

Υποψήφιος διδάκτορας: Κατσίκη Κυριακή

Τριμελής επιτροπή:

Ιωάννης Μητρούλης, επίκουρος καθηγητής παθολογίας

Χαράλαμπος Παπαγώρας, επίκουρος καθηγητής ρευματολογίας

Ιωάννης Κοτσιανίδης, καθηγητής αιματολογίας

Τίτλος διδακτορικής διατριβής: Ανοσοποιητική ρύθμιση μυελικών νεοπλασιών

Η αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης αποτελεί πρόκληση για την πολιτική στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης. Το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ) αποτελεί μια τέτοια νόσο με αυξημένη επίπτωση στο γηράσκοντα πληθυσμό (Chung and Park, 2017). Το ΜΔΣ είναι μια ετερογενής ομάδα ασθενειών που επηρεάζει κυρίως ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών με συχνότητα 75-162 ασθενών ανά 100 000 ηλικιωμένου πληθυσμού (Cogle, 2015; Hofmann and Koefler, 2005; Ma, 2012). Οι ασθενείς με ΜΔΣ χαρακτηρίζονται από κυτταροπενία και διατρέχουν υψηλό κίνδυνο για την ανάπτυξη δευτερογενούς οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (Hofmann and Koefler, 2005). Έχουν εντοπιστεί αρκετές γενετικές αλλοιώσεις σε ασθενείς με ΜΔΣ. Παρόλο που το ΜΔΣ είναι κλινική διαταραχή των αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων, νέα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η φλεγμονή έχει σημαντική συμμετοχή στην έναρξη και εξέλιξη της νόσου (Medyouf et al., 2014). Αναφέρθηκαν αυξημένα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών (παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF)α, ιντερλευκίνη (IL)1β, IL-6) στην παθογένεση του ΜΔΣ, ενώ είναι ενδιαφέρον ότι το ΜΔΣ συσχετίζεται συχνά με την ανάπτυξη συστηματικών φλεγμονωδών και αυτοάνοσων διαταραχών (Mekinian et al., 2016). Τα CD4+ T λεμφοκύτταρα παίζουν κεντρικό ρόλο στην ανοσολογική απόκριση σε καρκινικά κύτταρα, ενώ η άμεση αναγνώριση καρκινικών αντιγόνων από CD4+ T κυττάρων ειδικών για τον όγκο δεν έχει πάντοτε ευεργετικές δράσεις οδηγώντας σε καταστολή της αντι-καρκινικής ανοσίας (Ahrends and Borst, 2018), διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο και στη βιολογία του ΜΔΣ και την απόκριση στη θεραπεία (Lamprianidou et al., 2021).

Σκοπός της διδακτορικής διατριβής είναι η ανάπτυξη μοντέλων βασισμένων στη συστηματική ανάλυση δεδομένων σύγχρονων τεχνολογιών για τη μελέτη της καρκινογένεσης στο ΜΔΣ. Η διδακτορική διατριβή θα επικεντρωθεί σε κυτταρικούς πληθυσμούς T λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των οστών και του

Υποψήφιος διδάκτορας: Κατσίκη Κυριακή

περιφερικού αίματος ασθενών με ΜΔΣ που παρακολουθούνται στην αιματολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης.

Η μελέτη περιλαμβάνει τις ακόλουθες τεχνολογίες:

Τρανσκριπτομική ανάλυση γονιδιακής έκφρασης. Ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης θα πραγματοποιηθεί σε κύτταρα του μυελού των οστών και του περιφερικού αίματος με την μέθοδο της αλληλούχισης επόμενης γενιάς (next-generation sequencing-NGS), βάση στατιστικής ανάλυσης (power analysis). Η συγκεκριμένη τεχνολογία επιτρέπει τη μοριακή μελέτη των κυττάρων σε επίπεδο mRNA με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

