

## 7 STRESZCZENIE

### 7.1 Wstęp

Choroba Alzheimerera (ang. Alzheimer's disease - AD) stanowi 70 % demencji wśród starzejącej się populacji. Patogeneza AD związana jest z akumulacją blaszek amyloidowych w przestrzeni zewnątrzkomórkowej mózgu, poprzez gromadzenie nierozpuszczalnego peptydu  $\beta$  amyloidowego ( $A\beta$ ) oraz wewnątrzkomórkowych splotków neurofibrylarnych (NFT) zawierających głównie wysoce ufosforylowane białko Tau. Utrzymująca się tendencja wzrostowa chorych w Polsce i na całym świecie wskazuje na rosnącą potrzebę szybkiej diagnostyki i leczenia.

Wiele badań wskazuje na ważną rolę jaką pełnią cząsteczki miRNA w procesach neurodegeneracyjnych. Poziom miRNA może się zmieniać w zależności od regulowanego genu oraz etapu choroby.

### 7.2 Cel pracy

Celem pracy było zbadanie zmian ekspresji trzech wybranych miRNA, (miRNA-132-5p, miRNA-146a-5p oraz miRNA-200a-3p) w zależności od stopnia zaawansowania choroby Alzheimerera oraz związku pomiędzy ekspresją miRNA a polimorfizmem w genach *APOE* oraz *ACE*. Dokonano również analizy związku ekspresji wybranych miRNA z chorobami współistniejącymi oraz korelacji z wybranymi parametrami biochemicznymi (TC, HDL, LDL, TG, witamina B<sub>12</sub>), białkami i wskaźnikami diagnostycznymi izolowanymi z PMR ( $A\beta$ 1-42,  $A\beta$ 1-40, p-Tau, t-Tau,  $A\beta$ 1-42/  $A\beta$ 1-40, p-Tau/ $A\beta$ 1-42, h-Tau/ $A\beta$ 1-42).

### 7.3 Grupa badana

Grupę badaną stanowiło 70. pacjentów z Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 w Rzeszowie oraz 27 osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną. Analizie molekularnej poddano 70 pacjentów w wieku między 59 a 92 rokiem życia z rozpoznaną chorobą otępienną od stadium łagodnego zaburzenia poznawczego MCI, poprzez trzy fazy choroby: AD I, AD II, AD III. Klasyfikacji dokonał zespół specjalistyczny z Kliniki Neurologii z Pododdziałem Leczenia Udaru Mózgu.

#### 7.4 Materiały i metody

Materiałem biologicznym do badań była surowica biobankowana, z której dokonano izolacji RNA według metodyki producenta QIAGEN miRNeasy Serum/Plasma Advanced. Analizę ekspresji wybranych miRNA przeprowadzono przy użyciu metody qPCR. Do amplifikacji wykorzystano zestaw miRCURY® LNA® SYBR® Green PCR Kit oraz specyficzne startery z zestawu miRCURY® LNA® miRNA PCR Assays, zgodnie z zaleceniami producenta.

#### 7.5 Wyniki i wnioski

W wyniku analizy molekularnej wykazano, że wraz z postępem choroby, następowała spadek ekspresji miRNA-132-3p oraz stężenie witaminy B<sub>12</sub>. Dodatkowo wykazano pozytywną korelację pomiędzy ekspresją miRNA-146a-5p a wartością wskaźników diagnostycznych w AD tj. pTau/Aβ<sub>42</sub> oraz hTau/Aβ<sub>42</sub>. Analiza statystyczna wykazała związek polimorfizmu w genie *APOE* z obniżoną ekspresją miRNA-132-3p. Wykazano też związek między polimorfizmem w genie *ACE* a poziomem ekspresji miRNA-200a-3p, miRNA-132-3p oraz miRNA-146a-5p. Obecność przynajmniej jednego allelu insercyjnego (I) w genie *ACE*, wpływała na podwyższony poziom ekspresji miRNA-200a-3p i miRNA-132-3p, oraz obniżony poziom ekspresji miRNA-146a-5p.

Dodatkowo analiza statystyczna grupy badanej, potwierdziła wpływ wieku na stadium otępienia. U osób starszych można zaobserwować głębsze fazy otępienia, podczas gdy u osób młodszych najczęściej diagnozuje się MCI lub łagodną postać ADI.