

dr n. med. Anna E. Zurawska

Katedra i Klinika Neurologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_444](https://doi.org/10.18388/pb.2021_444)

✉ autor korespondujący: anna.elzbieta.zurawska@gmail.com

**Słowa kluczowe:** koliste RNA, mikroRNA, stwardnienie rozsiane

**Stosowane skróty:** circRNA (ang. *circular RNA*) – koliste RNA; miRNA – mikro RNA; SM (lub MS) – stwardnienie rozsiane; RRMS – postać rzutowo-remisyjna stwardnienia rozsianego; SPMS – postać wtórnie postępująca stwardnienia rozsianego; CIS – zespół klinicznie izolowany

## STRESZCZENIE

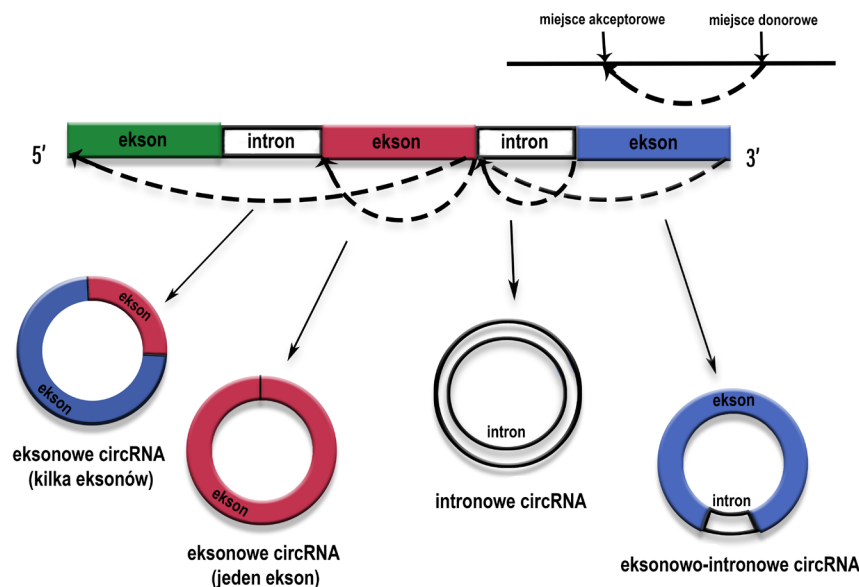
Jednym ze szczególnie znaczących odkryć na polu epigenetyki w ostatnich latach była identyfikacja małych niekodujących cząsteczek RNA – mikroRNA (miRNA). Ponieważ regulacja ekspresji miRNA jest procesem bardzo dynamicznym i złożonym, coraz więcej dowodów wskazuje na znaczenie kolejnego wyższego poziomu mechanizmu regulacyjnego miRNA. Uważa się, że może nim być aktywność nowej unikalnej grupy cząsteczek – kolistych RNA (ang. *circular RNA*, circRNA). Nazywane one są „naturalnymi gąbkami dla miRNA”. Udowodniono, iż circRNA odgrywają rolę w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych ośrodkowego układu nerwowego oraz układu immunologicznego. Wcześniejsze badania wykazały związek niektórych miRNA z regulacją autoimmunologicznej demielinizacji u chorych na stwardnienie rozsiane (SM). Najnowsze doniesienia dokumentują istotną rolę jaką mogłyby odgrywać koliste RNA w różnych chorobach neuroimmunologicznych, w szczególności w patogenezie stwardnienia rozsianego. SM jest przewlekłą zapalno-demielinizacyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego, której etiologia nie jest w pełni poznana, wiadomo jednak, że mechanizmy odpowiedzialne za jej rozwój w znacznym stopniu zależą od procesów autoimmunologicznych.

## KOLISTE RNA – BIOSYNTETA, BUDOWA, FUNKCJE

Koliste RNA (ang. *circular RNA*, circRNA) to unikalna klasa endogennych RNA, które od niedawna na nowo przykuwają uwagę naukowców. Po raz pierwszy zostały one opisane przez Sanger i in. w 1976 r. jako chorobotwórcze wirusy roślinne [1]. W 1979 r. udowodniono, że także eukariotyczne RNA mogą istnieć w formie kolistej. Pierwszym opisanym circRNA wykrytym u ludzi był wirus zapalenia wątroby typu delta (HDV). Odkryte w latach 90. kolejne cząsteczki, w tym DCC (ang. *Deleted in Colorectal Carcinoma*) i ETS-1 ulegały ekspresji na poziomach dużo niższych niż ich liniowe izoformy. Dlatego też początkowo circRNAs były uznawane jako efekt błędu przetwarzania RNA, niemający znaczenia biologicznego [2].

Następnie odkryto, że koliste transkrypty Sry (ang. *sex-determining region Y*) u myszy ulega znacznie większej ekspresji niż odpowiadająca mu forma liniowa. Kolejne dwie dekady umożliwiły zidentyfikowanie kilku kolejnych kolistych transkryptów genów: cytochromu P450 2C24, cytochromu P450 2C18, ludzkiej dystrofiny, INK4/ARF, Fmn. Jednak dopiero wprowadzenie wysoko-przepustowych metod badania całych transkryptomów w drugiej dekadzie naszego stulecia spowodowało wykrycie tysięcy kolistych RNA i wyraźny wzrost zainteresowania tymi cząsteczkami [3-6].

CircRNA klasyfikowane są jako podgrupa długich niekodujących RNA, choć w ostatnim czasie pojawiły się doniesienia, że niektóre z nich mogą kodować białka [7]. CircRNA to zamknięte wiązania kowalencyjnymi okręgi, pozbawione wolnego końca 5' i 3'. Powstają w wyniku niekanonicznego splicingu, zwanego back-splicingiem, polegającego na łączeniu miejsca donorowego 5' (*downstream*) z miejscem akceptorowym 3' (*upstream*) [8,9]. Taka budowa tych cząsteczek powoduje, że są one odporne na działanie RNazy R – egzonukleazy, która degradowuje prawie wszystkie liniowe formy RNA. Dzięki temu circRNA wykazują się dużą stabilnością – ich okres półtrwania w komórce przekracza 48 godzin i jest znacznie dłuższy niż mRNA (tj. 10 godzin) [3]. Cząsteczki te mogą być jednak wrażliwe na działanie takich enzymów jak RNaza A, RNaza T1 i RNaza T2. Doniesienia niektórych badaczy wskazują, że stabilność circRNA w osoczu jest porównywalna do tej stwierdzanej w komórkach [3]. Pojedyncza praca raportuje ich szybkość, w ciągu ok. 15 sekund, degradację w surowicy, prawdopodobnie w związku z obecnością RNazy A. Stąd szczególna rola ochronna egzozomów, które znacznie zwiększają stabilność circRNA w surowicy i ułatwiają ich transport do innych tkanek i narządów [10]. Szczególna stabilność kolistych



Rycina 1. Powstawanie różnych typów kolistych RNA w mechanizmie backsplicingu [81].

RNA sprawia, że są one dobrymi kandydatami do zastosowania jako biomarkery.

Cząsteczki te różnią się zarówno pod względem sposobu powstawania, struktury, właściwości, jak i pełnionej funkcji. circRNA można podzielić na trzy typy: eksonowe (ecircRNA), intronowe (ciRNA) oraz eksonowo-intronowe (EircRNA) (Ryc. 1). Największą grupę stanowią EcircRNA. Zbudowane są one wyłącznie z jednego lub więcej (zwykle do pięciu) eksonów [4]. Długość ecircRNA może wynosić od setek do tysięcy nukleotydów (nt), podczas gdy ich średnia szacunkowa długość wynosi około 547 nt. Większość ecircRNA znajduje się w cytoplazmie [11], w przeciwieństwie do dwóch pozostałych podtypów (ciRNA oraz EircRNA), które głównie lokalizują się w jądrze komórkowym. Z jednego genu może powstawać więcej niż jedno koliste RNA zbudowane z eksonów i/lub intronów.

Koliste RNA charakteryzują się wysoką specyficznością w zależności od rodzaju komórek czy też różnych stanów patologicznych, co jest kolejnym argumentem świadczącym, że są dobrymi potencjalnymi biomarkerami w różnych stanach chorobowych.

Do tej pory wykryto tysiące cząsteczek circRNA u szeregu przedstawicieli Eucaryota należących do różnych, często odległych filogenetycznie, grup taksonomicznych [6]. Wiele spośród circRNA pojawia się w konkretnym stadium rozwojowym organizmu [4]. Część z nich jest zachowana ewolucyjnie (głównie eksonowe circRNA), choć niektóre są typowe dla danego gatunku.

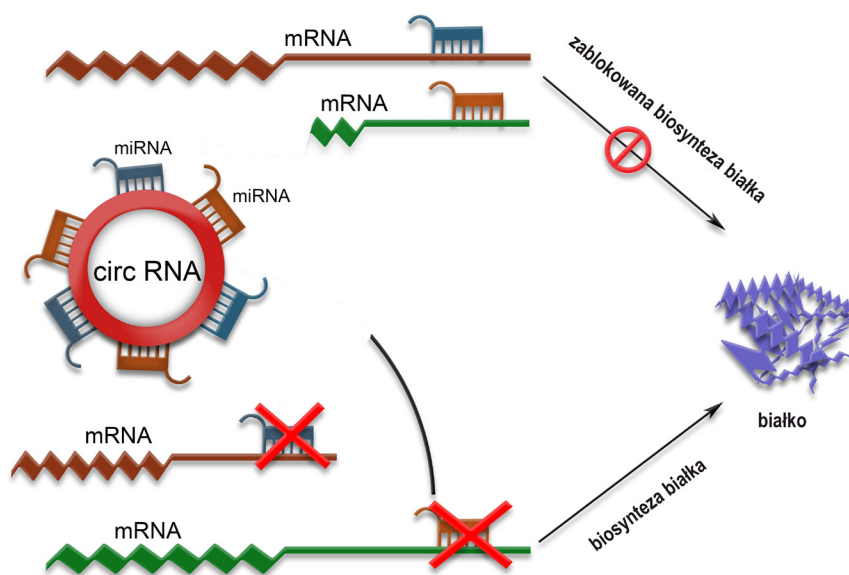
Większość kolistych transkryptów jest tkankowo-specyficzna. Zaobserwowano, że dochodzi do znacznie większej akumulacji kolistych RNA w komórkach wolno dzielących się, np. w mózgu, w porównaniu do szybko dzielących się, np. w wątrobie [12]. Analogicznie, znacznie mniejszej

ekspresji ulegają circRNA w komórkach nowotworowych w porównaniu do komórek zdrowych. Tłumaczone jest to mechanizmem dzielenia puli kolistych RNA pomiędzy komórki potomne [12-14]. Obserwowano także zjawisko akumulacji circRNA związanej z wiekiem, co ma związek z przewagą komórek w fazie postmitotycznej u starszych organizmów.

