



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΚΛΙΝΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**

**Διδακτορική Διατριβή**

**«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΑ  
ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ»**

Υπό

**ΓΕΩΡΓΙΟΥ ΚΑΡΡΑ**

Ιατρού Παθολόγου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2022

© 2022 ΚΑΡΡΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

Εγκρίθηκε από τα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (3<sup>η</sup>/16-11-22 ΓΣΕΕΣ):

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής  
(Επιβλέπουσα)**      **Κυριάκου Δέσποινα**  
Ομότιμη Καθηγήτρια Ιατρικής Μεταγγίσεων Ιατρικού Τμήματος  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Τσέζου Ασπασία**  
Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Ιατρικού Τμήματος  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Βασιλόπουλος Γεώργιος**  
Καθηγητής Παθολογίας Αιματολογίας Ιατρικού Τμήματος  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Γιαννακούλας Νικόλαος**  
Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας Αιματολογίας Ιατρικού  
Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Μπόγδανος Δημήτριος**  
Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων Ιατρικού  
Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Σακκάς Λάζαρος**  
Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας Ρευματολογίας Ιατρικού  
Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Στεφανίδης Ιωάννης**  
Καθηγητής Παθολογίας Νεφρολογίας Ιατρικού Τμήματος  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα σιτευτικά κύτταρα (μαστοκύτταρα) πήραν το ονομά τους από τον Paul Ehrlich, διότι πίστευε ότι ήταν κύτταρα που είχαν διατροφικό ρόλο και υποστήριζαν την ανάπτυξη των υπολοίπων κυττάρων των ιστών. Έκτοτε έχει γίνει μεγάλη πρόοδος στη διευκρίνιση των λειτουργιών του σιτευτικού κυττάρου ως ανοσολογικού κυττάρου και του ρόλου του στις διάφορες παθολογικές καταστάσεις.

Παρόλα αυτά, αρκετοί μηχανισμοί δράσης δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι. Ειδικότερα στα νεοπλασματικά νοσήματα φαίνεται ότι η αυξημένη παρουσία σιτευτικών κυττάρων υποδηλώνει κακή έκβαση. Οι αγγειογενετικοί παράγοντες που εκκρίνουν τα σιτευτικά κύτταρα μπορεί να είναι ένας από τους λόγους της κακής αυτής έκβασης.

Στα αιματολογικά νοσήματα έχει περιγραφεί συμμετοχή των σιτευτικών κυττάρων στον νεοπλασματικό κλώνο αλλά και αντιδραστική παρουσία αυτών σε διάφορες περιπτώσεις.

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε τον αριθμό των σιτευτικών κυττάρων και την έκκριση τρυπτάσης και χυμάσης από αυτά στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, σε μία προσπάθεια να μελετήσουμε τον ρόλο τους στην εξέλιξη αυτών των συνδρόμων. Επίσης, μελετήσαμε την σχέση τους με το στάδιο της νόσου και την πυκνότητα των μικροαγγείων. Υπάρχουν ελάχιστες δημοσιεύσεις στο θέμα αυτό με όχι σαφή αποτελέσματα.

Θα ήθελα να αναγνωρίσω την βοήθεια όλων αυτών που είχαν σημαντική συνεισφορά στην εκπόνηση της διατριβής αυτής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Ν. Σταθάκη για την παροχή ασθενών για την μελέτη και τις πολύτιμες παρατηρήσεις του. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια Δ. Κυριάκου για τη συμπαράσταση από τον σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση

της διατριβής αυτής τόσο σε θεωρητικό όσο και σε κλινικό και εργαστηριακό επίπεδο. Επίσης την κ. Ε. Ρούκα για τη βοήθειά της σε τεχνικό επίπεδο.

Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς και επταμελούς επιτροπής για τις παρατηρήσεις τους.

Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την αγάπη και τη συμπαράστασή τους καθόλη την διάρκεια της προσπάθειας ολοκλήρωσης αυτού του έργου.

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΡΑΣ

Στη σύζυγό μου

Στον γιο μου Άγγελο-Ευάγγελο

Στους αείμνηστους γονείς μου

Σε όλα τα ορφανά παιδιά του κόσμου

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνοματεπώνυμο : Καρράς Γεώργιος  
Έτος Γέννησης : \*\*\*\* Απόκρυψη προσωπικών δεδομένων  
Τόπος Γέννησης : \*\*\*\*\* (Υπηρεσία Βιβλιοθήκης & Κέντρου  
Πληροφόρησης Πανεπιστημίου  
Θεσσαλίας)  
Οικογενειακή Κατάσταση : \*\*\*\*\*  
Ειδικότητα : Εσωτερική Παθολογία  
Διεύθυνση : \*\*\*\*\*  
Τηλ. : \*\*\*\*\*  
e-mail : \*\*\*\*\*

---

### ΣΠΟΥΔΕΣ

- 06/1990 : Απολυτήριο 2<sup>ο</sup> Λύκειο Τρικάλων
- 11/1998 : Πτυχίο Ιατρικής - Αριστοτέλειο Παν/μιο Θεσ/νίκης
- 04/2007 : Τίτλος Ειδικότητας Εσωτερική Παθολογία - Πανεπιστημιακό  
Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας

---

### ΕΡΓΑΣΙΕΣ - ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

D. S. Kyriakou, A-V. S. Karadonta, A.Tsezou, **G. Karras**, K. Karakousis, N. Stathakis. Rare chromosomal abnormalities in myelodysplastic syndrome poster P-68 leukemia Research Volume 29, supplement 1, May 2005, Pages S49-S50

D. S. Kyriakou, A-V. S. Karadonta, A.Tsezou, **G. Karras**, K. Karakousis, N. Stathakis Isolation of the CD34+progenitocells in myelodysplastic syndrome with various chromosomal abnormalities: Evidence for involvement in the transformed clone poster P-101 leukemia Research Volume 29, supplement 1, May 2005, Pages S62.

Katodritou E, Vadikolia C, Kotsopoulou M, Papageorgiou G, Kyrtsoniw MC, Matsouka P, Giannakoulas N, Kyriakou D, **G. Karras**, Anagnostopoulos N, Michali E, Briasoulis E, Spanoudakis E, Zikos P, Tsakiridou A, Tsionos K, Anargyrou K, Symeonidis A, Maniatis A, Terpos E. Real-World data on the efficacy and safety of lenalidomide and dexamethazone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who were treated according to the standard clinical practice: a study of the Greek Myeloma Study Group." 2014 jan;93(1):129-39 Ann. Hematol.

K. Garlemou, M. Alexandrakis, **G. Karras**, D. Kyriakou, T.V. Kourelis. Myostatin expression in MDS patients with wasting syndrome”15(1):1-8,2022 Asian Journal Biological Sciences 2022.

**G. Karras**, K. Garlemou, A. Karadonta, D. Kyriakou. Mast Cells in Myelodysplastics Syndromes Internal Journal Cancer Research accepted September 2022

**G.Karras**, Private Clinic Internal Medicine, Larisa GREECE. Leflunomide Induced Hypertension poster PP.27.25 Journal of Hypertension Volume33, e-supplement 1, 2015.

**Γ. Καρράς**, Δ. Κυριάκου, Λ. Σακκάς, Ε. Μακρή, Α. Κουτρούμπας. Παρατεινόμενο εμπύρετο σε ασθενή 64 ετών με συνοδό θρομβοπενία και κρανιακή νευρίτιδα AA-62 3<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος Λάρισα 2011.

**Γ. Καρράς**, Ε. Μακρή. Κλινική περίπτωση οξείας παγκρεατίτιδας επί εδάφους σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας σχετιζόμενη με χορήγηση κλομιφαίνης κιτρικής AA-27 4<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος Λάρισα 2012.

**Γ. Καρράς**, Γ. Τσαγκούλης, Δ. Κυριάκου, Ν. Βαμβακόπουλος. Κοιλιακό άλγος με συνοδό πυρετό, αρθρίτιδα σχετιζόμενα με κλιματικές αλλαγές σε ασθενή άντρα 54 ετών. AA-55 5<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος Λάρισα 2013.

**Γ. Καρράς**, Γ. Τσαγκούλης, Α. Θεοδωρίδου. Αφθώδη έλκη, τρανσαμινασαιμία και σιδηροπενία σε γυναίκα 40 ετών .AA-42 5<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος Λάρισα 2013.

**Γ. Καρράς**, Ν. Παπανδριανός. Αυξημένη αλκαλική φωσφατάση σε ασθενή άντρα 55 ετών ασυμπτωματικό e-PP 25, 6<sup>th</sup> International Congress of Internal Medicine Larisa 2014.

**Γ. Καρράς**, Β. Τσίπα. Διαλείποντα Επεισόδια Πυρετού και Αιματοουρίας σε ασθενή Γυναίκα 74 ετών e-PP 31, 6<sup>th</sup> International Congress of Internal Medicine Larisa 2014.

**Γ. Καρράς**. Αναζωπύρωση λανθάνουσας ηπατίτιδας Β μετά από χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής. 2<sup>η</sup> Πανελλήνια Συνάντηση AIDS - ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ 2014 Αθήνα.

**Γ. Καρράς**. Ασυμπτωματική τρανσαμινασαιμία σε γυναίκα ετών 77. 2<sup>η</sup> Πανελλήνια Συνάντηση AIDS - ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ 2014 Αθήνα.

**Γ. Καρράς**, Μ. Ρεμούδου, Δ. Κατσιαμάνης, Κ. Καρακούσης, Γ. Αναστασίου. Η



επίδραση των SLGT2i στο καρδιαγγειακό σύστημα και στην ποιότητα ζωής των ασθενών. 20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο Αθήνα 2022.

### **ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ**

- 4<sup>ο</sup> Σχολείο Κλινικής Ηπατολογίας ΕΕΜΗ Αθήνα 2010-2011.
- 7<sup>ο</sup> Θερινό Σχολείο Αθηροσκλήρωσης ΕΕΑ Αθήνα 2014.
- Educational Seminars on Diabetes Cambridge University Hospital NHS 2011 - 2012.
- Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα στο Σακχαρώδη Διαβήτη (31<sup>ο</sup> Έτος) Διαβητολογικό Κέντρο Πανεπιστημίου Αθηνών 2009. European Association for the Study of Diabetes.
- ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ Κ.Α.Α. (Βασική και Εξειδικευμένη), Αθήνα 19-04-00.
- «Διαγνωστική Ανοσολογία & Ιστοσυμβατότητα», Σχολή επιστημών υγείας Παν/μιο Θεσσαλίας - Λάρισα 15-18/01-2003.
- «Δεκάλογος στις Νοσοκομειακές Λοιμώξεις» - Τριήμερο Διατομεακό Σεμινάριο Αθήνα 11-13/02-2005.
- «ATLS course» - American College of Surgeons Hellenic Chapter - Λάρισα 15-16/04-2005.
- «1<sup>ος</sup> Μετεκπαιδευτικός κύκλος Εξειδίκευσης - Αντιβιοτικά: Δράση - Αντοχή - Θεραπεία με βάση τις ενδείξεις» από το Εργαστήριο Μοριακής Μικροβιολογίας του Ινστιτούτου Βιοϊατρικής Έρευνας & Τεχνολογίας - Λάρισα 2008.
- «Ανασκόπηση Asco 2005» - Εκπαιδευτική ημερίδα Π.Α.Γ.Ν.Η. - Αθήνα 3-4/09-2005.
- «Ανασκόπηση Asco 2006» - Εκπαιδευτική ημερίδα Π.Α.Γ.Ν.Η. - Αθήνα 9-10/09-2006.
- «Ανασκόπηση Asco 2008» - Εκπαιδευτική ημερίδα Π.Α.Γ.Ν.Η. - Αθήνα 25-26/09-2008.
- «GUIDELINES ΣΤΟ ΔΙΑΒΗΤΗ II», Αθήνα 20/9/2008.

- «Διαταραχές Οξεοβασικής Ισορροπίας και Ηλεκτρολυτών», Λάρισα 17-18/10/2008.
- «Ετήσια Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα για το Σακχαρώδη Διαβήτη» - Αθήνα 23-27/11/2009.

## **ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

Τακτική παρουσία με ενεργό συμμετοχή σε Διεθνή Ευρωπαϊκά και Ελληνικά Συνέδρια

## **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ**

Ωρομίσθιος καθηγητής στο ιδιωτικό Τ.Ε.Ε. «ΔΙΟΛΚΟΣ», κατά το σχ. έτος 2000-2001.

Εκπαιδευτής προσωπικού τοπικών μονάδων Πολιτικής Άμυνας 2000 με θέμα «πρώτες βοήθειες θεωρητικά και πρακτικά - διάσωση και ημίθαψη τραυματιών», Αστυνομική Δ/ση Τρικάλων, 5-12-2000.

## **ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

Κατά τη διάρκεια της θητείας μου στο Πολεμικό Ναυτικό υπηρέτησα ως Ιατρός στη Μονάδα Υποβρυχίων (ΣΥΒ), στο Ναρκαλιευτικό Πλοίο Πολέμου «Αλκυών», στο Ναυτικό Νοσοκομείο Σαλαμίνας, στο Ναυτικό Νοσοκομείο Κρήτης, στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών και στα τακτικά ιατρεία της Παθολογικής Κλινικής του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών απ' όπου και απολύθηκα.

Από 20-04-00 έως 20-07-00 άσκησα τρίμηνη υπηρεσία στο Γενικό Νοσοκομείο Τρικάλων, συμμετέχοντας στα τακτικά Ιατρεία Παθολογικού, Καρδιολογικού και Χειρουργικού τομέα, στα τμήματα επειγόντων περιστατικών και εκτελώντας εσωτερικές εφημερίες.

Από το 2000 μέχρι το 2001 υπηρέτησα ως Αγροτικός Ιατρός στο Διαλεχτό Τρικάλων και ακολούθως ως Ιατρός επί θητεία στο Βουλγαρέλι Άρτας .

Από τον Μάρτιο του 2002 έως τον Δεκέμβριο του 2006, υπηρέτησα ως ειδικευόμενος Ιατρός Παθολογίας στην Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Π.Π.Γ.Ν. Λάρισας.

Από τον Ιανουάριο του 2007 έως 2019 ως άμισθος επιστημονικός συνεργάτης του εργαστηρίου αιμοδοσίας-αιματολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας συμμετέχοντας ενεργά στις δραστηριότητες του εργαστηρίου και στη διαχείριση και αντιμετώπιση αιματολογικών ασθενών υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας κας Κυριάκου Δέσποινας, και παράλληλα στο οικείο τμήμα εκπόνησα τη διατριβή μου με θέμα: «Ο ρόλος των μαστοκυττάρων στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα».

Από το 2007-2020 άσκησα κλινική ιατρική σε επίπεδο πρωτοβάθμιας υγείας ως ειδικός παθολόγος με έμφαση σε αιματολογικές παθήσεις και νοσήματα του ήπατος στην πόλη της Λάρισας .

Από τον Μάρτιο του 2008 έως Φεβρουάριο 2010 ως επιστημονικά υπεύθυνος Παθολογικού τμήματος στην κλινική «Άγιος Κωνσταντίνος» στη Λάρισα.

Από τον Μάρτιο του 2010 έως Ιούνιο 2012 υπηρέτησα ως επιστημονικά υπεύθυνος του Παθολογικού Τμήματος της Γενικής Κλινικής «ΙΑΣΩ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ» με σημαντικό ενεργό κλινικό έργο και διεκπεραίωση σπανίων περιστατικών τα οποία αποτέλεσαν αναφορές ως case report.

Από τον Δεκέμβριο του 2019 έως τον Οκτώβριο 2020 ως επιστημονικά υπεύθυνος του Παθολογικού Τμήματος της Γενικής Κλινικής «Θεοτόκος».

Από τον Απρίλιο του 2019 έως τον Σεπτέμβριο του 2020 ως υπεύθυνος Ιατρός στο Κέντρο Υποδοχής Προσφύγων Κουτσόχερου, ασκώντας κλινικό και θεραπευτικό έργο συμμετέχοντας σε προγράμματα προληψης και ψυχοκοινωνικής ένταξης των μεταναστών.

Από τον Οκτώβριο 2020 έως Απρίλιο 2021 υπηρέτησα ως έκτακτος υπηρεσιακός ιατρός του ΕΣΥ (ο πρώτος ιδιώτης ιατρός στη Ελλάδα που συμμετείχε ενεργά στη αντιμετώπιση της πανδημίας) στο Παθολογικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας καλύπτοντας επείγουσες εξαιρετικά ανάγκες στα πλαίσια της πανδημίας Covid -19, συμβάλλοντας ενεργά στην αντιμετώπιση της πανδημίας και έχοντας υπό την επίβλεψή μου τμήμα Covid -19 με 30 ασθενείς.

Από τον Ιανουάριο 2021 έως τον Απρίλιο 2021 ως υπεύθυνος διαχείρισης post - covid ασθενών στο Κ.Α.Α. Animus.

Από τον Ιούνιο 2021 υπηρετώ στο Ε.Σ.Υ. ως επιμελητής Α΄ Παθολογίας στο Παθολογικό Τμήμα του Γ.Ν. Καρδίτσας.

### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ**

Συμμετείχα ως συνερευνητής με τον Καθηγητή κ. Σταθάκη Νικόλαο στο Ευρωπαϊκό Πρωτόκολλο μελέτης παρατήρησης Bortezomide (26866138MMY4008 JNJ - 26866138).

- Talos study 2016-ALG-EL-65 ως ερευνητής.
- Skiron study 2017 - HAL-EL70 ως ερευνητής.

### **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ**

- ΕΛΛΗΝΙΚΑ : μητρική γλώσσα
- ΑΓΓΛΙΚΑ

### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΛΛΟΓΟΥΣ**

ACP

EMA

ERC

ΙΑΤΡΙΚΟΣ ΣΥΛΛΟΓΟΣ ΛΑΡΙΣΑΣ

Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος

Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Ελληνική Εταιρεία Αντιμετώπισης του AIDS

Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία

Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Υπέρτασης

**«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΑ  
ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ»**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΡΡΑΣ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2022

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. **Δέσποινα Κυριάκου** Ομότιμη Καθηγήτρια Ιατρικής Μεταγίσεων Τμήμα Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (**Επιβλέπουσα**)
2. **Γεώργιος Βασιλόπουλος** Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Τμήμα Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
3. **Ασπασία Τσέζου** Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου  
Θεσσαλίας

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Τα σιτευτικά κύτταρα - μαστοκύτταρα (MC) προέρχονται από το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο και κατανέμονται σε όλους τους ιστούς στα φυσιολογικά όρια μεταξύ οργανισμού και περιβάλλοντος (δέρμα, βλεννογόνοι κλπ). Εκλύουν μία ποικιλία μεσολαβητών σε απάντηση σε ενδογενή και εξωγενή ερεθίσματα, που συμμετέχουν στην αναδόμηση των ιστών, την ομοίωση, την αγγειογένεση, την ανοσολογική απάντηση και άμυνα του οργανισμού. Τα MC ελκύονται στο περιβάλλον των όγκων από παράγοντες που εκκρίνει ο όγκος και βοηθούν μέσω ανοσοκαταστολής, έκκρισης αγγειογενετικών και μιτογόνων παραγόντων στην εξέλιξη των όγκων. Σε άλλες περιπτώσεις, όμως, ασκούν αντινεοπλασματική δράση με την έκλυση αναστολέων κυτταρικής ανάπτυξης, επαγωγής απόπτωσης, μείωσης κινητικότητας κυττάρων και ενίσχυσης αντινεοπλασματικής φλεγμονής. Στα αιματολογικά κλινικά νοσήματα ενίοτε τα MC συμμετέχουν στον νεοπλασματικό κλώνο (π.χ. μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα) ενώ άλλοτε παρευρίσκονται αντιδραστικά χωρίς να είναι σαφής ο ρόλος τους.

Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (MDS) είναι κλινικά νεοπλασματικά νοσήματα του αίματος, που έχουν σαν χαρακτηριστικά την παρουσία δυσπλαστικών κυτταρικών μορφών, τη μη αποδοτική αιμοποίηση και τη συχνή

εξέλιξη σε οξεία λευχαιμία. Υπάρχουν λίγες δημοσιεύσεις που να αφορούν μελέτη των MCs στα MDS με αντικρουόμενα αποτελέσματα.

**Σκοπός:** Μελέτη και διερεύνηση του ρόλου των σιτευτικών κυττάρων στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα.

**Ασθενείς:** Μελετήθηκαν 73 ασθενείς- 37 γυναίκες και 36 άνδρες- πάσχοντες από MDS με διάμεση ηλικία για τους άνδρες 72 έτη (εύρος 35-86) και για τις γυναίκες 69 έτη (εύρος 59-81). Εξ' αυτών, 21 έπασχαν από ανθεκτική αναιμία (MDS-RA), 18 από ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB), 18 από ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών σε μετατροπή (RAEB-T) και 16 από σιδηροβλαστική αναιμία (MDS-RARS). Επίσης συμμετείχαν και 60 υγιείς μάρτυρες (διάμεση ηλικία 74 και εύρος 56-90), 32 άνδρες και 28 γυναίκες.

**Μέθοδοι:** Μελετήθηκε ο αριθμός των σιτευτικών κυττάρων μυελού των οστών (BMMCs) μετά χρώση κυανού της τολουϊδίνης. Μελετήθηκε ο αριθμός των CD34(+) κυττάρων μυελού των οστών μετά χρώση ανοσοφθορισμού και χρήση αντι-CD34 mAb (K567-FITC). Μελετήθηκε η έκφραση της τρυπτάσης και χυμάσης στα MC με ανοσοκυτταροχημεία και PAP kit και βαθμολογήθηκε κάθε κύτταρο σε μία κλίμακα 0-4+. Το score υπολογίζονταν ως ο μέσος όρος επί 200 κυττάρων. Μετρήθηκαν τα επίπεδα χυμάσης και τρυπτάσης στον ορό των ασθενών και μαρτύρων με ELISA. Εκτιμήθηκε η μέση πυκνότητα των μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών /0.0625mm<sup>2</sup>. Τα μικροαγγεία καταμετρήθηκαν μετά από χρώση με anti-CD34(QBEND-10) των ενδοθηλιακών κυττάρων .

**Αποτελέσματα:** Διαπιστώθηκε στατιστικά υψηλότερο ποσοστό MC στους πάσχοντες από MDS ( $5,767\pm 3,45\%$ ) σε σχέση με τους υγιείς ( $1,82\pm 0,93\%$ ) ( $p<0.01$ ). Ειδικότερα στα MDS-RA ήταν  $4,38\pm 1,16\%$  στα MDS-RARS  $2,18\pm 0,75$ , στα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου  $3,43\pm 1,48$  και στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου  $8,16\pm 3,26$ . Οι τιμές αυτές ήταν στατιστικά υψηλότερες σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ( $p<0.01$ ) πλην MDS-RARS, που δεν διέφεραν από τους φυσιολογικούς ( $p>0.05$ ). Το score έκφρασης της τρυπτάσης υψηλού/ενδιάμεσου-2 ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 και φυσιολογικούς ( $p<0.01$ ) ενώ δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των χαμηλού/ενδιάμεσου-1 και φυσιολογικών ( $p>0.05$ ). Το score έκφρασης χυμάσης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ανωτέρω ομάδων. Η χυμάση ορού δεν ήταν ανιχνεύσιμη σε καμία ομάδα.

Η τρυπτάση ορού ήταν σημαντικά υψηλότερη στα MDS ( $40,96\pm 35,4$ ) σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ( $7,8\pm 3,21$ ) ( $p<0.01$ ). Στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου, ήταν  $73,31\pm 20,87$  σημαντικά υψηλότερη από τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 ( $9,48\pm 4,217$ ) και τους φυσιολογικούς ( $p<0.01$ ). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ φυσιολογικών, MDS-RA, MDS-RARS, χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ( $p>0,05$ ). Υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ ποσοστού MC και CD34(+) κυττάρων ( $R^2= 0,4361$ ) καθώς και επιπέδων τρυπτάσης ( $R^2=0,6837$ ) ορού στους ασθενείς. Η μέση πυκνότητα των μικροαγγείων (MVD) ήταν σημαντικά αυξημένη  $6,3\pm 3,3$  στο σύνολο των MDS συγκριτικά με τους μάρτυρες  $2,23\pm 0,33$  και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική ( $p<0,001$ ). Η MVD ήταν υψηλή στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου  $7,89\pm 2,83$  συγκριτικά με τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου  $4,8\pm 2,2$ , τα MDS –RA  $4,98\pm 1,8$  και τα MDS-RARS  $5,0 \pm 2,2$  και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική ( $p<0,001$ ). Υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ της MVD και των σιτευτικών κυττάρων. Δεν παρατηρήθηκαν δυσπλαστικές μορφές MCs στη μελέτη μας.



**Συμπεράσματα:** Τα MCs στον BM βρέθηκαν αυξημένα στα MDS σε σύγκριση με τα φυσιολογικά άτομα. Τα επίπεδα τρυπτάσης ορού σχετίζονται με τον αριθμό BMMC, που σημαίνει ότι εκκρίνεται κατά κύριο λόγο από τα MC του BM και όχι από τα περιφερικά MC. Ο αριθμός MCs σχετίζεται με τον αριθμό CD34(+) και επομένως με τον βαθμό κινδύνου των MDS. Τα BMMCs βρέθηκε να εκκρίνουν μόνο τρυπτάση και όχι χυμάση σε αντίθεση με αυτό που συνήθως συμβαίνει στην αντιδραστική μαστοκυττάρωση. Ο αριθμός των μικροαγγείων (MVD) στο σύνολο των MDS ήταν αυξημένος συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα και η αύξηση αυτή ήταν μεγαλύτερη στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS, γεγονός, που σημαίνει ότι, η MVD σχετίζεται με τον αριθμό των BMMCs, αυτό εγείρει τη άποψη, ότι τα BMMCs συμβάλλουν στη εξέλιξη της νόσου ενισχύοντας την αγγειογένεση. Για να διευκρινιστεί περαιτέρω ο ρόλος των MCs στην εξέλιξη των MDS, χρειάζονται διαδοχικές μετρήσεις στο ίδιο άτομο κατά την εξέλιξη της νόσου και κυτταρογενετικές μελέτες σε καλλιέργειες σιτευτικών κυττάρων στους ασθενείς.

## SUMMARY

**Background:** Mast cells are derived from the haemopoietic progenitor cell and are scattered all over the human organism especially to the physical boundaries between the organism and the environment (i.e. skin, mucosa etc). They produce after intrinsic or extrinsic stimuli a variety of mediators involved in tissue regeneration, homeostasis, angiogenesis and the immunological response and defense. In tumor environment MCs are attracted from agents secreted by the tumor and help to its growth through immunocompromise, secretion of pre-angiogenic and mitogenic factors. Alternatively these cells have antineoplastic action through secretion of cell cycle inhibitors, apoptosis, decrease of cell movement and enhancement of antineoplastic inflammation. In haematological malignancies MCs may be derived from the neoplastic clone (i.e. myeloproliferative disorders) or as a reactive response to the neoplasm.