Κυτταρομετρία μάζας. Τα τελευταία χρόνια, ο τομέας της ανάπτυξης καινούργιων ανοσοθεραπειών για την εξάλειψη του καρκίνου έχει σημειώσει ραγδαία πρόοδο. Σημαντικός παράγοντας της εξέλιξης αυτής είναι η φαινοτυποποίηση των κυττάρων που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση. Η κυτταρομετρία ροής, που βασίζεται στην ανίχνευση φθορισμού, έχει πολύ μεγάλη συνεισφορά στην εξέλιξη αυτή. Όμως, ο αριθμός των στόχων που μπορούν να ανιχνευθούν είναι περιορισμένος (≤ 12) λόγω της επικάλυψης των φασμάτων εκπομπής διαφόρων φθοροφόρων. Για την ανάπτυξη καινοτόμων θεραπειών και μοντέλων καλύτερης διάγνωσης και παρακολούθησης/διαχείρισης ασθενών χρειάζονται πιο εξελιγμένα εργαλεία που να επιτρέπουν πολυπαραμετρική ανάλυση των κυττάρων. Η κυτταρομετρία μάζας (CyTOF, Cytometry by Time of Flight, Fluidigm, US) είναι μια νεότερη, τεχνολογία βασιζόμενη στην κυτταρομετρία ροής και την φασματομετρία μάζας που επιτρέπει την ανίχνευση μέχρι 50 στόχων. Τα θεμελιώδη στοιχεία της τεχνολογίας CyTOF είναι (1) η χρώση μεμονωμένων κυττάρων με αντισώματα συζευγμένα με ισότοπα βαρέων μετάλλων (μεταλλικές ετικέτες) για την ανίχνευση συγκεκριμένων κυτταρικών στόχων (στην επιφάνεια των κυττάρων και ενδοκυτταρικά) και (2) η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του σήματος (λόγος m/z ιόντων) μέσω του αναλυτή χρόνου πτήσης (time-of-flight), όπως και σε άλλες μορφές φασματομετρίας μάζας, η οποία υποδεικνύει την ειδική δέσμευση αντισώματος (Spitzer and Nolan, 2016).

Η συστηματική ανάλυση των δεδομένων που θα προκύψουν κατά τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής θα δώσουν απάντηση στα παράκατω ερωτήματα:

1. Ποιες είναι οι μεταβολές του ανοσολογικού μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών σε ασθενείς με ήπια σε σχέση με προχωρημένη νόσο.

2. Ποιες μεταβολές του ανοσολογικού συστήματος σχετίζονται με απάντηση στις παρούσες θεραπευτικές επιλογές, όπως ερυθροποιητίνη και αζακυτιδίνη (Platzbecker and Fenaux, 2016).

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Ahrends, T., and Borst, J. (2018). The opposing roles of CD4+ T cells in anti-tumour immunity. *Immunology*.
- Chung, S.S., and Park, C.Y. (2017). Aging, hematopoiesis, and the myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2017*, 73–78.
- Cogle, C.R. (2015). Incidence and Burden of the Myelodysplastic Syndromes. *Curr Hematol Malig Rep* 10, 272–281.
- Hofmann, W.-K., and Koefler, H.P. (2005). Myelodysplastic Syndrome. *Annual Review of Medicine* 56, 1–16.
- Lamprianidou, E., Kordella, C., Kazachenka, A., Zoulia, E., Bernard, E., Folia, A., Laidou, S., Garantziotis, P., Vassilakopoulos, T.P., Papageorgiou, S.G., et al. (2021). Modulation of IL-6/STAT3 signaling axis in CD4+FOXP3- T cells represent a potential antitumor mechanism of azacitidine. *Blood Adv* 5, 129–142.
- Ma, X. (2012). Epidemiology of myelodysplastic syndromes., *Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes. Am J Med* 125, 125, S2, S2-5.
- Medyouf, H., Mossner, M., Jann, J.-C., Nolte, F., Raffel, S., Herrmann, C., Lier, A., Eisen, C., Nowak, V., Zens, B., et al. (2014). Myelodysplastic Cells in Patients Reprogram Mesenchymal Stromal Cells to Establish a Transplantable Stem Cell Niche Disease Unit. *Cell Stem Cell* 14, 824–837.
- Mekinian, A., Grignano, E., Braun, T., Decaux, O., Liozon, E., Costedoat-Chalumeau, N., Kahn, J.-E., Hamidou, M., Park, S., Puéchal, X., et al. (2016). Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford)* 55, 291–300.
- Platzbecker, U., and Fenaux, P. (2016). Recent frustration and innovation in myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 101, 891–893.
- Spitzer, M.H., and Nolan, G.P. (2016). Mass Cytometry: Single Cells, Many Features. *Cell* 165, 780–791.

Name of PhD candidate: Kyriaki Katsiki

Three-member committee:

Ioannis Mitroulis, Assistant Professor of Pathology

Charalambos Papagoras, Assistant Professor of Rheumatology

Ioannis Kotsianidis, professor of hematology

Title: Immune regulation of medullary tumors

Increasing life expectancy is a policy challenge in its field health care. Myelodysplastic syndrome (MDS) is one such disease with increased impact on the aging population (Chung and Park, 2017). The MDS is one heterogeneous group of diseases mainly affecting patients over 60 years of age with incidence 75-162 patients per 100,000 elderly population (Cogle, 2015; Hofmann and Koeffler, 2005; Ma, 2012). Patients with MDS are characterized by cytopenia and are at high risk for developing secondary acute myelogenous leukemia (Hofmann and Koeffler, 2005). Several genetic alterations have been identified in patients with MSD. Although MDS is a clonal disorder of hematopoietic stem cells, data suggest that inflammation plays a significant role in the onset and progression of the disease (Medyouf et al., 2014). Elevated levels of inflammatory cytokines have been reported (tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL) 1 β , IL-6) in the pathogenesis of MDS, while MDS is often associated with the development of systemic inflammatory diseases and autoimmune disorders (Mekinian et al., 2016). CD4 + T lymphocytes play a central role in the immune response in cancer cells, while the immediate recognition of cancers tumor cell-specific CD4 + T antigens do not always have beneficial effects leading to suppression of anti-cancer immunity (Ahrends and Borst, 2018), playing an important role in both the biology of the MDS and the response to treatment (Lamprianidou et al., 2021).