Największa kumulacja kolistych RNA ma miejsce w mózgu i kolejno: we krwi obwodowej (szczególnie wysoką ekspresję kolistych RNA wykazują płytki krwi i eryocyty), w zdrowych organach, guzach nowotworowych oraz liniach komórkowych [15]. Także badania You [16] potwierdziły największą ekspresję circRNA w mózgu w porównaniu do jądra, płuc, serca i wątroby. Obecność circRNA stwierdza się także w innych płynach ustrojowych, np. ślinie, moczu. Poza tym duże ilości kolistych RNA wykryto w egzosomach [10].

Koliste RNA obok długich niekodujących RNA (lncRNA) i pseudogenów zaliczane są do grupy *competing endogenous RNAs* (ceRNAs) i nazywane są „naturalnymi gąbkami dla miRNA”. Uważa się, że niektóre z nich mogą regulować funkcję mikroRNA (miRNA) i odgrywają rolę w kontroli transkrypcji. Ponadto, circRNA mają zdolność łączenia się z białkami wiążącymi RNA (ang. *RNA-binding proteins*, RBPs) i biorą udział w regulacji translacji [17].

Szczególnie interesującą funkcją circRNA jest ich interakcja z miRNA. miRNA to małe, jednoniciowe, niekodujące cząsteczki RNA o długości 21-23 nukleotydów. Regulują one ekspresję genów poprzez wstrzymanie translacji oraz destabilizację transkryptów, z którymi się wiążą. Regulacja ekspresji białek w mechanizmie tzw. wyciszania genów polega na specyficznej, determinowanej sekwencyjnie interakcji pomiędzy docelowym, kodującym białko informacyjnym RNA (mRNA) oraz miRNA. Uważa się, że



Rycina 2. Mechanizm działania circRNA jako „gąbek” dla miRNA [81].

prawie jedna trzecia ludzkiego mRNA może być celem dla miRNA. Częsteczki circRNA działając jak „gąbki” wpływają na ilość wolnych miRNA wiążąc część z nich, pełnią przez to funkcję posttranskrypcyjnych regulatorów ekspresji genów (Ryc. 2). Pojedyncza cząsteczka circRNA może wiązać się z kilkoma miRNA, jednocześnie posiadając kilka miejsc wiązania z poszczególnymi miRNA.

Najlepiej poznaną cząsteczką spośród circRNA jest CDR1as (ang. *cerebellar degeneration-related protein 1 antisense*). Posiada ona 70 miejsc wiązania miR-7, będąc efektywną „naturalną gąbką” dla miR-7, stąd jej inna nazwa to ciRS-7 (ang. *circular RNA sponge for miR-7*). ciRS-7 wpływa na aktywność docelowego genu. U gatunku ryby *Danio rerio* występowanie ciRS-7 powoduje upośledzenie rozwoju śródmózgowia analogiczne do wyciszenia genu dla miR-7 [4]. ciRS-7 jest także wykrywany w znacznych ilościach w ludzkim mózgu [18]. Uważa się, że miR-7 uczestniczy w wielu szlakach onkogennych, ale może także wpływać na ograniczenie ekspansji guza.

Specyficzny dla jądra kolisty transkrypt kodowany przez mysz gen *Sry* to kolejny przykład wykrytego circRNA. Odpowiedzialny jest za determinację płci i posiada 16 miejsc wiążących dla miR-138 [19].

Uważa się, że mechanizm „gąbek” nie jest zjawiskiem typowym dla wszystkich circRNA i prawdopodobnie dotyczy jedynie ograniczonej liczby tych cząsteczek. Wiele analizowanych circRNA posiada jedno lub kilka miejsc wiążących miRNA. Otwartym pytaniem pozostaje czy circRNA degradują czy jedynie blokują cząsteczki miRNA. Część badań bowiem wskazuje, że zwiększona ekspresja circRNA wiąże się ze zmniejszeniem ekspresji miRNA, natomiast inni badacze raportują brak wpływu circRNA na poziom docelowych miRNA [20].

Koliste RNA wchodzą także w różnorodne interakcje z białkami. Część z nich wiąże się z białkami w cytoplazmie lub jądrze, wpływając na ich funkcje w procesach biologicznych – promując lub hamując ich działanie. Na przykład koliste RNA circPOLR2A oraz circDHX34 pełnią funkcję molekularnego rezerwuaru dla NF90 (ang. *nuclear factor 90*) i NF110 (ang. *nuclear factor 110*), które ulegają uwolnieniu i aktywacji w trakcie infekcji wirusowej [21]. Niektóre circRNA natomiast ułatwiają transport białek z cytoplazmy do jądra komórkowego.

Kolejną niedawno odkrytą funkcją niektórych kolistych RNA jest biosynteza białka. Początkowo sądzono, że z uwagi na brak czapeczki (cap) i ogona poli-A circRNA nie mogą ulegać translacji. Prowadzone analizy ujawniły jednak, że w przypadku niektórych kolistych RNA może dochodzić do biosyntezy białka w mechanizmie niezależnym od czapeczki. Sekwencjami do niej niezbędnymi są otwarta ramka odczytu (ang. *open reading frame*, ORF) oraz wewnętrzne miejsce wiązania rybosomu (ang. *internal ribosome entry site*, IRES). Przykładami kolistych RNA, które stanowią matrycę dla biosyntezy białka są: circ-ZNF609, circ-FBXW7, SHPRH oraz circMbl3 [20].

Inne funkcje kolistych RNA obejmują regulację transkrypcji oraz alternatywnego splicingu, a także regulację ekspresji genów rodzicielskich [22]. Przykładem jest gen dystrofiny (*DMD*), który został zidentyfikowany jako locus kodujący powstawanie kilku produktów kolistego RNA. Wykazano, że zmiany sekwencji *DMD* odpowiedzialne za rozwój dystrofinopatii powodują nasilenie powstawania circRNA, co promuje powstawanie nieaktywnych transkryptów mRNA dla *DMD* i wpływa na ciężkość objawów chorobowych [23].

## KOLISTE RNA A FUNKCJE MÓZGU

Zainteresowanie potencjalnym znaczeniem kolistych RNA w funkcjonowaniu układu nerwowego zapoczątkowane zostało przez odkrycie, że najwyższą ekspresję circRNA spośród wszystkich organów wykazuje mózg [13]. Rozkład circRNA w mózgu charakteryzuje się zróżnicowaniem zarówno pod względem lokalizacji (w odniesieniu do budowy makro- i mikroskopowej) jak i stadium rozwoju (pre- i postnatalnego). Udowodniono to m. in. analizując profil circRNA w sześciu punktach czasowych rozwoju embrionalnego mózgu świni na podstawie analizy tkanek z pięciu różnych lokalizacji (jądra podstawy, pień mózgu, mózdzek, kora mózgu, hipokamp). Największą ekspresję circRNA wykryto w korze mózgu (w stadium E60) oraz w mózdzku (w stadium E115). ciRS-7 wykazywało zmienną ekspresję w zależności od lokalizacji i etapu rozwoju – ulegając zwiększonej ekspresji w stadium E115 w mózdzku, natomiast zmniejszonej ekspresji w stadium E60 w korze mózgu [24]. You i in. [16] zidentyfikowali natomiast grupę circRNA, które ulegają odmiennemu wzorcowi ekspresji w komórkach hipokampu myszy w różnych stadiach rozwoju embrionalnego i postnatalnego. Zmiana ekspresji wielu z nich była czasowo skorelowana z początkiem synaptogenezy. Częsteczki circRNA, które ulegały stale nadekspresji podczas rozwoju hipokampu (circDlga1, circMyst4, circKhl2, circAagab) pochodziły z genów kodujących białka związane z funkcją synaps, a także charakteryzowały się inną kinetyką wzrostu niż ich liniowe odpowiedniki. Zaobserwowano także, że aktywność neuronów może zmienić wzór ekspresji kolistych RNA. W odpowiedzi na działanie antagonisty receptora GABA-A (bikukuliny) obserwowano zwiększoną ekspresję 37 circRNA, w tym circ\_Homer1\_a [16].