Myelodysplastic syndromes are heterogeneous group of clonal disorders of blood with common characteristics the presence of dysplastic haemopoietic cells, ineffective haematopoiesis and frequent evolution to acute leukemia. There are few publications on MCs in MDS with contradictory results

**Aim:** Study of the role of MCs in Myelodysplastic syndromes.

**Patients:** Seventy-three patients (37 females and 36 males) with MDS were involved in the study. Median age of females was 69 years (range 59-81) and of males 72 years (range 35-86). Twenty-one of them had refractory anaemia (MDS-RA), 18 had refractory anaemia with excess of blasts (RAEB), 18 had refractory anaemia with excess of blasts in transformation (RAEB-T), and 16 refractory anaemia with ringed sideroblasts (MDS-RARS). In the study 60 normal individuals were also included (median age 74 years and range 56-90) 32 males 28 females.

**Methods:** The number of MCs were calculated in BM after toluidine blue staining according to classical techniques. The number of CD34(+) cells were measured with immunofluorescence with the use of anti - CD34 moAb (K567-FITC). The expression of tryptase and chymase were studied in MCs using immunocytochemistry and PAP commercial kit and each cell was graded in a scale of 0-4(+). The score was calculated as the mean value in 200 consecutive cells. The levels of tryptase and chymase in serum were measured using ELISA commercial kits. Microvascular density (MVD) was the mean value of microvessel number/0.0625mm<sup>2</sup> field area. Endothelial cells were CD34 (+) using anti-CD34 moAb-QBEND 10 and Biogenex avidin-streptavidin kit, and had characteristic morphology .

**Results:** Statistically higher percentage of MC in MDS (5,767±3,45%) were found compared to the normals (1,82±0,93%) (p<0.01). Especially in MDS-RA it was 4,38±1,16% , in MDS-RARS 2,18±0,75, in low/int-1 3,43±1,48 and in high/int-2 8,16±3,26. These values were statistically higher compared to the normals (p<0.01) except MDS-RARS, which did not differ from the normals(p>0.05).The tryptase expression score in high/int-2 was significantly higher compared to that in low/int-1 and normals (p<0.01) while there was no

difference between low/int-1 and normals ( $p>0.05$ ). The chymase expression score did not differ significantly between the above groups. In serum chymase was not detectable in any group of patients. Serum tryptase was significantly higher in MDS ( $40,96\pm35,4$ ) compared to the normals ( $7,8\pm3,21$ )( $p<0.01$ ). In high/int-1 tryptase levels were  $73,31\pm20,87$  significantly higher than low/int-1 ( $9,48\pm4,217$ ) and the normals ( $p<0.01$ ). There was no significant difference in tryptase levels between normals, MDS-RA, MDS-RARS and low/int-1( $p.0,05$ ). There was positive correlation between percentage of MCs and CD34(+) cells ( $R^2= 0,4361$ ) as well as serum tryptase levels ( $R^2=0,6837$ ) in patients. Dysplastic MCs were not indentified. The MVD (microvessel number/ $0.0625\text{ mm}^2$ ) in the entire group of MDS was  $6.3\pm3.3$  and was significantly higher than the normals ( $2.23\pm0.38$ ,  $p<0.01$ ). In high/intermediate-2 the MVD was  $7.89\pm2.8$ , in low/intermediate-1 it was  $4.8\pm2.2$ , in MDS-RA it was  $4.98\pm1.8$ , and in MDS-RARS it was  $5\pm2.0$ . There was a significantly higher MVD in high/intermediate-2 compared to low/intermediate-1, MDS-RA, MDS-RARS and normal ( $p<0.01$ ). There was also a significant difference between low/intermediate-1, MDS-RA, MDS-RARS and normals ( $p<0.01$ ). There was a positive correlation between BMMC and MVD.

**Conclusions:** MCs in BM were increased in MDS patients compared to the normal individuals. The levels of serum tryptase correlated positively with the number of BMMC raising the possibility that the tryptase was mainly produced by BMMCs and not the peripheral MCs. The number of MCs correlated positively with CD34(+) that were increased in high/int-2 MDS and consequently the advanced stages of the disease. BMMCs were positive for tryptase only and not chymase in contrast to what usually happens in reactive mastocytosis. We found increased MVD in MDS compared to the normals. We also found higher MVD in high/intermediate-2 risk MDS compared to the low/intermediate-1, in contrast to a

previous study. The MVD is positively correlated with the number of BMMC. This raises the suggestion that BMMCs may contribute to tumor progression by enhancing angiogenesis. The heterogeneity of the MDS group may be responsible for the contradictory results in the literature. In order to further discriminate the role of MCs in these syndromes serial measurements should be done in the same patient during the disease progress as well as cytogenetic studies and MC cultures.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος.....	4
Περίληψη.....	14
Summary.....	18
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	26
1.0.Εισαγωγή.....	27
1.1.Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα.....	27
1.2.Ιστορική Αναδρομή .....	28
1.3.Δυσπλαστικές μορφολογικές αλλοιώσεις στα μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα.....	29
1.4.Ταξινόμηση.....	30
1.5.Φυσιοπαθολογία Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων.....	32
1.6.Αντιμετώπιση.....	34
2.0.Σιτευτικά κύτταρα (Μαστοκύτταρα).....	35
2.1.Οντογένεση.....	36
2.2.Κατανομή, Φαινότυπος, Ρύθμιση και Λειτουργίες Μαστοκυττάρων...37	
2.3.Μεσολαβητές σιτευτικών κυττάρων.....	38
2.4.Λειτουργίες των σιτευτικών κυττάρων.....	40
2.5.Ρόλος των σιτευτικών κυττάρων σε Παθολογικές Καταστάσεις.....	41
2.6.Τα σιτευτικά κύτταρα στα Κακοήθη Νοσήματα.....	42
3.0.Σκοπός της Μελέτης.....	44
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	45
1.0. Ασθενείς και Μέθοδοι.....	46
1.1. Ασθενείς .....	46
2.0.Μέθοδοι.....	47

2.1.Λήψη περιφερικού αίματος.....	47
2.2.Λήψη μυελού οστών .....	47
2.3.Προσδιορισμός αριθμού σιτευτικών κυττάρων.....	47
2.4.Προσδιορισμός των CD34(+) κυττάρων στο μυελό των οστών.....	47
2.5.Προσδιορισμός της μέσης πυκνότητας μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών .....	47
2.6.Ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις .....	48
2.7.Προσδιορισμός επιπέδων χυμάσης και τρυπτάσης στο αίμα των ασθενών .....	48
2.8.Στατική ανάλυση.....	49
3.0.Αποτελέσματα.....	49
3.1.CD34(+) κύτταρα στο μυελό των οστών .....	49
3.2.Ποσοστό σιτευτικών κυττάρων στο μυελό των οστών.....	49
3.3.Προσδιορισμός της μέσης πυκνότητας των μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των των οστών.....	50
3.4.Ανοσοκυτταροχημική ανίχνευση τρυπτάσης στο μυελό των οστών .	50
3.5. Ανοσοκυτταροχημική ανίχνευση χυμάσης στο μυελό των οστών....	51
3.6.Προσδιορισμός επιπέδων τρυπτάσης ορού.....	51
3.7. Προσδιορισμός επιπέδων χυμάσης ορού.....	52
3.8.Συσχέτιση επιπέδων τρυπτάσης και χυμάσης με το ποσοστό των σιτετευτικών κυττάρων και CD34+κυττάρων.....	52
3.9.Συσχέτιση του ποσοστού των σιτετευτικών κυττάρων με τον αριθμό των μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών.....	52
4.0.Συζήτηση.....	56
5.0.Συμπεράσματα .....	58
Βιβλιογραφία.....	67
Παράρτημα.....	114

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1:Μορφολογικά Συστήματα Ταξινόμησης.....	28
Πίνακας 2:Προγνωστικά Συστήματα Βαθμονόμησης Κινδύνου στα MDS..	29
Πίνακας 3:Χαρακτηριστικά Μελετηθέντων Ασθενών.....	57
Πίνακας 4:Αναλυτικά Αποτελέσματα ανά Ασθενή.....	62
Πίνακας 5:Αποτελέσματα Μελετημένων παραμέτρων .....	64



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b><i>EIKONA 1:</i></b> Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων στον μυελό των οστών με τα επίπεδα τρυπτάσης περιφερικού αίματος πασχόντων από MDS.....	53
<b><i>EIKONA 2:</i></b> Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων μυελού οστών και του ποσοστού CD34(+) κυττάρων του μυελού των οστών πασχόντων από MDS. ....	54
<b><i>EIKONA 3:</i></b> Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων μυελού οστών και του ποσοστού μικροαγγείων (MVD) του μυελού των οστών πασχόντων από MDS. ....	55

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα αντιπροσωπεύουν ένα ευρύ φάσμα κακοήθων διαταραχών του στελεχιαίου αιμοποιητικού κυττάρου, που χαρακτηρίζονται από μη αποδοτική αιμοποίηση και αυξημένη πιθανότητα εξέλιξης σε οξεία λευχαιμία (1-8). Υπάρχει μεγάλη ποικιλία τόσο στα εργαστηριακά ευρήματα όσο και στην κλινική έκφραση και την επιβίωση των ασθενών αυτών, η οποία κυμαίνεται από λίγους μήνες μέχρι πολλά χρόνια (9). Ο θεραπευτικός στόχος διαφέρει στις διάφορες περιπτώσεις και εξαρτάται από την αιματολογική εικόνα, την ηλικία και την πρόγνωση σε έκαστο ασθενή (10-12) Στη θεραπευτική στρατηγική περιλαμβάνονται από την υποστήριξη των κυτταροπενιών (μεταγγίσεις, χορήγηση αυξητικών παραγόντων) και διαφοροποιητικούς παράγοντες μέχρι την κλασική χημειοθεραπεία και την μεταμόσχευση μυελού των οστών. Δεδομένου ότι η διάμεση ηλικία των ασθενών είναι >65 ετών, ορισμένες θεραπευτικές επιλογές δεν είναι επιλέξιμες (11).

Παρόλο που τα περισσότερα αναπτύσσονται de novo (πρωτοπαθή MDS), ορισμένα μπορεί να αναπτυχθούν πολλά έτη μετά την έκθεση σε μεταλλαξιογόνους παράγοντες (ακτινοβολία, χημειοθεραπεία) (13).

Η πρώτη περιγραφή εμφανίζεται το 1938 σε ασθενείς με πανκυτταροπενία, πυρετό και νεκρωτικές βλάβες στους βλεννογόνους. Οι κυτταροπενίες του αίματος ήταν ανθεκτικές στην θεραπεία με τους τότε γνωστούς αιματινικούς παράγοντες (εκχύλισμα ήπατος, μαγιά μπύρας, άλατα) (14-16). Αργότερα βέβαια αποδείχθηκε ότι οι περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις αφορούσαν αναιμία χρόνιας νόσου, μεγαλοβλαστικές αναιμίες, κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες κλπ και όχι αληθή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (16).

Το 1949 χρησιμοποιήθηκε ο όρος προλευχαιμία σε καταστάσεις με μία ή περισσότερες κυτταροπενίες, που εξελίχθησαν σε οξεία λευχαιμία (17).

Παρόλο που τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και οι μορφολογικές ανωμαλίες σε αυτά είναι γνωστές για >80 έτη, η πρώτη μορφολογική ταξινόμηση εμφανίστηκε το 1982 (18). Ακόμη και σήμερα, μετά από 11 προταθείσες

ταξινομήσεις μορφολογικές και προγνωστικές, διαπιστώνεται από περιγραφές περιστατικών ότι η αιματολογική εικόνα και η φυσική ιστορία της νόσου διαφέρει σημαντικά στις διάφορες περιπτώσεις μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων (11,19).

Τελευταία έχει γίνει μεγάλη πρόοδος στη θεραπευτική αντιμετώπιση των συνδρόμων αυτών με πληθώρα μορίων να δοκιμάζονται θεραπευτικά με σημαντική βελτίωση της επιβίωσης και της ποιότητας ζωής σε ορισμένους ασθενείς (11,19,20). Δυστυχώς όμως το 30% των ασθενών ακόμη και σήμερα αποβιώνουν λόγω εξέλιξης σε οξεία λευχαιμία και ένα μεγάλο ποσοστό αποβιώνει από άλλες αιτίες, κυρίως κυτταροπενίες (λοιμώξεις, αιμορραγίες), καρδιακή ανεπάρκεια, θρομβωτικά επεισόδια (19,21).

## **1.2. Ιστορική Αναδρομή**

Από την πρώτη περιγραφή του συνδρόμου το 1938 μέχρι σήμερα έχουν διευκρινιστεί τα χαρακτηριστικά των συνδρόμων και η διάγνωση είναι πλέον καθαρή χωρίς να γίνεται σύγχυση με άλλες νοσηρές οντότητες στις περισσότερες περιπτώσεις, ενώ προγνωστικά κριτήρια έχουν καθοριστεί (14-30)

Από το 1938 (16) είχε αναγνωριστεί η επίδραση «αιματολογικών τοξινών περιλαμβανομένων των υδρογονανθράκων» στην ανάπτυξη των πρωτοπαθών MDS (υπό τον τότε όρο ανθεκτική αναιμία) καθώς επίσης και η ανάπτυξη δευτεροπαθών MDS επί προϋπαρχόντων νοσημάτων (14-16).

Το 1942 περιγράφηκε η φυσική εξέλιξη ορισμένων MDS σε οξεία λευχαιμία και το 1956 περιγράφηκε η έρπουσα μορφή λευχαιμίας, στην οποία η προλευχαιμική φάση διαρκούσε μέχρι και 30 χρόνια. Το ίδιο έτος περιγράφηκε η ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (17-30). Παρόλο που πολύ νωρίς αναγνωρίστηκαν σαν σύνδρομα, ο σαφής διαχωρισμός τους από τα μυελοϋπερπλαστικά δεν έγινε νωρίτερα από το 1970 οπότε και προτάθηκε ο όρος μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο από τον Harriet Gilbert (28-30).

### **1.3. Δυσπλαστικές Μορφολογικές Αλλοιώσεις στα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα**

Οι μορφολογικές αλλοιώσεις στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα είχαν αναγνωρισθεί πολύ νωρίς (19-31). Αυτές περιλαμβάνουν αλλοιώσεις του πυρήνα και του πρωτοπλάσματος καθώς και της κυτταρικής διαίρεσης. Για την ερυθρά σειρά περιγράφονται διπύρηνες μορφές, ατελείς διαιρέσεις, υπερκατάτμηση πυρήνων, πυρηνορηξίες, μεγαλοβλαστοειδείς μορφές, ανώμαλη ωρίμανση πυρήνα υπό την μορφή αωρότητας ή υπερωριμότητας, αυξημένο ποσό ερυθροβλαστών τόσο στον μυελό όσο και στο περιφερικό αίμα και παρουσία δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών. Για την κοκκιώδη σειρά περιγράφονται μορφές με ελαττωμένη κοκκίωση, με υπολόβωση του πυρήνα (Pelger-like), με υπέρπυκνους πυρήνες και μορφές με περίεργη μορφολογία πρωτοπλάσματος και πυρήνα (bizarre) και μονοκυτταροειδή εμφάνιση. Μερικές φορές ανευρίσκονται κυτταρικές μορφές δυσδιάγνωστες, που δύσκολα κατατάσσονται μορφολογικά σε μία κυτταρική σειρά (19-31). Τα μεγακαρυοκύτταρα παρουσιάζουν ποσοτικές (χαμηλός συνήθως αλλά και υψηλός αριθμός) και ποιοτικές διαταραχές. Πολλοί κατακερματισμένοι πυρήνες, μονήρης μικρός μονόλοβος πυρήνας, μικρομεγακαρυοκύτταρα, υποκοκκιωμένες μορφές, υπερκοκκιωμένες μορφές, άωρες μη αιμοπεταλιοπαραγωγικές μορφές και συχνά μειωμένος αριθμός μεγακαρυοκυττάρων ή σπανιότερα αυξημένος αριθμός ή διαταραχές ωρίμανσης (19-31). Σε ορισμένα MDS παρατηρούνται διατραχές και στα μονοκύτταρα (ανωμαλίες στην κοκκίωση και στην ωρίμανση, ατυπία στη μορφή του πυρήνα, προμονοκύτταρα ανοσοφαινοτυπικές διαταραχές (19-34). Αν και έχουν περιγραφεί διαταραχές στην λεμφική σειρά, δεν είναι βέβαιο αν αυτές αποτελούν συμμετοχή στον δυσπλαστικό κλώνο ή είναι αντιδραστικές (33-34).

Η ανεύρεση βλαστικών κυττάρων σε μεταξύ των δοκίδων διαμερίσματα του μυελού των οστών αποτελεί επίσης συχνό εύρημα των MDS στις οστεομυελικές βιοψίες (31-34).

#### 1.4. Ταξινόμηση

Από την πρώτη ταξινόμηση κατά FAB (35) μέχρι σήμερα έχουν προταθεί περίπου 10 ταξινομήσεις με διάφορα κριτήρια. Πάντοτε υπήρχε ανάγκη ύπαρξης ενός συστήματος ταξινόμησης με προγνωστική αξία. Τέτοιο σύστημα δεν έχει υπάρξει, που να καλύπτει όλες τις περιπτώσεις (35-46).

Σήμερα, τα πλέον χρησιμοποιούμενα συστήματα ταξινόμησης είναι το κατά WHO 2008 (μορφολογικό σύστημα (31), WPSS (προγνωστικό σύστημα 42), IPSS (49), LR-MDAS(19). Το IPSS θεωρήθηκε ως ένα προγνωστικό σύστημα με στατικά χαρακτηριστικά, που μπορεί να εφαρμοστεί μόνο κατά την διάγνωση του νοσήματος και όχι σε άλλα στάδια της εξέλιξης του συνδρόμου(47,48-50). Το WPSS θεωρείται ένα δυναμικό σύστημα βαθμολόγησης κινδύνου, που μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα στάδια κατά την διάρκεια εξέλιξης του συνδρόμου (51-63).

**Πίνακας 1: Μορφολογικά συστήματα ταξινόμησης (31)**

<b>FAB 1982</b>	<b>WHO 2008</b>
RA	RA unilineage RCMD 5q- syndrome
RARS	RARS unilineage or RCMD-RS
RAEB	RAEB-1 RAEB-2
	MDS unclassified
RAEBt	AML with multilineage dysplasia AML and therapy related MDS
CMML	Myelodysplastic/myeloproliferative disease
	MDS παιδικής ηλικίας

**Πίνακας 2: Προγνωστικά συστήματα βαθμονόμησης κινδύνου στα MDS(19)**

Προγνωστικός δείκτης	N	Προγνωστικές μεταβλητές	Median survival					Λευχαιμική εκτροπή
			Πολύ χαμηλός	χαμηλός	Int-1	Int-2	υψηλός	
IPSS(1997)	816	Αριθμός κυτταροπενιών, Βλάστες% μυελού, Κυτταρογενετικές κατηγορίες.		5,7 έτη	3,5 έτη	1,2 έτη	0,4 έτη	Μέσος χρόνος μέχρι εξέλιξη του 25% : 9.4,3.3, 1.1 και 0.2 για τις 4 κατηγορίες αντίστοιχα
WPSS(2007)	426	Κατηγορίες WHO Κυτταρογενετικές κατηγορίες IPSS, Μεταγγίσεις.	103 μήνες	72 μήνες	40 μήνες	21 μήνες	12 μήνες	Πιθανότητα εξέλιξης στην 5ετία 0.06, 0.24, 0.48, 0.63 αντίστοιχα
LR-MDAS	856	Ηλικία, Hb, PLTs, βλάστες(%) μυελού, πτωχός καρούτυπος.		Κατηγορία 1: 80.3 μήνες Κατηγορία 2: 26.6 μήνες Κατηγορία 3: 14.2 μήνες				10%
MDAS	957	Πτωχό performance status Ηλικία, θρομβοπενία, βλάστες% μυελού, αναιμία, λευκοκυττάρωση, ανωμαλίες Chr7 η σύμπλοκες χρωμοσωμιακές ανωμαλίες, μεταγγίσεις.		54μήνες	25 μήνες	14 μήνες	6 μήνες	N/A

### **1.5. Φυσιοπαθολογία Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων**

Στην ανάπτυξη των μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων εμπλέκονται γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες χωρίς να έχει διευκρινιστεί ο ακριβής ρόλος των παραγόντων αυτών στην παθοφυσιολογία των συνδρόμων (64-66).

Η αρχική βλάβη στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα συμβαίνει στο πολυδύναμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο ή στο δεσμευμένο (committed) κοινό προγονικό κύτταρο μιας ή περισσότερων σειρών (31). Αυτό έχει φανεί από κυτταρογενετικές και γενετικές μελέτες, στις οποίες η διαταραχή γονιδιακή η κυτταρογενετική βρίσκεται σε αρχέγονα CD34+/CD38- και CD34+/CD19- κύτταρα αλλά ενίοτε η βλάβη εντοπίζεται σε ωριμότερους και όχι στους ανωτέρω πληθυσμούς (31). Δεν είναι γνωστό σε όλες τις περιπτώσεις σε ποιο κύτταρο έχει συμβεί η νεοπλασματική εκτροπή. Ακόμη και όταν υπάρχει μονογραμμική δυσπλασία και φαίνεται να πάσχει μία μόνο κυτταρική σειρά, υπάρχει πιθανότητα η αρχική βλάβη να έχει συμβεί στο πολυδύναμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (31).

Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα εξελίσσονται κατά την διάρκεια της νόσου και κατά τα διάφορα στάδια συσσωρεύονται νέες γενετικές βλάβες, οι οποίες προσδίδουν μεγαλύτερη γενετική αστάθεια (67). Τελικά η νόσος καταλήγει σε οξεία λευχαιμία συνήθως μυελογενή αλλά και ενίοτε λεμφογενή (31,68,68).

Το χαρακτηριστικό των μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων είναι η δυσαναλογία στην κυτταροβρίθεια μεταξύ μυελού οστών και περιφέρειας (11,31,70,71). Αυτό οφείλεται στο φαινόμενο της αυξημένης ενδομυελικής καταστροφής πρόδρομων κυτταρικών μορφών (απόπτωση) (72-76). Το φαινόμενο της απόπτωσης είναι εντονότερο στα χαμηλού κινδύνου MDS, ενώ στα υψηλού κινδύνου αυξάνει η επιβίωση των βλαστικών κυττάρων τα οποία συσσωρεύονται και παρουσιάζεται η λευχαιμική εκτροπή (72-77).

Από τότε που αναγνωρίστηκε η αυξημένη απόπτωση στα MDS, δημιουργήθηκε το ερώτημα γιατί ένας κλώνος με αυξημένα αυτοκαταστροφικά



χαρακτηριστικά επικρατεί έναντι του φυσιολογικού κλώνου και αναπτύσσεται εις βάρος αυτού. Σε μερικές περιπτώσεις παρατηρούνται χαρακτηριστικά κοινά μεταξύ MDS και απλαστικής αναιμίας με αποτέλεσμα να διατυπωθεί υπόθεση κοινής παθοφυσιολογικής ανάπτυξης στα σύνδρομα αυτά. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή, η διαταραχή που συνέβη στο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο(τόσο στην απλαστική αναιμία, όσο και σε ορισμένα MDS) επάγει T-κυτταρική ανοσολογική αντίδραση, η οποία στρέφεται έναντι τόσο του φυσιολογικού όσο και του MDS κλώνου. Η επικράτηση του MDS κλώνου οφείλεται στην ανθεκτικότητα αυτού στην ανοσοεπαγόμενη κυτταρική καταστροφή.Ενδείξεις υπέρ αυτής της υπόθεσης αποτελεί η ύπαρξη T-κυτταρικού κλώνου CD56-/CD16-/HLA-DR15+/PIG-Amutated σε ορισμένα υποπλαστικά MDS αλλά και η παρουσία MDS κλώνων (με κυτταρογενετικές ανωμαλίες) στην απλαστική αναιμία. Επίσης η ανάπτυξη T-cell λευχαιμίας στα MDS από τον αντιδραστικό T-cell κλώνο (31,78-69).

Ένα άλλο χαρακτηριστικό των MDS είναι η συχνή παρουσία κυτταρογενετικών ανωμαλιών, οι οποίες περιλαμβάνονται και στα κριτήρια για την προγνωστική ταξινόμηση των MDS (81). Η συμβατική κυτταρογενετική με G-banding απαιτεί διαιρούμενα κύτταρα και έχει μικρή διακριτική ευχέρεια (5-8Mb). Η FISH ενδιάμεσης φάσης έχει μεγαλύτερη διακριτική ευχέρεια (interphase FISH) αλλά φαίνεται ότι και με αυτή χάνεται ένας αρκετά μεγάλος αριθμός κυτταρογενετικών ανωμαλιών(78). Η ευρεία γονιδιακή ανάλυση (genome-wide) με συγκριτικό DNA/RNA υβριδισμό σε μικροσυστοιχίες (aCGH) και μικροσυστοιχίες DNA με SNPs έχει αναδείξει πολυάριθμες κρυπτογραφημένες χρωμοσωμικές ανωμαλίες (82-85), απώλεια ετεροζυγωτίας, μονογονική δισωμία, πολλαπλά αντίγραφα γονιδίων και ειδικούς γονότυπους ( 83,84,86,87).

Παρόλο που καμία κυτταρογενετική ανωμαλία δεν είναι παθογνωμονική για τα MDS, ορισμένες κυτταρογενετικές ανωμαλίες έχουν συνδεθεί με κακή πρόγνωση (όπως UPD4q, UPD7q, UPD11q, UPD17p), (81), ενώ σε άλλες δεν έχει εκτιμηθεί η πρόγνωση, όπως στην whole genomeUPD (3,67,81,86,87). Επίσης μερικές είναι μοναδικές για συγκεκριμένα μορφολογικά σύνδρομα, όπως το del5q (58,59,88,89). Η προσδοκία, ότι η κυτταρογενετική μελέτη στα MDS θα βοηθούσε στην ερμηνεία της παθογένειας, δεν εκπληρώθηκε (67). Οι συσσωρευόμενες βλάβες κατά την πολυσταδιακή ανάπτυξη των MDS είναι κυτταρογενετικά σιωπηλές (90).

