

Jednym z poważnych problemów immunologicznych związanych z alloprzeszczepem hematopoetycznych komórek macierzystych (**alloHSCT**) jest opóźniona regeneracja limfocytów T. Szczególnie utrudnione jest odtwarzanie subpopulacji limfocytów T o wspólnym fenotypie CD4+. Doraźną rolę ochronną pełnią „gotowe” limfocyty T pochodzące bezpośrednio od dawcy, wśród których najwięcej jest tzw. limfocytów T pamięci. Niestety, limfocyty te mają ograniczony repertuar TCR, co stanowi przeszkodę w rozpoznawaniu rozlicznych patogenów z jakimi chory spotyka się po przeszczepie. Wśród przeszczepionych limfocytów występuje również niewielka liczba limfocytów T o fenotypie CD4+ CD45RA+ CD62L+CD31+ (tzw. limfocyty RTE), które mają szerszy repertuar TCR i co za tym idzie większy potencjał immunoprotekcyjny w stosunku do różnorodnych patogenów. O ile szczegółowa rekonstrukcja limfocytów T została dość dobrze opisana dla najczęściej wykonywanych przeszczepów alloHSCT, czyli od dawcy w pełni zgodnego w HLA (ang. *matched unrelated donor HST*, skrót **matched-HSCT** lub **MRD-HSCT** jeśli od dawcy spokrewnionego lub **MUD-HSCT** jeśli od dawcy niespokrewnionego), o tyle aspekt ten jest jeszcze słabo poznany dla przeszczepów od dawcy zgodnego w połowie antygenów HLA (tzw. **haplo-HSCT**). Choć rzadko wykonywane, haplo-HSCT nabierają coraz większego znaczenia w sytuacji braku dostępności dawcy zgodnego w HLA. Od niedawna możliwe stało się przeprowadzanie tzw. niezmodyfikowanych haploHSCT, czyli bez uprzedniej eliminacji alloreaktywnych limfocytów T z przeszczepianego materiału, która zapobiegać miała wystąpieniu tzw. choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (ang. *graft versus host disease*, **GvHD**) u biorcy. Obecnie ryzyko GvHD zmniejsza się za pomocą post-transplantacyjnej immunosupresji opartej na cyklofosfamidzie (Cy), który selektywnie zwalcza alloreaktywne limfocyty T *in vivo*. Nasze wstępne obserwacje wskazują na wydajniejszą wczesną (+100 dni po HSCT) rekonstytucję limfocytów Tnaive, w tym RTEs oraz dziewiczych limfocytów regulatorowych (naive Treg: CD4+ CD25high CD127- CD45RA+) u pacjentów po haploHSCT w porównaniu z pacjentami po MUD-HSCT. Pozwoliło nam to na sformułowanie hipotezy, że zaobserwowane różnice mogą wynikać m.i. z odmiennego schematu post-transplantacyjnej immunosupresji stosowanego w haploHSCT i matchedHSCT (Cy vs ATG/CsA). Skądinąd wiadomo, że limfocyty o fenotypie RTE stanowią szczególnie cenną populację komórek, które pozbawione są alloreaktywności oraz posiadają potencjał do różnicowania w kierunku macierzystych limfocytów T pamięci (T memory stem cells) Tscm. Odkryte niedawno Tscm posiadają unikalne wśród limfocytów T cechy „macierzystości”, takie jak: długowieczność, niski stopień zróżnicowania, multipotencjalność, zdolność do samoodnowy. Ta ostatnia właściwość pozwala na szybką repopulację Tscm nawet z niewielkiej początkowej puli komórek, co może mieć niebagatelne znaczenie w rekonstytucji immunologicznej po alloHSCT. Co ciekawe, w żadnym z dotychczasowych badań nie oceniano oporności/wrażliwości limfocytów RTEs oraz Tscm na powszechnie stosowane immunosupresanty. Uważamy, że przetrwanie takich komórek w warunkach immunosupresji mogłoby mieć korzystny wpływ na jakość regeneracji układu immunologicznego po przeszczepie HSC. Wobec powyższego zdecydowaliśmy się rozszerzyć nasze wstępne badania o analizę kontekstu immunologicznego jaki może stać za zaobserwowanym efektem. Nadrzędnym celem niniejszego projektu jest szczegółowa ocena wczesnej (w +100 dniu po HSCT) odnowy rzadkich subpopulacji limfocytów T CD4+ (limfocyty T naive, RTE, Tscm, naive Treg) u pacjentów po HSCT haploidentycznym (haplo-HSCT) w porównaniu z grupą pacjentów po w pełni zgodnym w HLA przeszczepie niespokrewnionym (MUD-HSCT). Szczegółowe cele projektu dotyczą poszukiwania zależności pomiędzy ilością przeszczepionych pacjentowi limfocytów RTE, a potencjałem odtwórczym tej populacji w dniu +100 oraz zależności pomiędzy ilością odtwarzanych komórek RTEs, a pojawianiem się we krwi macierzystych limfocytów T pamięci (Tscm). Zostanie również przeprowadzona szczegółowa analiza *ex vivo* oporności/wrażliwości limfocytów RTEs, a także możliwości ich różnicowania oraz selekcji w środowisku poszczególnych immunosupresantów stosowanych w ramach profilaktyki GvHD u pacjentów po haplo-HSCT oraz matched-HSCT. Dodatkowo, w puli przetrwałych limfocytów T zostanie oceniony repertuar TCR, co pozwoli na ocenę kierunku działania immunosupresantów w kontekście potencjalnej selekcji monoklonalnych form limfocytów T. Wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektu umożliwią zrozumienie podłoża immunologicznego na którym kształtuje się po-przeszczepowa odnowa rzadkich subpopulacji limfocytów T w skrajnie różnym pod względem zgodności HLA doborze dawca-biorca oraz w obecności różnych czynników immunosupresyjnych.