov. Today 5, 125–134.
- TERLAU H., STÜHMER W., 1998. *Structure and function of voltage-gated ion channels.* Naturwissenschaften 85, 437–444.
- THENGANATT M. A., JANKOVIC J., 2014. *Parkinson disease subtypes.* JAMA Neurol. 71, 499–504.
- TRINH K., MOORE K., WES P. D., MUCHOWSKI P. J., DEY J., ANDREWS L., PALLANCK L. J., 2008. *Induction of the phase II detoxification pathway suppresses neuron loss in Drosophila models of Parkinson's disease.* J. Neurosci. 28, 465–472.
- VAN DER PLAS M. C., PILGRAM G. S., DE JONG A. W., BANSRAJ M. R., FRADKIN L. G., NOORDERMEER J. N., 2007. *Drosophila Dystrophin is required for integrity of the musculature.* Mech. Dev. 124, 617–630.
- VISWANATHAN M. C., KAUSHIK G., ENGLER A. J., LEHMAN W., CAMMARATO A., 2013. *A Drosophila melanogaster model of diastolic dysfunction and cardiomyopathy based on impaired troponin-T function.* Circ. Res. 114, 6–17.
- WELLS D. J., WELLS K. E., 2005. *What do animal models have to tell us regarding Duchenne muscular dystrophy?* Acta Myol. 24, 172–180.
- WOLF M. J., AMREIN H., IZATT J. A., CHOMA M. A., REEDY M. C., ROCKMAN H. A., 2006. *Drosophila as a model for identification of genes causing adult human heart disease.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 1394–1399.
- YU L., LEE T., LIN N., WOLF M., 2010. *Affecting rhomboid-3 function causes a dilated heart in adult Drosophila.* Plos Genet. 6, e1000969.

ZHAO X. L., WANG W. A., TAN J. X., HUANG J. K., ZHANG X., ZHANG B. Z., WANG Y. H., YANGCHENG H. Y., ZHU H. L., SUN X. J., HUANG F. D., 2010. *Expression of beta amyloid induced age-dependent presynaptic and axonal changes in Drosophila*. J. Neurosci. 30, 1512–1522.

ZONG N. C., LI H., LI H., LAM M. P., JIMENEZ R. C., KIM C. S., DENG N., KIM A. K., CHOI J. H., ZELAYA I.,

LIEM D., MEYER D., ODEBERG J., FANG C., LU H. J., XU T., WEISS J., DUAN H., UHLEN M., YATES J. R. APWEILER R., GE J., HERMJAKOB H., PING P., 2013. *Integration of cardiac proteome biology and medicine by a specialized knowledgebase*. Circ. Res. 113, 1043–1053.