Με την aCGH ή πολυμορφισμούς SNPs έχουν εντοπιστεί ποικίλες γενετικές ανωμαλίες σε περιοχές με άγνωστα γονίδια, σε ιντρόνια γνωστών γονιδίων ή σε γονίδια άγνωστης κλινικής σημασίας (91-92). Σε μερικές περιπτώσεις διαπιστώθηκαν αλλαγές σε γονίδια με γνωστή συσχέτιση με νεοπλασμάτα όπως μεταγραφικοί παράγοντες και συμπαράγοντες (ETV6, RUNX1), πρωτείνες διαβίβασης σήματος (GNAS, JAK2, KRAS, BRAF, CBL, NRAS, PTPN11), ρυθμιστές κυτταρικού κύκλου (CDKN2A, CNKN2B, PTEN), επιγενετικοί ρυθμιστές (TET2, EZH2, ASX11, DNMT3A, IDH1, JHD1), (91-101).

Η επιγενετική τροποποίηση στα MDS έχει επισύρει το ενδιαφέρον των ερευνητών και άλλαξε τους θεραπευτικούς στόχους (88,102). Τρεις σημαντικοί μηχανισμοί έχουν περιγραφεί: η μεθυλίωση του DNA, η τροποποίηση των ιστονών και η παρείσφρηση στο RNA. Σε ότι αφορά στην μεθυλίωση, έχει περιγραφεί υπερμεθυλίωση των νησιδίων CpG στις ρυθμιστικές περιοχές πολλών γονιδίων (102-143).

### **1.6. Αντιμετώπιση**

Παρότι τα δύο κατεξοχήν σχεδόν χρησιμοποιούμενα προγνωστικά συστήματα ταξινόμησης IPSS-R και WPSS έχουν εφαρμογή σε μεγάλο αριθμό περιστατικών, υπάρχουν πολλοί άλλοι παράγοντες κλινικοί και εργαστηριακοί, που κατά γενική ομολογία επηρεάζουν την πρόγνωση αλλά δεν έχουν εκτιμηθεί σε μελέτες. Τέτοιες είναι η ηλικία, το άρρεν φύλο, η κακή γενική κατάσταση (performance status), οι συννοσηρότητες, η πολυγραμμική συμμετοχή, η υψηλή φερριτίνη ορού, η υψηλή LDH, η ίνωση του μυελού οστών, ορισμένοι ανοσοφαινότυποι (144), κλωνικά πολυμορφοπύρρηνα, χρωμοσωμιακή αστάθεια, βραχεία τελομερή, αυξημένη δραστηριότητα της τελομεράσης και γενετικοί χαρακτήρες, όπως αυξημένη έκφραση Bcl-2 και κασπάσης 3, μεθυλίωση των p15INK4b και CTNNA1 (στο 5q-υπερμεθυλίωση άλλων γονιδίων, απουσία μεταλλαγμένου TET2, καταστολή του LEF1, μετάλλαξη στο ASXL1 και συγκεκριμένο 6-γονιδιακό αποτύπωμα (60,74,145-154,155). Το 30% των MDS εξελίσσεται σε οξεία λευχαιμία (19,156).

Ο θεραπευτικός στόχος στα MDS είναι η καταστολή του νεοπλασματικού κλώνου και η ανάκαμψη του φυσιολογικού. Αυτό επιτυγχάνεται σε πολύ λίγες περιπτώσεις και η μόνη σήμερα θεραπεία ίασης είναι η μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (157). Επομένως σε περίπτωση MDS, θα πρέπει να

αποφασίζεται αν ο ασθενής είναι επιλέξιμος για μεταμόσχευση μυελού ή περιφερικών στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, τον βαθμό κινδύνου του MDS, τις συννοσηρότητες, τη διαθεσιμότητα του δότη και την επιλογή του ασθενούς (19,158-161). Στα χαμηλού κινδύνου περιστατικά επιλέγεται η παρακολούθηση του ασθενούς, η χορήγηση αυξητικών παραγόντων και άλλες υποστηρικτικές θεραπείες μέχρι να αποκτήσει ο ασθενής συμπτωματικές κυτταροπενίες (158). Στα υψηλού κινδύνου MDS εφαρμόζονται απομεθυλιωτικοί παράγοντες αλλά και κλασική χημειοθεραπεία σε ανθεκτικές περιπτώσεις (19). Μία σειρά νέων μορίων δοκιμάζεται στην θεραπεία των MDS με καλά αποτελέσματα, τα οποία όμως δεν έχουν τεκμηριωθεί σε μεγάλες μελέτες ακόμη (19). Αυτά αφορούν απομεθυλιωτικούς παράγοντες, αποακετυλάσες ιστονών, αναστολείς κινασών, αναστολείς κυτταρικού κύκλου, αναστολείς απόπτωσης, ανοσοτροποποιητικά, αναστολείς οδού hedgehog κλπ.

## **2. ΣΙΤΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ)**

Περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Paul Ehrlich το 1878 ως κοκκιώδη κύτταρα με μεταχρωματικά κοκκία, που συνεισέφεραν στην διατροφή των περιβαλλόντων ιστών εξ ου και το όνομά τους (162). Πολύ αργότερα, το 1937, αναγνωρίστηκε η παραγωγή ηπαρίνης από τα σιτευτικά κύτταρα (163). Στα επόμενα χρόνια σταδιακά αναγνωρίστηκε η σχέση μεταξύ μαστοκυττάρων, ισταμίνης, ηπαρίνης και αναφυλαξίας (164,165). Σταδιακά και πολύ αργότερα διευκρινίστηκε ο ρόλος των μαστοκυττάρων και ο μηχανισμός δράσης τους στην εκδήλωση της αλλεργικής αντίδρασης μέσω IgE (165,166,167,168,169).

Η κατανόηση του μηχανισμού ενεργοποίησης των σιτευτικών κυττάρων και έκκρισης των μεσολαβητών τους, η μελέτη των σταδίων της φλεγμονής, η εφαρμογή κυτταρικών καλλιιεργειών και η ανάπτυξη διαγονιδιακών στελεχών ποντικών με παντελή έλλειψη σιτευτικών κυττάρων οδήγησε σε περαιτέρω διαλεύκανση του ρόλου των κυττάρων αυτών τόσο στην φλεγμονή, όσο στην αλλεργία και του ρόλου τους στην ανάπτυξη και επέκταση διαφόρων νοσημάτων όπως κακοηθειών, χρονίων φλεγμονωδών νοσημάτων, αυτοάνοσων νοσημάτων κλπ. (170,171,172,173,174).

## 2.1. Οντογένεση

Τα σιτευτικά κύτταρα προέρχονται από το κοινό προγονικό αιμοποιητικό κύτταρο. Αυτό αποδείχθηκε με πειράματα μεταμόσχευσης μυελού οστών σε ποντικούς, όπου παρατηρήθηκε ανάπτυξη σιτευτικών κυττάρων του δότη στον δέκτη (175) αλλά πρωτοπεριγράφηκε σε περίπτωση μεταμόσχευσης μυελού οστών σε άνθρωπο το 1994 (176).

Με πειράματα σε ποντικούς αναγνωρίστηκε το προγονικό δεσμευμένο κύτταρο για τα σιτευτικά κύτταρα και το 2005 απομονώθηκε το κύτταρο αυτό με μαγνητικό διαχωρισμό (177). Το 2005 προτάθηκε η ύπαρξη κοινού προγονικού κυττάρου για τα μαστοκύτταρα και τα υπόλοιπα κύτταρα της κοκκιώδους σειράς (178).

Από αναπτυξιακής πλευράς, τα σιτευτικά κύτταρα φαίνεται ότι εμφανίζονται στις εμβρυονικές θέσεις αιμοποίησης ταυτόχρονα με τα υπόλοιπα αιμοποιητικά κύτταρα (177,179).

Από φυλογενετικής πλευράς, πιθανός αρχέγονος πρόγονος των σιτευτικών κυττάρων των σπονδυλωτων εντοπίστηκε στο είδος *Ciona intestinalis*, ενός ηλικίας 500 εκατομμυρίων ετών προδρόμου των σπονδυλωτών. Αυτό το αρχέγονο μαστοκύτταρο περιέχει μεταχρωματικά κοκκία και μοιάζει με το μαστοκύτταρο του συνδετικού ιστού καθώς επίσης εκκρίνει ισταμίνη και προσταγλανδίνες (180). Παρόλο που τα σιτευτικά κύτταρα των σπονδυλωτών περιγράφησαν έναν αιώνα πριν, οι λειτουργίες τους λεπτομερώς δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί.

Η ανάπτυξη και διαφοροποίηση των σιτευτικών κυττάρων στον άνθρωπο εξαρτάται από τον CSF (colony stimulating factor) και τον συνδέτη του CD117/c-kit (181,182). Η έρευνα στον CSF έδειξε ότι αυτός διευκολύνει την ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό τη μετανάστευση και την προσκόλληση των σιτευτικών κυττάρων (183,184). Παρόλο που η ανάπτυξη των μαστοκυττάρων *in vitro* απαιτεί IL-3, *in vivo* δεν φαίνεται αναγκαία για τον άνθρωπο. Επί πλέον μεταλλάξεις στο c-kit, που οδηγούν σε απόκτηση νέας λειτουργίας (gain of

function), οδηγούν σε νεοπλασματική νόσο που χαρακτηρίζεται από υπερπλασία των σιτευτικών κυττάρων (185).

## **2.2. Κατανομή, φαινότυπος, ρύθμιση και λειτουργίες των σιτευτικών κυττάρων**

Τα σιτευτικά κύτταρα κατανέμονται σε όλο τον οργανισμό και βρίσκονται κυρίως στα φυσιολογικά όρια του μεταξύ του οργανισμού και του περιβάλλοντος, δηλαδή σε πιθανές πύλες εισόδου ξένων οργανισμών, π.χ. δέρμα, βλεννογόνοι, γύρω από τα αγγεία κλπ. (186,187,188). Τα κύτταρα αυτά μεταναστεύουν μέσω του αίματος σαν ανώριμες μορφές και ωριμάζουν και πολλαπλασιάζονται στους ιστούς, όπου εγκαθίστανται, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα κύτταρα του αίματος, τα οποία ωριμάζουν στον μυελό των οστών και απελευθερώνονται στην κυκλοφορία ως ώριμες μορφές (189,190,191,192).

Τα ώριμα σιτευτικά κύτταρα των ιστών ζούν μέχρι και 12 εβδομάδες και μετά από κατάλληλο ερέθισμα μπορούν να αποδιαφοροποιηθούν και να πολλαπλασιαστούν εμφανίζοντας εξαιρετική πλαστικότητα (193,194,195).

Στο περιφερικό αίμα αναγνωρίζονται μόνο πρόδρομα των σιτευτικών κυττάρων. Η μετανάστευση αυτών των κυττάρων ρυθμίζεται από τις ανάγκες των ιστών. Για παράδειγμα, στον φυσιολογικό πνεύμονα δεν υπάρχουν πολλά σιτευτικά κύτταρα, σε περίπτωση όμως αλλεργιογόνου φλεγμονής συσσωρεύεται τοπικά μεγάλος αριθμός από αυτά τα κύτταρα (196). Στον μηχανισμό αυτόν συσσώρευσης συμμετέχουν οι ιντεγκρίνες  $\alpha 4\beta 7$ ,  $\alpha 4\beta 1$ , VCAM-1, CXCR2, CCR2, MCP-1, CCL2, CCL5, RANTES (197,192,198,199). Επί πλέον οι μεσολαβητές, που εκκρίνουν τα ίδια τα σιτευτικά κύτταρα, προσελκύουν περισσότερα πρόδρομα κύτταρα, τα οποία περαιτέρω διαφοροποιούνται στους ιστούς και αυξάνει έτσι περαιτέρω ο αριθμός των κυττάρων αυτών τοπικά (200).

Στον άνθρωπο έχουν αναγνωριστεί 3 φαινότυποι σιτευτικών κυττάρων. Ο φαινότυπος  $MC_{TC}$ , MC και ο  $A_3$ . Ο φαινότυπος  $MC_{TC}$  αποθηκεύει χυμάσες, τρυπτάσες και καρβοξυπεπτιδάσες στα κοκκία του, ο φαινότυπος MC αποθηκεύει μόνο χυμάσες και ο τρίτος φαινότυπος αποθηκεύει μόνο τρυπτάσες και καρβοξυπεπτιδάσες  $A_3$  (201,202,203,204,205,206). Επί πλέον διάκριση του φαινοτύπου των σιτευτικών κυττάρων γίνεται σε σχέση με την έκφραση του υποδοχέα του C5aR για το C5a κλάσμα του συμπληρώματος, π.χ. τα  $MC_{TC}$

από το δέρμα και τον πνεύμονα αλλά όχι τα MC από τον πνεύμονα εκφράζουν C5aR. (207).

Η ποικιλομορφία του φαινοτύπου των σιτευτικών κυττάρων σχετίζεται με το τύπο της ευαισθησίας στα ερεθίσματα και της αντίδρασης που μπορούν να εμφανίσουν και με την ποικιλία των μεσολαβητών που μπορούν να απελευθερώσουν. Τα MC<sub>TC</sub> υπάρχουν κυρίως στο δέρμα ενώ τα MC στους βλεννογόνους (204). Κατά την διάρκεια της ζωής ενός σιτευτικού κυττάρου ο φαινότυπος αυτού μπορεί να αλλάξει και αυτό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (208,209). Επίσης, μετατροπή του φαινοτύπου από αυτόν του σιτευτικού κυττάρου του συνδετικού ιστού σε αυτόν του σιτευτικού κυττάρου των βλεννογόνων και αντιστρόφως έχει περιγραφεί (194,210-223). Αυτό εξαρτάται από το είδος και την ποσότητα των κυτταροκινών του περιβάλλοντος.

### ***2.3. Μεσολαβητές σιτευτικών κυττάρων.***

Τα σιτευτικά κύτταρα εκφράζουν μία ποικιλία μεσολαβητών που κατηγοριοποιούνται σε 3 κατηγορίες: στην πρώτη κατηγορία ανήκουν μεσολαβητές, που είναι αποθηκευμένοι στα κοκκία τους, στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν μεσολαβητές-λιπίδια (εικοσανοειδή), που προέρχονται από την μεμβράνη των κυττάρων αυτών και στην τρίτη κατηγορία νεοσυντιθέμενες ουσίες, που παράγονται μετά από ενεργοποίηση της μετάφρασης και των οποίων η ρύθμιση εξαρτάται από το είδος του ερεθίσματος και τον υποδοχέα, που μεσολαβεί στην ενεργοποίηση (186,224).

Οι αποθηκευμένοι μεσολαβητές περιλαμβάνουν κυρίως την ισταμίνη (A: Sillva 1947), την σεροτονίνη (225), την ντοπαμίνη σε ορισμένα είδη (226), λυσοσωμικά ένζυμα (227), κασπάση-3 (228), άλλες πρωτεάσες (229-231), χυμάση, τρυπτάση και καρβοξυτεπτιδάση A (232-237). Επίσης στα κοκκία των σιτευτικών κυττάρων αποθηκεύεται μία μεγάλη ποικιλία κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων (238,239,227). Σημειωτέον ότι το είδος των μεσολαβητών που είναι αποθηκευμένοι κάθε φορά εξαρτάται από το είδος, τον φαινότυπο και το μικροπεριβάλλον, στο οποίο βρίσκονται.

Η ισταμίνη είναι η πιο γνωστή βιογενής αμίνη, η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή, βρογχοσυστολή, συστολή λείων μυϊκών ινών και αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα, λειτουργίες, που συχνά σχετίζονται με αλλεργικές και

φλεγμονώδεις αντιδράσεις (227). Επίσης θεωρείται ότι συμμετέχει στην ρύθμιση των δενδριτικών κυττάρων (240). Η σεροτονίνη είναι μία άλλη βιογενής αμίνη, που εμπλέκεται στην καρκινογένεση μέσω πολλαπλών μηχανισμών (241).

Στα ενεργοποιημένα σιτευτικά κύτταρα παράγονται και εκκρίνονται μία ομάδα εικοσανοειδών προερχόμενα από το αραχιδονικό οξύ με την δράση της φωσφολιπάσης A (PLA<sub>2</sub>), (241-248,187,249-257). Οι προσταγλανδίνες και τα λευκοτριένια ανήκουν στην κατηγορία αυτών των μεσολαβητών που ευθύνονται για την αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων, την προσέλκυση λευκοκυττάρων, την παραγωγή βλέννης, την ενεργοποίηση των νευρικών κυττάρων. Γενικότερα τα εικοσανοειδή, που εκκρίνονται από τα σιτευτικά κύτταρα, ευθύνονται για την προσέλκυση ανοσοδραστικών κυττάρων και τροποποιούν την αντιγονοπαρουσίαση (258).

Μετά από ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων, είναι δυνατόν να συντεθούν και να εκκριθούν από αυτά νεοσυντιθέμενοι μεσολαβητές, των οποίων η ρύθμιση εξαρτάται από το είδος του ερεθίσματος και τον ειδικό υποδοχέα, που εμπλέκεται στην ενεργοποίηση. Αυτοί οι μεσολαβητές είναι κυτταροκίνες και χυμοκίνες και εκκρίνονται τις πρώτες ώρες μετά την ενεργοποίηση. Περιλαμβάνουν προφλεγμονώδεις (IL-4,IL-5,IL-6,IL-1,IFN-γ,IL-2,IL-3,IL-12,IL-8, TNF-α) και αντιφλεγμονώδεις (IL-10,TGF-β) κυτταροκίνες καθώς και χυμοκίνες (CCL5,CXCL8), ( 259,260).

Η ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων μπορεί να γίνει από ποικίλα εξωγενή ερεθίσματα, τα οποία δρουν πάνω στους πολυάριθμους υποδοχείς, που αυτά διαθέτουν στην επιφάνειά τους. (187,262). Η αντίδραση στα ερεθίσματα αυτά, ανάλογα με τον υποδοχέα ο οποίος μεσολαβεί, οδηγεί στην έκκριση διαφορετικών συνδυασμών μεσολαβητών (263). Η πιο γνωστή ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων είναι η αλλεργική αντίδραση, στην οποία συμμετέχει ο IgE υποδοχέας (264). Τα σιτευτικά κύτταρα επίσης διαθέτουν υποδοχείς για παθογόνους μικροοργανισμούς (PRRs), όπως οι Toll-like receptors, μέσω των οποίων ενεργοποιούνται μετά την επαφή με τους μικροοργανισμούς και παράγουν μεσολαβητές της φλεγμονής (259). Επί πλέον, άλλα μόρια, όπως νευροπεπτίδια, κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, τοξίνες, συμπλήρωμα, ανοσοσυμπλέγματα, φάρμακα, λεκτίνες καθώς και φυσικά ερεθίσματα δρουν στα

μαστοκύτταρα και τα ενεργοποιούν μέσω FcεRI, FcγR, FcγRI, FcγRIII και άλλων ειδικών υποδοχέων (265-267).

Ο υποδοχέας c-Kit είναι βασικός για την επιβίωση των σιτευτικών κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση. Η σύνδεση του υποδοχέα c-Kit με το CSF οδηγεί στην παραγωγή και διαβίβαση σήματος μέσω της οδού JAK-STAT και RAS-RAF-MAPK στον πυρήνα (268-270) .

#### **2.4. Λειτουργίες των σιτευτικών κυττάρων**

Τα σιτευτικά κύτταρα συμμετέχουν στην ανάπτυξη των ιστών και στην ομοιοστάση ιστών και οργάνων, που εμφανίζουν συνεχή αύξηση και ανακατασκευή. Η ισταμίνη, ο TNF, η ουσία P, IL-1, TGF-β, IL-6 και ο PDGF, η οστεοπορίνη και η τρυπτάση συμμετέχουν στην αναδόμηση των ιστών. Επίσης τα σιτευτικά κύτταρα συμμετέχουν στην λειτουργία και ακεραιότητα των ιστών μέσω μεσολαβητών, όπως ο NGF, ο PDGF, ο VEGF, ο FGF, ο bFGF, η ισταμίνη, η τρυπτάση. Κατά τον τραυματισμό, τα σιτευτικά κύτταρα δρουν στην πρωταρχική φάση για να ρυθμίσουν την ομοιοστάση και στη συνέχεια παραμένουν δραστικά μέχρι την τελική φάση της επούλωσης (271-283).

Τα σιτευτικά κύτταρα επικοινωνούν με τα νευρικά κύτταρα μέσω μορίων προσκόλλησης (N-cadherin, SynCAM) λαμβάνοντας ερεθίσματα από τα νευρικά κύτταρα αλλά και μεταδίδοντας ερεθίσματα στα νευρικά κύτταρα. Έτσι εγκαθίσταται ένας νευροανοσολογικός ρυθμιστικός μηχανισμός αλλά και ρύθμιση της νευρογένεσης και της συμπεριφοράς. Μέσω αλληλεπίδρασης των σιτευτικών κυττάρων με τα νευρικά κύτταρα, ρυθμίζεται η ομοιοστάση του εντέρου, η μεταφορά ιόντων, η διαπερατότητα των αγγείων, η έκκριση βλέννης και η κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα (283-284).

Τα σιτευτικά κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες με αγγειογενετική δράση, όπως η αγγειοποιητίνη-1, η FGF-2, VEGF, IL-8 TGF-β TNF-α, η ισταμίνη, η ηπαρίνη, η τρυπτάση και χυμάση, και πολλές άλλες (285). Συμμετέχουν σε όλα τα στάδια της αγγειογένεσης περιλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης και της αποδόμησης των ενδοθηλιακών κυττάρων καθώς και της δημιουργίας νεοαγγείων και μετανάστευσης των περικυττάρων (285,286,287).



Τα σιτευτικά κύτταρα, όπως τα δενδριτικά κύτταρα, αναγνωρίζουν και αντιδρούν με αντιγόνα, τοξίνες και παθογόνα. Έχουν στην επιφάνειά τους ποικίλους υποδοχείς, οι οποίοι διαφέρουν στους διάφορους υπότυπους των μαστοκυττάρων. Καθολικά στα σιτευτικά κύτταρα υπάρχουν TLRs (1-7,9), NLRs,RLRs και υποδοχείς συμπληρώματος (259,288-290). Το σύνολο των μεσολαβητών, που εκλύουν τα σιτευτικά κύτταρα όταν ενεργοποιηθούν, εξαρτάται από τον υποδοχέα ο οποίος συμμετέχει στην ενεργοποίησή τους. Πιστεύεται ότι τα παθογόνα καθαίρονται από τους ιστούς με την βοήθεια κυττάρων του ανοσοποιητικού. Αυτή η διαδικασία διευκολύνεται από την παρουσία σιτευτικών κυττάρων, την ικανότητά τους να απελευθερώνουν μεσολαβητές, που προάγουν την διαπερατότητα των αγγείων και την προσέλκυση ανοσοκυττάρων, όπως τα ηωσινόφιλα, τα ουδετερόφιλα, τα NK κύτταρα. Τα σιτευτικά κύτταρα διεγείρομενα από μικροβιακά αντιγόνα και LPS παράγουν φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, καθελυσιδίνες, δεφενσίνες, και εψιδίνες. Επί πλέον μπορούν να φαγοκυτταρώνουν βακτήρια και παράγουν ρίζες οξυγόνου, με τις οποίες τα καταστρέφουν ενδοκυττάρια αλλά και εξωκυττάρια μέσω των εξωκυττάρων παγίδων (MCETs), (291-308).

Τα σιτευτικά κύτταρα είναι ικανά να επεξεργάζονται το αντιγόνο και να το παρουσιάζουν μέσω του MHC I και MHC II, όπως τα δενδριτικά. Μπορούν να ρυθμίζουν την μετανάστευση των δενδριτικών κυττάρων και την φαινοτυπική ωρίμανση αυτών, καθώς και την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων (309-326).

Μέσω μεσολαβητών, που εκκρίνουν, τα σιτευτικά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό της ανοσολογικής ανοχής. Αυτή η δράση τους ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα (327-338).

## **2.5. Ρόλος των σιτευτικών κυττάρων σε παθολογικές καταστάσεις**

*Αλλεργία:* Οι αλλεργίες οφείλονται σε μη προσήκουσα απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος σε εξωγενή αντιγόνα και στον μηχανισμό αυτό συμμετέχουν κυρίως τα σιτευτικά κύτταρα μέσω του IgE υποδοχέων. Επίσης μέσω MHC I και II συμμετέχουν στην ευαισθητοποίηση (339-340). Η ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων μέσω FcεRI οδηγεί σε έκκριση μεσολαβητών από αυτά, οι οποίοι είναι και υπεύθυνοι για τα αλλεργικά συμπτώματα, όπως το οίδημα, την ερυθρότητα, τη σύσπασση των λείων μυικών ινών, την αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και την έκκριση βλέννης (341). Τα

σιτευτικά κύτταρα συμμετέχουν τόσο στην πρώιμη όσο και στην όψιμη φάση της φλεγμονώδους αλλεργικής αντίδρασης (342,343,344).

*Νόσος Crohn:* Στην νόσο Crohn παρατηρείται συγκέντρωση φλεγμονωδών κυττάρων στο έντερο χωρίς ενδείξεις αυτοανοσίας και χαρακτηρίζεται από την παρουσία τοπικά ενεργοποιημένων σιτευτικών κυττάρων τα οποία εκκρίνουν μεσολαβητές και προσελκύουν άλλα φλεγμονώδη κύτταρα (345-349).

*Αυτοάνοσα νοσήματα:* Στην αυτοανοσία, αυτοδραστικοί κλώνοι λεμφοκυττάρων ενεργοποιούνται και δίδουν έναρξη σε ανοσολογική αντίδραση. Τα σιτευτικά κύτταρα επιτείνουν την ανοσολογική αυτή αντίδραση και σε μερικές περιπτώσεις την διεγείρουν. Τα δε Τ-λεμφοκύτταρα προσελκύονται από το φλεγμονώδες περιβάλλον, η ανάπτυξη του οποίου ευνοείται από την παρουσία σιτευτικών κυττάρων. Ο διαβήτης τύπου Ι, το Guillain-Barre, το πομφολυγώδες πεμφιγοειδές, το σύνδρομο Sjogren, η χρόνια ιδιοπαθής ουρτίκαρια, η πολλαπλή σκλήρυνση, η ρευματοειδής αρθρίτις είναι νοσήματα στα οποία η συμμετοχή των σιτευτικών κυττάρων είναι γνωστή (350-360).

*Σιτευτικά κύτταρα και στεφανιαία νόσος:* Η χυμάση και η τρυπτάση των σιτευτικών κυττάρων βοηθούν στη δημιουργία αθηρωμάτωσης μέσω πρωτεόλυσης της HDL, η οποία ενδοκυττώνεται από τα μακροφάγα (foam cells). Επί πλέον η χυμάση είναι η κύρια πηγή παραγωγής αγγειομετατρεπτικού ενζύμου, το οποίο ευθύνεται για την παραγωγή αγγειοτενσίνης II (361-363).