Najlepiej zbadaną częsteczką kolistego RNA jest CDR1as. Jest ona wysoce specyficzna dla mózgu. W innych tkankach i organach ulega znacznie mniejszej ekspresji lub nie wykrywa się jej wcale. Posiada ona m. in. ok. 70 miejsc wiązania miR-7 o niepełnej komplementarności oraz 1 miejsce wiązania z miR-671 o prawie całkowitej komplementarności. Badania *in vivo* na myszach ujawniły wysoki stopień ekspresji CDR1as w neuronach, głównie pobudzających, ale nie stwierdzono obecności tej częsteczki w komórkach glejowych takich jak oligodendrocyty i astrocyty [25]. U myszy pozbawionych locus genu *CDR1as* (*CDR1as* KO; *CDR1as* knockout) poziom miR-7 był obniżony we wszystkich czterech badanych obszarach mózgu, natomiast miR-671 ulegał zwiększonej ekspresji w mózdzku, korze i opuszcze węchowej. Efekt ten był wysoce specyficzny. W innych tkankach pozamózgowych, z wyjątkiem rdzenia kręgowego, nie stwierdzano tej prawidłowości. Ponadto u myszy *CDR1as* KO stwierdzono dysfunkcję transmisji synaptycznej w neuronach pobudzających. Na podstawie behawioralnego testu hamowania impulsu (ang. *prepulse inhibition*, PPI) obserwowano u tych osobników zaburzenia hamowania aktywności ruchowej w odpowiedzi na nagły dźwięk, będącego przejawem upośledzonego bramkowania sensomotorycznego, czyli osłabionej zdolności do filtrowania niepotrzebnych informacji. Zaburzenia neuropsychiatryczne o podobnym charakterze opisywano w schizofrenii (pod postacią zaburzeń myślenia i zaburzeń koncentracji uwagi), zaburzeniu obsesyjno-kom-

pulsyjnym, chorobie afektywnej dwubiegunowej, zespole Tourette'a, zespole stresu pourazowego, chorobie Huntingtona i zespole Aspergera [25].

Działanie circRNA w mózgu może być ogniwem jeszcze bardziej złożonych zależności. Przykładem może być sieć interakcji czterech różnych niekodujących RNA (ncRNAs): długiego niekodującego RNA (lncRNA) Cyrano, kolistego RNA *CDR1as* oraz dwóch mikroRNA: miR-7 i miR-671. Częsteczka Cyrano dzięki miejscu wiązania do miR-7 o dużym powinowactwie powoduje wiązanie i destrukcję tej częsteczki. Obniżenie poziomu miR-7 zapobiega blokowaniu przez tę częsteczkę *CDR1as* – kolistego RNA istotnego dla regulacji aktywności neuronów. To powoduje akumulację *CDR1as* w mózgu. Przy braku ekspresji Cyrano nadmiar miR-7 powoduje niszczenie *CDR1as* w cytoplazmie, potęgowane przez zwiększone cięcie transkryptu kolistej częsteczki przez miR-671 (w mechanizmie zależnym od białka Argonaute) [26].

Badania nad rolą circRNA w patologii ośrodkowego układu nerwowego (OUN) są wciąż na wczesnym etapie i dokładne mechanizmy ich działania nie są w pełni poznane. Jak dotąd uzyskano dane na temat ich roli w kilku patologiach układu nerwowego (Tabela 1). Analizowano między innymi ich potencjalny wpływ na rozwój chorób neurodegeneracyjnych. Uważa się, że *CDR1as* może uczestniczyć w patogenezie choroby Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease*, AD) [27] i choroby Parkinsona (ang. *Parkinson's disease*, PD) [28]. Stwierdzono istotne obniżenie poziomu ciRS-7 w hipokampach pacjentów ze sporadyczną postacią choroby Alzheimera w porównaniu do grupy kontrolnej dobranej pod względem wieku. miR-7 bierze udział w regulacji enzymu wiążącego ubikwitynę E2A (ang. *ubiquitin-conjugating enzyme E2A*, UBE2A), który jest niezbędny do usuwania  $\beta$ -amyloidu. Lukiw i in. [29] stwierdzili odmienną ekspresję ciRS-7, miR-7 oraz UBE2A u pacjentów z AD. Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto hipotezę, że niedobór ciRS-7 i przez to zmniejszone wiązanie miR-7 w mechanizmie „gąbki”, a zarazem zwiększona ilość wolnych cząsteczek miR-7 spowodowała zmniejszoną ekspresję mRNA m. in. odpowiedzialnego za ekspresję UBE2A. Dane te zostały potwierdzone obserwacją, że zwiększona ekspresja ciRS-7 zmniejszyła produkcję  $\beta$ -amyloidu *in vitro* [30]. Sugeruje się także, że ciRS-7 może odgrywać rolę w szlaku zależnym od miR-7 w patogenezie choroby Parkinsona. Stwierdzono, że miR-7 hamuje ekspresję  $\alpha$ -synukleiny (SNCA) w modelu tej choroby. Obserwowano, że proces ten był spotęgowany w komórkach HeLa pozbawionych ciRS-7 [31]. Inna obserwacja dotyczyła circSNCA, które także może wiązać miR-7, przez co zwiększa ekspresję mRNA SNCA w modelu PD, a także w efekcie hamuje procesy autofagii i wzmacnia apoptozę - procesy typowe dla postępu neurodegeneracji. Ponadto stwierdzano zmniejszoną ekspresję SNCA i circSNCA po zastosowaniu pramipeksolu.

Rolę circRNA opisywano także w chorobach naczyniowych mózgu. Nadekspresja circDLGAP4, który posiada miejsca wiązania z miR-143, wiązała się wyraźnie łagodniejszymi objawami oraz mniejszym obszarem ogniska niedokrwiennego oraz mniej nasilonym uszkodzeniem bariery krew-mózg w mysim modelu udaru mózgu [32]. Z kolei

**Tabela 1.** Rola circRNA w patologiach układu nerwowego

Nazwa circRNA	miRNA	Patologia układu nerwowego	Literatura
hsa_circ_0106803			[75]
circ_0005402			[77]
circ_0035560		stwardnienie rozsiane	
hsa_circRNA_101348			[80]
hsa_circRNA_102611			
hsa_circRNA_104361			
ciRS-7	miR-7	choroba Parkinsona	[28]
circSNCA	miR-7		
ciRS-7	miR-7	choroba Alzheimerera	[27]
hsa_circ_0023919	miR-9	stwardnienie zanikowe boczne	[82]
hsa_circ_0063411	hsa-miR-647		
hsa_circ_0088036			
ciRS-7	miR-7 miR-671	dysfunkcja transmisji synaptycznej w neuronach pobudzających	[25]
rno_circ_0006928	miR-184	ból neuropatyczny	[83]
IQCK, MAP4K3, EFCA1, DTNA, MCTP1		zanik wieloukładowy (MSA)	[84]
mmu-circRNA-015947	mmu-miR-188-3p, mmu-miR-329-5p, mmu-miR-3057-3p, mmu-miR-5098, mmu-miR-683	urazy niedokrwiennie-reperfuzyjne mózgu	[85]
circ_008018	miR-99a		[86]
circDLGAP	miR-143	udar niedokrwienny mózgu	[32]
circHIPK3	microRNA-124	aktywacja astrocytów	[87]
circRar1	miR-671	zatrucie ołowiem	[88]
circ-FBXW7			[89]
cZNF292		glejaki	[35]
circ_0007534	miR-761		[90]
hsa_circRNA_103636	miR-890, miR-617, miR-520a, miR-15b-3p, miR-103a-2-5p	depresja	[37]
hsa_circRNA_104597	hsa-miR-659-3p, hsa-miR-548d-5p, hsa-miR-651-3p, hsa-miR-548c-5p and hsa-miR-548a-5p	schizofrenia	[38]

wyciszenie genu circHECTD1 usprawniało aktywację astrocytów i zmniejszało obszar uszkodzenia neuronów u myszy. Nadekspresję tego kolistego RNA stwierdzono także u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu [33]. Badania przy użyciu mikromacierzy pozwoliły na identyfikację licznych circRNA ulegających odmiennej ekspresji w mysich modelach niedokrwienia mózgu [34].

Także badanie znaczenia circRNA w patogenezie guzów mózgu przyniosło interesujące wyniki. Zaobserwowano, że zwiększona ekspresja cZNF292 indukuje proliferację komórek glejaka [35]. Z kolei nadekspresja circ-TTBK2 sprzyja zezłóśliwieniu guza. Natomiast w komórkach glioblastoma stwierdzano obniżoną ekspresję innego kolistego RNA, circ-FBXW7, a także korelację z przeżyciem pacjentów. Co ciekawe, koduje ono białko FBXW7-185aa, które zmniejsza okres półtrwania c-Myc poprzez destabilizację jego wiązania z USP-28 z c-Myc. Dzięki temu spowalnia proliferację komórek glioblastoma.

U pacjentów z lekooporną padaczką skroniową stwierdzono zmniejszoną ekspresję circ\_0067835 w próbkach kory płata skroniowego oraz jego aktywność jako „gąbki” dla miR-155. Poziom tego kolistego RNA korelował ze stanem klinicznym, m. in. z częstością napadów [50]. Inna analiza ujawniła związek tego typu padaczki z nadekspresją circ-EFCAB2 oraz zmniejszoną ekspresją circ-DROSHA [36].

Analizowano także potencjalną rolę circRNA w patogenezie depresji i schizofrenii. Potwierdzono obniżoną ekspresję hsa\_circRNA\_103636 w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (ang. *peripheral blood mononuclear cells*, PBMCs) u chorych z epizodem dużej depresji, a także istotne jej zmniejszenie po ośmiotygodniowej terapii [37]. Analiza profilu circRNA u chorych ze schizofrenią ujawniła zmniejszoną ekspresję hsa\_circRNA\_104597 u pacjentów z noworozpoznaną chorobą. Po ośmiotygodniowym leczeniu przeciwpsychotycznym obserwowano natomiast nadekspresję tego circRNA [38].