The purpose of the doctoral dissertation is to develop models based on the systematic data analysis of modern technologies for the study of carcinogenesis in MDS. The dissertation will focus on T lymphocyte cell populations, monocytes, and hematopoietic stem cells of bone marrow and peripheral blood of patients with MDS who are monitored in the hematology clinic of University Hospital of Alexandroupolis.

The study includes the following technologies:

Transcriptomic analysis of gene expression. Analysis of gene expression will be performed on bone marrow and peripheral blood cells using the method of next-generation sequencing (NGS), based on power analysis. This technology allows the molecular study of cells at the mRNA level as accurately as possible.

Mass cytometry. In recent years, the field of new development of immunotherapy to eradicate cancer has made a rapid progress. Significant factor of this evolution is the phenotyping of the cells involved in immune response. Flow cytometry, based on fluorescence detection, has very large contribution to this development. But the number of the targets they can detect is limited (≤ 12) due to the overlap of the emission spectra of various fluorophores. For the development of innovative therapies and better models more sophisticated tools are needed to diagnose and monitor / manage patients that allow multiparametric analysis of cells. Mass cytometry (CyTOF, Cytometry by Time of Flight, Fluidigm, US) is a newer technology based on flow cytometry and mass spectrometry allowing up to 50 targets to be detected. The basic elements of CyTOF technology are (1) the staining of individual cells with antibodies conjugated to heavy metal isotopes (metal tags) for the detection of specific cellular targets (on the cell surface and intracellularly) and (2) the signal detection and quantification (m / z ion ratio) via the time analyzer time-of-flight, as in other forms of mass spectrometry, which indicates specific antibody binding (Spitzer and Nolan, 2016).

Name of PhD candidate: Kyriaki Katsiki

The systematic analysis of the data that will emerge during the doctorate thesis will answer the following questions:

1. What are the changes in the immune microenvironment of the bone marrow in patients with mild to advanced disease?
2. What changes in the immune system are related to the response to the present treatment options such as erythropoietin and azacitidine (Platzbecker and Fenaux, 2016)?

References

Ahrends, T., and Borst, J. (2018). The opposing roles of CD4+ T cells in anti-tumour immunity. *Immunology*.

Chung, S.S., and Park, C.Y. (2017). Aging, hematopoiesis, and the myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017, 73–78.

Cogle, C.R. (2015). Incidence and Burden of the Myelodysplastic Syndromes. *Curr Hematol Malig Rep* 10, 272–281.

Hofmann, W.-K., and Koefler, H.P. (2005). Myelodysplastic Syndrome. *Annual Review of Medicine* 56, 1–16.

Lamprianidou, E., Kordella, C., Kazachenka, A., Zoulia, E., Bernard, E., Filia, A., Laidou, S., Garantziotis, P., Vassilakopoulos, T.P., Papageorgiou, S.G., et al. (2021). Modulation of IL-6/STAT3 signaling axis in CD4+FOXP3- T cells represents a potential antitumor mechanism of azacitidine. *Blood Adv* 5, 129–142.

Ma, X. (2012). Epidemiology of myelodysplastic syndromes., *Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes. Am J Med* 125, 125, S2, S2-5.

Medyouf, H., Mossner, M., Jann, J.-C., Nolte, F., Raffel, S., Herrmann, C., Lier, A., Eisen, C., Nowak, V., Zens, B., et al. (2014). Myelodysplastic Cells in Patients Reprogram Mesenchymal Stromal Cells to Establish a Transplantable Stem Cell Niche Disease Unit. *Cell Stem Cell* 14, 824–837.

Mekinian, A., Grignano, E., Braun, T., Decaux, O., Liozon, E., Costedoat-Chalumeau, N., Kahn, J.-E., Hamidou, M., Park, S., Puéchal, X., et al. (2016). Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford)* 55, 291–300.

Platzbecker, U., and Fenaux, P. (2016). Recent frustration and innovation in myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 101, 891–893.

Name of PhD candidate: Kyriaki Katsiki

Spitzer, M.H., and Nolan, G.P. (2016). Mass Cytometry: Single Cells, Many Features. *Cell* 165, 780–791.