## **2.6. Τα σιτευτικά κύτταρα στα κακοήθη νοσήματα.**

Το μικροπεριβάλλον των όγκων αποτελείται από ινοβλάστες, μυοϊνοβλάστες, νεοαγγεία και φλεγμονώδη κύτταρα μεταξύ των οποίων και μαστοκύτταρα. Η παρουσία και ο ρόλος των σιτευτικών κυττάρων στην ανάπτυξη των όγκων είναι αντιφατικός. Πολλές φορές αυτό σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση και ταχεία πρόοδος της νόσου (364-365). Σε άλλες περιπτώσεις σχετίζονται με ευνοικότερη πρόγνωση (366). Γενικά τα σιτευτικά κύτταρα προσελκύονται στο περιβάλλον του όγκου από παράγοντες, που εκκρίνει ο όγκος. Τα σιτευτικά κύτταρα συμμετέχουν στην ανάπτυξη του όγκου μέσω της ανοσοκαταστολής, που δημιουργούν, μέσω της απελευθέρωσης αγγειογενετικών και μιτογόνων παραγόντων και της ισταμίνης (367). Η σημαντικότερη λειτουργία των σιτευτικών κυττάρων είναι η προαγωγή της αγγειογένεσης (368). Η αντινεοπλασματική δράση τους αφορά

στην αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης, την επαγωγή της απόπτωσης, τη μείωση της κυτταρικής κινητικότητας και την ενίσχυση της αντινεοπλασματικής φλεγμονής (368).

### **3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση του ρόλου των μαστοκυττάρων - σιτευτικών κυττάρων στην εξέλιξη των μυελοδυσπλαστικών κυττάρων.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# 1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## 1.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Στη μελέτη περιλήφθηκαν 73 ασθενείς, εκ των οποίων 37 γυναίκες και 36 άνδρες, που εξετάστηκαν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας μεταξύ των ετών 2009 και 2012 και έπασχαν από διάφορα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Η διάμεση ηλικία των ανδρών ήταν 72 έτη (εύρος: 35-86 έτη) και η διάμεση ηλικία των γυναικών 69 έτη (εύρος: 59-81 έτη).

Για την ταξινόμηση των ασθενών χρησιμοποιήθηκε η ταξινόμηση κατά FAB και WHO 2008. Εξ αυτών 21 ασθενείς (11 γυναίκες και 10 άνδρες) έπασχαν από ανθεκτική αναιμία (RA) κατά την ταξινόμηση FAB. Η διάμεση ηλικία των ανδρών ήταν 62 έτη (εύρος: 59-86 έτη) και η διάμεση ηλικία των γυναικών ήταν 78 (66-85 έτη). Από RAEB έπασχαν 18 ασθενείς (8 άνδρες και 10 γυναίκες) με διάμεση ηλικία για τους άνδρες 60,5 έτη (εύρος: 35-75 έτη) και διάμεση ηλικία για τις γυναίκες 74 έτη (εύρος: 58-79 έτη). Από RAEB-T έπασχαν 18 ασθενείς (10 άνδρες και 8 γυναίκες) με διάμεση ηλικία για τους άνδρες 66 έτη (εύρος 55-77 έτη) και για τις γυναίκες 79,5 έτη (εύρος 59-80 έτη). Από RARS έπασχαν 16 ασθενείς (8 άνδρες και 8 γυναίκες) με διάμεση ηλικία για τους άνδρες 64,5 έτη (εύρος 63-86 έτη) και για τις γυναίκες 75 έτη (εύρος 65-88 έτη).

Δεν περιλήφθηκαν ασθενείς με CMML κατά FAB.

Οι ασθενείς επιπλέον ταξινομήθηκαν σε χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου (37 ασθενείς) και υψηλού/ενδιάμεσου-2 (36 ασθενείς) κινδύνου κατά IPSS-1997. Η διάμεση ηλικία των ασθενών χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ήταν 72,5 έτη (εύρος 57-88) και για τους υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου 68 έτη (εύρος 35-80).

Στην μελέτη περιλήφθηκαν και 60 υγιείς μάρτυρες (διάμεση ηλικία 74 και εύρος 56-90), 32 άνδρες και 28 γυναίκες. Η διάμεση ηλικία για τους άνδρες ήταν 67 έτη (εύρος 56-89 έτη) και για τις γυναίκες 74 έτη (εύρος 66-90).

Τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών περιγράφονται στον πίνακα 3.

## **2. ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1. Λήψη περιφερικού αίματος**

Λαμβάνονταν 20 ml περιφερικού αίματος σε φιαλίδια κενού χωρίς αντιπηκτικό (Becton-Dickinson), γινόταν φυγοκέντρηση σε 3000g και αποχωριζόταν ο ορός, ο οποίος φυλασσόταν στους -80 μέχρι την ανάλυση.

### **2.2. Λήψη μυελού οστών**

Ο μυελός των οστών λαμβανόταν από την οπίσθια άνω λαγόνια άκανθα με αναρρόφηση και γινόταν επίστρωση σε γυάλινες αντικειμενοφόρους πλάκες θετικώς φορτισμένες. Στη συνέχεια, γινόταν μονιμοποίηση και χρώση με May-Grunvald/Giemsa (MERK) σύμφωνα με κλασικές μεθόδους, ενώ άλλα πλακίδια προωθούνταν για χρώση με κυανούν της τολουϊδίνης και άλλα για ανοσοκυτταροχημική χρώση χυμάσης-PAP και τρυπτάσης-PAP, όπως περιγράφεται κατωτέρω.

### **2.3. Προσδιορισμός αριθμού σιτευτικών κυττάρων**

Για την καταμέτρηση του αριθμού μαστοκυττάρων έγινε χρώση κυανού της τολουϊδίνης σύμφωνα με κλασικές μεθόδους και μετρήθηκε ο αριθμός των θετικών κυττάρων ανά 1000 εμπύρηννα κύτταρα σε 3 διαφορετικά πλακίδια. Χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή.

### **2.4. Προσδιορισμός των CD34(+) κυττάρων στο μυελό των οστών**

Χρησιμοποιήθηκε κυτταρομετρία ροής με τη χρήση του anti-CD34 mAb (K567-FITC).

### **2.5. Προσδιορισμός της μέσης πυκνότητας μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών**

Χρησιμοποιήθηκε μικροσκόπιο με προσοφθάλμιο όργανο με μικρομετρικό πλέγμα συντεταγμένων. Οι περιγεγραμμένες περιοχές της μικρομετρικής κλίμακας (τετραγωνίδια) ήταν στα  $0,0625\text{mm}^2$ . Τα ενδοθηλιακά κύτταρα (EC) ήταν CD 34+ με τη χρήση του anti-CD34 mAb QBEND 10 με kit avidin-

streptavidin Biogenex και είχαν χαρακτηριστική μορφολογία. Ομάδες EC με ή χωρίς αυλό μετρήθηκαν ως ένα κύτταρο. Κύτταρα CD 34+, που δεν είχαν μορφολογία EC αποκλείονταν από την καταμέτρηση, επιλέγονταν οι περιοχές με τη μέγιστη αγγείωση στα πλακίδια. Η αρίθμηση των μικροαγγείων γινόταν από δύο ανεξάρτητους παρατηρητές τυφλά και, αν η απόκλιση ήταν >10%, γινόταν επανεξέταση. Τα αποτελέσματα εκφράζονταν σε αριθμό μικροαγγείων /0,0625mm<sup>2</sup> (368).

## **2.6. Ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις**

Χρώσεις για παρουσία χυμάσης έγιναν με τη μέθοδο PAP με πρωτογενές αντίσωμα mouse antihuman monoclonal (MA5-11717,CC1), (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) και PAP kit της εταιρείας DAKO (Agilent, Waldbronn, Germany). Για την ανίχνευση τρυπτάσης χρησιμοποιήθηκε mouse antihuman mast cell tryptase monoclonal antibody της εταιρείας ABCAM (Discovery Drive, Cambridge Biomedical Campus Cambridge, CD2 OAX, UK) και PAP kit της εταιρείας DAKO, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Κάθε θετικό κύτταρο βαθμολογείτο σε μία κλίμακα από 1+ έως 4+ και σαν τελικό score λαμβανόταν ο μέσος όρος των scores των 200 κυττάρων.

## **2.7. Προσδιορισμός επιπέδων χυμάσης και τρυπτάσης στο αίμα των ασθενών**

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA και εμπορικά διαθέσιμα kits της εταιρείας INVITROGEN (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Η μέθοδος για την τρυπτάση έχει ευαισθησία 0.1 ng/ml, εύρος αξιοπιστίας 0.5-16 ng/ml, intra-assay/inter-assay CV < 15% και δεν έχουν αναφερθεί διασταυρούμενες αντιδράσεις. Η μέθοδος για την χυμάση έχει ευαισθησία 0.04ng/ml, εύρος αξιοπιστίας 0.078-5 ng/ml και intra-assay/interassay CV <5%.

## **2.8. Στατιστική ανάλυση**

Για τη στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το t-test για την σύγκριση παραμετρικών τιμών και το Wilcoxon' s test (Bonferoni's correction) για τα μη



παραμετρικά χαρακτηριστικά. Για την εκτίμηση της συσχέτισης χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης  $R^2$ .

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1. *CD34(+)* κύτταρα στον μυελό των οστών

Μετρήθηκε ο αριθμός των CD34(+) κυττάρων στον μυελό των οστών στους ασθενείς και στους μάρτυρες με κυτταρομετρία ροής. Στους υγιείς μάρτυρες το ποσοστό των CD34(+) κυττάρων ήταν  $1,08 \pm 0,87\%$ . Στο σύνολο των πασχόντων από μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα το αντίστοιχο ποσοστό ήταν  $5,43 \pm 3,83\%$ . Αναλυτικότερα, στις διάφορες υποκατηγορίες MDS το αντίστοιχο ποσοστό για τα MDS-RA ήταν  $2,52 \pm 1,20\%$ , για τα MDS-RARS ήταν  $1,37 \pm 0,5\%$  και για το σύνολο των υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου ήταν  $8,94 \pm 2,01\%$ . Για το σύνολο των χαμηλού /ενδιάμεσου-1 κινδύνου το ποσοστό ήταν  $2,027 \pm 1,117\%$ .

Υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του ποσοστού CD34(+) στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS και αυτού των χαμηλού κινδύνου/ενδιάμεσου-1 ( $p < 0,01$ ) και των φυσιολογικών μαρτύρων, όπως και μεταξύ των χαμηλού κινδύνου/ενδιάμεσου-1 MDS και των φυσιολογικών μαρτύρων ( $p < 0,01$ ) και μεταξύ των MDS-RA και των φυσιολογικών μαρτύρων ( $p < 0,01$ ). Δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ MDS-RARS και φυσιολογικών μαρτύρων ( $p > 0,1$ ), (Πίνακας 5, Εικόνα 2).

#### 3.2. Ποσοστό σιτευτικών κυττάρων στον μυελό των οστών

Για τη μέτρηση του ποσοστού μαστοκυττάρων στον μυελό των οστών χρησιμοποιήθηκε η χρώση κυανού της τολουϊδίνης και χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος από την καταμέτρηση των τολουϊδίνη (+) κυττάρων σε 3 πλακίδια επιστρώσεων επί 1000 εμπύρηνων κυττάρων ανά πλακίδιο.

Στους υγιείς μάρτυρες το ποσοστό των μαστοκυττάρων βρέθηκε  $1,82 \pm 0,93\%$ . Στο σύνολο των πασχόντων από MDS το ποσοστό αυτό ήταν  $5,767 \pm 3,45\%$ . Το αντίστοιχο ποσοστό για τα MDS-RA ήταν  $4,38 \pm 1,16\%$ , για τα MDS-RARS ήταν

2,18±0,75%, για το σύνολο των Low/Int1 grade 3,43±1,48 και για το σύνολο των υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου 8,16±3,26 .

Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό των μαστοκυττάρων μεταξύ των υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS και των υγιών ( $p<0.01$ ) καθώς και των χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου MDS ( $p<0.01$ ). Επίσης διαπιστώθηκε μεταξύ των MDS-RA και των υγιών ( $p<0,01$ ) καθώς και MDS-RA και MDS-RARS ( $p<0,01$ ) όπως και μεταξύ MDS-RA και υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου ( $p<0,01$ ). Στο σύνολο των πασχόντων από MDS το ποσοστό μαστοκυττάρων ήταν υψηλότερο από αυτό των υγιών ( $p<0.01$ ), (Πίνακας 5).

### **3.3. Προσδιορισμός της μέσης πυκνότητας μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών**

Στο σύνολο των MDS η μέση πυκνότητα των μικροαγγείων MVD ήταν σημαντικά υψηλή 6,3±3,3 από τους φυσιολογικούς μάρτυρες 2,23±0,23 και αυτό είναι στατιστικά σημαντικό ( $p<0,001$ ). Στα υψηλού /ενδιάμεσου-2 κινδύνου η μέση πυκνότητα των μικροαγγείων MVD ήταν 7,89±2,83 συγκριτικά μεγαλύτερη με τα χαμηλού/ενδιάμεσου κινδύνου-1 4,8±2,2 (Πίνακας 5), τα MDS - RA 4,98±1,8, τα MDS-RARS 5,0 ±2,2 και αυτό ήταν στατιστικά σημαντικό ( $p<0,001$ ). Υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ των BMMCs και της MVD (Εικόνα 3).

### **3.4. Ανοσοκυτταροχημική ανίχνευση τρυπτάσης στον μυελό των οστών**

Στο σύνολο των MDS το score θετικότητας για την τρυπτάση στα μαστοκύτταρα ήταν 2,328±1,45, ενώ στους φυσιολογικούς μάρτυρες 0,8±0,82. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική ( $p<0,01$ ).

Στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS το score θετικότητας ήταν 3,694±0,467 και η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική σε σχέση με τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ( $p<0,01$ ) και τους φυσιολογικούς μάρτυρες ( $p<0,01$ ).

Στα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου το score θετικότητας ήταν 1±0,57 και διέφερε στατιστικά από τα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου ( $p<0,01$ ) και όχι από τους φυσιολογικούς ( $p>0,1$ ). Ειδικότερα στα MDS-RARS το score ήταν 0,75±0,447 και δεν διάφερε από τους φυσιολογικούς ( $p=0.1$  και MDS-RA το score ήταν 1,19±0,60 και ήταν υψηλότερο από τους φυσιολογικούς χωρίς

στατιστική διαφορά ( $p < 0,1$ ) αλλά στατιστικά χαμηλότερο από τα υψηλού/ενδιάμεσου-2 ( $p < 0,01$ ) και χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ( $p < 0,01$ ) και από τα MDS-RA ( $p < 0,01$ ), (Πίνακας 5).

### **3.5. Ανοσοκυτταροχημική ανίχνευση χυμάσης στον μυελό των οστών**

Στο σύνολο των MDS το score θετικότητας για την χυμάση στα σιτευτικά κύτταρα του μυελού των οστών ήταν  $0,78 \pm 0,71$ , ενώ στους φυσιολογικούς μάρτυρες  $0,9 \pm 0,3$ .

Στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS το score θετικότητας ήταν  $0,804 \pm 0,749$  και η διαφορά σε σχέση με τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ( $p > 0,5$ ) και τους φυσιολογικούς μάρτυρες ( $p > 0,5$ ) δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Στα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ήταν  $0,75 \pm 0,68$ , στα MDS-RA ήταν  $0,66 \pm 0,58$  και στα MDS-RARS ήταν  $0,875 \pm 0,718$ . Οι διαφορές αυτές σε σχέση με τους φυσιολογικούς και υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ( $p > 0,5$  σε όλα), (Πίνακας 5).

### **3.6. Προσδιορισμός επιπέδων τρυπτάσης ορού**

Τα επίπεδα της τρυπτάσης του ορού (σε ng/ml), όπως προσδιορίστηκαν με την μέθοδο ELISA, στα φυσιολογικά άτομα ήταν  $7,8 \pm 3,21$ , ενώ στο σύνολο των MDS ήταν  $40,96 \pm 35,4$ , στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου ήταν  $73,31 \pm 20,87$ , στα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου ήταν  $9,48 \pm 4,217$ , στα MDS-RA  $10,75 \pm 4,83$  και στα MDS-RARS  $7,806 \pm 2,503$ .

Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του συνόλου των MDS και των φυσιολογικών ατόμων ( $p < 0,01$ ). Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των MDS υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου και των MDS χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου και φυσιολογικών ατόμων ( $p < 0,01$ ). Δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου MDS και των φυσιολογικών ατόμων ( $p > 0,1$ ), (Πίνακας 5).

### **3.7. Προσδιορισμός επιπέδων χυμάσης ορού**

Τα επίπεδα χυμάσης ορού δεν ήταν ανιχνεύσιμα σε καμία κατηγορία ασθενών και υγιών μαρτύρων (pg/ml), (Πίνακας 5).

### **3.8. Συσχέτιση επιπέδων τρυπτάσης και χυμάσης με ποσοστό σιτευτικών κυττάρων και CD34(+) κυττάρων**

Έγινε συσχέτιση του ποσοστού των CD34(+) κυττάρων και των σιτευτικών κυττάρων του μυελού των οστών χρησιμοποιώντας τον συντελεστή συσχέτισης ( $R^2$ ).

Διαπιστώθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των CD34(+) κυττάρων και του ποσοστού των σιτευτικών κυττάρων στον μυελό των οστών των πασχόντων ( $R^2=0,4361$ ), (Εικόνα 1).

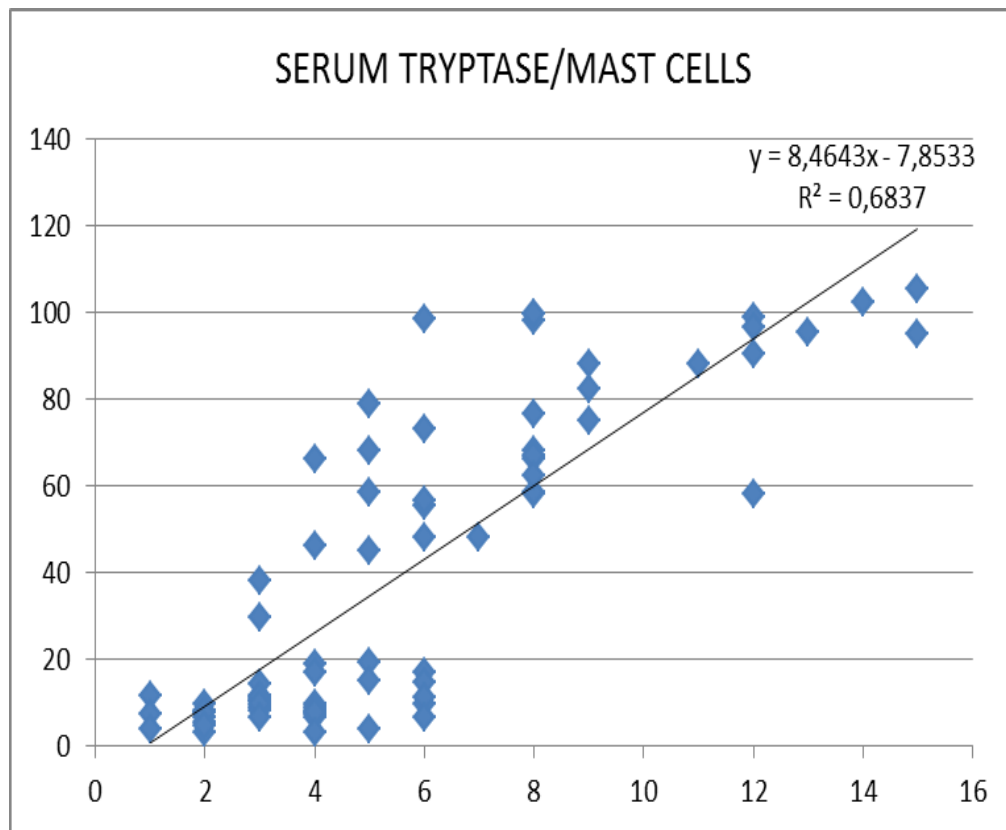
Με τον ίδιο τρόπο έγινε συσχέτιση του ποσοστού των σιτευτικών κυττάρων στον μυελό των οστών των πασχόντων και των επιπέδων τρυπτάσης.

Διαπιστώθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των σιτευτικών κυττάρων του μυελού των οστών των πασχόντων και των επιπέδων τρυπτάσης ορού ( $R^2=0,6837$ ), (Εικόνα 1).

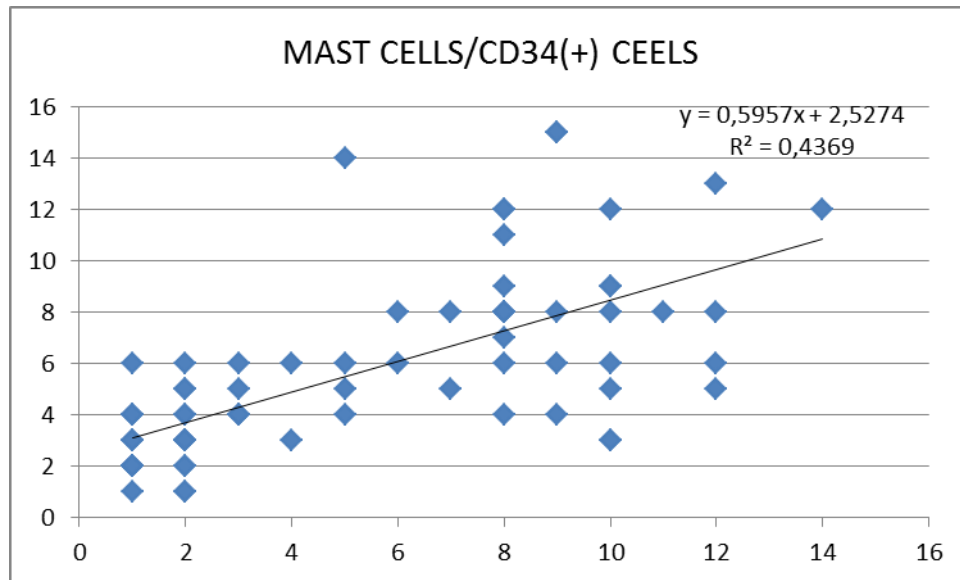
### **3.9. Συσχέτιση του ποσοστού των σιτευτικών κυττάρων με τον αριθμό των μικροαγγείων στο μυελό των οστών**

Έγινε συσχέτιση του ποσοστού των μικροαγγείων (MVD) και των σιτευτικών κυττάρων στο μυελό των οστών χρησιμοποιώντας τον συντελεστή συσχέτισης ( $R^2$ ).

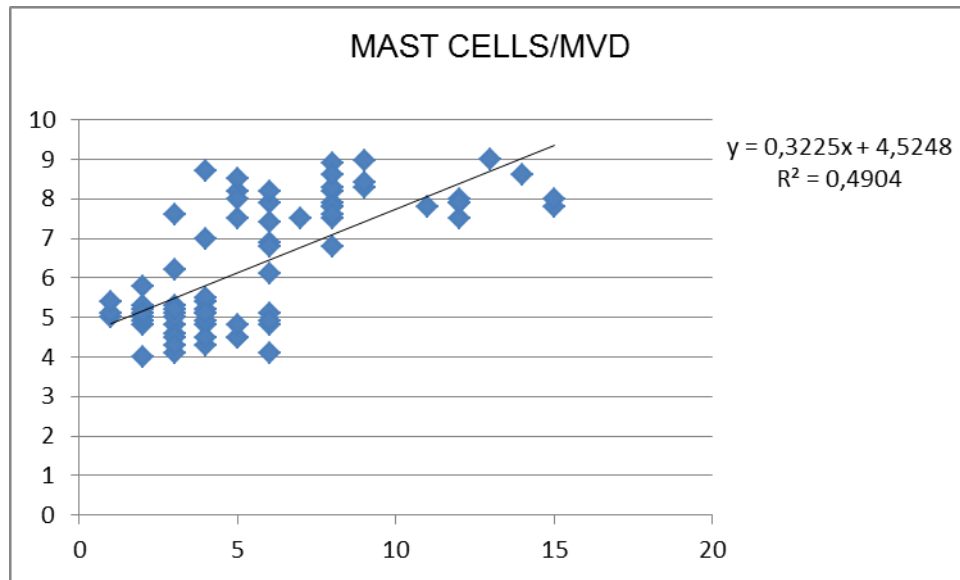
Διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού των σιτευτικών κυττάρων και του αριθμού των μικροαγγείων (MVD) στο μυελό των οστών ( $R^2=0,4904$ ), (Εικόνα 3).



**Εικόνα 1.** Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων στον μυελό των οστών με τα επίπεδα τρυπτάσης περιφερικού αίματος πασχόντων από MDS. Στον άξονα x απεικονίζεται το ποσοστό μαστοκυττάρων μυελού οστών των πασχόντων από MDS. Στον άξονα ψ απεικονίζονται τα επίπεδα της τρυπτάσης ορού σε ng/ml στους ίδιους ασθενείς. Παρατηρείται ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των δυο παραμέτρων ( $R^2=0,6837$ ).



**Εικόνα 2.** Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων μυελού οστών και του ποσοστού CD34(+) κυττάρων του μυελού των οστών πασχόντων από MDS. Στον άξονα x είναι το ποσοστό των CD34(+) κυττάρων και στον άξονα ψ το ποσοστό των μαστοκυττάρων του μυελού των οστών. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των δύο παραμέτρων ( $R^2=0,4369$ ).



**Εικόνα 3.** Καμπύλη συσχέτισης του ποσοστού μαστοκυττάρων μυελού οστών και του ποσοστού μικροαγγείων - πυκνότητας μικροαγγείων MVD του μυελού των οστών πασχόντων από MDS. Στον άξονα x είναι το ποσοστό των μαστοκυττάρων και στον άξονα ψ το ποσοστό των μικροαγγείων του μυελού των οστών. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των δύο παραμέτρων ( $R^2=0,4904$ ).

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρουσία σιτευτικών κυττάρων στα νεοπλασματικά νοσήματα συνήθως σχετίζεται με δυσμενή πορεία της νόσου (369,370,371,372). Δεν είναι γνωστός ο μηχανισμός με τον οποίο συμμετέχουν τα σιτευτικά κύτταρα στην πορεία των νοσημάτων αυτών ή αν απλώς συσσωρεύονται αντιδραστικά κατά την πορεία της νόσου (365,366,367,368).

Στην δική μας μελέτη βρέθηκε αυξημένη παρουσία σιτευτικών κυττάρων στα MDS υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου σε σχέση με τα χαμηλού/ενδιάμεσου-1 κινδύνου και τους φυσιολογικούς μάρτυρες. Επίσης τα σιτευτικά κύτταρα, αυτά βρέθηκε να παράγουν τρυπτάση ενώ η χυμάση ήταν μη ανιχνεύσιμη (374,378,379,380,381).

