

Cel projektu – Przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych jest procedurą medyczną ratującą życie. Jej skuteczność w dużym stopniu zależy od liczby przeszczepionych komórek macierzystych i szybkości ich wszczepienia po infuzji do biorcy poddanemu mieloablacji. Stąd przyspieszenie tempa wszczepiania przeszczepionych hematopoetycznych komórek macierzystych/progenitorowych (**HSPC**) do szpiku kostnego biorcy (**BM**) ma ogromne znaczenie. Jest to szczególnie ważne, gdy liczba dostępnych komórek macierzystych jest niska, np. przy słabym pobraniu BM, niskiej wydajności mobilizacji dawcy i małej liczbie HSPC w dostępnej jednostce krwi pępowinowej (UCB) dla dorosłego biorcy. Dlatego optymalizacja protokołów klinicznych poprawiających wszczepienie się HSPC ma ważne znaczenie kliniczne. Układ dopełniacza (ComC) odgrywa kluczową rolę w „naprowadzaniu” do szpiku kostnego i wszczepianiu się HSPC po przeszczepie krwiotwórczym. Wiadomo, że receptory dla fragmentów ComC ulegają ekspresji na powierzchni HSPC. Wynika to z faktu, iż zarówno hematopoeza, jak i elementy układu odpornościowego wywodzą się ze wspólnej komórki macierzystej dla linii krwiotwórczej/limfopoetycznej.

Główne założenia projektu opierają się na naszych danych dowodzących, iż u myszy z niedoborem trzeciego (C3^{-/-}) oraz piątego (C5^{-/-}) czynnika ComC obserwuje się opóźnione wszczepianie HSPC. Ponadto nasze dane wskazują, że przygotowanie do przeszczepu w postaci terapii mieloablacyjnej wywołuje stan sterylnego zapalenia u biorcy przeszczepu, który skutkuje aktywacją ComC zarówno w krwi obwodowej (PB), jak i w mikrośrodowisku szpiku biorcy. Aktywne fragmenty ComC *i*) prowadzą do uwolnienia reaktywnych form tlenu (ROS) w komórkach oraz *ii*) aktywacji wewnątrzkomórkowych receptorów rozpoznających wzorce (PRR) w tym inflamasomu Nlrp3. W projekcie poddamy wnikliwej analizie rolę ComC i jego dalszych mediatorów potencjalnie regulujących szybkość i wydajność wszczepiania HSPC. Ponadto, wyniki prac ostatnich paru lat dowodzą na poza wątrobową ekspresję C3 i C5 w innych typach komórek, np. w limfocytach, określaną mianem **komplosomu**. Nasze ostatnie badania wykazały, że komplosom ulega również ekspresji w HSPC. Rola komplosomu oraz jego znaczenie biologiczne dla HSPCs stanie się więc przedmiotem pionierskich badań w przedstawionym projekcie.

Proponowane badania - Proponujemy zbadać rolę elementów ComC pochodzących z wątroby oraz ulegających ekspresji w HSPC w procesach wszczepienia i ekspansji HSPC po przeszczepie oraz aby opracować optymalne protokoły dla przeszczepów krwiotwórczych. W tym celu proponujemy realizację 3 powiązanych ze sobą celów naukowych: 1) *weryfikacja, który ze szlaków aktywacji ComC ma kluczowe znaczenie w odpowiedzi na terapię mieloablacyjną oraz prędkość wszczepiania się HSPCs w środowisku szpiku biorcy?*; 2) *identyfikacja mechanizmów działania ComC na wszczepione i migrujące do szpiku HSPCs oraz* 3) *identyfikacja procesów aktywowanych przez ComC w mikrośrodowisku szpiku u biorcy przeszczepu, oraz wyjaśnienie znaczenia endogennej ekspresji białek ComC w HSPC (komplosomu).*

Uzasadnienie wyboru tematyki badawczej – Główne założenie projektu opiera się na danych, iż nawigacja HSPC do BM podlega ścisłej regulacji poprzez wrodzoną odpowiedź immunologiczną aktywowaną w odpowiedzi na przygotowanie do przeszczepu poprzez terapię mieloablacyjną. Nasze niedawno opublikowane oraz wstępne dane wskazują na kluczową rolę aktywacji ComC, która, jak proponujemy, indukuje aktywację inflamasomu Nlrp3 zarówno w przeszczepionych komórkach dawcy, jak i w mikrośrodowisku BM biorcy. Proponowane innowacyjne badania pozwolą na poznanie wzajemnych interakcji ComC, Nlrp3, HSPCs oraz środowiska BM. Do badań wykorzystamy dostępne unikalne modele zwierzęce, niskocząsteczkowe inhibitory oraz aktywatory ComC oraz Nlrp3, jak i najnowocześniejsze strategie oceniające procesy migracji oraz aktywacji HSPCs. Przeprowadzimy również innowacyjne badania dotyczące roli wewnątrzkomórkowej ekspresji elementów układu dopełniacza w HSPC (komplosomu). Ponieważ szereg drobnocząsteczkowych modulatorów wykorzystywanych w naszych badaniach jest dopuszczonych do użytku klinicznego, wyniki realizacji projektu mogą znaleźć potencjalne przyszłe zastosowania w przeszczepianiu krwiotwórczym. Zastosujemy również najnowocześniejsze strategie izolacji HSPC oraz elementów komórkowych niszy krwiotwórczej szpiku kostnego oraz ocenimy zmiany ekspresji mRNA i białek za pomocą RNA-Seq i szczegółowych analiz proteomicznych i metabolomicznych opartych na spektrometrii mas (MS). Realizacja celów badania będzie miała ważne znaczenie nie tylko dla opracowania optymalnych protokołów klinicznych w transplantologii, ale również, zastosowanie w medycynie regeneracyjnej w regeneracji i leczeniu uszkodzeń tkanek/narządów.