

## **Skrining niepowodzenia mobilizacji podczas przeszczepu komórek macierzystych poprzez profilowanie niekodującego RNA.**

Transplantacja krwiotwórczych komórek macierzystych szpiku kostnego jest uznaną metodą leczenia chorób zarówno hematologicznych, jak i metabolicznych czy autoimmunologicznych. W Europie wykonuje się rocznie ponad 40 000 transplantacji szpiku, z czego większość stanowią autologiczne przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych szpiku (*autologous hematopoietic stem-cell transplant, AHSCT*). Głównymi kandydatami do tej procedury są noworozpoznani pacjenci ze szpiczakiem plazmocytowym oraz pacjenci z nawrotowymi i opornymi na leczenie chłoniakami.

Procedura AHSCT składa się z trzech kroków. W procesie mobilizacji, po zastosowaniu czynnika wzrostu kolonii granulocytów (*granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF*) z lub bez chemioterapii, krwiotwórcze komórki macierzyste (*hematopoietic stem cells, HSCs*) z antygenem CD34+ są przemieszczane ze szpiku do krwi krążącej. Są one kolekcjonowane z krwi obwodowej przez aferezy. Następnie, celem eradykacji nowotworu, podaje się wysokodawkowaną chemioterapię. Transplantacja pobranych HSCs podczas mobilizacji pozwala wówczas na odtworzenie czynności krwiotwórczej szpiku po wysokodawkowanej chemioterapii.

Większa liczba przeszczepionych komórek CD34+ jest związana z szybszym czasem odtworzenia hematopoezy, krótszym czasem hospitalizacji, mniejszą ilością powikłań oraz dłuższym przeżyciem pacjentów poddawanych AHSCT. Niestety, część pacjentów jest niezdolna do mobilizacji wystarczającej liczby HSCs do transplantacji. Według różnych szacunków, odsetek „złych mobilizatorów” wynosi 5-30% kwalifikowanych pacjentów do AHSCT. Niewystarczająca liczba zebranych HSCs wiąże się z powórnymi zabiegami mobilizacji, hospitalizacjami, opóźnieniem czasu przeprowadzenia transplantacji, a nawet, w niektórych przypadkach AHSCT nie jest możliwa.

Wyróżniono pewne czynniki predysponujące do niepowodzenia mobilizacji- wiele linii wcześniejszego leczenia, zajęcie szpiku kostnego, wiek >65 roku życia. Jednakże, modele predykujące wystąpienie tego powikłania cechują się niewystarczającymi parametrami diagnostycznymi. Tym samym, nie ma dostępnych narzędzi umożliwiających prawidłową identyfikację pacjentów zagrożonych niepowodzeniem mobilizacji przed wystąpieniem tej procedury.

Prezentujemy propozycję badania, w którym będziemy chcieli ocenić profil małych, niekodujących cząsteczek RNA- mikroRNA (miRNA) u pacjentów poddawanych mobilizacji HSCs. Cząsteczki te biorą udział w ekspresji genów regulujących procesy różnicowania, apoptozy oraz migracji komórek HSC po transplantacji. Dlatego uważamy, że ekspresja miRNA również może być istotnym czynnikiem niepowodzenia mobilizacji.

Proponowane badanie pozwoli na odkrycie i zrozumienie roli miRNA w procesie mobilizacji HSCs i określenie ich roli klinicznej jako potencjalnych biomarkerów. Kolejne etapy badania przewidują:

1. sekwencjonowanie miRNA w grupie 18 pacjentów celem ustalenia najbardziej zróżnicowanych cząsteczek miRNA pomiędzy grupą „złych mobilizatorów” i „dobrych mobilizatorów” oraz zmian w ich ekspresji zachodzących pod wpływem leczenia ,
2. oznaczenie ekspresji najbardziej obiecujących miRNA w większej grupie pacjentów metodą ilościowej łańcuchowej reakcji polimerazy (*quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR*) i wytworzenie modeli diagnostycznych je wykorzystujących za pomocą technik eksploracji danych (data mining) i uczenia maszynowego,
3. ocenę jakości wytworzonych narzędzi diagnostycznych na nowej, niezależnej grupie pacjentów i wybór najlepszego predyktora niepowodzenia mobilizacji.

Projekt pozwoli na poznanie sygnatury miRNA doświadczających niepowodzenia mobilizacji, identyfikację nowych czynników predysponujących, a także wytworzenie i walidację narzędzia mogącego stratyfikować pacjentów do grup ryzyka, co pozwoli na personalizację procesu leczenia.