Η τρυπτάση ανιχνεύτηκε με κυτταροχημεία στο κυτταρόπλασμα των σιτευτικών κυττάρων αλλά και στον ορό των ασθενών, πράγμα που σημαίνει ότι εκκρίνονταν από τα σιτευτικά κύτταρα του μυελού. Αντίθετα η χυμάση ήταν μη ανιχνεύσιμη στον ορό των ασθενών, που σημαίνει ότι παράγεται καθ' υπερβολή τρυπτάση (378,379).

Δεν είχαμε αρκετό αριθμό MDS ώστε να ερευνήσουμε πιθανή συσχέτιση του ποσοστού σιτευτικών κυττάρων στον μυελό των οστών με τον βαθμό της ίνωσης στο μυελό δεδομένου ότι από πολλές μελέτες προκύπτει ότι τα σιτευτικά κύτταρα ενοχοποιούνται σε πολλές καταστάσεις με ίνωση (π.χ. κίρρωση, πνευμονική ίνωση, διάμεση νεφρική ίνωση, σκληρόδερμα κλπ.), (373). Επίσης δεν εκτελέσαμε καλλιέργειες σιτευτικών κυττάρων μυελού, που πιθανόν να βοηθούσαν στην διευκρίνιση του ρόλου τους. Δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα ώστε να διευκρινιστεί ο μηχανισμός, με τον οποίο τα σιτευτικά κύτταρα εκδηλώνουν την ινοβλαστική δράση τους (171,279,368,373,377).

Έχει περιγραφεί ότι στα μυελούπερπλαστικά σύνδρομα υπάρχει αυξημένη παρουσία σιτευτικών κυττάρων στον μυελό των οστών και τα σιτευτικά κύτταρα αυτά χαρακτηρίζονται από δυσπλαστικά χαρακτηριστικά (επιμηκυσμένο σχήμα,



ανώμαλη κατανομή των βασεόφιλων κοκκίων) και έχει προταθεί η συμμετοχή αυτών στον νεοπλασματικό κλώνο. Σε προηγούμενες μελέτες δεν έχουν παρατηρηθεί ανώμαλα χαρακτηριστικά των σιτευτικών κυττάρων στα MDS (374,378,380).

Ο αριθμός των μικροαγγείων (MVD) /  $0,0625\text{mm}^2$  στο σύνολο των MDS ήταν αυξημένος συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα και η αύξηση αυτή ήταν μεγαλύτερη στα υψηλού/ενδιάμεσου-2 κινδύνου MDS, γεγονός, που σημαίνει η MVD σχετίζεται με τον αριθμό των BMMCs. Αυτό εγείρει την άποψη ότι τα BMMCs συμβάλλουν στην εξέλιξη της νόσου ενισχύοντας την αγγειογένεση (286,365,366,368,369,370,375,376,379,382,383,384).

Στην δική μας μελέτη η μορφολογία των σιτευτικών κυττάρων ήταν φυσιολογική την στιγμή της μελέτης. Δεν μπορεί βέβαια με αυτό και μόνο να αποκλειστεί η συμμετοχή τους στον νεοπλασματικό κλώνο, πράγμα το οποίο χρειάζεται παρακολούθηση της εξέλιξης κάθε περιστατικού στην πορεία του χρόνου, κυτταρικές καλλιέργειες και κυτταρογενετικές μελέτες. Πιθανότατα η πλειοψηφία των σιτευτικών κυττάρων συσσωρεύεται αντιδραστικά στον μυελό των οστών αλλά δεν είναι γνωστό αν με τις κυτταροκίνες, που εκκρίνουν βοηθούν στην πρόοδο της νόσου (374,380,381).

Παρόλο που σε προηγούμενη μελέτη (374) δεν βρέθηκε συσχέτιση του τύπου του MDS με τον αριθμό των σιτευτικών κυττάρων, στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκε μεγαλύτερο ποσοστό σιτευτικών κυττάρων στα υψηλότερου κινδύνου MDS. Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι τα κύτταρα αυτά ίσως συμμετέχουν στην εξέλιξη της νόσου με άγνωστο μηχανισμό (379,380).

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αυξημένα BMMCs στα MDS σε σύγκριση με τους υγιείς. Τα υψηλού κινδύνου MDS είχαν στατιστικά υψηλότερο αριθμό BMMCs. Τα σιτευτικά κύτταρα εκκρίνουν κατά προτεραιότητα τρυπτάση, το οποίο σημαίνει ότι παράγεται από τα κύτταρα του μυελού. Τα σιτευτικά κύτταρα στη μελέτη είχαν φυσιολογική μορφολογία. Ο αριθμός των BMMCs σχετίζεται με τον αριθμό των CD34+ κυττάρων του BM. Ο αριθμός BMMCs, CD34+, tryptase score, serum tryptase σχετιζόταν θετικά με τον βαθμό κινδύνου των MDS. Τα σιτευτικά κύτταρα φαίνεται να σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου στα MDS πιθανόν λόγω των αγγειογενετικών παραγόντων που εκκρίνουν.

Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε αύξηση των BMMCs και του αριθμού των μικροαγγείων (MVD) στα MDS και ήταν υψηλότερα στα προχωρημένα στάδια της νόσου. Για να διευκρινιστεί εάν συμβάλλουν στην εξέλιξη της νόσου, απαιτείται περαιτέρω έρευνα με κυτταροκαλλιέργειες και κυτταρογενετικές μελέτες κατά τη διαδρομή του νοσήματος.

### ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Χαρακτηριστικά Μελετηθέντων Ασθενών

ΑΑ	ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΣ	ΔΙΑΓΝΩΣΗ FAB	ΦΥΛΟ	IPSS	ΗΛΗΚΙΑ
84		RA	F	ntl1 low/i	81
87	46XX	RA	F	ntl1 low/i	79
88		RA	F	ntl1 low/i	72
94	46XX	RA	F	ntl1 low/i	76
101	46XX	RA	F	ntl1 low/i	66
102	46XX	RA	F	ntl1 low/i	78
118		RA	F	ntl1 low/i	85
122	46XX/45XX,-7	RA	F	ntl1 low/i	82
134	46XX	RA	F	ntl1 low/i	68
135		RA	F	ntl1 low/i	78
138	46XX	RA	F	ntl1 low/i	79
79		RA	M	ntl1 low/i	78
82	46XY	RA	M	ntl1 low/i	57
83	45X,-Y	RA	M	ntl1 low/i	76
86		RA	M	ntl1 low/i	59

95	46XY,-5q	RA	M	ntl1	low/i	66
104	46XY/45XY,-20	RA	M	ntl1	low/i	59
119		RA	M	ntl1	low/i	85
129	46XY	RA	M	ntl1	low/i	86
121	46XY	RA	M	ntl1	low/i	65
125	46XY	RA	M	ntl1	low/i	73
15	46XXdel(5)(q13q35	RAEB	F	ntl2	high/i	72
23	46XX/45XX,-7	RAEB	F	ntl2	high/i	71
29	46XX	RAEB	F	ntl2	high/i	69
30	46XX	RAEB	F	ntl2	high/i	75
50	46XX/45XX,-7	RAEB	F	ntl2	high/i	79
51	46XX	RAEB	F	ntl2	high/i	69
53		RAEB	F	ntl2	high/i	66
58		RAEB	F	ntl2	high/i	72
63	46XX	RAEB	F	ntl2	high/i	78
73	46XX	RAEB	F	ntl2	high/i	58
10	46XY	RAEB	M	ntl2	high/i	62
16		RAEB	M	ntl2	high/i	35
18	46XY	RAEB	M	ntl2	high/i	65
31	46XY/47XY,+8	RAEB	M	ntl2	high/i	72
39	46XY	RAEB	M	ntl2	high/i	49
44	46XY,-7,+8	RAEB	M	ntl2	high/i	69
52	46XY,-1,+8	RAEB	M	ntl2	high/i	62

2	46XY		RAEB	M	ntl2	high/i	75
12	46xXX/47XX+mar	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	78
19	46XX/49XY,+8,+13,+19	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	62
26	46XX	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	59
54	47XX,+8	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	80
56	46XX,DEL(20)(q11)	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	79
60	46XX	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	68
62		T	RAEB-	F	ntl2	high/i	79
71	47XX+8,+1	T	RAEB-	F	ntl2	high/i	69
6	46X,- Y+8/46XY(75%)/(25%)	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	65
34	44XY,-7,-11	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	75
35	46XY	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	66
37	45XY,-20	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	58
41	46XY	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	55
69	46XY/43XY,-5,-20,-13	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	77
74		T	RAEB-	M	ntl2	high/i	59
75	46XY,Del11p	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	68
77	46XY/48XY,+8,+11	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	68
78	46XY	T	RAEB-	M	ntl2	high/i	66
90			RARS	F	ntl1	low/i	88
93	46XX		RARS	F	ntl1	low/i	68
111	46XX		RARS	F	ntl1	low/i	73
112	46XX		RARS	F	ntl1	low/i	81

115	45XX,-20	RARS	F	ntl1	low/i	69
126	46XX/47XX,+8	RARS	F	ntl1	low/i	69
140	46XX	RARS	F	ntl1	low/i	68
142	46XX	RARS	F	ntl1	low/i	65
91	46XY	RARS	M	ntl1	low/i	71
97		RARS	M	ntl1	low/i	75
98	46XY	RARS	M	ntl1	low/i	70
114	46XY	RARS	M	ntl1	low/i	63
116		RARS	M	ntl1	low/i	66
117	46XY	RARS	M	ntl1	low/i	86
108	46XY	RARS	M	ntl1	low/i	77
110		RARS	M	ntl1	low/i	77

## ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Αναλυτικά Αποτελέσματα ανά Ασθενή

	diagn	gen der	risk	age	Mast cells%	Tryptase cyto	Chymase cyto	serum tryptase mg/dl	CD34+%
79	RA	M	low/intl1	78	2	1	0	5,4	2
82	RA	M	low/intl1	57	4	1	1	19	1
83	RA	M	low/intl1	76	5	2	1	19,2	2
84	RA	F	low/intl1	81	4	1	1	16,8	3
86	RA	M	low/intl1	59	3	0	0	14,3	2
87	RA	F	low/intl1	79	4	2	0	9,8	3
88	RA	F	low/intl1	72	5	1	1	3,7	2
94	RA	F	low/intl1	76	6	1	2	16,9	4
95	RA	M	low/intl1	66	4	2	2	8,9	5
101	RA	F	low/intl1	66	3	0	0	11,5	4
102	RA	F	low/intl1	78	3	1	1	10,5	2
104	RA	M	low/intl1	59	6	2	0	14,6	3
118	RA	F	low/intl1	85	6	1	1	9,5	5
119	RA	M	low/intl1	85	4	1	0	7,5	2
121	RA	M	low/intl1	65	4	1	0	8	3
122	RA	F	low/intl1	82	6	1	0	11,3	1
125	RA	M	low/intl1	73	4	2	0	6,5	1
129	RA	M	low/intl1	86	4	1	1	7,8	1
134	RA	F	low/intl1	68	6	2	1	6,4	2
135	RA	F	low/intl1	78	4	1	1	3,2	2
138	RA	F	low/intl1	79	5	1	1	15,2	3
2	RAEB	M	high/intl2	75	6	3	0	55,5	8
10	RAEB	M	high/intl2	62	5	4	1	68,2	10
15	RAEB	F	high/intl2	72	6	4	1	56,5	12

16	RAEB	M	high/intl2	35	6	3	2	48,2	10
18	RAEB	M	high/intl2	65	4	3	1	66,1	8
23	RAEB	F	high/intl2	71	8	3	2	98	8
29	RAEB	F	high/intl2	69	5	4	1	58,5	5
30	RAEB	F	high/intl2	75	6	4	0	73	6
31	RAEB	M	high/intl2	72	8	4	0	99,5	8
39	RAEB	M	high/intl2	49	4	4	1	46,2	9
44	RAEB	M	high/intl2	69	8	4	0	58	7
50	RAEB	F	high/intl2	79	8	4	1	99,8	8
51	RAEB	F	high/intl2	69	8	3	1	66	8
52	RAEB	M	high/intl2	62	5	3	2	79	7
53	RAEB	F	high/intl2	66	6	3	2	98,5	9
58	RAEB	F	high/intl2	72	3	4	1	38	10
63	RAEB	F	high/intl2	78	5	4	1	45,2	12
73	RAEB	F	high/intl2	58	3	4	0	29,8	10
6	RAEB-T	M	high/intl2	65	12	4	0	90,2	8
12	RAEB-T	F	high/intl2	78	13	4	0	95,2	12
19	RAEB-T	F	high/intl2	62	14	4	0	102,5	5
26	RAEB-T	F	high/intl2	59	8	3	0	76,5	6
34	RAEB-T	M	high/intl2	75	11	3	1	88	8
35	RAEB-T	M	high/intl2	66	7	4	1	48	8
37	RAEB-T	M	high/intl2	58	8	4	2	68	10
41	RAEB-T	M	high/intl2	55	8	4	2	67	11
54	RAEB-T	F	high/intl2	80	8	4	1	58,6	12
56	RAEB-T	F	high/intl2	79	9	4	2	82,3	10
60	RAEB-T	F	high/intl2	68	12	4	0	99	14
62	RAEB-T	F	high/intl2	79	9	4	0	75	10
69	RAEB-T	M	high/intl2	77	15	3	1	105,2	9
71	RAEB-T	F	high/intl2	69	15	3	1	95	9
74	RAEB-T	M	high/intl2	59	12	4	0	96,5	10
75	RAEB-T	M	high/intl2	68	9	4	0	88	8
77	RAEB-T	M	high/intl2	68	12	4	1	58	8
78	RAEB-T	M	high/intl2	66	8	4	0	62,3	9
90	RARS	F	low/intl1	88	3	1	1	8,9	1
91	RARS	M	low/intl1	71	1	0	0	11,5	1
93	RARS	F	low/intl1	68	3	1	0	10,5	2



97	RARS	M	low/intl1	75	2	1	0	9,5	1
98	RARS	M	low/intl1	70	1	0	1	7,5	2
108	RARS	M	low/intl1	77	2	0	1	8	1
110	RARS	M	low/intl1	77	3	1	1	8	2
111	RARS	F	low/intl1	73	3	1	1	11,3	2
112	RARS	F	low/intl1	81	2	0	1	6,5	1
114	RARS	M	low/intl1	63	2	1	0	7,8	1
115	RARS	F	low/intl1	69	3	1	2	9,8	1
116	RARS	M	low/intl1	66	1	1	2	3,7	2
117	RARS	M	low/intl1	86	2	1	2	7,8	2
126	RARS	F	low/intl1	69	3	1	1	6,4	1
140	RARS	F	low/intl1	68	2	1	0	3,2	1
142	RARS	F	low/intl1	65	2	1	1	4,5	1

## ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Αποτελέσματα Μελετημένων Παραμέτρων

ΑΣΘΕΝΕΙΣ	CD34+ cells(%)	BMMCs (%)	MVD Microvessels/ 0.0625mm <sup>2</sup>	Tryptase score	Chymase score	Serum tryptase (ng/ml)
MDS	5.3±3.83	5.767±3.45	6.3±3.3	2.328±1.45	0.78±0.71	40.26±35.4
MDS-RA	2.52±1.2	4.38±1.16	4.98±1.8	1.19±0.60	0.66±0.58	10.75±4.83
MDS-RARS	1.37±0.5	2.18±0.75	5±2.0	0.75±0.447	0.875±0.718	7.806±2.503
MDS low/int-1	2.027±1.117	3.43±1.48	4.8±2.2	1.0±0.57	0.75±0.68	9.48±4.217
MDS high/int2	8.94±2.01	8.16±3.26	7.89±2.8	3.694±0.467	0.804±0.749	73.31±20.87
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1.08±0.87	1.82±0.93	2.23±0.38	0.8±0.82	0.9±0.447	7.8±3.21

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] **Kurzrock R:** Myelodysplastic Syndrome Overview. *Sem Hematol* 2002; 39: 18-25. DOI: 10.1053/shem.2002.35981
- [2] **Valent P, Horny HP:** Minimal Diagnostic Criteria for Myelodysplastic Syndromes and Separation from ICUS and IDUS: Update and Open Questions. *Eur J Clin Invest* 2009; 39:548-53. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2009.02151.x
- [3] **Silverman LR:** Myelodysplastic syndrome. Hamilton, Canada: Decker; 2000.
- [4] **Wintrobe MM:** Blood, Pure and Eloquent; A Story of Discovering of People and Ideas. New York; McGraw-Hill; 1980.
- [5] **Greenberg PL.** The smoldering myeloid leukemic states: clinical and biologic features. *Blood* 1983; 61:1035-1044. PMID: 6340754
- [6] **Koeffler HP, Golde DW.** Kuman preleukemia . *Ann Intern Med* 1980;93:347-353 PIMD: 6931507, DOI: 10.7326/003-4819-93-2-347.
- [7] **Noel P, Solberg LA:** Myelodysplastic Syndromes. Pathogenesis, diagnosis and treatment. *Crit Rev Oncol Hemato* 1992;12:193-215. PMID:1379818, DOI: 10.1016/1040-8428(92)90054-t.
- [8] **Doll DC, List AF.** Myelodysplastic Syndromes. *West.J Med*1989, 151:161-167. PMID: 2672599 PMID: 1026906.
- [9] **Onida F, Brand R, van Biezen A, Schaap M, von dem Borne PA, Maertens J, DW Beelen, Carreras E, Alessandrino EP, Volin L, Kuball JHE, Figuera A, Sierra J, Finke J, Kroger N, de Witte T,** for the MDS subcommittee of the EBMT-CMWP: Impact of the International Prognostic Scoring System

Cytogenetic Risk Groups on the Outcome of Patients with Primary Myelodysplastic Syndromes Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation from Human Leukocyte Antigen-Identical Siblings: A Retrospective Analysis of the European Society for Blood and Marrow Transplantation-Chronic Malignancies Working Party. *Haematologica* 2014; 99(10): 1582-1590. DOI: 10.3324/haematol.2014.106880

- [10] **Garcia-Manero G, Chien KS, Montalban-Bravo G:** Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol* 2020; 95(11): 1399-1420. DOI: 10.1002/ajh.25950
  
- [11] **Steensma DP:** Historical perspectives on myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2012 Dec;36(12):1441-52. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.08.007
  
- [12] **Zhou J, Orazi A, Czader MB:** Myelodysplastic syndromes. *Semin Diagn Pathol.* 2011 Nov; 28(4): 258-72. DOI: 10.1053/j.semdp.2011.08.005
  
- [13] **Levine EG, Bloomfield CD:** Secondary Myelodysplastic syndromes and leukemias. *Clin Haematol* 1986; 15(4):1037-80
  
- [14] **Starr D: Ethics.** Revisiting a 1930s Scandal. AACR to Rename a Prize. *Science* 2003; 300:573-4. DOI: 10.1126/science.300.5619.573
  
- [15] **Rosenthal ET:** Rhoads Not Given; The Tainting of Cornelius P Rhoads Memorial Award. *Oncol Times* 2003; 25:19-20.
  
- [16] **Rhoads CP, Barker WH:** Refractory Anemia: Analysis of 100 Cases. *JAMA* 1938; 110:794-96.
  
- [17] **Hamilton-Paterson JL:** Preleukemic Anemia. *Acta Hematol (Basel)* 1949; 2:309-16. DOI: 10.1159/000203474
  
- [18] **Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al:** Proposals for the Classification of Myelodysplastic Syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51:189-99. PMID: 6952920

- [19] **Gangat N, Patnaik MM, Tefferi A:** Myelodysplastic syndromes: Contemporary review and how to treat. *Am J Hematol* 2016; 91(1):76-89. DOI: 10.1002/ajh.24253
- [20] **Bejar R, Steensma DP.:** Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2014 Oct 30;124(18):2793-803. DOI: 10.1182/blood-2014-04-522136
- [21] **Bryan J, Jabbour E, Prescott H, Garcia-Manero G, Issa JP, Kantarjian H.:** Current and future management options for myelodysplastic syndromes. *Drugs*. 2010 Jul 30;70(11):1381-94. DOI: 10.2165/11537920-000000000-00000
- [22] **Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al:** WHO Classification of Tumors of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. 3d Ed Lyon International Agency For Research in Cancer (IARC) Press; 2001.
- [23] **Onida F, Brand R, van Biezen A, Schaap M, von dem Borne PA, Maertens J, DW Beelen, Carreras E, Alessandrino EP, Volin L, Kuball JHE, Figuera A, Sierra J, Finke J, Kroger N, de Witte T,** for the MDS subcommittee of the EBMT-CMWP: Impact of the International Prognostic Scoring System Cytogenetic Risk Groups on the Outcome of Patients with Primary Myelodysplastic Syndromes Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation from Human Leukocyte Antigen-Identical Siblings: A Retrospective Analysis of the European Society for Blood and Marrow Transplantation-Chronic Malignancies Working Party. *Haematologica* 2014; 99(10): 1582-1590. DOI: 10.3324/haematol.2014.106880
- [24] **Chevallier P.** Sur la Terminologie des Leucoses et les Affections-Frontieres : le Odoleucoses. *Sangre (Barc)* 1942-1943; 15: 587-93.
- [25] **Gunz FW, Hough RF:** Acute Leukemia Over the Age of Fifty: A Study of Its Incidence and Natural History. *Blood* 1956; 11: 882-901. PMID: 13363998
- [26] **Bjorkman SE:** Chronic Refractory Anemia with Sideroblastic Bone Marrow: A Study of four Cases. *Blood* 1956; 11:250-259. PMID: 13293201
- [27] **Cartwright GE, Deis A:** Sideroblasts, siderocytes and sideroblastic anemia. *Med* 1975; 292: 185-93. DOI: 10.1056/NEJM197501232920405

- [28] **Dameshek W:** Forword and a Proposal for Considering Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) as a Candidate Myeloproliferative Disorder. *Blood* 1969; 33:263-4. PMID: 5767060
- [29] **Dameshek W:** Some speulations on myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951; 6:372-5. DOI: 10.1182/blood-2015-12-686402
- [30] **Gilbert HS.:** A Reappraisal of the “Myeloproliferative Disease” Concept. *Mt Sinai J Med* 1970; 37: 426. PMID: 5311165
- [31] **Hoffbrand VA, Catovsky D, Tuddenham EGD:** The Myelodysplastic Syndromes. *Postgraduate Haematology 5th Ed* 2005; pp: 662-680. Blackwell Publishing Ltd 9600 Garsington Rd, Oxford OX4 2DQ,UK
- [32] **Bellos F, Kery W:** Flow cytometry in the diagnosis of myelodysplastic syndromes and the value of myeloid nuclear differentiation antigen. *Cytometry B Clin Cytom* 2017 May; 92(3):200-206. DOI: 10.1002/cyto.b.21190
- [33] **Anna Aalbers et al:** Bone marrow immunophenotyping by flow cytometry in refractory cytopenia of childhood. *Haematologica* 2015(Mar); 100(3): 315-323. DOI: 10.3324/haematol.2014.107706
- [34] **Ru Y, dong S, et al:** Activation of monocyte derived cells in the bone marrow of myelodysplastic syndromes. *Ultrastruct Pathol* 2014; 38(4):856-60. DOI: 10.3109/01913123.2014.888116
- [35] **Bennet JM, Catovsky D, Danil MT et al:** Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51: 189-99. PMID: 6952920
- [36] **Bennett JM, Catovsky D, Daniell MT, et al:** Proposals for the classificatrion of accute leukemias. French-American-British Cooperative Group. *Br J Haematol* 1976; 33:451-8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x
- [37] **Jaffe ES, Harrison NL, Stein H et al:** WHO Classification of tumors of Haematopoietic origin and lymphoid tissues. 3d Ed Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC) Press: 2001

- [38] **Greenberg P, Anderson J, deWitte T, et al:** Problematic WHO Classification of Myelodysplastic Syndromes. Members of the International MDS Study Group. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3447-52. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.19.3447
- [39] **Nosslinger T, Reisner R, Koller E, et al:** Myelodysplastic Syndromes from French-American-British to World Health organization: Comparison of Classifications on 431 unselected patients from a single Institution. *Blood* 2001; 98:2935-41. DOI: 10.1182/blood.v98.10.2935
- [40] **Vardiman JW, Harris NL, Bruning RD:** The WHO Classification of the Myeloid Neoplasms. *Blood* 2002; 100:2292-302. DOI: 10.1182/blood-2002-04-1199
- [41] **Hasle H, Niemeyer CM, Chesels JM, et al:** a pediatric Approach to the WHO Classification of Myelodysplastic and Myeloproliferative Diseases. *Leukemia* 2003; 17:277-82. DOI: 10.1038/sj.leu.2402765
- [42] **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al:** WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Ed Lyon IARC. Press 2008.
- [43] **Tsuruda K, Hasegawa H, Fuchigami M, Uno N, Morinaga Y, Miyazaki Y, Yanagihara K** [Classification and clinical findings of myelodysplastic syndromes]. *Rinsho Byori*. 2014 Apr;62(4):359-68. PMID: 25022065
- [44] **Kuendgen A:** The Difficulty to Define Progression Patterns in Patients with Early Stage Myelodysplastic Syndromes and Deletion 5q-; New Prognostic Markers are Needed. *Leuk Res* 2014; 38(3): 287-8. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.12.013
- [45] **Dinmohamed AG, Visser O, van Norden Y, Huijgens PC, Sonneveld P, van der Loosdrecht AA, Jongen-Lavrencic M:** Trends in Incidence, Initial Treatment and Survival of Myelodysplastic Syndromes: a population-Based Study of 5144 patients Diagnosed in the Netherlands from 2001 to 2010. *Eur J Cancer* 2014; 50(5): 1004-12. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.12.002
- [46] **Reis-Alves SC, Traina F, Harada G, Campos PM, Saad ST, Metzke K, Lorand-Metze I:** Immunophenotyping in Myelodysplastic Syndromes Can

Add prognostic Information to Well-Established and New Clinical Scores. *PLoS One* 2013; 8(12): e81048. DOI: 10.1371/journal.pone.0081048

