

Υποψήφια:

Θεοδώρα Μανωλάκου

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ  
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
Μ.ΑΣΙΑΣ 115 27, ΑΘΗΝΑ, ΕΛΛΑΔΑ  
+30-697-6012075 |  
dmanolakou@med.uoa.gr

Επιβλέπων: Δρ. Δημήτριος Μπούμπας

Τριμελής Επιτροπή: Δρ. Δημήτριος Μπούμπας, Δρ. Γεώργιος Μπερτσιάς, Δρ.  
Παναγιώτης Πολίτης.

ΠΡΟΤΑΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΤΙΤΛΟΣ: ΓΕΝΩΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΗ ΛΥΚΟ:  
ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΙΣΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

Ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ) είναι μια πρωτότυπη συστηματική αυτοάνοση νόσος που εκδηλώνει ευρύ φάσμα κλινικών και μοριακών ανωμαλιών. Η σοβαρή βλάβη των ιστών που προκαλείται από αυτοαντισώματα ή από αποθέσεις ανοσοσυμπλεγμάτων, επηρεάζει τους νεφρούς, την καρδιά και τα αγγεία, το κεντρικό νευρικό σύστημα, το δέρμα, τους πνεύμονες, τους μύες και τις αρθρώσεις, οδηγώντας σε σημαντική νοσηρότητα και αυξημένη θνησιμότητα. Οι βασικές κυτταρικές οδοί περιλαμβάνουν α) παραγωγή αυτοαντισωμάτων πριν από την κλινική εμφάνιση της νόσου, β) αυξημένη κυτταρική απόπτωση και ελαττωματική κάθαρση ενδογενούς αποπτωτικού υλικού, γ) αναγνώριση αυτο-νουκλεϊκών οξέων και παραγωγή ιντερφερόνης-α, και δ) ενεργοποίηση μονοκυττάρων, ουδετερόφιλων, μονοκυττάρων, Β και Τ κυττάρων. Αυτές οι οδοί έχουν επιβεβαιωθεί με μελέτες συσχέτισης γονιδιώματος (GWAS) οι οποίες έχουν καταδείξει τη συμμετοχή γονιδίων που σχετίζονται με ανοσοαποκρίσεις, ενδοθηλιακή λειτουργία και απόκριση της ιστικής βλάβης. Παρά την πρόοδο στη μελέτη της παθογένειας και της θεραπείας του ΣΕΛ, υπάρχουν αρκετές ανεκπλήρωτες ανάγκες: Οι μοριακές διαδικασίες που εξηγούν τη μεταβλητότητα του ΣΕΛ και οι διαδοχικές περίοδοι αδράνειας και ενεργότητας, παραμένουν απροσδιόριστες. Ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών δεν ανταποκρίνεται στις υπάρχουσες θεραπείες, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για νέες, στοχευμένες θεραπείες βασισμένες στις υποκείμενες ανοσολογικές διαταραχές. Στην παρούσα μελέτη, θα πραγματοποιηθεί μια λεπτομερής ολική μεταγραφική ανάλυση του νεφρικού ιστού από ΣΕΛ ασθενείς με νεφρίτιδα λύκου, προκειμένου να αποκαλυφθούν βασικές παθογενετικές οδοί, νέοι πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι και βιοδείκτες, για τη δραστηριότητα και την πρόγνωση της νόσου. Θα μελετηθεί επίσης η συμβολή της βλάβης του DNA στη διατήρηση και την ενίσχυση της φλεγμονώδους αντίδρασης.