## STWARDNIENIE ROZSIANE

Wiele danych wskazuje na rolę niekodujących RNA w patogenezie schorzeń neuroimmunologicznych, w szczególności stwardnienia rozsianego. Stwardnienie rozsiane (łac. *sclerosis multiplex*, SM; ang. *multiple sclerosis*, MS) jest przewlekłą chorobą zapalną ośrodkowego układu nerwowego o niewyjaśnionej etiologii, w przebiegu której dochodzi do uszkodzenia mieliny w istocie białej jak i szarej mózgu i rdzenia kręgowego [39]. Jest to choroba o zróżnicowanym obrazie patologicznym i klinicznym. Zgodnie z aktualną klasyfikacją możemy wyróżnić trzy postacie SM: rzutowo-remisyjną (ang. *relapsing-remitting MS*, RRMS), wtórnie postępującą (ang. *secondary progressive MS*, SPMS) oraz pierwotnie postępującą (ang. *primary progressive MS*,

PPMS) [40]. Pierwszy epizod objawów ze strony układu nerwowego wynikający z początku choroby demielinizacyjnej ośrodkowego układu nerwowego nazywany jest zespołem klinicznie izolowanym (ang. *clinically isolated syndrome*, CIS). Postać RRMS dotyczy na początku choroby ok. 85-90% przypadków. W 2015 r. zaproponowano nowe definicje dla przebiegu choroby opierające się o analizę aktywności choroby (na podstawie częstości rzutów choroby i wyników badań obrazowych) oraz progresji choroby [40].

SM dotyczy głównie młodych ludzi; postać RRMS najczęściej jest diagnozowana pomiędzy 20 a 40 rokiem życia, natomiast PPMS średnio o dekadę później. Choroba ta, będąc jedną z częstszych przyczyn niepełnosprawności w populacji osób pracujących, jest ważnym problemem społecznym. Dotyka ona ok. 2,5 mln ludzi na całym świecie. Częstość występowania SM uzależniona jest od szerokości geograficznej, np. w krajach Ameryki Północnej i Europie wynosi >100/100 tys. mieszkańców, natomiast we Wschodniej Azji i Afryce Subsaharyjskiej 2/100 tys. mieszkańców [41]. Częstsze zachorowania odnotowuje się w szerokościach geograficznych o klimacie chłodnym i umiarkowanym niż w strefie zwrotnikowej i podzwrotnikowej), np. w Północnej Ameryce i Europie. Polska należy do grupy krajów o wysokiej zapadalności na tę chorobę – szacuje się, że obecnie cierpi na nią od 50 do 60 tysięcy ludzi. Na SM częściej chorują kobiety niż mężczyźni. Częstość występowania choroby w zależności od płci (K:M) w postaci RRMS wynosi 2-3:1; natomiast w postaci PPMS 1,1:1. W ostatnich latach obserwuje się stopniowy procentowy wzrost zachorowalności wśród kobiet, jednak dotyczy to jedynie postaci RRMS [41].

Istotny jest fakt, że w chwili obecnej w momencie rozpoznania choroby trudno jest jednoznacznie przewidzieć rokowania co do jej dalszego przebiegu, ciężkości i progresji objawów. Stąd wiele badań dotyczyło poszukiwań markerów umożliwiających przewidywanie przebiegu SM. Dużym wyzwaniem jest odkrycie markerów immunologicznych, które pozwolą na indywidualizację terapii. Poszukiwanie biomarkerów choroby jest komplikowane przez fakt, że dokładna przyczyna SM nie jest poznana. Uważa się, że jest to choroba wieloczynnikowa, która powstaje przy udziale czynników genetycznych, środowiskowych i epigenetycznych. Badania genetycznej predyspozycji do SM wykazały poligenowy charakter podatności na zachorowanie. Większość z nich wskazywała na związek SM z genami kodującymi molekuły zaangażowane w kontrolę reakcji immunologicznych. Najistotniejszy z nich dotyczył wpływu kombinacji genów *HLA DRB1\*15* (ang. *human leukocyte antigen DR beta \*15*) i *HLA-A\*02* (ang. *human leukocyte antigen A\*02*) [42]. Pierwszy z nich zwiększa ryzyko SM, natomiast drugi ma działanie ochronne. Wprowadzenie badań asocjacyjnych całego genomu (ang. *genome-wide association study*, GWAS) umożliwiło odkrycie ponad 200 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) dotyczących genów innych niż głównego kompleksu zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*, MHC) potencjalnie warunkujących podatność na stwardnienie rozsiane. Wiele z tych polimorfizmów znajdowało się w pobliżu genów związanych z mechanizmami immunolo-

gicznymi. Charakteryzują się one jednak niskim stopniem asocjacji [43].

Czynniki środowiskowe zaangażowane w patogenezę SM były i są przedmiotem licznych analiz. Wiele z nich przyniosło jednak sprzeczne wyniki. Aktualnie uważa się, że najsilniejszymi czynnikami, których efekt potwierdzono w metaanalizach są przebyte infekcje wirusem Epsteina-Barr (EBV), a także palenie papierosów [42], aczkolwiek nikotyna ma działać ochronnie [44]. Inne dane wskazują na czynniki niskiej ekspozycji na słońce oraz niedoboru witaminy D3. W ostatnim czasie wyniki badań dotyczących stosowania witaminy D u pacjentów z SM są jednak negatywne [45]. Ponadto do czynników środowiskowych predysponujących do wystąpienia SM zalicza się otyłość stwierdzaną w wieku dziecięcym i młodzieńczym, w szczególności u płci żeńskiej, zmianową pracę, nadmierną konsumpcję soli, stres i wiele innych [42].

Mimo że etiologia choroby wciąż nie jest w pełni poznana wiadomo, że uszkodzenia OUN, do których dochodzi w SM, zależą od zaburzonych procesów immunologicznych prowadzących do reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciwko antygenom mielinowym, takim jak białko zasadowe mieliny (MBP), białko proteolipidowe mieliny (PLP), glikoproteina związana z mielina (MAG), czy mielinowe białko oligodendrocytów (MOG). Autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia (ang. *experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE) jest najczęściej stosowanym modelem eksperymentalnym imitującym SM [46]. Wywołuje się je u genetycznie predysponowanych myszy poprzez immunizację antygenami mieliny. Badania na myszach z EAE wskazują na udział swoistych dla mieliny limfocytów Th1 CD4+ i Th17 CD4+ wytwarzających prozapalne cytokiny (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) w patogenezie tej jednostki chorobowej. Uważa się, że limfocyty Th1 i Th17 inicjują reakcję autoimmunologiczną w SM.

Autoreaktywne limfocyty T CD4+ odgrywają szczególnie ważną rolę w początkowej fazie choroby [47]. Komórki T izolowane od pacjentów z SM, swoiste względem antygenów mieliny stanowią heterogenną populację komórek w porównaniu do osób zdrowych. Częstość ich występowania u pacjentów z SM jest większa niż u osób niechorujących na SM [48]. Subpopulacje komórek T różnią się pod względem profilu wydzielanych cytokin. Aktywacja komórek T CD4+ zachodzi na obwodzie i być może jest wynikiem krzyżowej reakcji, np. w trakcie wcześniejszych infekcji wirusowych, choć dokładny mechanizm nie jest poznany. W SM dochodzi do nadmiernej aktywacji podtypu komórek Th1, które wydzielają prozapalne cytokiny IL-2 (ang. *interleukin 2*), IFN- $\gamma$  (ang. *interferon gamma*), TNF $\beta$  (ang. *tumor necrosis factor-beta*), IL-12 (ang. *interleukin 12*) oraz Th17 produkujących IL-17 (ang. *interleukin 17*). Wraz z limfocytami B i monocytami infiltrują one OUN, gdzie dochodzi do dalszej ich aktywacji oraz uszkodzenia mieliny.

Szczególnie interesującym podtypem komórek T pomocniczych biorących udział w patogenezie SM są komórki Th17. Wykazują one ekspresję czynnika transkrypcyjnego dla receptora kwasu retinowego związanego z receptorem alfa (ang. *retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha*,

ROR- $\alpha$ ) i dla receptora kwasu retinowego związanego z receptorem gamma-t (ang. *retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma t*, ROR- $\gamma$ t). Ich rozwój jest niezależny od czynników warunkujących rozwój limfocytów Th1 i Th2. Produkują one głównie IL-17 i są silnym czynnikiem propagującym rozwój autoimmunologicznej demielinizacji [49].

W ostatnich latach zwraca się szczególną uwagę na udział komórek B, a szczególnie komórek B pamięci i odpowiedzi humoralnej w patogenezie SM [50]. Limfocyty B, komórki plazmatyczne i immunoglobuliny są typowymi składnikami ognisk demielinizacji u pacjentów z SM. Charakterystyczny w tej chorobie wzrost stężenia immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz ich oligoklonalny charakter bez towarzyszącego wzrostu tego parametru w surowicy świadczy o ich syntezie wewnątrz ośrodkowego układu nerwowego. Limfocyty B pełnią rolę komórek prezentujących antygen, co jest szczególnie istotne dla OUN, gdzie środowisko immunologiczne jest ubogie w komórki o takich możliwościach. Limfocyty B dostarczają również sygnały kostymulacyjne autoreaktywnym limfocytom T [51]. Na ich rolę w SM wskazuje także rozwój wtórnej tkanki limfoidalnej w obrębie opon mózgowych chorych z wtórną postępującą SM.

Coraz więcej danych wskazuje na istotną rolę mechanizmów epigenetycznych w rozwoju SM. Zidentyfikowane czynniki epigenetyczne w stwardnieniu rozsianym obejmują: metylację DNA, modyfikację białek histonowych oraz funkcjonowanie mikroRNA. Cząsteczki miRNA są uważane za jedne z najważniejszych czynników regulacji posttranskrypcyjnej i biorą udział w bardzo wielu podstawowych procesach biologicznych. Uważa się, że miRNA mogą odgrywać kluczową rolę w modulowaniu funkcji układu immunologicznego oraz w regulacji funkcji komórek immunokompetentnych, ze znaczącym wpływem na rozwój reakcji autoimmunologicznych [52]. miRNA odgrywają istotną rolę we wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Wykazano związek niektórych miRNA (w szczególności miRNA-21, miRNA-146a/b, miRNA-301a i miRNA-155) w regulacji procesów autoimmunologicznych i zapalnych [53]. Ponieważ regulacja ekspresji miRNA jest procesem bardzo dynamicznym i złożonym, coraz więcej dowodów wskazuje na znaczenie kolejnego wyższego poziomu mechanizmu regulacyjnego związanego z funkcjami miRNA. Coraz więcej danych wskazuje, że może nim być aktywność nowej unikalnej grupy cząsteczek – kolistych RNA.