- [47] **Greenberg P, Cox C, LeBeau M, Fenaux P, Morel P, Sanz P, Sanz M, Vallespi T, Hamplin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennet J:** International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood* 1997; 89(6): 2079-2086. PMID: 9058730
- [48] **Schanz J, Steidl C, Fonatsch C, et al:** Coalesced Multicentric Analysis of 2351 patients with Myelodysplastic Syndromes Indicates an Underestimation of Poor Risk Cytogenetics of Myelodysplastic Syndromes in the International Prognostic Scoring System. *J Clin Oncol* 2011; 29:1963-70. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.3978
- [49] **Naqvi K, Garcia-Manero G, Sardesai S, et al:** Association of Comorbidities with Overall survival in Myelodysplastic Syndrome: Development of a prognostic Model. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2240-6. DOI: 10.1200/JCO.2010.31.3353
- [50] **Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al:** Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) for Myelodysplastic Syndromes. *Blood* 2012. DOI: 10.1182/blood-2012-03-420489
- [51] **Malcovati L, Della Porta MG, Strup C et al :** Impact of the Degree of anemia on the outcome of patients with Myelodysplastic Syndrome and its Integration into the WHO Classification based Prognostic Scoring System(WPSS). *Haematologica* 2011; 96: 1433-40. DOI: 10.3324/haematol.2011.044602
- [52] **Dameshek W Baldini M:** Di Guglielmo Syndrome. *Blood* 1958; 13:192-4. PMID: 13510296
- [53] **Fisher WB, Armentrout SA, Weisman Jr R et al:** preleukemia. A Myelodysplastic Syndrome Often terminating in Acute Leukemia. *Arch Intern Med* 1973; 132:226-32. DOI: 10.1001/archinte.132.2.226



- [54] **Mittelman M, Oster HS, Hoffman M, Neumann D.:** The lower Risk MDS Patient at Risk of Rapid Progression. *Leuk Res* 2010; 34(12); 1551-5. DOI: 10.1016/j.leukres.2010.05.023
- [55] **Donelli A, Ghiordino C, Panissidi T, Roncaglia R, Torelli G:** Might Arsenic Trioxide be Usefull in the Treatment of Advanced Myelodysplastic Syndromes? *Haematologica* 2000; 85: 1002-3. PMID: 10980650
- [56] **List AE, Schiller GI, Mason I, et al:** Trisenox in Patients With Myelodysplastic Syndromes; Preliminary Findings in a phase II Clinical Study. *Blood* 2003; 102:423.
- [57] **Raza A, Lisak LA, Tahir S et al:** Trilineage Response to Arsenic Trioxide and Thalidomide in Patients with Myelodysplastic syndromes, Particularly Those with Inv (3)(q21q26.2). *Blood* 2002; 100:795.
- [58] **Greenberg P, Cox C, LeBeau M, Fenaux P, MorelP, Sanz P, Sanz M, Vallespi T, Hamplin T, OscierD, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennet J:** International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood* 1997; 89(6): 2079-2086. PMID: 9058730
- [59] **Alessandrino EP, Della Porta MG, Bacigalupo A, Van Lint MT, Falda M, Onida F, et al:** . WHO classification and WPSS predict posttransplantation outcome in patients with myelodysplastic syndrome: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO). *Blood*. 2008; 112(3): 895–902. DOI: 10.1182/blood-2008-03-143735
- [60] **Mittelman M, Oster HS, Hoffman M, Neumann D:** The lower risk MDS patient at risk of rapid progression. *Leuk Res* 2010; 34(12): 1551-5. DOI: 10.1016/j.leukres.2010.05.023
- [61] **Kantarjian Hagop, O'Brien S, Ravandi F, Cortes J, Shan J, Bennett JM, List A, Fenaux P, Sanz G, Issa J-P, Freidreich E, Garcia-Manero G:** Proposal for a New Risk Model in Myelodysplastic Syndrome That Accounts for Events Not Conidered in the Original International Prognostic Scoring System. *Cancer* 2008; 113(6): 1351-1361 DOI: 10.1002/cncr.23697

- [62] **Garcia-Manero G, Shan J, et al:** A prognostic score for patients with lower risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2008; 22: 538-43. DOI: 10.1038/sj.leu.2405070
- [63] **Kantagjan H, O'Brien s, ravandi F, et al:** Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Index Scoring System. *Cancer* 2008; 113: 1351-61. DOI: 10.1002/cncr.23697
- [64] **Oscier DG, Killick SB:** The Myelodysplastic Syndromes. In *Postgraduate Haematology*, Blackwell Publishing, 5th Ed 2005; pp: 662-679
- [65] **Ogata K:** Myelodysplastic syndromes: recent progress in diagnosis and understanding of their pathophysiology..*J Nippon Med Sch.* 2006 Dec; 73(6): 300-7. Review.PMID: 17220579 DOI: 10.1272/jnms.73.30
- [66] **Newburger PE:** Disorders of neutrophil number and function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:104-10. Review.PMID: 17124047. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.104
- [67] **List AF, Vardiman J, Issa JP, DeWitte TM:** Myelodysplastic syndromes.. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004:297-317. Review DOI: 10.1182/asheducation-2004.1.297
- [68] **Dertinger SD, Heflich RH:** In vivo assessment of Pig-a gene mutation-recent developments and assay validation..*Environ Mol Mutagen.* 2011 Dec; 52(9): 681-4. DOI: 10.1002/em.20685
- [69] **Hill A, Richards SJ, Hillmen P:** Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria..*Br J Haematol.* 2007 May; 137(3): 181-92. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06554.x
- [70] **Rowe JM:** Myelodysplastic syndromes: aetiology, natural history, current and future therapies. *Clin Haematol* 2004; 17: 535-661.
- [71] **M V Blagosklonny:** The dilemma of apoptosis in myelodysplasia and leukemia: a new promise of therapeutic intervention? *Medicine Branch,*

- [72] **Youssef SR, Ismail MM, Abd Al Wahed E, Al Dessoky H.:** Growth Advantage of CD34+ Cells in Trisomy 8 High-Risk Myelodysplastic syndrome Despite Enhanced Apoptotic Signals. *East Mediterr Health J* 2012; 18(10): 1065-71. DOI: 10.26719/2012.18.10.1065
- [73] **Sloand EM, Pfannes L, Chen G, Shah S, Solomou EE, Barret J, Young NS. :** CD34+ Cells from Patients with Trisomy 8 Myelodysplastic Syndrome (MDS) Express Early Apoptotic Markers but Avoid Programmed Cell Death by Up-Regulation of Antiapoptotic Proteins. *Blood* 2007; 109(6): 2399-405. DOI: 10.1182/blood-2006-01-030643
- [74] **Gianelli U, Fascchiolla NS, Cortelezzi A, Pellegrini C, Savi F, Moro A, Grimoldi MG, Deliliers GL, Coggi G, Bosari S:** Survivin Expression in low-Risk and High-Risk Myelodysplastic Syndromes. *Ann Hematol* 2007; 86(3): 185-9. DOI: 10.1007/s00277-006-0215-0
- [75] **Invernizzi R, Travaglino E, Lungi M, Klersy C, Bernasconi P, Cazzola M, Ascari E:** Survivin Expression in acute Leukemias and Myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 2004; 45(11): 2299-37. DOI: 10.1080/10428190412331283251
- [76] **Yoshida A, Zokumasu K, Wano Y, Yamauchi T, Imamura S, Takagi K, Kishi S, Urasaki Y, Tohyama K, Ueda T.:** Marked Upregulation of Survivin and Aurora-B Kinase is associated with Disease Progression in the Myelodysplastic Syndromes. *Haematologica* 2012; 97(9): 1372-9. DOI: 10.3324/haematol.2011.055681
- [77] **Helström-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G et al:** A validated decision model for treating Anemia of Myelodysplastic syndrome with erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor; significant effect on quality of life. *Br J Haematol* 2003; 120:1037-46. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04153.x

- [78] **Barrett J, Sauntharajah Y, Moldrem J:** Myelodysplastic syndrome and aplastic anemia: distinct entities or disease linked by a common pathophysiology. *Sem Hematol* 2002; 37:15-29. DOI: 10.1016/s0037-1963(00)90027-1
- [79] **Killick SB, Mufti G, Canavagh JD, et al:** A pilot study of antithymocyte globulin (ATG) in the treatment of patients with low-risk myelodysplasia. *Br J Haematol* 2003; 120:679-84. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04136.x
- [80] **Kim SY, Le-Rademacher J, Antin JH, Anderlini P, Avas M, Battiwalla M, Carreras J, Kutzberg J, Nakamura R, Eapen M, Deeg HJ:** Myelodysplastic Syndrome Evolving from Aplastic Anemia Treated with Immunosuppressive Therapy: Efficacy of hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Hematologica* 2014(Dec); 99(12):1868-75. DOI: 10.3324/haematol.2014.108977
- [81] **Shi M, Xiao R, Woda BA, Yu H:** Five Important Advances in Hematopathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Mar; 138(3): 410-9. DOI: 10.5858/ARPA.2012-0645-RA
- [82] **Starczynowski DT, Vercauteren S, Telenius A, et al:** High Resolution Whole genome tiling path arrayCGH analysis of CD34+ cells from patients with low-risk Myelodysplastic syndromes reveals cryptic copy number alterations and predicts overall and leukemia-free survival. *Blood* 2008; 112(8): 3412-3424. DOI: 10.1182/blood-2007-11-122028
- [83] **Slovak ML, Smith DD, Bedel V, et al:** Assessing karyotype precision by microarray-based comparative genomic hybridization in the myelodysplastic/myeloproliferative syndromes. *Mol Cytogenet* 2010; 3:23. DOI: 10.1186/1755-8166-3-23
- [84] **Vercauteren SM, Sung S, Starczynowski DT, et al:** Array comparative genomic hybridization of peripheral blood granulocytes of patients with myelodysplastic syndromes. *Am J Clin Pathol* 2010; 134(1): 119-126. DOI: 10.1309/AJCPH27ZIZEJLORF

- [85] **O’Keefe CL, Tiu R, Gondek LP, et al:** High-resolution genomic arrays facilitate detection of novel cryptic chromosomal lesions in myelodysplastic syndromes. *Exp Hematol* 2007; 35(2): 240-251. DOI: 10.1016/j.exphem.2006.09.016
- [86] **Gondek LP, Tiu R, O’Keefe CL, Sekerers MA, Theil KS, Maciejewski JP,:** Chromosomal Lesions and uniparental disomy detected by SNP array in MDS, MDS/MPD and MDS-derived AML. *Blood* 2008; 111(3): 1534-1542. DOI: 10.1182/blood-2007-05-092304
- [87] **Ahmad A, Iqbal MA,:** Significance of genome-wide analysis of copy number alterations and UPD in myelodysplastic syndromes using combined CGH-SNP Arrays. *Curr Med Chem* 2012; 19(22): 3739-3747. DOI: 10.2174/092986712801661121
- [88] **Fathi AT, Abdel-Wahab O:** Mutations in epigenetic modifiers in myeloid malignancies and the prospect of novel epigenetic-targeted therapy..*Adv Hematol.* 2012; 2012:469592. doi: 10.1155/2012/469592. Epub 2011 Jun 26.PMID: 21811504DOI: 10.1155/2012/469592
- [89] **Smith SM, Le Beau MM, Huo D, et al:** Clinical –Cytogenetic associations in 306 patients with therapy related myelodysplasia and myeloid leukemia; the University of Chicago series. *Blood* 2003; 102: 43-52. DOI: 10.1182/blood-2002-11-3343
- [90] **Bellagatti A, Esoof N, Watkins F, et al:** Gene Expression Profiling in the Myelodysplastic Syndromes Using cDNA Microarray Profiling. *Br J Haematol* 2004; 125: 576-583. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04958.x
- [91] **Kolquist KA, Schultz RA, Furrow A, et al:** Microarray-based comparative genomic hybridization of cancer targets reveals novel, recurrent genetic aberrations in the myelodysplastic syndromes. *Cancer Genet* 2011; 204(11): 603-628. DOI: 10.1016/j.cancergen.2011.10.004
- [92] **Sanada M, Ogawa S:** Genome-wide analysis of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des* 2012; 18(22): 3163-3169. DOI: 10.2174/1381612811209023163

- [93] **Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al:** Clinical affect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011; 363(26): 2496-2506. DOI: 10.1056/NEJMoa1013343
- [94] **Steensa DP, Gibbons RJ, Mesa RA, Tefferi A, Higgs DR:** Somatic mutations in RUNX1/CBFA2/AML1 are common in high-risk myelodysplastic syndrome, but not in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 2005; 74(1): 47-53. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2004.00363.x
- [95] **Chen CY, Lin LI, Tang JL, et al:** RUNX1 gene mutation in primary myelodysplastic syndrome-the mutation can be detected early at diagnosis or acquired during disease progression and is associated with poor outcome. *Br j Haematol* 2007; 139(3): 405-414. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06811.x
- [96] **Paquette RL, Landaw EM, Pierre RV, et al:** N-ras Mutations are associated with poor prognosis and increased risk of leukemia in myelodysplastic syndrome. *Blood* 1993; 82(2): 590-599. PMID: 8329714
- [97] **Kao HW, Sanada M, Liang DC, et al:** A high occurrence of acquisition and/or expansion of C-CBL mutant clones in the progression of high-risk myelodysplastic syndrome to accute leukemia. *Neoplasia* 2011; 13(11): 1035-1042. DOI: 10.1593/neo.111192
- [98] **Barresi V, Palumbo GA, Musso N, et al:** Clonal selection of 11q CN-LOH and CBL gene mutation in a serially studied patient during MDS progression to AML. *Leuk Res* 2010; 34(11): 1539-1542. DOI: 10.1016/j.leukres.2010.07.004
- [99] **Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Cheok M, et al:** TET2 mutation is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes (MDSs) *Blood* 2009; 114(15): 3285-3291. DOI: 10.1182/blood-2009-04-215814
- [100] **Smith AE, Mohamedali AM, Kulasekararaj A, et al:** Next generation sequencing of the TET2 gene in 355 MDS and CMML patients reveals low-abundance mutant clones with early origins, but indicates no definite prognostic value. *Blood* 2010; 116(19): 3923-3932. DOI: 10.1182/blood-2010-03-274704

- [101] **Thol F, Winschel C, Ludeking A, et al:** Rare occurrence of DNMT3A mutations in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2011; 96(12): 1870-1873 DOI: 10.3324/haematol.2011.045559
- [102] **McDevitt MA,:** Clinical applications of epigenetic markers and epigenetic profiling in myeloid malignancies. *Sem Oncol* 2012;39(1):109-122 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.11.003
- [103] **Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, et al:** Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *Neng J Med* 2009; 361(11): 1058-1066. DOI: 10.1056/NEJMoa0903840
- [104] **Abbas S, Lugthart FG, Kavelaars FG, et al:** Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberations in the acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Blood* 2010; 116(12):2122-2126. DOI: 10.1182/blood-2009-11-250878
- [105] **Boisel N, Nibourel O, Renneville, et al:** Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia : a study by acute leukemia French association group. *J Clin Oncol* 2010;28(23):3717-3723. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.2285
- [106] **Mercucci G, Maharry K, Wu YZ, et al:** IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study. *J Clin Oncol* 2010; 28(14): DOI: 10.1200/JCO.2009.27.3730
- [107] **Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, et al:** IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication *J Clin Oncol* 2010; 28(22):3636-3643. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.3762
- [108] **Schnittger S, Haferlach C, Ulke M, Alperman T, Kern W, Haferlach T:** IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML patients and are associated with intermediate risk caryotype and unfavorable prognosis in adults younger

than 60 years and unmutated NPM1 status. *Blood* 2010; 116(25):5486-5496.  
DOI: 10.1182/blood-2010-02-267955

- [109] **Ward PS, Patel J, Wise DR, et al:** The common feature of leukemia associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting  $\alpha$ -ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. *Cancer cells* 2010; 17(3):225-234. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.01.020
- [110] **Gross S, Cairns A, Minden MD, et al:** Cancer associated metabolite 2-hydroxyglutarate accumulates in acute myelogenous leukemia with isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations. *J Exp med* 2010; 207(2): 339-344. DOI: 10.1084/jem.20092506
- [111] **Kolker S, Pawlak V, Alhemeyer B, et al:** NMDA receptor activation and respiratory chain complex V inhibition contribute to neurogeneration in D-2-hydroxyglutaric aciduria. *Eur J Neuroscience* 2002; 16(1):21-28. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2002.02055.x
- [112] **Latini A, Scussiato K, Rosa RB, et al:** D-2-hydroxyglutaric acid induces oxidative stress in cerebral cortex of young rats *E J Neurosciences* 2003; 17(10): 2017-2022. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02639.x
- [113] **Reitman ZJ, Yan H:** Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism DOI: 10.1093/jnci/djq187
- [114] **Frezza C, Tennant DA, Gotlieb E:** IDH1 mutations in Gliomas: when an enzyme loses its grip. *Cancer Cell* 2010; 17(1): 7-9. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.031
- [115] **Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al:** Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* 2010; 18(6): 553-567. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.11.015
- [116] **Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, Hong K, Sowers LC, Zhang Y:** Role of TET proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell



mass specification. Nature 2010; 466(7310): 1129-1133. DOI: 10.1038/nature09303

- [117] **Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, et al:** Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in 930-935mammalian DNA by MLL partner TET1. Science 2009; 324(5929):. DOI: 10.1126/science.1170116
- [118] **Xu W, Yang H, Liu Y et al:** Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of  $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenases. Cancer Cell 2011; 19(1):17-30. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.12.014
- [119] **Wang Y, Wysocka J, Sayegh J, et al:** Human PAD4 regulates histone arginine methylation levels via demethylimination. Science 2004; 306(5694):229-283. DOI: 10.1126/science.1101400
- [120] **Shi Y, Lan F, Matson C, et al:** Histone demethylation mediated by nuclear maine axidase homolog LSD1, Cell 2004; 119(7): 941-539. DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.012
- [121] **Klose RJ, Yamane K, Bae Y et al:** The transcriptional repressor JHDM3A demethylates trimethyl histone H3 lysine 9 and lysine 36. nature 2006; 442(7100): 312-31 DOI: 10.1038/nature04853
- [122] **Yamane K, Toumazou C, Tsukada YI, et al:** JHDM 2A. a JmjC-containing H3K9 demethylase, facilitates transcription activation by androgen receptor. Cell 2006; 125(3): 483-495. DOI: 10.1016/j.cell.2006.03.027
- [123] **Seward DJ, Cubberly G, Kim S, et al:** Demethylation of trimethylated Histone H3L in vivo by JARID1 JmjC proteins. Nature Structural and Molecular Biology 2007; 14(3): 240-242. DOI: 10.1038/nsmb1200
- [124] **Anger K, Cloos PAC, Christensen J, et al:** UTX and JMJD3 are histone H3K27 demethylases involved in HOX gene regulation and development. Nature 2007; 449(7163): 731-734. DOI: 10.1038/nature06145
- [125] **Chang B, Chen Y, Zhao Y, Bruick RK:** JMJD6 is a histone arginine demethylase. Science 2007; 318(5849): 444-447. DOI: 10.1126/science.1145801

- [126] **Green CL, Evans CM, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE:** The prognostic significance of IDH1 mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia is dependent on FLT3/ITD status. *Blood* 2010; 116(9): 2779-2782. DOI: 10.1182/blood-2010-02-270926
- [127] **Caramazza D, Lasho T, Finke et al:** IDH mutations and trisomy 8 in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Blood* 2010; 116: Abstract 4009. DOI: 10.1038/leu.2010.213
- [128] **Delhommeau F, Dupont S, Valle VD et al:** mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 2009; 360(22): 2289-2301. DOI: 10.1056/NEJMoa0810069
- [129] **Tefferi A, Pardanani A, Lim H et al:** TET2 mutations and their clinical correlates in Polycythemia Vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia*; 23(5): 905-911. DOI: 10.1038/leu.2009.47
- [130] **Abdel-Wahab O, Manshouri T, Patel J et al:** Genetic analysis of transforming events that convert chronic myeloproliferative neoplasms to leukemias. *Cancer Res* 2010; 70(2): 447-452. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3783
- [131] **Ko M, Huang Y, Jankowska M et al:** Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA methylation in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature* 2010; 468(7325): 839-843. DOI: 10.1038/nature09586
- [132] **Gaidzik V, Schlenk RF, Paschka et al:** TET2 mutations in acute myeloid leukemia: Results on 783 patients treated within the AML HD98A study of the AML Study Group (AML SG). *Blood* 2010; 116
- [133] **Metzeler KH, Mahary K, Randmacher et al:** TET2 mutations improve the new European LeukemiaNET risk classification of acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study. *J Clin Oncol* 2011; 29(10): 1373-1381. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.7742
- [134] **Ley TJ, Ding L, Walter MJ et al:** DNMT3A mutations in acute leukemia *N Engl J Med* 2010; 363(25): 2424-2433 DOI: 10.1056/NEJMoa1005143

- [135] **Yamashita Y, Yuan J, Suetake I et al:** Array-Based Genomic Resequencing of Human Leukemia. *Oncogene* 2010; 29(25): 3723-3731. DOI: 10.1038/onc.2010.117
- [136] **Yan XJ, Xu J, Gu ZH, et al:** Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia. *Nat Genet* 2011; 43(4): 309-315. DOI: 10.1038/ng.788
- [137] **Walter MJ, Ding L, Shen et al:** recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2011;25(7):1153-58 DOI: 10.1038/leu.2011.44
- [138] **Abdel-Wahab O, Pardanani A, Rampal R, Lascho TL, Levine RL, Tefferi A:** DNMT3A mutational analysis in primary myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and advanced phases of myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol* 2010; 28(22):3636-3643. DOI: 10.1038/leu.2011.82
- [139] **Kokouva M, Koureas M, Dardiotis E, Almpanidou P, Kalogeraki A, Kyriakou D, Hadjigeorgiou GM, Hadgichristodoulou C:** Relationship Between the Paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R Polymorphisms and Lymphohaematopoietic Cancers in a greek Agricultural Population. *Toxicology* 2013; 307: 12-6. DOI: 10.1016/j.tox.2012.07.003
- [140] **Abdel-Wahab O, Pardanani A, Patel J et al:** Concomitant analysis of EZH2 and ASXL1 mutations in myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and blast-phase myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2011; 25(7):1200-2. DOI: 10.1038/leu.2011.58
- [141] **Ernst T, Chase AJ, Score J et al:** Inactivating mutations of histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* 2010; 42(8): 722-726. DOI: 10.1038/ng.621
- [142] **6/71. Nikoloski G, Langemeijer SMC, Kuiper RP et al:** Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 2010;42(8): 665-667 DOI: 10.1038/ng.620

- [143] **Vire E, Brenner C, Deplus R et al:** The polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature* 2006; 439(7078): 871-874. DOI: 10.1038/nature04431
- [144] **Cremers EM1, Alhan C1, Westers TM1, Ossenkuppele GJ1, van de Loosdrecht AA2 :** Immunophenotyping for diagnosis and prognosis in MDS: ready for general application? *Best Pract Res Clin Haematol.* 2015 Mar;28(1):14-21. DOI: 10.1016/j.beha.2014.11.003
- [145] **Invernizzi R, Travaglio E, Benatti L, Malcovati L, DellaPorta M, Cazzola M, Ascari E.:** Survivin Expression, Apoptosis and Proliferation in Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Eur J Haematol* 2006; 76(6): 494-501. DOI: 10.1111/j.0902-4441.2006.t01-1-EJH2588.x
- [146] **Adida C, Recher C, Raffoux E, Daniel M-T, Taksin A-L, Rousselot P, Sigaux F, Degos L, Altieri DC, Dombret H:** Expression and Prognostic Significance of Survivin in de Novo acute Myeloid Leukemia. *Br J Haematol* 2000; 111: 196-203. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02328.x
- [147] **Xu F, Liu L, Chang CK, He Q, Wu LY, Zhang Z, Shi WH, Guo J, Zhu Y, Zhao YS, Gu SC, Fei CM, Li X.:** Genomic loss of EZH2 leads to epigenetic modifications and overexpression of the HOX gene clusters in myelodysplastic syndrome. *Oncotarget.* 2016 Feb 16; 7(7):8119-30 DOI: 10.18632/oncotarget.6992
- [148] **Gidaro A, Deliliers GL, Gallipoli P, Arquati M, Wu MA, Castelli R :** Laboratory and clinical risk assessment to treat myelodysplastic syndromes. *Clin Chem Lab Med.* 2016Sep 1; 54(9):1411-26. DOI: 10.1515/cclm-2015-0789
- [149] **Cremers EM1, Alhan C1, Westers TM1, Ossenkuppele GJ1, van de Loosdrecht AA2:** Immunophenotyping for diagnosis and prognosis in MDS: ready for general application? *Best Pract Res Clin Haematol.* 2015 Mar;28(1):14-21. DOI: 10.1016/j.beha.2014.11.003
- [150] **Uyanik MS, Demir AM, Kurt I, Maden M, Oz Puyan F, Gurkan H, Umit EG, Pamuk GE:** Could the mosaic pattern of chromosomal abnormality predict

overall survival of patients with myelodysplastic syndrome? *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2016 Jan 16. pii: S1658-3876(16)00004-2. DOI: 10.1016/j.hemonc.2015.12.002

- [151] **Ali SF, Sonu RJ, Dwyre DM, Jonas BA, Rashidi HH.** Translocation (6;15)(q12;q15): A Novel Mutation in a Patient with Therapy-Related Myelodysplastic Syndrome. *Case Rep Hematol.* 2015; 2015:318545. DOI: 10.1155/2015/318545
- [152] **Subari S, Baidoun F, Hreh M, Patnaik M, Hashmi S, Elliott M, Hogan W, Litzow M, Al-Kali A.:** Prior hypomethylating agent use lacks impact on clinical outcome in patients with secondary acute myeloid leukemia arising from myelodysplastic syndromes treated with standard induction chemotherapy. *Int J Hematol.* 2016 Apr; 103(4):409-15. DOI: 10.1007/s12185-016-1935-0.
- [153] **Gyan E, Andrieu V, Sanna A, Caille A, Schemenau J, Sudaka I, Siguret V, Malet M, Park S, Bordessoule D, Mairesse J, Gelsi-Boyer V, Cheze S, Beyne-Rauzy O, Sébert M, Sapena R, Zerazhi H, Legros L, Guerci-Bresler A, Amé SN, Germing U, Santini V, Salvi F, Gioia D, Lunghi M, Dreyfus F, Fenaux P;** Groupe Francophone des Myélodysplasies, Fondazione Italiana per le Sindromi Mielodisplastiche (FISMonlus), and Düsseldorf MDS Registry. Myelodysplastic syndromes with single neutropenia or thrombocytopenia are rarely refractory cytopenias with unilineage dysplasia by World Health Organization 2008 criteria and have favourable prognosis. *Br J Haematol.* 2016 ; 175(5):975-979. DOI: 10.1111/bjh.13902
- [154] **Vibor M, Inga MR, Ana PP, Bulycheva E, Slobodanka KO:** The role of microRNA in myelodysplastic syndromes: beyond DNA methylation and histone modification. *Eur J Haematol.* 2016; 96(6):553-63 DOI: 10.1111/ejh.12735
- [155] **Garcia-Manero G:** Progress in myelodysplastic syndromes. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2009;9 Suppl 3:S286-92. doi: 10.3816/CLM.2009.s.025. Review. PMID: 19778854 DOI: 10.3816/CLM.2009.s.025

- [156] **Bejar R, Steensma DP.**: Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2014 Oct 30;124(18):2793-803. DOI: 10.1182/blood-2014-04-522136
- [157] **Platzbecker U, Mufti G.**: Allogeneic stem cell transplantation in MDS: how? When? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013 Dec;26(4):421-9. DOI: 10.1016/j.beha.2013.09.008
- [158] **Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, et al**: Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2012; 30: 3376-3382. DOI: 10.1200/JCO.2011.40.7379
- [159] **Cutler CS, Greenberg P, et al**: A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: a delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004; 104: 579-585. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0338
- [160] **Koreth J, Pidala J, Perez WS, et al**: Role of induced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the older patients with de novo myelodysplastic syndromes: an international collaborative decision analysis. *J Clin Oncol* 2013; 31: 2662-2670 DOI: 10.1200/JCO.2012.46.8652
- [161] **Saber W, Le Rademacher J, Sekeres M, Logan B, Lewis M, Mendizabal A, Leifer E, Appelbaum FR, Horowitz MM, Nakamura R, Cutler CS.** Multicenter biologic assignment trial comparing reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplant to hypomethylating therapy or best supportive care in patients aged 50 to 75 with intermediate-2 and high-risk myelodysplastic syndrome: blood and marrow transplant clinical trials network #1102 study rationale, design, and methods. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Oct;20(10):1566-72.

