

STRESZCZENIE

Wstęp. Stwardnienie rozsiane (SR) jest chorobą autoimmunologiczną o złożonym patomechanizmie, w której, przewlekły stan zapalny powoduje demielinizację i neurodegenerację ośrodkowego układu nerwowego (OUN). SR najczęściej ma przebieg rzutowo-remisyjny (RR-SR), z nawrotowym zaostrzaniem różnych objawów chorobowych, okresami remisji i możliwą dalszą progresją zmian. Etiologia SR wciąż pozostaje niejasna. Obecnie coraz więcej danych wskazuje na znaczenie cząsteczek miRNA w patogenezie tej choroby. Zmiany w ekspresji miRNA mogą odgrywać główną rolę w procesach neurozapalnych i neurodegeneracyjnych. Trening tlenowy(aerobowy) może być uznanym korzystnym uzupełnieniem kompleksowego programu działań rehabilitacyjnych.

Cel badań. Celem pracy jest analiza porównawcza poziomu ekspresji wybranych rodzajów miRNA u chorych z RR-SR, w różnych fazach choroby oraz zbadanie powiązań miRNA z wiekiem, stanem funkcjonalnym, poznawczym i emocjonalnym. Ponadto oceniono poddano wpływ treningu aerobowego na stan funkcjonalny, występowanie zespołu zmęczenia oraz jakość życia pacjentów z SR.

Materiał i metodyka. Do badań oceniających ekspresję wybranych miRNA włączono 36 pacjentów z RR-SR, w tym 23 w fazie remisji (minimum 2 lata bez rzutu choroby) i 13 w fazie podostrej (1-2miesiące po leczeniu zaostrzenia choroby). Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników. Natomiast w badaniach dotyczących programu rehabilitacyjnego wzięło udział 53 pacjentów z SR, w tym 21 chorych poddanych dodatkowo treningowi aerobowemu (grupa AT) i 32 bez treningu aerobowego (grupa NON-AT). Wszyscy pacjenci byli hospitalizowani w Oddziale Rehabilitacji Neurologicznej Miejskiego Centrum Medycznego im. Dr Karola Jonschera w Łodzi. Ocenę względnej ekspresji miRNA-155, miRNA-301a i miRNA-326, w pobranych próbkach krwi, przeprowadzono metodą ilościowego PCR (qPCR), w Zakładzie Biomedycyny i Genetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Przeprowadzono analizę ekspresji wybranych miRNA w różnych fazach przebiegu choroby (faza remisji, faza podostrej). Ponadto skorelowano poziomy ekspresji miRNA z wiekiem pacjentów i stanem klinicznym, wykorzystując skale niewydolności ruchowej Kurtzkiego (EDSS), funkcji poznawczych (MoCA) oraz skalę występowania i ciężkości depresji (BDI). Kompleksowy program rehabilitacyjny był realizowany w oddziale Rehabilitacji Neurologicznej przez okres 4 tygodni. Pacjenci z grupy AT, oprócz standardowej rehabilitacji, wykonywali ćwiczenia aerobowe na cykloergometrze kończyn dolnych (Kettler-RX 7)- 3 razy dziennie przez 10 minut, z 60-minutowymi przerwami. W pierwszym i ostatnim dniu rehabilitacji, w grupie AT i NON-

AT przeprowadzono ocenę jakości życia na podstawie skali WHOQOL-BREF (World Health Organization Quality of Life), ciężkości zmęczenia za pomocą Skali Ciężkości Stopnia Zmęczenia/Znużenia (Fatigue Severity Scale- FSS) oraz ocenę stanu neurologicznego wg skali niewydolności ruchowej - EDSS.

Wyniki. Analiza uzyskanych wyników badań wykazała u pacjentów z SR zmniejszenie ekspresji miRNA-155 i miRNA-301a oraz zwiększenie ekspresji miRNA-326, statystycznie istotna różnica między grupą badaną pacjentów z SR a grupą kontrolną- zdrową dotyczyła ekspresji mi-RNA-155 ($p=0,026362$). Poziomy ekspresji miRNA-301a ($p=0,00026$) i miRNA-155 ($p=0,000696$) były znamienne statystycznie wyższe w fazie podostrej w stosunku do fazy stabilnej choroby. Stwierdzono statystycznie istotną pozytywną korelację między miRNA-326 i BDI ($p=0,0097$). Brak było istotnych statystycznie różnic między ekspresją badanych mi-RNA a wiekiem pacjentów oraz uzyskanymi wartościami EDSS i MoCA. W grupie AT w ocenie pacjentów znacząco statystycznie wzrastała po treningu aerobowym jakość życia w aspekcie sprawności fizycznej ($p<0,001$) i stanu psychicznego ($p<0,001$), również w odczuciu funkcjonowania w środowisku ($p=0,03$), zmiana nie była istotna w aspekcie funkcjonowania socjalnego ($p=0,135$). Po zakończonej rehabilitacji zaobserwowano różnice między grupą AT i NON-AT w zakresie odczuwania poprawy sprawności fizycznej ($p=0,001$ vs $0,01$) i stanu psychicznego ($p=0,001$ vs $0,05$) oraz ogólnej oceny jakości życia ($p=0,003$ vs $0,01$) i zadowolenia ze stanu zdrowia ($p=0,001$ vs $0,01$). Średnia wartość zmęczenia zmniejszyła się istotnie statystycznie w grupie AT ($p=0,032$) w porównaniu z grupą NON-AT ($p=0,15$). Nie obserwowano statystycznie znamiennej poprawy stanu neurologicznego wg skali EDSS po rehabilitacji, ani w grupie AT ($p=0,226$), ani w NON-AT ($p=0,356$)