#### **KOLISTE RNA A FUNKCJE UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO**

SM jest chorobą związaną z dysfunkcją układu odpornościowego. Także rola kolistych RNA była analizowana w kontekście ich wpływu na układ odpornościowy. Odkryto, że ekspresja circRNA jest specyficzna dla typu komórek hematopoetycznych i zmienia się podczas ich różnicowania [12,54]. Odmianą ekspresję circRNA obserwowano w komórkach linii limfoidalnej i mieloidalnej, a także dojrzałych komórek obu tych linii. Biorąc pod uwagę sumę wszystkich wykrytych circRNA w danej komórce, najwyższą ekspresję circRNA w procesie hematopoezy wykazywały limfocyty, choć ekspresja poszczególnych circRNA w komórkach B, T

CD 4+, T CD 8+ oraz komórkach NK była podobna. Stosunek circRNA do formy liniowej różnił się w zależności od typu komórki i był największy w zróżnicowanych komórkach limfoidalnych. Największą liczbę różnych kolistych RNA spośród wszystkich komórek krwiotwórczych wykryto w płytkach krwi (ok. 47 tys. spośród ok. 59 tys. analizowanych) oraz erytrocytach (ok. 27 tys.) [54]. Analiza obecności circRNA w dojrzewających komórkach szpiku wykazała, że w przeciwieństwie do liniowych form RNA ekspresja circRNA była stabilna lub zwiększona.

Analizowano także rolę kolistych RNA w procesie immunosenescencji, polegającej na stopniowym pogarszaniu się funkcji układu odpornościowego wraz ze starzeniem organizmu. Proces ten związany jest z stopniową utratą cząsteczki kostymulującej CD28 z powierzchni limfocytów T CD8(+). Na podstawie analiz limfocytów CD28(+)/CD28(-) CD8(+) wykazano, że circRNA\_100783 ulega istotnie większej ekspresji u osób w wieku podeszłym w porównaniu do kontrolnej grupy dorosłych [55].

Rolę kolistych RNA badano także w kontekście chorób autoimmunologicznych. Ujawniono zróżnicowaną ekspresję kolistych RNA w komórkach PBMC pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów. Potwierdzona zwiększona ekspresja dotyczyła hsa\_circ\_0092285 i hsa\_circ\_0058794, natomiast zmniejszona hsa\_circ\_0088088 oraz hsa\_circ\_0038644, w porównaniu do grupy kontrolnej. Niektóre z nich, np. hsa\_circ\_0038644 powstają z genów związanych z aktywnością immunogenną [56]. Inne badania potwierdziły nadekspresję hsa\_circ\_104871, hsa\_circ\_003524, hsa\_circ\_101873 i hsa\_circ\_103047 [57] oraz zmniejszoną ekspresję hsa\_circ\_0044235 oraz hsa\_circ\_0000396 i hsa\_circ\_0130438 w komórkach PBMC u chorych na RZS [58].

Udowodniono, że u pacjentów z cukrzycą typu 2 dochodzi do zwiększenia ekspresji cząsteczki circANKRD36 w komórkach PBMC. Poziom ten dodatkowo korelował IL-6, która wykazuje działanie prozapalne [59].

W badaniach pacjentów z toczeniem układowym stwierdzono istotnie obniżony poziom hsa\_circ\_0045272 w komórkach T oraz jego związek z regulacją wydzielania IL-2 [60]. Analiza ekspresji kolistych RNA w komórkach PBMC ujawniła zmniejszoną ekspresję hsa\_circ\_0044235 oraz hsa\_circ\_0068367 u chorych z toczeniem. Ponadto stwierdzono podwyższony poziom hsa\_miRNA-892a, z którym miejscowa wiążące posiada hsa\_circ\_0044235, co przemawia za efektem „gąbki dla miRNA”. Dodatkowo hsa\_circ\_0044235 korelowało z poziomem przeciwciał przeciwko dwunucleowemu DNA (dsDNA) oraz przeciwko rybosomalnemu białku P (ARPA) [61].

Interesujące dane dotyczą badań nad rolą circRNA w rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego i chłonnego [62]. W ostrej białaczce szpikowej stwierdzano zwiększoną ekspresję circ-VIM, circ-PVT1, circ-DLEU2, circ-ANAPC7, circ-PAN3 (u chorych z oporną na leczenie/nawracającą postacią choroby), natomiast zmniejszoną ekspresję hsa\_circ\_0004277, circ-HIPK3. Do circRNA, które ulegają nadekspresji w przewlekłej białaczce szpikowej możemy zaliczyć m. in. hsa\_circ\_0080145, który pełni funkcję gąbki dla

miR-29b. Natomiast obecność circ-BA9.3 korelowała z opornością na jeden z rodzajów leczenia (inhibitorami kinazy tyrozynowej) poprzez zwiększenie poziomu białka onkogenu *BCR-ABL1*. Circ-CBFB działa jak gąbka dla miR-607 i jest niezależnym czynnikiem prognostycznym w przewlekłej białaczkę limfocytowej. Profilowanie circRNA u chorych z różnymi typami nowotworów wywodzących się z komórek B (chłoniakiem z komórek płaszczka, szpiczakiem mnogim, chłoniakiem grudkowym, chłoniakiem rozlanym z komórek B) ujawniły zróżnicowaną ekspresję circRNA w tych grupach chorych [62]. W chłoniaku Burkitta (ang. *Burkitt lymphoma*, BL) stwierdzono natomiast zwiększoną ekspresję circRNA ZDHHC11 i ZDNN11, mających wiele miejsc wiązania dla miR-150. Komórki chłoniaka charakteryzują się także wysoką ekspresją genu *MYC*. Przypuszcza się, że wyżej wspomniane circRNA w zdrowych komórkach mogą hamować nadmierną proliferację przez wiązanie miR-150 i powodując protoonkogeną represję *MYC*. Przeciwnie, w BL zwiększenie regulacji circRNA ZDHHC11 i ZDNN11B stymuluje proliferację, co może mieć związek z patogenezą choroby [63].

Koliste RNA biorą także udział w odpowiedzi przeciw-wirusowej. Początkowo mechanizm ich działania przeciw-wirusowego łączono głównie z mechanizmem wiązania i blokowania miRNA. Na przykład u kurcząt odpornych na zakażenie wirusem białaczki ptasiej stwierdzono nadekspresję dwunastu circRNA i wszystkie z nich były celem dla miRNA zaangażowanych w modulowanie funkcji komórek B. Podobnie w zakażeniu karpia reowirusem GCRV (ang. *grass carp reovirus*) stwierdzano zróżnicowaną ekspresję 41 kolistych RNA [64]. Posiadały one miejsca wiązania dla miRNA, których geny docelowe pełniły funkcje związane z reakcjami immunologicznymi.

Interakcje circRNA-miRNA-mRNA nie są jedynym mechanizmem, w którym uczestniczą koliste RNA w trakcie aktywności przeciw-wirusowej. Jednym z procesów niezależnych od miRNA jest aktywacja przez circRNA receptora RIG-I (ang. *retinoid acid-inducible gene-1*), jednego z kluczowych elementów nieswoistej odporności w zakażeniach wirusowych. Inny mechanizm przeciw-wirusowego działania kolistych RNA jest związany ze wzmożeniem mechanizmu zależnego od LPS przez circRasGEF1B [65].

Stwierdzono także udział circRNA w regulacji odpowiedzi nieswoistej przy udziale kinazy białkowej R zależnej od dsRNA (ang. *dsRNA-dependent protein kinase R*, PKR). Koliste RNA w warunkach fizjologicznych wiążą się z PKR blokując przez to jego działanie. Natomiast po wystąpieniu infekcji wirusowej dochodzi do degradacji circRNA przez RNAzę L i uwolnienia oraz aktywacji PKR. U pacjentów z toczeniem układowym ten mechanizm jest upośledzony, co ma związek ze zmniejszoną ekspresją circRNA oraz nieprawidłową, nadmierną aktywacją PKR [66].

Na aktywność circRNA w przeciw-wirusowej odpowiedzi immunologicznej można spojrzeć także z innej perspektywy. Mówią o tym doniesienia dotyczące wpływu infekcji wirusowej na biogenezę circRNA. W warunkach fizjologicznych białka NF90

i NF110 ułatwiają/promują powstawanie circRNA poprzez stabilizację ich sekwencji w jądrze komórkowym. Infekcja wirusowa powoduje natomiast szybkie uwolnienie i transport NF90/NF110 do cytoplazmy, a następnie wiązanie z wirusowym mRNA. Proces ten powoduje zmniejszenie ekspresji circRNA w jądrze komórkowym [21].

W przebiegu infekcji po wnikięciu do komórki wirus stara się zapanować nad procesami komórkowymi produkując własne miRNA, które wyciszają geny odpowiedzialne za obronę przeciw-wirusową. Wirusowe circRNAs mogą także neutralizować miRNA gospodarza i wzmacniać przez to produkcję białek sprzyjających ekspansji wirusa. Przeciwny mechanizm polega na produkcji przez gospodarza circRNA bezpośrednio blokujących wirusowe miRNA. Wykryto wiele circRNA będących gąbkami dla wirusowych miRNA. Szczególnie interesujące z punktu widzenia patogenezы SM jest odkrycie, że circRNA hsa\_circ\_002048 posiada 36 miejsc wiążących miRNA-BART20-5p, które jest kodowane przez EBV [67].