Οι βασικοί στόχοι της προτεινόμενης διατριβής είναι α) η διερεύνηση νέων παθογενετικών μηχανισμών στο ΣΕΛ εστιάζοντας στη νεφρίτιδα του λύκου και β) η αναζήτηση του ρόλου της βλάβης του DNA στο ΣΕΛ εστιάζοντας σε ιστούς νεφρών και δέρματος, καθώς και στο περιφερικό αίμα. Αρχικά, θα αναλυθεί το ολικό μεταγράψωμα (total RNA seq) νεφρών από ασθενείς με νεφρίτιδα του λύκου και από υγιείς νεφρούς με σκοπό να διερευνηθούν οι διαφορικές γονιδιακές υπογραφές που συνδέονται με την παθοφυσιολογία της νεφρίτιδας του λύκου. Τα παθογενετικά μονοπάτια που θα προκύψουν θα μελετηθούν σε ανθρώπινες νεφρικές κυτταρικές σειρές μέσω αποσιώπησης ή/και υπερέκφρασης των σχετικών γονιδίων. Στη συνέχεια, θα μελετηθούν οι βλάβες του DNA σε ιστούς νεφρών, δέρματος και περιφερικό αίμα σε σχέση με την ανοσολογική απόκριση στο ΣΕΛ. Γι' αυτό το σκοπό, θα διερευνηθούν οι εμπλεκόμενες πρωτεΐνες μέσω western blotting και ανοσοφθορισμού. Επίσης, θα χρησιμοποιηθούν ex-vivo ακτινοβολία και ουσίες που προκαλούν βλάβες στο DNA, προκειμένου να ελεγχθεί η ικανότητα κυττάρων από το φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον του ΣΕΛ να επιδιορθώνουν το DNA. Τέλος, θα γίνει επικύρωση των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων σε αθανатоποιημένες κυτταρικές σειρές από πρωτογενή κύτταρα ασθενών με ΣΕΛ προκειμένου να εξεταστεί ο ρόλος τους στην παθοφυσιολογία της νόσου.

Theodora Manolakou

MEDICAL SCHOOL OF ATHENS  
NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS  
M.ASIAS 115 27, ATHENS, GREECE  
+30-697-6012075 |  
dmanolakou@med.uoa.gr

Supervisor: Dr. Dimitrios Boumpas

Committee: Dr. Dimitrios Boumpas, Dr. George Bertsias, Dr. Panagiotis Politis.

PHD TITLE:

## **Genomic analysis of systemic lupus erythematosus:**

### **Molecular mechanisms for tissue injury and response.**

*Systemic Lupus Erythematosus (SLE)* is the prototypic systemic, chronic autoimmune disease that manifests a wide range of clinical and molecular abnormalities. Excessive and intractable tissue damage caused by autoantibodies or immune-complex depositions, affects the kidneys, heart, vessels, central nervous system, skin, lungs, muscles and joints leading to significant morbidity and high mortality. *Key cellular pathways* include a) autoantibody production several years prior to the clinical onset of disease; b) increased cellular apoptosis and defective clearance of endogenous apoptotic material, c) self-nucleic acid recognition and production of interferon- $\alpha$ ; and d) activation of monocytes, neutrophils, monocytes, B and T cells. These pathways have been reiterated by *genome wide association studies (GWAS)* which have demonstrated the involvement of genes related to immune responses, endothelial function and tissue response to injury. Despite advances in the pathogenesis and treatment, a detailed mechanistic atlas for the molecular events that define SLE variability and the interspersing periods of inactivity and activity (flares) remains elusive. A sizable proportion of patients persists unresponsive to existing treatments, highlighting the need for novel, targeted therapies based on the underlying aberrancies. In this thesis we will be performing a detail transcriptomic analysis of renal tissue from lupus patients with lupus nephritis seeking to identify key pathogenetic pathways, potential novel therapeutic targets and biomarkers for disease activity and prognosis. Moreover, we will be checking the contribution of DNA damage in sustaining and amplifying the inflammatory response. The objectives of this study are a) the investigation of novel pathogenetic mechanisms in SLE with focus on renal involvement, b) the investigation of the role of DNA damage in SLE with focus on kidney, skin and peripheral blood. For these purposes, we will conduct transcriptomic analysis (total RNA-seq) of human lupus nephritis and healthy renal subjects, in order to identify differential gene signatures that will be associated with pathophysiology in lupus nephritis. The pathogenic pathways will be validated in human renal cell lines via knock-down/overexpression of genes with the highest disease correlation with lupus nephritis. Moreover, we will try to elucidate of the mechanisms implicated in disease driven DNA damage identifying the expression levels of DNA damage associated proteins through western blotting and immunofluorescence assays. Also, we will proceed with ex vivo irradiation and incubation with mutating drugs to check the capacity of a primary cell type derived from the "*SLE inflammatory microenvironment*" to repair DNA damage. Finally, we will validate the differentially expressed genes by silencing/editing of them, in immortalized cell lines derived of primary cells of patients to examine their role in the pathophysiology of the disease.