Wnioski. Poziomy ekspresji badanych miRNA u pacjentów z RR-SR różnią się w zależności od fazy choroby. Ekspresja wybranych miRNA jest skorelowana z wystąpieniem depresji, bez jednoznacznego powiązania z wiekiem pacjentów i parametrami funkcji poznawczych i ruchowych. Po ćwiczeniach rehabilitacyjnych z dodatkowym wykorzystaniem treningu aerobowego ogólna jakość życia i zadowolenie ze stanu zdrowia w ocenie chorych na SR poprawia się a zespół zmęczenia jest znamienne mniej przez nich odczuwalny, mimo że trening ten nie ma istotnego wpływu na stan funkcjonalny pacjentów.

ABSTRACT

Introduction. Multiple sclerosis (SM) is an autoimmune disease with a complex pathomechanism in which chronic inflammation causes demyelination and neurodegeneration of the central nervous system. SM usually has a relapsing-remitting course, with recurrent exacerbation of various disease symptoms, periods of remission and possible further progression of the disease. The etiology of SM is still unclear. Currently, increasing amount of data indicate the importance of miRNA molecules in the pathogenesis of this disease. Changes in miRNA expression may play a major role in neuroinflammatory and neurodegenerative processes. Aerobic training is a recognized beneficial complement to the complex program of rehabilitation activities.

Aims. The aim of the study is to compare the level of expression of selected types of miRNAs in patients with RR-SR, in different phases of the disease and in relation to age and psychophysical state. Moreover, the influence of aerobic training on functional state, occurrence of fatigue syndrome and quality of life in patients with SR was evaluated.

Material and methodology. The study evaluating the expression of selected miRNAs included 36 patients with RR-SR, 23 in the remission phase (minimum 2 years without disease shed) and 13 in the subacute phase (1-2 months after treatment of exacerbation). The study evaluating the expression of selected miRNAs included 36 patients with RR-SR, 23 in the remission phase (minimum 2 years without disease shed) and 13 in the subacute phase (1-2 months after treatment of exacerbation). The control group consisted of 10 healthy volunteers. The rehabilitation program included 53 SR patients, 21 patients undergoing additional aerobic training (AT group) and 32 without aerobic training (NON-AT group). All patients were hospitalized in the Department of Neurological Rehabilitation of the Dr. K. Jonscher Municipal Medical Centre in Łódź.

The evaluation of the relative expression of miRNA-155, miRNA-301a and miRNA-326, in the collected blood samples, was carried out by quantitative PCR (qPCR) method in the Department of Biomedicine and Genetics, Medical University of Lodz. The analysis of the expression of selected miRNAs in different phases of the disease (remission phase, subacute phase) was performed. Moreover miRNA expression levels were correlated with patients' age and clinical condition, using the Kurtzky's motor failure scales (EDSS), cognitive function (MoCA), and depression incidence and severity scale (BDI).

The comprehensive rehabilitation program was carried out in the Department of Neurological Rehabilitation for 4 weeks. Patients from the AT group, in addition to standard rehabilitation,

performed aerobic exercises on a lower limb cycloergometer (Kettler-RX 7)-3 times a day for 10 minutes, with 60-minute breaks. On the first and last day of rehabilitation the importance of aerobic training was assessed using the following scales: motor failure (EDSS), cognitive function (MoCA), incidence and severity of depression (BDI), severity of fatigue / weariness (FSS) and quality of life (WHOQOL-BREF).

Results. Analysis of the results showed in patients with SR decreased miRNA-155 and miRNA-301a ex-pression and increased miRNA-326 expression. The statistically significant difference between the study group of patients with SR and the control group was in mi-RNA-155 expression ($p=0.026362$). The expression levels of miRNA-301a ($p=0.00026$) and miRNA-155 ($p=0.000696$) were statistically significantly higher in the subacute phase compared to the stable phase. A statistically significant positive correlation between miRNA-326 and BDI was found ($p=0.0097$). There were no statistically significant differences between the expression of the examined mi-RNAs and the age of the patients and the obtained EDSS and MoCA values. In the AT group, the quality of life after aerobic training increased statistically significantly in terms of physical fitness ($p<0.001$) and mental state ($p<0.001$), also in terms of functioning in the environment ($p=0.03$); the change was not significant in terms of social functioning ($p=0.135$). After the completion of rehabilitation, differences were observed between the AT and NON-AT groups in terms of feeling improved physical fitness ($p=0.001$ vs 0.01) and mental state ($p=0.001$ vs 0.05) and overall quality of life assessment ($p=0.003$ vs 0.01) and health satisfaction ($p=0.001$ vs 0.01). The mean value of fatigue decreased statistically more significantly in AT group ($p=0.032$) compared to NON-AT group ($p=0.15$). No statistically significant improvement in neurological status according to EDSS scale was observed after rehabilitation, either in AT group ($p=0.226$) or in NON-AT group ($p=0.356$).

Conclusions. The expression levels of studied miRNAs in patients with RR-SR differ depending on the phase of the disease. The expression of selected miRNAs is correlated with the occurrence of depression, without any unambiguous link with the age of patients and parameters of cognitive and motor functions. After rehabilitation exercises with additional use of aerobic training, the overall quality of life and health satisfaction in the assessment of SR patients improves and the fatigue syndrome is significantly less felt by them, even though this training does not significantly affect the functional status of patients.