### mikroRNA W SM

Jednym z najbardziej znaczących odkryć w ostatnich latach na polu epigenetyki była identyfikacja miRNA. Wykazano związek niektórych miRNA z regulacją autoimmunologicznej demielinizacji w eksperymentalnym autoimmunologicznym zapaleniu mózgu i rdzenia u myszy (EAE), a także u chorych na SM.

miR-326 silnie koreluje z nasileniem choroby u pacjentów z SM i u myszy z EAE. Wyciszenie aktywności miR-326 u myszy spowodowało zmniejszenie puli komórek Th17 i wyraźnie łagodniejszy rozwój EAE, natomiast jego nadekspresja prowadziła do zwiększenia liczby komórek Th17 i ciężkiego przebiegu EAE. Stwierdzono także, że w komórkach PBMC infiltrujących OUN dochodzi do znacznej nadekspresji miR-155 [53]. Zmniejszenie ekspresji miR-155 w limfocytach T CD4+ powodowało znaczny wzrost odporności na możliwość wywołania EAE, co wiązało się z hamowaniem aktywności komórek Th1 i Th17. Stwierdzono także, że miR-155-3p kontroluje rozwój komórek Th poprzez szlak związany z dwoma białkami szoku cieplnego 40: Dnaj2 and Dnajb1 [68].

miR-124 reguluje funkcje mikrogleju oraz aktywację monocytów i makrofagów. Stwierdzono, że ulega ono zmniejszonej ekspresji w mikrogleju aktywowanym w czasie EAE. Obwodowe podawanie miR-124 powodowało ogólnoustrojową dezaktywację makrofagów, zmniejszenie aktywacji specyficznych dla mieliny limfocytów T i wyraźne hamowanie choroby. Natomiast blokowanie miR-124 w mikrogleju i makrofagach prowadziło do aktywacji tych komórek *in vitro* i *in vivo* [69].

Stwierdzono także, że w komórkach jednojądrzastych infiltrujących OUN dochodzi do nadekspresji m. in. miR-301a, który kontroluje rozwój komórek Th17 poprzez szlak IL-6/23-STAT3. Zwiększenie ekspresji miR-301a powodowało wyraźne nasilenie choroby, natomiast jego blokowanie – osłabienie objawów [53].



Analizy miRNA u pacjentów z SM dokonywano w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego, surowicy, osoczu, krwi pełnej, PBMC i plakach demielinizacyjnych [70]. Wykazano odmienny wzorzec ekspresji miRNA, zarówno zwiększonej, jak i zmniejszonej, u pacjentów z SM w porównaniu do grup kontrolnych. Poziomy niektórych z nich istotnie różniły się u chorych w zależności od stadium lub postaci choroby. Ujawniono, że poziomy miR-92a-1\* i miR-145 różnicują pacjentów z postacią RRMS od chorych z postacią SPMS i osób zdrowych. Natomiast oznaczenia jednej z rodzin miRNA – let-7 odróżniają chorych z postacią SPMS od osób zdrowych, a także chorych z postacią RRMS od SPMS [71]. Badano także korelacje pomiędzy poziomami miRNA i progresją niepełnosprawności. Siegel i in. [72] przeanalizowali 900 miRNA u pacjentów z SM i grupy kontrolnej i zidentyfikowali specyficzny wzór ekspresji miRNA w surowicy, który obejmował sześć miRNA, ulegających zwiększonej ekspresji u chorych z SM (miR-614, miR-572, miR648, miR-1826, miR-422a, miR-22) i jedno miRNA ulegające w tej grupie zmniejszonej ekspresji (miR-1979). Inna grupa badaczy [73] porównywała profil miRNA u chorych z postacią PPMS. Ujawniono istotny spadek miR-223 i miR-15b w grupie PPMS. W kolejnym badaniu [74] miRNA-145 w PBMC chorych z SM w remisji ulegał zwiększonej ekspresji, miR-660 i miR-939 oznaczane w osoczu w grupie chorych wykazywały spadek stężenia, natomiast poziom let-7d w PBMC korelował ze stężeniem prozapalnej cytokiny IL-1B. Ponadto zaobserwowano, że stężenie miRNA może ulec zmianie w odpowiedzi na leczenie SM, np. fingolimod zmniejsza stężenie miR-150 w osoczu, podczas gdy natalizumab zwiększa je.

Prowadzone liczne badania wyraźnie wskazują odmienną ekspresję miRNA w grupie chorych z SM. Mimo to próby zidentyfikowania klinicznie użytecznego biomarkera miRNA jak dotąd nie zakończyły się sukcesem. Jednym z powodów jest niska powtarzalność większości wyników w różnych analizowanych grupach. W związku z tym istnieje szansa, że brakującym ogniwem w tych analizach, a także potencjalnym biomarkerem o istotnym znaczeniu okażą się cząsteczki kolistych RNA, które w sposób istotny kontrolują ekspresję miRNAs i determinują ich działanie.

## KOLISTE RNA W SM

Mimo że pojawia się coraz więcej danych wskazujących na kluczowe role kolistych RNA w OUN oraz komórkach układu odpornościowego, rola tych cząsteczek w patogenezie SM pozostaje nadal w dużej mierze nieznana. Do tej pory jedynie kilka wstępnych doniesień dotyczyło tego tematu. W pierwszym z nich opisywano rolę circRNA w dysregulacji alternatywnego splicingu genu *GSDMB* (ang. *Gasdermin B*) u chorych z SM [75]. Zidentyfikowano nowe izoformy tego genu, a także eksonowe koliste RNA hsa\_circRNA\_0106803, którego ekspresja u pacjentów z SM jest 2,8-krotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. W kolejnym badaniu tej samej grupy [76] stwierdzono zwiększoną ekspresję (2,7-krotnie) genu lncRNA *MALAT1* u chorych z SM, a także jego wpływ na proces back-splicing oraz alternatywnego splicingu genów związanych z SM: IL7R (ang. *interleukin-7 receptor*) i SP140 (ang. *SP140 Nuclear Body Protein*).

W badaniu Iparraguirre i in. [77] potwierdzono zmniejszoną ekspresję hsa\_circ\_0005402 i hsa\_circ\_0035560 w komórkach PBMC chorych z SM. Ta sama tendencja była obserwowana u osób na wczesnym etapie choroby u pacjentów z CIS. Obie te cząsteczki kodowane są przez gen *ANXA2* zlokalizowany na chromosomie 15.

Kolejne badanie bioinformatyczne dotyczyło zmienności genetycznej w SM w obrębie genów niekodujących. Ujawniono w sumie 482 circRNA w regionach zawierających SNP związanych z SM w porównaniu ze średnią 194+/-65. Następnie oceniano dane sekwencjonowania RNA w liniach komórkowych SH-SY5Y i Jurkat – wykorzystywanych do analizy funkcji neuronów i limfocytów T. Zidentyfikowano 18 circRNA (w tym dwa nowe) wywodzących się z elementów zawierających SNP związanych z SM, co sugeruje ich możliwy udział w podatności na tę chorobę [78].

Jedno z badań dotyczyło analizy ekspresji circRNA w egzosomach z płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów z chorobami demielinizacyjnymi (SM i zespół Guillain'e'a-Barre'go). Potwierdzono zwiększoną ekspresję dwóch kolistych RNA hsa\_circRNA\_0087862 i hsa\_circRNA\_0012077 [79].

Wykazano także, że profilowanie kolistych RNA w komórkach PBMC pozwala na znamienne zróżnicowanie ekspresji circRNA u chorych z RRMS w stosunku do zdrowych ochotników [80]. W grupie pacjentów z rzutem choroby po fazie walidacji w niezależnej kohorcie zidentyfikowano trzy cząsteczki circRNA: hsa\_circRNA\_101348, hsa\_circRNA\_102611 i hsa\_circRNA\_104361 ulegające zwiększonej ekspresji. Dalsze analizy bioinformatyczne ujawniły grupę cząsteczek miRNA, które wykazywały specyficzne miejsca wiązania dla circRNA o zwiększonej ekspresji, tworząc podstawę biologicznego działania circRNA jako „gąbek” dla miRNA. Kolejne analizy bioinformatyczne i bezpośrednie pomiary transkryptów białkowych wykazały, iż kompleksy circRNA-miRNA zwiększały ekspresję trzech mRNA: AK2 (ang. *adenylate kinase 2*), IKZF3 (ang. *IKAROS Family Zinc Finger 3*), CBX5 (ang. *chromobox 5*). Dwa z nich związane są ściśle z funkcją limfocytów B. Mutacje w genie *AK2* wiążą się z hamowaniem aktywacji limfocytów B i produkcji przeciwciał, natomiast gen *IKZF3* odpowiada za funkcje dojrziałych komórek B w układzie immunologicznym i jest niezbędny do wytwarzania komórek plazmatycznych szpiku kostnego

Wszystkie te dane wskazują, że circRNA mogą przyczyniać się do patogenezy SM oraz innych chorób neuroimmunologicznych. Koliste RNA charakteryzuje szczególnie wysoka ekspresja w mózgu, a ponadto cechują się dużą stabilnością, co dodatkowo popiera powyższą tezę o ich możliwej istotnej roli w SM i innych patologiami ośrodkowego układu nerwowego. Dalsze badania w tym kierunku dają nadzieję na wykrycie związku circRNA z istotnymi mechanizmami autoimmunologicznymi prowadzącymi do wystąpienia SM, co powinno umożliwić dalszy postęp w poznaniu przyczyn tej choroby. Jednocześnie unikalna właściwość circRNA, polegająca na ich wyjątkowej stabilności,

stanowi doskonały materiał do ich wykorzystania jako nowych biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych.

