

Skracanie telomerów w komórkach długoterminowych biorców alogenicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych w porównaniu do komórek ich dawców

Telomery to krótkie fragmenty DNA, składające się z powtarzalnych sekwencji TTAGGG. Zlokalizowane są na końcach chromosomów, a ich główną funkcją jest zapobieganie utracie materiału genetycznego w procesie replikacji DNA, poprzez zapewnianie nadmiaru niekodującego DNA. W konsekwencji przy każdym podziale komórkowym (i towarzyszącej mu replikacji) dochodzi do skracania samych telomerów. Gdy osiągną krytyczną długość, dochodzi do zahamowania podziałów komórkowych i starzenia się komórki lub apoptozy (samobójczej śmierci komórki). Długość telomerów jest więc wykładnikiem starzenia się komórek. W procesie alogenicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych niewielka ilość komórek macierzystych dawcy musi odbudować funkcjonalny układ krwiotwórczy biorcy. Prowadzi to do zwiększonej aktywności podziałowej danych komórek, znacznie przekraczającej normę. Teoretycznie, taki proces powinien skutkować przyspieszeniem skracania telomerów, a tym samym starzeniem się komórek.

Celem naszego projektu jest porównanie dynamiki starzenia się komórek krwiotwórczych, u długoterminowych biorców alogenicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych oraz ich dawców, mierzonej jako różnica w średniej długości telomerów w subpopulacjach limfocytów T CD4+ i T CD8+. Po udanym przeszczepie komórek krwiotwórczych populacja limfocytów biorcy wywodzi się bezpośrednio z komórek dawcy, co umożliwia badanie różnic w średniej długości telomerów. Pomiar zostanie dokonany za pomocą metody Flow FISH. Wykorzystuje ona technikę cytometrii przepływową, która pozwala na analizę fluorescencji pojedynczych komórek opartą na technice fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH), dzięki której, za pomocą sondy sprzężonej z barwnikiem fluorescencyjnym możemy oznaczyć dany odcinek DNA. Intensywność fluorescencji powinna być proporcjonalna do średniej długości telomerów. Po otrzymaniu wyników sprawdzimy, czy istnieje różnica w średniej długości telomerów biorcy w kontekście wieku dawcy oraz wystąpienia ciężkiej postaci przewlekłej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi.

Powodem podjęcia przez nas tematu skracania telomerów w kontekście przeszczepu komórek krwiotwórczych była praca profesora Jana Macieja Zauchy i wsp. z roku 2001. Badali oni długość telomerów w komórkach psów, które poddano niezwykle stresowi proliferacyjnemu, poprzez powtarzalne napromienianie całego ciała. Komórki krwi transplantowane allogenicznym biorcom również są poddawane olbrzymiemu stresowi proliferacyjnemu. Ze względu na dostęp do względnie dużej populacji długoterminowych biorców alogenicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych, postanowiliśmy przeprowadzić podobne badania u ludzi wykorzystując przeszczep jako ekspozycyjny stres proliferacyjny. Uważamy, że realizacja projektu przyczyni się do rozwoju wiedzy na temat starzenia się komórek i starzenia *per se* oraz określenia potencjalnych czynników, mogących stymulować ten proces. Przyczyni się również do odpowiedzi na kluczowe pytanie - czy alogeniczny przeszczep komórek krwiotwórczych przyspiesza starzenie komórek czy jedynie zmniejsza potencjalną liczbę podziałów komórki macierzystej w okresie poprzyszczepowym.