- [162] **Harsha Vyas, Guha Krishnaswamy:** Paul Ehrlich's "Mastzellen"—from aniline dyes to DNA chip arrays: a historical review of developments in mast cell research. *Methods Mol Biol* 2006; 315:3-11. PMID: 16110145
- [163] **DD Metcalf, M Kaliner, ma Donlon:** The mast cell. *Crit Rev Immunol* 1981;3(1):23-74. PMID: 6178551
- [164] **Riley, JF, West, GB (1952).** Histamine in tissue mast cells. *J Physiol* 117:72P-73P. PMID: 12991263
- [165] **Ishizaka, K, Ishizaka, T (1967).** Identification of gamma-E-antibodies as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* 99:1187-1198. PMID: 4168663
- [166] **Ishizaka, K, Tomioka, H, Ishizaka, T (1970).** Mechanisms of passive sensitization. I. Presence of IgE and IgG molecules on human leukocytes. *J Immunol* 105:1459-1467. PMID: 4098503.
- [167] **Metzger, H (1992).** The receptor with high affinity for IgE. *Immunol Rev* 125:37-48 DOI: 10.1111/j.1600-065x.1992.tb00624.x
- [168] **Kinet, JP (1999).** The high-affinity IgE receptor (Fc epsilon RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol* 17:931-972 DOI: 10.1146/annurev.immunol.17.1.931
- [169] **Siraganian, R (2003).** Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Current Opinion in Immunology* 15:639-646. DOI: 10.1016/j.coi.2003.09.010
- [170] **Rao, K, Brown, M (2008).** Mast cells: multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 1143:83-104.. DOI: 10.1196/annals.1443.023
- [171] **Grimbaldeston, MA, Chen, CC, Piliponsky, AM, Tsai, M, Tam, SY, Galli, SJ (2005).** Mast cell-deficient W-sash c- mutant Kit W-sh/W-sh mice as a model for investigating mast cell biology in vivo. *Am J Pathol* 167:835-848 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62055-X

- [172] **Galli, S, Tsai, M (2008)**. Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci* 49:7-19. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2007.09.009
- [173] **Jamur, MC, Oliver, C (2011)**. Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Front Biosci (Schol Ed)* 3:1390-1406 DOI: 10.2741/231
- [174] **Galli, SJ, Borregaard, N, Wynn, TA (2011)**. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol* 12:1035-1044. DOI: 10.1038/ni.2109
- [175] **K.itamura, Y, Shimada, M, Hatanaka, K, Miyano, Y (1977)**. Development of mast cells from grafted bone marrow cells in irradiated mice. *Nature* 268:442-443 DOI: 10.1038/268442a0
- [176] **Födinger, M, Fritsch, G, Winkler, K, Emminger, W, Mitterbauer, G, Gadner, H, Valent, P, Mannhalter, C (1994)**. Origin of human mast cells: development from transplanted hematopoietic stem cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 84:2954-2959. PMID: 7949167
- [177] **Jamur, M, Grodzki, A, Berenstein, E, Hamawy, M, Siraganian, R, Oliver, C (2005)**. Identification and characterization of undifferentiated mast cells in mouse bone marrow. *Blood* 105:4282-4289. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0756
- [178] **Chen, C, Grimbaldston, M, Tsai, M, Weissman, I, Galli, S (2005)**. Identification of mast cell progenitors in adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:11408-11413. DOI: 10.1073/pnas.0504197102
- [179] **Guiraldelli, MF, França, CN, de Souza, DA, da Silva, EZ, Toso, VD, Carvalho, CC, Jamur, MC, Oliver, C (2013)**. Rat embryonic mast cells originate in the AGM. *PLoS One* 8, e57862 DOI: 10.1371/journal.pone.0057862
- [180] **Stevens, RL, Adachi, R (2007)**. Protease-proteoglycan complexes of mouse and human mast cells and importance of their beta-tryptase-heparin complexes in



inflammation and innate immunity. *Immunol Rev* 217:155-167. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2007.00525.x

- [181] **Gurish, MF, Ghildyal, N, McNeil, HP, Austen, KF, Gillis, S, Stevens, RL (1992).** Differential expression of secretory granule proteases in mouse mast cells exposed to interleukin 3 and c- ligand. *J Exp Med* 175:1003-101 DOI: 10.1084/jem.175.4.1003
- [182] **Irani, AM, Nilsson, G, Miettinen, U, Craig, SS, Ashman, LK, Ishizaka, T, Zsebo, KM, Schwartz, LB (1992).** Recombinant human stem cell factor stimulates differentiation of mast cells from dispersed human fetal liver cells. *Blood* 80:3009-3021. PMID: 1281684
- [183] **Iemura, A, Tsai, M, Ando, A, Wershil, BK, Galli, SJ (1994).** The c- ligand, stem cell factor, promotes mast cell survival by suppressing apoptosis. *Am J Pathol* 144:321-328. PMCID: PMC1887147
- [184] **Okayama Y, Kawakami T (2006):** Development, migration, and survival of mast cells. *Immunol Res* 34:97-115. DOI: 10.1385/IR:34:2:97
- [185] **Orfao, A, Garcia-Montero, AC, Sanchez, L, Escribano, L, REMA (2007).** Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of KIT mutations. *Br J Haematol* 138:12-30. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06619.x
- [186] **Metcalf D, Baram D, Mekori Y (1997):** Mast cells. *Physiol Reviews* 77:1033-1079. DOI: 10.1152/physrev.1997.77.4.1033
- [187] **S Galli, Kalesnikoff J, Grimbaldston M, Piliponsky A, Williams C, Tsai M (2005b):** Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 23:749-786. DOI: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025
- [188] **Metcalf, D, Boyce, J (2006).** Mast cell biology in evolution. *J Allergy and Clin Immunol* 117:1227-1229. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.03.031

- [189] **Kitamura, Y, Appl Immunol 77:144-150. Sonoda, T, Nakano, T, Hayashi, C, Asai, H (1985).** Differentiation processes of connective tissue mast cells in living mice. *Int Arch Allergy* DOI: 10.1159/000233769
- [190] **Kitamura, Y, Kasugai, T, Arizono, N, Matsuda, H (1993).** Development of mast cells and basophils: processes and regulation mechanisms. *Am J Med Sci* 306:185-191. DOI: 10.1097/00000441-199309000-00011
- [191] **Huff, T, Lantz, C, Ryan, J, Leftwich, J (1995).** Mast cell-committed progenitors. In *Biological and Molecular Aspects of Mast Cell and Basophil Differentiation and Function*, Kitamura, Y, Yamamoto, Y, Galli, S, Greaves, M, eds (New York: Raven Press), pp. 105-117.
- [192] **Hallgren, J, Jones, TG, Abonia, JP, Xing, W, Humbles, A, Austen, KF, Gurish, MF (2007).** Pulmonary CXCR2 regulates VCAM-1 and antigen-induced recruitment of mast cell progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:20478-20483. DOI: 10.1073/pnas.0709651104
- [193] **Kiernan, JA (1979).** Production and life span of cutaneous mast cells in young rats. *J Anat* 128:225-238. PMID: PMC1232929
- [194] **Kitamura, Y (1989).** Heterogeneity of mast cells and phenotypic change between subpopulations. *Annu Rev Immunol* 7:59-76. DOI: 10.1146/annurev.iy.07.040189.000423
- [195] **Ryan, JJ, Kashyap, M, Bailey, D, Kennedy, S, Speiran, K, Brenzovich, J, Barnstein, B, Oskeritzian, C, Gomez, G (2007).** Mast cell homeostasis: a fundamental aspect of allergic disease. *Crit Rev Immunol* 27:15-32 DOI: 10.1615/critrevimmunol.v27.i1.20.
- [196] **Ikeda, RK, Miller, M, Nayar, J, Walker, L, Cho, JY, McElwain, K, McElwain, S, Raz, E, Broide, DH (2003).** Accumulation of peribronchial mast cells in a mouse model of ovalbumin allergen induced chronic airway inflammation: modulation by immunostimulatory DNA sequences. *J Immunol* 171:4860-4867. DOI: 10.4049/jimmunol.171.9.4860
- [197] **Abonia, JP, Hallgren, J, Jones, T, Shi, T, Xu, Y, Koni, P, Flavell, RA, Boyce, JA, Austen, KF, Gurish, MF (2006).** Alpha-4 integrins and VCAM-1, but not MAdCAM-1, are essential for recruitment of mast cell progenitors to the inflamed lung. *Blood* 108:1588-1594. DOI: 10.1182/blood-2005-12-012781

- [198] **Taub, D, Dastych, J, Inamura, N, Upton, J, Kelvin, D, Metcalfe, D, Oppenheim, J (1995)**. Bone marrow-derived murine mast cells migrate, but do not degranulate, in response to chemokines. *J Immunol* 154:2393-2402. PMID: 7532669
- [199] **Collington, SJ, Williams, TJ, Weller, CL (2011)**. Mechanisms underlying the localisation of mast cells in tissues. *Trends Immunol* 32:478-485. DOI: 10.1016/j.it.2011.08.002
- [200] **Balzar, S, Chu, HW, Strand, M, Wenzel, S (2005)**. Relationship of small airway chymase-positive mast cells and lung function in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 171:431-439 DOI: 10.1164/rccm.200407-949OC
- [201] **Irani, AA, Schechter, NM, Craig, SS, DeBlois, G, Schwartz, LB (1986)**. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:4464-4468. DOI: 10.1073/pnas.83.12.4464
- [202] **Schwartz, LB (2006)**. Analysis of MC(T) and MC(TC) mast cells in tissue. *Methods Mol Biol* 315:53-62. PMID: 16110148
- [203] **Pejler, G, Rönnberg, E, Waern, I, Wernersson, S (2010)**. Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood* 115:4981-4990. DOI: 10.1182/blood-2010-01-257287
- [204] **Goldstein, SM, Kaempfer, CE, Proud, D, Schwartz, LB, Irani, AM, Wintroub, BU (1987)**. Detection and partial characterization of a human mast cell carboxypeptidase. *J Immunol* 139:2724-2729. PMID: 2443571
- [205] **Irani, AM, Craig, SS, DeBlois, G, Elson, CO, Schechter, NM, Schwartz, LB (1987)**. Deficiency of the tryptase-positive, chymase-negative mast cell type in gastrointestinal mucosa of patients with defective T lymphocyte function. *J Immunol* 138:4381-4386. PMID: 3295046
- [206] **Abonia, JP, Blanchard, C, Butz, BB, Rainey, HF, Collins, MH, Stringer, K, Putnam, PE, Rothenberg, ME (2010)**. Involvement of mast cells in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 126:140-149. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.04.009
- [207] **Oskeritzian, CA, Zhao, W, Min, HK, Xia, HZ, Pozez, A, Kiev, J, Schwartz, LB (2005)**. Surface CD88 functionally distinguishes the MCTC from the MCT type of human lung mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 115:1162-1168. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.02.022

- [208] **Moon, TC, St Laurent, CD, Morris, KE, Marcet, C, Yoshimura, T, Sekar, Y, Befus, AD (2010)**. Advances in mast cell biology: new understanding of heterogeneity and function. *Mucosal Immunol* 3:111-128. DOI: 10.1038/mi.2009.136
- [209] **Kobayashi T et al**: Formation of mast cell colonies in methylcellulose by mouse peritoneal cells and differentiation of these cloned cells in both skin and of W/W<sup>v</sup> mice: evidence that a common precursor can give rise to both ‘‘connective tissue-type’’ and ‘‘mucosal’’ mast cells. *J. Immunol* 1986 Feb 15; 136 (4): 1378-84. PMID: 2868058
- [210] **Kanakura, Y, Thompson, H, Nakano, T, Yamamura, T, Asai, H, Kitamura, Y, Metcalfe, DD, Galli, SJ (1988b)**. Multiple bidirectional alterations of phenotype and changes in proliferative potential during the in vitro and in vivo passage of clonal mast cell populations derived from mouse peritoneal mast cells. *Blood* 72:877-885. PMID: 3416076
- [211] **Schneider, E, Pollard, H, Lepault, F, Guy-Grand, D, Minkowski, M, Dy, M (1987)**. Histamine-producing cell-stimulating activity. Interleukin 3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induce de novo synthesis of histidine decarboxylase in hemopoietic progenitor cells. *J Immunol* 139:3710-3717. PMID: 2824613
- [212] **Rennick, D, Hunte, B, Holland, G, Thompson-Snipes, L (1995)**. Cofactors are essential for stem cell factor-dependent growth and maturation of mast cell progenitors: comparative effects of interleukin-3 (IL-3), IL-4, IL-10, and fibroblasts. *Blood* 85:57-65. PMID: 7528573
- [213] **Ryan, JJ, DeSimone, S, Klisch, G, Shelburne, C, McReynolds, LJ, Han, K, Kovacs, R, Mirmonsef, P, Huff, TF (1998)**. IL-4 inhibits mouse mast cell Fc epsilonRI expression through a STAT6-dependent mechanism. *J Immunol* 161:6915-6923. PMID: 9862725
- [214] **Toru, H, Eguchi, M, Matsumoto, R, Yanagida, M, Yata, J, Nakahata, T (1998)**. Interleukin-4 promotes the development of tryptase and chymase double-positive human mast cells accompanied by cell maturation. *Blood* 91:187-195. PMID: 9414284
- [215] **Burton, OT, Darling, AR, Zhou, JS, Noval-Rivas, M, Jones, TG, Gurish, MF, Chatila, TA, Oettgen, HC (2013)**. Direct effects of IL-4 on mast cells drive their intestinal expansion and increase susceptibility to anaphylaxis in a

murine model of food allergy. *Mucosal Immunol* 6:740-750. DOI: 10.1038/mi.2012.112

- [216] **Matsuzawa, S, Sakashita, K, Kinoshita, T, Ito, S, Yamashita, T, Koike, K (2003).** IL-9 enhances the growth of human mast cell progenitors under stimulation with stem cell factor. *J Immunol* 170:3461-3467 DOI: 10.4049/jimmunol.170.7.3461
- [217] **Kennedy Norton, S, Barnstein, B, Brenzovich, J, Bailey, DP, Kashyap, M, Speiran, K, Ford, J, Conrad, D, Watowich, S, Moralle, MR, Kepley, CL, Murray, PJ, Ryan, JJ (2008).** IL-10 suppresses mast cell IgE receptor expression and signaling in vitro and in vivo. *J Immunol* 180:2848-2854. DOI: 10.4049/jimmunol.180.5.2848
- [218] **Gyotoku, E, Morita, E, Kameyoshi, Y, Hiragun, T, Yamamoto, S, Hide, M (2001).** The IL-6 family cytokines, interleukin-6, interleukin-11, oncostatin M, and leukemia inhibitory factor, enhance mast cell growth through fibroblast-dependent pathway in mice. *Arch Dermatol Res* 293:508-514. DOI: 10.1007/pl00007465
- [219] **Kaieda, S, Shin, K, Nigrovic, PA, Seki, K, Lee, RT, Stevens, RL, Lee, DM (2010).** Synovial fibroblasts promote the expression and granule accumulation of tryptase via interleukin-33 and its receptor ST-2 (IL1RL1). *J Biol Chem* 285:21478-21486. DOI: 10.1074/jbc.M110.114991
- [220] **Hu, ZQ, Zhao, WH, Shimamura, T (2007).** Regulation of mast cell development by inflammatory factors. *Curr Med Chem* 14:3044-3050. DOI: 10.2174/092986707782793998
- [221] **Funaba, M, Ikeda, T, Murakami, M, Ogawa, K, Nishino, Y, Tsuchida, K, Sugino, H, Abe, M (2006).** Transcriptional regulation of mouse mast cell protease-7 by TGF-beta. *Biochim Biophys Acta* 1759:166-170. DOI: 10.1016/j.bbaexp.2006.04.003
- [222] **Lorentz, A, Hoppe, J, Worthmann, H, Gebhardt, T, Hesse, U, Bienenstock, J, Bischoff, SC (2007).** Neurotrophin-3, but not nerve growth factor, promotes survival of human intestinal mast cells. *Neurogastroenterol Motil* 19:301-308. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00899.x
- [223] **Galli, SJ, Borregaard, N, Wynn, TA (2011).** Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol* 12:1035-1044. DOI: 10.1038/ni.2109

- [224] **Xing, W, Austen, KF, Gurish, MF, Jones, TG (2011)**. Protease phenotype of constitutive connective tissue and of induced mucosal mast cells in mice is regulated by the tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:14210-14215. DOI: 10.1073/pnas.1111048108
- [225] **Galli: Lippincott-Raven Press), pp. 1137-1184. , S, Lantz, C (1999)**. Allergy. In Paul, W.E., Immunology, F., ed (Philadelphia)
- [226] **EP, .Benditt Wong, RL, Arase, M, Roeper, E (1955)**. 5-Hydroxytryptamine in mast cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 90:303-304. DOI: 10.3181/00379727-90-22016
- [227] **Edvinsson, L, Cervós-Navarro, J, Larsson, LI, Owman, C, Rönnberg, AL (1977)**. Regional distribution of mast cells containing histamine, dopamine, or 5-hydroxytryptamine in the mammalian brain. *Neurology* 27:878-883. DOI: 10.1212/wnl.27.9.878
- [228] **Lundequist, A, Pejler, G (2011)**. Biological implications of preformed 228.mast cell mediators. *Cell Mol Life Sci* 68:965-975. DOI: 10.1007/s00018-010-0587-0
- [229] **García-Faroldi, G, Melo, FR, Rönnberg, E, Grujic, M, Pejler, G (2013)**. Active caspase-3 is stored within secretory compartments of viable mast cells. *J Immunol* 191:1445-1452. DOI: 10.4049/jimmunol.1300216
- [230] **Schwartz, LB, Bradford, TR (1986)**. Regulation of tryptase from human lung mast cells by heparin. Stabilization of the active tetramer. *J Biol Chem* 261:7372-7379. PMID: 3519608
- [231] **Schwartz, LB, Irani, AM, Roller, K, Castells, MC, Schechter, NM (1987)**. Quantitation of histamine, tryptase, and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol* 138:2611-2615. PMID: 3549903
- [232] **Huang, C, Morales, G, Vagi, A, Chanasyk, K, Ferrazzi, M, Burklow, C, Qiu, WT, Feyfant, E, Sali, A, Stevens, RL (2000)**. Formation of enzymatically active, homotypic, and heterotypic tetramers of mouse mast cell tryptases. Dependence on a conserved Trp-rich domain on the surface. *J Biol Chem* 275:351-358. DOI: 10.1074/jbc.275.1.351
- [233] **McNeil, HP, Shin, K, Campbell, IK, Wicks, IP, Adachi, R, Lee, DM, Stevens, RL (2008)**. The mouse mast cell-restricted tetramer-forming tryptases mouse mast cell protease 6 and mouse mast cell protease 7 are critical mediators

in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 58:2338-2346.  
DOI:10.1002/art.23639

- [234] **Shin, K, Watts, GF, Oettgen, HC, Friend, DS, Pemberton, AD, Gurish, MF, Lee, DM (2008)**. Mouse mast cell tryptase mMCP-6 is a critical link between adaptive and innate immunity in the chronic phase of *Trichinella spiralis* infection. *J Immunol* 180:4885-4891. DOI: 10.4049/jimmunol.180.7.4885
- [235] **Sun, J, Zhang, J, Lindholt, JS, Sukhova, GK, Liu, J, He, A, Abrink, M, Pejler, G, Stevens, RL, Thompson, RW, Ennis, TL, Gurish, MF, Libby, P, Shi, GP (2009)**. Critical role of mast cell chymase in mouse abdominal aortic aneurysm formation. *Circulation* 120:973-982. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.849679
- [236] **Waern, I, Jonasson, S, Hjoberg, J, Bucht, A, Abrink, M, Pejler, G, Wernersson, S (2009)**. Mouse mast cell protease 4 is the major chymase in murine airways and has a protective role in allergic airway inflammation. *J Immunol* 183:6369-6376. DOI: 10.4049/jimmunol.0900180
- [237] **Scandiuizzi, L, Beghdadi, W, Daugas, E, Abrink, M, Tiwari, N, Brochetta, C, Claver, J, Arouche, N, Zang, X, Pretolani, M, Monteiro, RC, Pejler, G, Blank, U (2010)**. Mouse mast cell protease-4 deteriorates renal function by contributing to inflammation and fibrosis in immune complex-mediated glomerulonephritis. *J Immunol* 185:624-633. DOI: 10.4049/jimmunol.0902129
- [238] **Souza-Junior, D, Toso, V, Campos, M, Oliver, C, Jamur, M (2011)**. Mouse mast cell specific-proteases play a role in blood vessel formation during tumor progression.
- [239] **Grützkau, A, Krüger-Krasagakes, S, Kögel, H, Möller, A, Lippert, U, Henz, BM (1997)**. Detection of intracellular interleukin-8 in human mast cells: flow cytometry as a guide for immunoelectron microscopy. *J Histochem Cytochem* 45:935-945. DOI: 10.1177/002215549704500703
- [240] **Sayed, B, Christy, A, Quirion, M, Brown, M (2008)**. The master switch: the role of mast cells in autoimmunity and tolerance. *Annu Rev Immunol* 26:705-739. DOI: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090320
- [241] **Simon, T, László, V, Falus, A (2011)**. Impact of histamine on dendritic cell functions. *Cell Biol Int* 35:997-1000. DOI: 10.1042/CBI20100844

- [242] **Clark, J, Lin, L, Kriz, R, Ramesha, C, Sultzman, L, Lin, A, Milona, N, Knopf, J (1991)**. A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA2 contains a Ca<sup>2+</sup>-dependent translocation domain with homology to PKC and GAP. *Cell* 65:1043-1051. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90556-e
- [243] **Berenbaum, F, Humbert, L, Bereziat, G, Thirion, S (2003)**. Concomitant recruitment of ERK1/2 and p38 MAPK signalling pathway is required for activation of cytoplasmic phospholipase A2 via ATP in articular chondrocytes. *J Biol Chem* 278:13680-13687. DOI: 10.1074/jbc.M211570200
- [244] **Murakami, M, Matsumoto, R, Austen, KF, Arm, JP (1994)**. Prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2 couple to different transmembrane stimuli to generate prostaglandin D2 in mouse bone marrow-derived mast cells. *J Biol Chem* 269:22269-22275. PMID: 8071353
- [245] **Peters, SP, MacGlashan, DW, Schulman, ES, Schleimer, RP, Hayes, EC, Rokach, J, Adkinson, NF, Lichtenstein, LM (1984)**. Arachidonic acid metabolism in purified human lung mast cells. *J Immunol* 132:1972-1979. PMID: 6199420
- [246] **Urade, Y, Ujihara, M, Horiguchi, Y, Igarashi, M, Nagata, A, Ikai, K, Hayaishi, O (1990)**. Mast cells contain spleen-type prostaglandin D synthetase. *J Biol Chem* 265:371-375. PMID: 2403560
- [247] **Lu, R, Kanai, N, Bao, Y, Schuster, VL (1996)**. Cloning, in vitro expression, and tissue distribution of a human prostaglandin transporter cDNA(hPGT). *J Clin Invest* 98:1142-1149. DOI: 10.1172/JCI118897
- [248] **Boie, Y, Sawyer, N, Slipetz, DM, Metters, KM, Abramovitz, M (1995)**. Molecular cloning and characterization of the human prostanoid DP receptor. *J Biol Chem* 270:18910-18916. DOI: 10.1074/jbc.270.32.18910
- [249] **Hirai, H, Tanaka, K, Yoshie, O, Ogawa, K, Kenmotsu, K, Takamori, Y, B Ichimasa, M, Sugamura, K, Nakamura, M, Takano, S, Nagata, K (2001)**. Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* 193:255-261. DOI: 10.1084/jem.193.2.255
- [250] **Weller, CL, Collington, SJ, Hartnell, A, Conroy, DM, Kaise, T, Barker, JE, Wilson, MS, Taylor, GW, Jose, PJ, Williams, TJ (2007)**. Chemotactic action of prostaglandin E2 on mouse mast cells acting via the PGE2 receptor 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:11712-11717. DOI: 10.1073/pnas.0701700104



- [251] **Malaviya, R, Jakschik, BA (1993)**. Reversible translocation of 5-lipoxygenase in mast cells upon IgE/antigen stimulation. *J Biol Chem* 268:4939-4944. PMID: 8444871
- [252] **Dixon, RA, Diehl, RE, Opas, E, Rands, E, Vickers, PJ, Evans, JF, Gillard, JW, Miller, DK (1990)**. Requirement of a 5-lipoxygenase-activating protein for leukotriene synthesis. *Nature* 343:282-284. DOI: 10.1038/343282a0
- [253] **Evans, JF, Dupuis, P, Ford-Hutchinson, AW (1985)**. Purification and characterisation A4 hydrolase from rat neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 840:43-50. of leukotriene DOI: 10.1016/0304-4165(85)90160-6
- [254] **Lam, BK, Penrose, JF, Freeman, GJ, Austen, KF (1994)**. Expression cloning of a cDNA for human leukotriene C4 synthase, an integral membrane protein conjugating reduced glutathione to leukotriene A4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:7663-7667. DOI: 10.1073/pnas.91.16.7663
- [255] **Leier, I, Jedlitschky, G, Buchholz, U, Cole, SP, Deeley, RG, Keppler, D (1994)**. The MRP gene encodes an ATP-dependent export pump for leukotriene C4 and structurally related conjugates. *J Biol Chem* 269:27807-27810. PMID: 7961706
- [256] **Goodarzi, K, Goodarzi, M, Tager, AM, Luster, AD, von Andrian, UH (2003)**. Leukotriene B4 and BLT1 control cytotoxic effector T cell recruitment to inflamed tissues. *Nat Immunol* 4:965-973. DOI: 10.1038/ni972
- [257] **Carlos, D, Machado, ER, De Paula, L, Sá-Nunes, A, Sorgi, CA, Jamur, MC, Oliver, C, Lima, WT, Faccioli, LH (2011)**. Evidence for eosinophil recruitment, leukotriene B4 production and mast cell hyperplasia following *Toxocara canis* infection in rats. *Braz J Med Biol Res* 44:319-326. DOI: 10.1590/s0100-879x2011007500027
- [258] **Malaviya, R, Abraham, SN (2000)**. Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *J Leukoc Biol* 67:841-846. DOI: 10.1002/jlb.67.6.841
- [259] **Boyce, JA (2005)**. Eicosanoid mediators of mast cells: receptors, regulation of synthesis, and pathobiologic implications. *Chem Immunol Allergy* 87:59-79. DOI: 10.1159/000087571