## PIŚMIENNICTWO

1. Sanger HL, Klotz G, Riesner D, Gross HJ, Kleinschmidt AK (1976) Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures. *Proc Natl Acad Sci USA* 73(11): 3852-6
2. Chen YH, Li C, Tan CL, Liu XB (2016) Circular RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *J Med Genet* 53(6): 359-65
3. Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu J, et al. (2013) Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA* 19(2): 141-57
4. Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, et al. (2013) Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature* 495(7441): 333-8
5. Salzman J, Gawad C, Wang PL, Lacayo N, Brown PO (2012) Circular RNAs Are the Predominant Transcript Isoform from Hundreds of Human Genes in Diverse Cell Types. *PLoS One* 7(2): e30733
6. Wang PL, Bao Y, Yee MC, Barrett SP, Hogan GJ, Olsen MN, et al. (2014) Circular RNA Is Expressed across the Eukaryotic Tree of Life. *PLoS One* 9(3): 10
7. Pamudurti NR, Bartok O, Jens M, Ashwal-Fluss R, Stottmeister C, Ruhe L, et al. (2017) Translation of CircRNAs. *Mol Cell* 66(1): 9-21
8. Jeck WR, Sharpless NE (2014) Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol* 32(5): 453-61
9. Wilusz JE (2018) A 360 degrees view of circular RNAs: From biogenesis to functions. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 9(4): 17
10. Li Y, Zheng QP, Bao CY, Li SY, Guo WJ, Zhao J, et al. (2015) Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res* 25(8): 981-4
11. Zhang ZC, Guo XL, Li X (2018) The novel roles of circular RNAs in metabolic organs. *Genes Dis* 5(1): 16-23
12. Memczak S, Papavasileiou P, Peters O, Rajewsky N (2015) Identification and Characterization of Circular RNAs As a New Class of Putative Biomarkers in Human Blood. *PLoS One* 10(10): e0141214
13. Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, Sukhbaatar N, Aust S, Bachleitner-Hofmann T, et al. (2015) Correlation of circular RNA abundance with proliferation - exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues. *Sci Rep* 5: 8057
14. Rybak-Wolf A, Stottmeister C, Glazar P, Jens M, Pino N, Giusti S, et al. (2015) Circular RNAs in the Mammalian Brain Are Highly Abundant, Conserved, and Dynamically Expressed. *Mol Cell* 58(5): 870-85
15. Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, Sukhbaatar N, Bachleitner-Hofmann T, Mesteri I, et al. (2015) Correlation of circular RNA abundance with proliferation - exemplified with human normal, benign and malignant tissues. *Eur J Cancer* 51: S10-S15
16. You XT, Vlatkovic I, Babic A, Will T, Epstein I, Tushev G, et al. (2015) Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity. *Nat Neurosci* 18(4): 603-610
17. Hsiao K-Y, Sun HS, Tsai S-J (2017) Circular RNA - New member of noncoding RNA with novel functions. *Exp Biol Med* 242(11): 1136-41
18. Ashwal-Fluss R, Meyer M, Pamudurti NR, Ivanov A, Bartok O, Hanan M, et al. (2014) circRNA Biogenesis Competes with Pre-mRNA Splicing. *Mol Cell* 56(1): 55-66
19. Capel B, Swain A, Nicolis S, Hacker A, Walter M, Koopman P, et al. (1993) Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult-mouse testis. *Cell* 73(5): 1019-30
20. Li H-M, Ma X-L, Li H-G (2019) Intriguing circles: Conflicts and controversies in circular RNA research. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 10(5): e1538
21. Li X, Liu CX, Xue W, Zhang Y, Jiang S, Yin QF, et al. (2017) Coordinated circRNA Biogenesis and Function with NF90/NF110 in Viral Infection. *Mol Cell* 67(2): 214-216
22. Qu S, Yang X, Li X, Wang J, Gao Y, Shang R, et al. (2015) Circular RNA: A new star of noncoding RNAs. *Cancer Lett* 365(2): 141-8
23. Gualandi F, TrabANELLI C, Rimessi P, Calzolari E, Toffolatti L, Pataranello T, et al. (2003) Multiple exon skipping and RNA circularisation contribute to the severe phenotypic expression of exon 5 dystrophin deletion. *J Med Genet* 40(8): e100
24. Veno MT, Hansen TB, Veno ST, Clausen BH, Grebing M, Finsen B, et al. (2015) Spatio-temporal regulation of circular RNA expression during porcine embryonic brain development. *Genome Biol* 16: 245
25. Piwecka M, Glazar P, Hernandez-Miranda LR, Memczak S, Wolf SA, Rybak-Wolf A, et al. (2017) Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. *Science* 357(6357): eaam8526
26. Kleaveland B, Shi CY, Stefano J, Bartel DP (2018) A Network of Noncoding Regulatory RNAs Acts in the Mammalian Brain. *Cell* 174(2):350-362.e17
27. Lukiw WJ (2013) Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD). *Front Genet* 4: 307-310
28. Kumar L, Shamsuzzama, Jadiyah P, Haque R, Shukla S, Nazir A (2018) Functional Characterization of Novel Circular RNA Molecule, circzip-2 and Its Synthesizing Gene zip-2 in C-elegans Model of Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol* 55(8): 6914-26
29. Lukiw W, Zhao YH, Rogaev E, Bhattacharjee S (2016) A Circular RNA (circRNA) ciRS-7 in Alzheimer's disease (AD) targets miRNA-7 trafficking and promotes deficits in the expression of the ubiquitin conjugase (UBE2A) and the epidermal growth factor receptor (EGFR). *FASEB J* 30: 587.1-587.1
30. Shi ZM, Chen T, Yao QB, Zheng LN, Zhang Z, Wang JZ, et al. (2017) The circular RNA ciRS-7 promotes APP and BACE1 degradation in an NF-kappa B-dependent manner. *FEBS J* 284(7): 1096-109
31. Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, et al. (2013) Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature* 495(7441): 384-8
32. Bai Y, Zhang Y, Han B, Yang L, Chen XF, Huang RR, et al. (2018) Circular RNA DLGAP4 Ameliorates Ischemic Stroke Outcomes by Targeting miR-143 to Regulate Endothelial-Mesenchymal Transition Associated with Blood-Brain Barrier Integrity. *J Neurosci* 38(1): 32-50
33. Han B, Zhang Y, Zhang Y, Bai Y, Chen X, Huang R, et al. (2018) Novel insight into circular RNA HECTD1 in astrocyte activation via autophagy by targeting MIR142-TIPARP: implications for cerebral ischemic stroke. *Autophagy* 14(7): 1164-84
34. Liu CY, Zhang CC, Yang J, Geng XK, Du HS, Ji XM, et al. (2017) Screening circular RNA expression patterns following focal cerebral ischemia in mice. *Oncotarget* 8(49): 86535-47
35. Yang P, Qiu Z, Jiang Y, Dong L, Yang W, Gu C, et al. (2016) Silencing of cZNF292 circular RNA suppresses human glioma tube formation via the Wnt/beta-catenin signaling pathway. *Oncotarget* 7(39): 63449-55
36. Li JX, Lin HJ, Sun ZR, Kong GY, Yan X, Wang YJ, et al. (2018) High-Throughput Data of Circular RNA Profiles in Human Temporal Cortex Tissue Reveals Novel Insights into Temporal Lobe Epilepsy. *Cell Physiol Biochem* 45(2): 677-91
37. Cui X, Niu W, Kong L, He M, Jiang K, Chen S, et al. (2016) hsa\_circRNA\_103636: potential novel diagnostic and therapeutic biomarker in Major depressive disorder. *Biomark Med* 10(9): 943-52
38. Yao G, Niu W, Zhu X, He M, Kong L, Chen S, et al. (2019) hsa\_circRNA\_104597: a novel potential diagnostic and therapeutic biomarker for schizophrenia. *Biomark Med* 13(5): 331-340
39. Axisa P-P, Hafler DA (2016) Multiple sclerosis: genetics, biomarkers, treatments. *Curr Opin Neurol* 29(3): 345-53
40. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sorensen PS, Thompson AJ, et al. (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis The 2013 revisions. *Neurology* 83(3): 278-86
41. Leray E, Moreau T, Fromont A, Edan G (2016) Epidemiology of multiple sclerosis. *Rev Neurol* 172(1): 3-13
42. Waubant E, Lucas R, Mowry E, Grayest J, Olsson T, Alfredsson L, et al. (2019) Environmental and genetic risk factors for MS: an integrated review. *Ann Clin Transl Neurol* 6(9): 1905-22
43. Patsopoulos NA (2018) Genetics of Multiple Sclerosis: An Overview and New Directions. *Cold Spring Harb Perspect Med* 8(7): a028951

44. Gao Z, Nissen JC, Ji K, Tsirka SE (2014) The Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Disease Course Is Modulated by Nicotine and Other Cigarette Smoke Components. *PLoS One* 9(9): e107979
45. Zheng C, He L, Liu L, Zhu J, Jin T (2018) The efficacy of vitamin D in multiple sclerosis: A meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord* 23: 56-61
46. Raine CS, Cannella B, Belmar N, Hauser SH, Genain CP (1998) Antigen-specific antibody-mediated demyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) and in multiple sclerosis (MS). *J Neuropathol Exp Neurol* 57(5): 489-491
47. Severson C, Hafler DA (2010) T-Cells in Multiple Sclerosis. W: Martin R, Lutterotti A, editors. *Molecular Basis of Multiple Sclerosis: the Immune System. Results Probl Cell Differ* 51. Berlin: Springer-Verlag Berlin; str. 75-98
48. Legroux L, Arbour N (2015) Multiple Sclerosis and T Lymphocytes: An Entangled Story. *J Neuroimmune Pharmacol* 10(4): 528-46
49. Yasuda K, Takeuchi Y, Hirota K (2019) The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases. *Semin Immunopathol* 41(3): 283-97
50. Li R, Patterson KR, Bar-Or A (2018) Reassessing B cell contributions in multiple sclerosis. *Nat Immunol* 19(7): 696-707
51. Wilson HL (2012) B cells contribute to MS pathogenesis through antibody-dependent and antibody-independent mechanisms. *Biologics* 6: 117-23
52. Esteller M (2011) Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 12(12): 861-74
53. Mycko MP, Cichalewska M, Machlanska A, Cwiklinska H, Mariasiewicz M, Selmaj KW. (2012) microRNA-301a regulation of a T-helper 17 immune response controls autoimmune demyelination. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(20): E1248-E57
54. Nicolet BP, Engels S, Aglialoro F, van den Akker E, von Lindern M, Wolkers MC (2018) Circular RNA expression in human hematopoietic cells is widespread and cell-type specific. *Nucleic Acids Res* 46(16): 8168-80
55. Wang Y-h, Yu X-h, Luo S-s, Han H (2015) Comprehensive circular RNA profiling reveals that circular RNA100783 is involved in chronic CD28-associated CD8(+T) cell ageing. *Immun Aging* 12: 17
56. Zheng FP, Yu XQ, Huang JH, Dai Y (2017) Circular RNA expression profiles of peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis patients, based on microarray chip technology. *Mol Med Rep* 16(6): 8029-36
57. Ouyang Q, Wu J, Jiang Z, Zhao J, Wang R, Lou A, et al. (2017) Microarray Expression Profile of Circular RNAs in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Rheumatoid Arthritis Patients. *Cell Physiol Biochem* 42(2): 651-9
58. Luo Q, Zhang L, Li X, Fu B, Deng Z, Qing C, et al. (2018) Identification of circular RNAs hsa\_circ\_0044235 in peripheral blood as novel biomarkers for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 194(1): 118-24
59. Fang Y, Wang XX, Li WQ, Han JL, Jin JH, Su F, et al. (2018) Screening of circular RNAs and validation of circANKRD36 associated with inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Med* 42(4): 1865-74
60. Li LJ, Zhu ZW, Zhao W, Tao SS, Li BZ, Xu SZ, et al. (2018) Circular RNA expression profile and potential function of hsa\_circ\_0045272 in systemic lupus erythematosus. *Immunology* 155(1): 137-49
61. Luo Q, Zhang L, Li X, Fu B, Guo Y, Huang Z, et al. (2019) Identification of circular RNAs hsa\_circ\_0044235 and hsa\_circ\_0068367 as novel biomarkers for systemic lupus erythematosus. *Int J Mol Med* 44(4): 1462-72
62. Dahl M, Daugaard I, Andersen MS, Hansen TB, Gronbaek K, Kjems J, et al. (2018) Enzyme-free digital counting of endogenous circular RNA molecules in B-cell malignancies. *Lab Invest* 98(12): 1657-69
63. Dzikiewicz-Krawczyk A, Kok K, Slezak-Prochazka I, Robertus JL, Bruining J, Tayari MM, et al. (2017) ZDHHC11 and ZDHHC11B are critical novel components of the oncogenic MYC-miR-150-MYB network in Burkitt lymphoma. *Leukemia* 31(6): 1470-3
64. He LB, Zhang AD, Xiong L, Li YM, Huang R, Liao LJ, et al. (2017) Deep Circular RNA Sequencing Provides Insights into the Mechanism Underlying Grass Carp Reovirus Infection. *Int J Mol Sci* 18(9): 1977
65. Ng WL, Marinov GK, Liao ES, Lam YL, Lim YY, Ea CK (2016) Inducible RasGEF1B circular RNA is a positive regulator of ICAM-1 in the TLR4/LPS pathway. *RNA Biol* 13(9): 861-71
66. Chu-Xiao L, Xiang L, Fang N, Shan J, Xiang G, Si-Kun G, et al. (2019) Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity. *Cell* 177(4): 865-880.e21
67. Ghosal S, Das S, Sen R, Chakrabarti J. (2014) HumanViCe: host ceRNA network in virus infected cells in human. *Front Genet* 5: 249
68. Mycko MP, Cichalewska M, Cwiklinska H, Selmaj KW (2015) miR-155-3p Drives the Development of Autoimmune Demyelination by Regulation of Heat Shock Protein 40. *J Neurosci* 35(50): 16504-15
69. Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, Krichevsky AM, Weiner HL (2011) MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP-alpha-PU.1 pathway. *Nat Med* 17(1): 64-U234
70. Keller A, Leidinger P, Steinmeyer F, Stahler C, Franke A, Hemmrich-Stanisak G, et al. (2014) Comprehensive analysis of microRNA profiles in multiple sclerosis including next-generation sequencing. *Mult Scler J* 20(3): 295-303
71. Gandhi R, Healy B, Gholipour T, Egorova S, Musallam A, Hussain MS, et al. (2013) Circulating MicroRNAs as biomarkers for disease staging in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 73(6):729-40
72. Siegel SR, Mackenzie J, Chaplin G, Jablonski NG, Griffiths L (2012) Circulating microRNAs involved in multiple sclerosis. *Mol Biol Rep* 39(5): 6219-25
73. Fenoglio C, Ridolfi E, Cantoni C, De Riz M, Bonsi R, Serpente M, et al. (2013) Decreased circulating miRNA levels in patients with primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler J* 19(14): 1938-42
74. Sondergaard HB, Hesse D, Krakauer M, Sorensen PS, Sellebjerg F (2013) Differential microRNA expression in blood in multiple sclerosis. *Mult Scler J* 19(14): 1849-57
75. Cardamone G, Paraboschi EM, Rimoldi V, Duga S, Solda G, Asselta R (2017) The Characterization of GSDMB Splicing and Backsplicing Profiles Identifies Novel Isoforms and a Circular RNA That Are Dysregulated in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci* 18(3): 576
76. Cardamone G, Paraboschi EM, Solda G, Cantoni C, Supino D, Piccio L, et al. (2019) Not only cancer: the long non-coding RNA MALAT1 affects the repertoire of alternatively spliced transcripts and circular RNAs in multiple sclerosis. *Hum Mol Genet* 28(9): 1414-28
77. Iparraguirre L, Munoz-Culla M, Prada-Luengo I, Castillo-Trivino T, Olascoaga J, Otaegui D. (2017) Circular RNA profiling reveals that circular RNAs from ANXA2 can be used as new biomarkers for multiple sclerosis. *Hum Mol Genet* 26(18): 3564-72
78. Paraboschi EM, Cardamone G, Solda G, Duga S, Asselta R (2018) Interpreting Non-coding Genetic Variation in Multiple Sclerosis Genome-Wide Associated Regions. *Front Genet* 9: 647
79. He J, Ren M, Li H, Yang L, Wang X, Yang Q (2019) Exosomal Circular RNA as a Biomarker Platform for the Early Diagnosis of Immune-Mediated Demyelinating Disease. *Front Genet* 10: 860
80. Zurawska AE, Mycko MP, Selmaj I, Raine CS, Selmaj KW (2021) Multiple Sclerosis circRNA Profile Defined Reveals Links to B-Cell Function. *Neurol.: Neuroimmunol. NeuroInflammation* 8(5): e1041
81. Zurawska A, Mycko MP, Selmaj KW (2019) Circular RNAs as a novel layer of regulatory mechanism in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 334: 576971
82. Dolinar A, Koritnik B, Glavac D, Ravnik-Glavac M (2019) Circular RNAs as Potential Blood Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Mol Neurobiol* 56(12): 8052-62
83. Zhou J, Xiong QM, Chen HT, Yang CX, Fan YL (2017) Identification of the Spinal Expression Profile of Non-coding RNAs Involved in Neuropathic Pain Following Spared Nerve Injury by Sequence Analysis. *Front Mol Neurosci* 10: 91
84. Chen BJ, Mills JD, Takenaka K, Bliim N, Halliday GM, Janitz M (2016) Characterization of circular RNAs landscape in multiple system atrophy brain. *J Neurochem* 139(3): 485-96

85. Lin SP, Ye S, Long YM, Fan YX, Mao HF, Chen MT, et al. (2016) Circular RNA expression alterations are involved in OGD/R-induced neuron injury. *Biochem Biophys Res Commun* 471(1): 52-6
86. Yang XL, Ji HF, Yao YL, Lai XY, Jiang YF, Wu DY, et al. (2018) Downregulation of circ\_008018 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting miR-99a *Biochem Biophys Res Commun* 499(4): 758-64
87. Huang RR, Zhang Y, Han B, Bai Y, Zhou RB, Gan GM, et al. (2017) Circular RNA HIPK2 regulates astrocyte activation via cooperation of autophagy and ER stress by targeting MIR124-2HG. *Autophagy* 13(10): 1722-41
88. Nan A, Chen LJ, Zhang N, Liu ZZ, Yang T, Wang ZS, et al. (2017) A novel regulatory network among LncRpa, CircRar1, MiR-671 and apoptotic genes promotes lead-induced neuronal cell apoptosis. *Arch Toxicol* 91(4): 1671-84
89. Yang YB, Gao XY, Zhang ML, Yan S, Sun CJ, Xiao FZ, et al. (2018) Novel Role of FBXW7 Circular RNA in Repressing Glioma Tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst* 110(3): 12
90. Li GF, Li L, Yao ZQ, Zhuang SJ (2018) Hsa\_circ\_0007534/miR-761/ZIC5 regulatory loop modulates the proliferation and migration of glioma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 499(4): 765-71

## The role of the circular RNAs in multiple sclerosis and other neuroimmune disorders

Anna E. Zurawska

Department of Neurology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Corresponding author: anna.elzbieta.zurawska@gmail.com

Key words: circular RNA, microRNA, multiple sclerosis

### ABSTRACT

In recent years non-coding RNAs have received increasing attention as an important epigenetic mechanism, with particular role of micro RNAs. As the regulation of miRNA expression is highly dynamic and complex, growing evidence suggests the existence of another higher level of regulatory mechanism involved in miRNA activity - circular RNAs (circRNAs). circRNAs represent novel, unique class of endogenous ncRNAs controlling the expression and function of miRNA. They are called natural miRNA "sponges". Accumulating evidence reveals circRNAs role in physiological and pathological processes including CNS and immune regulation. Previous studies implicated miRNAs in regulation of autoimmune demyelination in MS. Multiple sclerosis is a chronic neurological inflammatory demyelinating disorder of the central nervous system. While the etiology of MS is still not fully understood, accumulating evidence suggests that it is a multifactorial entity with significant involvement of autoimmune processes.