- [260] **Marshall, JS (2004).** Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol* 4:787-799. DOI: 10.1038/nri1460
- [261] **Burd, PR, Rogers, HW, Gordon, JR, Martin, CA, Jayaraman, S, Wilson, SD, Dvorak, AM, Galli, SJ, Dorf, ME (1989).** Interleukin 3-dependent and -independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med* 170:245-257. DOI: 10.1084/jem.170.1.245
- [262] **Galli, S, Kalesnikoff, J, Grimbaldston, M, Piliponsky, A, Williams, C, Tsai, M (2005b).** Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 23:749-786. DOI: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025
- [263] **Metcalf, DD, Peavy, RD, Gilfillan, AM (2009).** Mechanisms of mast cell signaling in anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 124:639-646; quiz 647-638. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.08.035
- [264] **Gilfillan, A, Tkaczyk, C (2006).** Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev Immunol* 6:218-230. DOI: 10.1038/nri1782
- [265] **Galli, S, Nakae, S, Tsai, M (2005a).** Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 6:135-142 DOI: 10.1038/ni1158
- [266] **Wyczolkowska, J, Rydzynski, K, Prouvostdanon, A (1992).** Concavalin A-induced activation of hamster mast-cells - Morphological changes and histamine secretion. *International Archives of Allergy and Immunology* 97:167-172. DOI: 10.1159/000236113
- [267] **Moreno, A, Jamur, M, Oliver, C, Roque-Barreira, M (2003).** Mast cell degranulation induced by lectins: effect on neutrophil recruitment. *Int Arch Allergy Immunol* 132:221-230. DOI: 10.1159/000074303
- [268] **de Almeida Buranello, PA, Moulin, MR, Souza, DA, Jamur, MC, Roque-Barreira, MC, Oliver, C (2010).** The lectin ArtinM induces recruitment of rat mast cells from the bone marrow to the peritoneal cavity. *PLoS One* 5, e9776. DOI: 10.1371/journal.pone.0009776 A. de Almeida Buranello, PA, Moulin, MR, Souza, DA, Jamur, MC, Roque-Barreira, MC, Oliver, C (2010). The lectin ArtinM induces recruitment of rat mast cells from the bone marrow to the peritoneal cavity. *PLoS One* 5, e9776. DOI: 10.1371/journal.pone.0009776

- [269] **Hill, PB, MacDonald, AJ, Thornton, EM, Newlands, GF, Galli, SJ, Miller, HR (1996).** Stem cell factor enhances immunoglobulin E-dependent mediator release from cultured rat bone marrow-derived mast cells: activation of previously unresponsive cells demonstrated by a novel ELISPOT assay. *Immunology* 87:326-333. DOI: 10.1046/j.1365-2567.1996.455545.x
- [270] **Hundley, TR, Gilfillan, AM, Tkaczyk, C, Andrade, MV, Metcalfe, DD, Beaven, MA (2004).** Kit and FcepsilonRI mediate unique and convergent signals for release of inflammatory mediators from human mast cells. *Blood* 104:2410-2417. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0631
- [271] **Tkaczyk, C, Horejsi, V, Iwaki, S, Draber, P, Samelson, LE, Satterthwaite, AB, Nahm, DH, Metcalfe, DD, Gilfillan, AM (2004a).** NTAL phosphorylation is a pivotal link between the signaling cascades leading to human mast cell degranulation following Kit activation and Fc epsilon RI aggregation. *Blood* 104:207-214. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2769
- [272] **Mekori, YA, Galli, SJ (1990).** [125I]fibrin deposition occurs at both early and late intervals of IgE-dependent or contact sensitivity reactions elicited in mouse skin. Mast cell-dependent augmentation of fibrin deposition at early intervals in combined IgE-dependent and contact sensitivity reactions. *J Immunol* 145:3719-3727. 2246510
- [273] **Kauhanen, P, Kovanen, PT, Reunala, T, Lassila, R (1998).** Effects of skin mast cells on bleeding time and coagulation activation at the site of platelet plug formation. *Thromb Haemost* 79:843-847. PMID: 9569202
- [274] **Huang, C, Wong, GW, Ghildyal, N, Gurish, MF, Sali, A, Matsumoto, R, Qiu, WT, Stevens, RL (1997).** The tryptase, mouse mast cell protease 7, exhibits anticoagulant activity in vivo and in vitro due to its ability to degrade fibrinogen in the presence of the diverse array of protease inhibitors in plasma. *J Biol Chem* 272:31885-31893. DOI: 10.1074/jbc.272.50.31885
- [275] **Gottwald, T, Coerper, S, Schäffer, M, Köveker, G, Stead, RH (1998).** The mast cell-nerve axis in wound healing: a hypothesis. *Wound Repair Regen* 6:8-20. DOI: 10.1046/j.1524-475x.1998.60104.x
- [276] **Thomas, VA, Wheelless, CJ, Stack, MS, Johnson, DA (1998).** Human mast cell tryptase fibrinogenolysis: kinetics, anticoagulation mechanism, and cell adhesion disruption. *Biochemistry* 37:2291-2298 DOI: 10.1021/bi972119z

- [277] **Rock, MJ, Despot, J, Lemanske, RF (1990).** Mast cell granules modulate alveolar macrophage respiratory-burst activity and eicosanoid metabolism. *J Allergy Clin Immunol* 86:452-461. DOI: 10.1016/s0091-6749(05)80199-x
- [278] **Kanwar, S, Kubes, P (1994).** Ischemia/reperfusion-induced granulocyte influx is a multistep process mediated by mast cells. *Microcirculation* 1:175-182. DOI: 10.3109/10739689409148272
- [279] **Levi-Schaffer, F, Kupietzky, A (1990).** Mast cells enhance migration and proliferation of fibroblasts into an in vitro wound. *Exp Cell Res* 188:42-49. DOI: 10.1016/0014-4827(90)90275-f
- [280] **Katayama, I, Yokozeki, H, Nishioka, K (1992).** Mast-cell-derived mediators induce epidermal cell proliferation: clue for lichenified skin lesion formation in atopic dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol* 98:410-414. DOI: 10.1159/000236218
- [281] **Meininger, CJ, Zetter, BR (1992).** Mast cells and angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 3:73-79. PMID: 1378312
- [282] **Moulin, V, Castilloux, G, Auger, FA, Garrel, D, O'Connor-McCourt, MD, Germain, L (1998).** Modulated response to cytokines of human wound healing myofibroblasts compared to dermal fibroblasts. *Exp Cell Res* 238:283-293. DOI: 10.1006/excr.1997.3827
- [283] **Matsuda, H, Koyama, H, Sato, H, Sawada, J, Itakura, A, Tanaka, A, Matsumoto, M, Konno, K, Ushio, H, Matsuda, K (1998).** Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: accelerating effects in normal and healing-impaired diabetic mice. *J Exp Med* 187:297-306. DOI: 10.1084/jem.187.3.297
- [284] **Schäffer, M, Beiter, T, Becker, HD, Hunt, TK (1998).** Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair. *Arch Surg* 133:1107-1116. DOI: 10.1001/archsurg.133.10.1107
- [285] **Van Nassauw, L, Adriaensen, D, Timmermans, JP (2007).** The bidirectional communication between neurons and mast cells within the gastrointestinal tract. *Auton Neurosci* 133:91-103. DOI: 10.1016/j.autneu.2006.10.003

- [286] **Beltrami, CA, Mallardi, F, Ribatti, D (2004).** The mast cell: an active participant or an innocent bystander? *Histol Histopathol* 19:259-270. DOI: 10.14670/HH-19.259
- [287] **D'Amore, PA, Thompson, RW (1987).** Mechanisms of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 49:453-464. DOI: 10.1146/annurev.ph.49.030187.002321
- [288] **Juczevska, M, Chychezski, L (1997).** Angiogenesis in cancer. *Rocz Akad Med Bialymst* 42 Suppl 1:86-100. PMID: 9337527
- [289] **Metz, M, Siebenhaar, F, Maurer, M (2008).** Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology* 213:251-260. DOI: 10.1016/j.imbio.2007.10.017
- [290] **Fukuda, M, Ushio, H, Kawasaki, J, Niyonsaba, F, Takeuchi, M, Baba, T, Hiramatsu, K, Okumura, K, Ogawa, H (2013).** Expression and functional characterization of retinoic acid-inducible gene-I-like receptors of mast cells in response to viral infection. *J Innate Immun* 5:163-173. DOI: 10.1159/000343895
- [291] **Graham, AC, Hilmer, KM, Zickovich, JM, Obar, JJ (2013).** Inflammatory response of mast cells during influenza A virus infection is mediated by active infection and RIG-I signaling. *J Immunol* 190:4676-4684. DOI: 10.4049/jimmunol.1202096
- [292] **Gordon, JR, Galli, SJ (1990).** Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF-alpha/cachectin. *Nature* 346:274-276 DOI: 10.1038/346274a0
- [293] **Huang, C, Friend, DS, Qiu, WT, Wong, GW, Morales, G, Hunt, J, Stevens, RL (1998).** Induction of a selective and persistent extravasation of neutrophils into the peritoneal cavity by tryptase mouse mast cell protease 6. *J Immunol* 160:1910-1919. PMID: 9469453
- [294] **Biedermann, T, Kneilling, M, Mailhammer, R, Maier, K, Sander, CA, Kollias, G, Kunkel, SL, Hültner, L, Röcken, M (2000).** Mast cells control neutrophil recruitment during T cell-mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein 2. *J Exp Med* 192:1441-1452. DOI: 10.1084/jem.192.10.1441
- [295] **De Filippo, K, Dudeck, A, Hasenberg, M, Nye, E, van Rooijen, N, Hartmann, K, Gunzer, M, Roers, A, Hogg, N (2013).** Mast cell and

macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. *Blood* 121:4930-4937. DOI: 10.1182/blood-2013-02-486217

- [296] **Supajatura, V, Ushio, H, Nakao, A, Okumura, K, Ra, C, Ogawa, H (2001)**. Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by Toll-like receptor 4. *J Immunol* 167:2250-2256. DOI: 10.4049/jimmunol.167.4.2250
- [297] **Rodriguez, AR, Yu, JJ, Murthy, AK, Guentzel, MN, Klose, KE, Forsthuber, TG, Chambers, JP, Berton, MT, Arulanandam, BP (2011)**. Mast cell/IL-4 control of *Francisella tularensis* replication and host cell death is associated with increased ATP production and phagosomal acidification. *Mucosal Immunol* 4:217-226. DOI: 10.1038/mi.2010.59
- [298] **Rodriguez, AR, Yu, JJ, Guentzel, MN, Navara, CS, Klose, KE, Forsthuber, TG, Chambers, JP, Berton, MT, Arulanandam, BP (2012)**. Mast Cell TLR2 Signaling Is Crucial for Effective Killing of *Francisella tularensis*. *J Immunol*. DOI: 10.4049/jimmunol.1200039
- [299] **Féger SN, F, Varadaradjalou, S, Gao, Z, Abraham, , Arock, M (2002)**. The role of mast cells in host defense and their subversion by bacterial pathogens. *Trends Immunol* 23:151-158. DOI: 10.1016/s1471-4906(01)02156-1
- [300] **Di Nardo, A, Vitiello, A, Gallo, RL (2003)**. Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J Immunol* 170:2274-2278. DOI: 10.4049/jimmunol.170.5.2274
- [301] **Wei, OL, Hilliard, A, Kalman, D, Sherman, M (2005)**. Mast cells limit systemic bacterial dissemination but not colitis in response to *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun* 73:1978-1985. DOI: 10.1128/IAI.73.4.1978-1985.2005
- [302] **Campagna, S, Saint, N, Molle, G, Aumelas, A (2007)**. Structure and mechanism of action of the antimicrobial peptide piscidin. *Biochemistry* 46:1771-1778. DOI: 10.1021/bi0620297

- [303] **Malaviya, R, Ross, EA, MacGregor, JI, Ikeda, T, Little, JR, Jakschik, BA, Abraham, SN (1994).** Mast cell phagocytosis of FimH-expressing enterobacteria. *J Immunol* 152:1907-1914. PMID: 8120397
- [304] **von Köckritz-Blickwede, M, Goldmann, O, Thulin, P, Heinemann, K, Norrby-Teglund, A, Rohde, M, Medina, E (2008).** Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* 111:3070-3080. DOI: 10.1182/blood-2007-07-104018
- [305] **Maurer, M, Wedemeyer, J, Metz, M, Piliponsky, AM, Weller, K, Chatterjea, D, Clouthier, DE, Yanagisawa, MM, Tsai, M, Galli, SJ (2004).** Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature* 432:512-516. DOI: 10.1038/nature03085
- [306] **Metz, M, Piliponsky, AM, Chen, CC, Lammel, V, Abrink, M, Pejler, G, Tsai, M, Galli, SJ (2006).** Mast cells can enhance resistance to snake and honeybee venoms. *Science* 313:526-530. DOI: 10.1126/science.1128877
- [307] **Schneider, LA, Schlenner, SM, Feyerabend, TB, Wunderlin, M, Rodewald, HR (2007).** Molecular mechanism of mast cell mediated innate defense against endothelin and snake venom sarafotoxin. *J Exp Med* 204:2629-2639. DOI: 10.1084/jem.20071262
- [308] **Piliponsky, AM, Chen, CC, Nishimura, T, Metz, M, Rios, EJ, Dobner, PR, Wada, E, Wada, K, Zacharias, S, Mohanasundaram, UM, Faix, JD, Abrink, M, Pejler, G, Pearl, RG, Tsai, M, Galli, SJ (2008).** Neurotensin increases mortality and mast cells reduce neurotensin levels in a mouse model of sepsis. *Nat Med* 14:392-398. DOI: 10.1038/nm1738
- [309] **Akahoshi, M, Song, CH, Piliponsky, AM, Metz, M, Guzzetta, A, Abrink, M, Schlenner, SM, Feyerabend, TB, Rodewald, HR, Pejler, G, Tsai, M, Galli, SJ (2011).** Mast cell chymase reduces the toxicity of Gila monster venom, scorpion venom, and vasoactive intestinal polypeptide in mice. *J Clin Invest* 121:4180-4191. DOI: 10.1172/JCI46139
- [310] **Malaviya, R, Twesten, NJ, Ross, EA, Abraham, SN, Pfeifer, JD (1996).** Mast cells process bacterial Ags through a phagocytic route for class I MHC presentation to T cells. *J Immunol* 156:1490-1496. PMID: 8568252

- [311] **Poncet, P, Arock, M, David, B (1999)**. MHC class II-dependent activation of CD4+ T cell hybridomas by human mast cells through superantigen presentation. *J Leukoc Biol* 66:105-112. DOI: 10.1002/jlb.66.1.105
- [312] **Stelekati, E, Bahri, R, D'Orlando, O, Orinska, Z, Mittrücker, HW, Langenhaun, R, Glatzel, M, Bollinger, A, Paus, R, Bulfone-Paus, S (2009)**. Mast cell-mediated antigen presentation regulates CD8+ T cell effector functions. *Immunity* 31:665-676. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.08.022
- [313] **Reuter, S, Stassen, M, Taube, C (2010)**. Mast cells in allergic asthma and beyond. *Yonsei Med J* 51:797-807. DOI: 10.3349/ymj.2010.51.6.797
- [314] **Suto, H, Nakae, S, Kakurai, M, Sedgwick, JD, Tsai, M, Galli, SJ (2006)**. Mast cell-associated TNF promotes dendritic cell migration. *J Immunol* 176:4102-4112. DOI: 10.4049/jimmunol.176.7.4102
- [315] **Heib, V, Becker, M, Warger, T, Rechtsteiner, G, Tertilt, C, Klein, M, Bopp, T, Taube, C, Schild, H, Schmitt, E, Stassen, M (2007)**. Mast cells are crucial for early inflammation, migration of Langerhans cells, and CTL responses following topical application of TLR7 ligand in mice. *Blood* 110:946-953. DOI: 10.1182/blood-2006-07-036889
- [316] **McIlroy, A, Caron, G, Blanchard, S, Frémaux, I, Duluc, D, Delneste, Y, Chevailler, A, Jeannin, P (2006)**. Histamine and prostaglandin E up-regulate the production of Th2-attracting chemokines (CCL17 and CCL22) and down-regulate IFN-gamma-induced CXCL10 production by immature human dendritic cells. *Immunology* 117:507-516. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02326.x
- [317] **Theiner, G, Gessner, A, Lutz, MB (2006)**. The mast cell mediator PGD2 suppresses IL-12 release by dendritic cells leading to Th2 polarized immune responses in vivo. *Immunobiology* 211:463-472. DOI: 10.1016/j.imbio.2006.05.020
- [318] **Harding, C, Heuser, J, Stahl, P (1983)**. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol* 97:329-339. DOI: 10.1083/jcb.97.2.329



- [319] **Raposo, G, Tenza, D, Mecheri, S, Peronet, R, Bonnerot, C, Desaymard, C (1997)**. Accumulation of major histocompatibility complex class II molecules in mast cell secretory granules and their release upon degranulation. *Mol Biol Cell* 8:2631-2645. DOI: 10.1091/mbc.8.12.2631
- [320] **Shefler, I, Salamon, P, Hershko, AY, Mekori, YA (2011)**. Mast cells as sources and targets of membrane vesicles. *Curr Pharm Des* 17:3797-3804. DOI: 10.2174/138161211798357836
- [321] **Skokos, D, Botros, HG, Demeure, C, Morin, J, Peronet, R, Birkenmeier, G, Boudaly, S, Mécheri, S (2003)**. Mast cell-derived exosomes induce phenotypic and functional maturation of dendritic cells and elicit specific immune responses in vivo. *J Immunol* 170:3037-3045. DOI: 10.4049/jimmunol.170.6.3037
- [322] **Nakae, S, Suto, H, Kakurai, M, Sedgwick, JD, Tsai, M, Galli, SJ (2005)**. Mast cells enhance T cell activation: Importance of mast cell-derived TNF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:6467-6472. DOI: 10.1073/pnas.0501912102
- [323] **Nakae, S, Suto, H, Iikura, M, Kakurai, M, Sedgwick, JD, Tsai, M, Galli, SJ (2006)**. Mast cells enhance T cell activation: importance of mast cell costimulatory molecules and secreted TNF. *J Immunol* 176:2238-2248. DOI: 10.4049/jimmunol.176.4.2238
- [324] **Hart, PH, Grimaldeston, MA, Swift, GJ, Jaksic, A, Noonan, FP, Finlay-Jones, JJ (1998)**. Dermal mast cells determine susceptibility to ultraviolet B-induced systemic suppression of contact hypersensitivity responses in mice. *J Exp Med* 187:2045-2053. DOI: 10.1084/jem.187.12.2045
- [325] **Hart, PH, Townley, SL, Grimaldeston, MA, Khalil, Z, Finlay-Jones, JJ (2002)**. Mast cells, neuropeptides, histamine, and prostaglandins in UV-induced systemic immunosuppression. *Methods* 28:79-89. DOI: 10.1016/s1046-2023(02)00201-3

- [326] **Gimbaldeston, M, Nakae, S, Kalesnikoff, J, Tsai, M, Galli, S (2007).** Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. *Nat Immunol* 8:1095-1104. DOI: 10.1038/ni1503
- [327] **Rao, K, Brown, M (2008).** Mast cells: multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 1143:83-104. DOI: 10.1196/annals.1443.023
- [328] **Lu, LF, Lind, EF, Gondek, DC, Bennett, KA, Gleeson, MW, Pino-Lagos, K, Scott, ZA, Coyle, AJ, Reed, JL, Van Snick, J, Strom, TB, Zheng, XX, Noelle, RJ (2006).** Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature* 442:997-1002. DOI: 10.1038/nature05010
- [329] **de Vries, VC, Noelle, RJ (2010).** Mast cell mediators in tolerance. *Curr Opin Immunol* 22:643-648. DOI: 10.1016/j.coi.2010.08.015
- [330] **de Vries, VC, Pino-Lagos, K, Elgueta, R, Noelle, RJ (2009).** The enigmatic role of mast cells in dominant tolerance. *Curr Opin Organ Transplant* 14:332-337. DOI: 10.1097/MOT.0b013e32832ce87a
- [331] **Gillespie, SR, DeMartino, RR, Zhu, J, Chong, HJ, Ramirez, C, Shelburne, CP, Bouton, LA, Bailey, DP, Gharse, A, Mirmonsef, P, Odom, S, Gomez, G, Rivera, J, Fischer-Stenger, K, Ryan, JJ (2004).** IL-10 inhibits Fc epsilon RI expression in mouse mast cells. *J Immunol* 172:3181-3188. DOI: 10.4049/jimmunol.172.5.3181
- [332] **Gomez, G, Ramirez, CD, Rivera, J, Patel, M, Norozian, F, Wright, HV, Kashyap, MV, Barnstein, BO, Fischer-Stenger, K, Schwartz, LB, Kepley, CL, Ryan, JJ (2005).** TGF-beta 1 inhibits mast cell Fc epsilon RI expression. *J Immunol* 174:5987-5993. DOI: 10.4049/jimmunol.174.10.5987
- [333] **Byrne, SN, Limón-Flores, AY, Ullrich, SE (2008).** Mast cell migration from the skin to the draining lymph nodes upon ultraviolet irradiation represents a key

step in the induction of immune suppression. *J Immunol* 180:4648-4655. DOI: 10.4049/jimmunol.180.7.4648

- [334] **Mellon, MB, Frank, BT, Fang, KC (2002)**. Mast cell alpha-chymase reduces IgE recognition of birch pollen profilin by cleaving antibody-binding epitopes. *J Immunol* 168:290-297. DOI: 10.4049/jimmunol.168.1.290
- [335] **Pang, L, Nie, M, Corbett, L, Sutcliffe, A, Knox, AJ (2006)**. Mast cell beta-tryptase selectively cleaves eotaxin and RANTES and abrogates their eosinophil chemotactic activities. *J Immunol* 176:3788-3795. DOI: 10.4049/jimmunol.176.6.3788
- [336] **Rauter, I, Krauth, MT, Flicker, S, Gieras, A, Westritschnig, K, Vrtala, S, Balic, N, Spitzauer, S, Huss-Marp, J, Brockow, K, Darsow, U, Ring, J, Behrendt, H, Semper, H, Valent, P, Valenta, R (2006)**. Allergen cleavage by effector cell-derived proteases regulates allergic inflammation. *FASEB J* 20:967-969. DOI: 10.1096/fj.05-3999fje
- [337] **Thakurdas, SM, Melicoff, E, Sansores-Garcia, L, Moreira, DC, Petrova, Y, Stevens, RL, Adachi, R (2007)**. The mast cell-restricted tryptase mMCP-6 has a critical immunoprotective role in bacterial infections. *J Biol Chem* 282:20809-20815. DOI: 10.1074/jbc.M611842200
- [338] **Rauter, I, Krauth, MT, Westritschnig, K, Horak, F, Flicker, S, Gieras, A, Repa, A, Balic, N, Spitzauer, S, Huss-Marp, J, Brockow, K, Darsow, U, Behrendt, H, Ring, J, Kricek, F, Valent, P, Valenta, R (2008)**. Mast cell-derived proteases control allergic inflammation through cleavage of IgE. *J Allergy Clin Immunol* 121:197-202. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.08.015
- [339] **Waern, I, Jonasson, S, Hjoberg, J, Bucht, A, Abrink, M, Pejler, G, Wernersson, S (2009)**. Mouse mast cell protease 4 is the major chymase in murine airways and has a protective role in allergic airway inflammation. *J Immunol* 183:6369-6376. DOI: 10.4049/jimmunol.0900180
- [340] **Eisenbarth, SC, Piggott, DA, Huleatt, JW, Visintin, I, Herrick, CA, Bottomly, K (2002)**. Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-

dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 196:1645-1651. DOI: 10.1084/jem.20021340

- [341] **Nigo, YI, Yamashita, M, Hirahara, K, Shinnakasu, R, Inami, M, Kimura, M, Hasegawa, A, Kohno, Y, Nakayama, T (2006)**. Regulation of allergic airway inflammation through Toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2286-2291. DOI: 10.1073/pnas.0510685103
- [342] **Hofmann, AM, Abraham, SN (2009)**. New roles for mast cells in modulating allergic reactions and immunity against pathogens. *Curr Opin Immunol* 21:679-686. DOI: 10.1016/j.coi.2009.09.007
- [343] **Williams, CM, Galli, SJ (2000)**. The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 105:847-859. DOI: 10.1067/mai.2000.106485
- [344] **Grimbaldeston, MA, Metz, M, Yu, M, Tsai, M, Galli, SJ (2006)**. Effector and potential immunoregulatory roles of mast cells in IgE-associated acquired immune responses. *Curr Opin Immunol* 18:751-760. DOI: 10.1016/j.coi.2006.09.011
- [345] **Brown, J, Wilson, T, Metcalfe, D (2008)**. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin and Exp Allergy* 38:4-18. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02886.x
- [346] **Whithead, R (1980)**. Pathology of Crohn's disease. In *Inflammatory Bowel Disease.*, J Kirsner, R.S. , ed (Philadelphia: Lea & Febiger), pp. 296–307.
- [347] **Dvorak, AM, Monahan, RA, Osage, JE, Dickersin, GR (1980a)**. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. II. Immunologic inflammatory response. Alterations of mast cells, basophils, eosinophils, and the microvasculature. *Hum Pathol* 11:606-619. DOI: 10.1016/s0046-8177(80)80072-4

- [348] **Dvorak, AM, Osage, JE, Monahan, RA, Dickersin, GR (1980b)**. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. III. Target tissues. Proliferation of and injury to smooth muscle and the autonomic nervous system. *Hum Pathol* 11:620-634. DOI: 10.1016/s0046-8177(80)80073-6
- [349] **Gelbmann, CM, Mestermann, S, Gross, V, Köllinger, M, Schölmerich, J, Falk, W (1999)**. Strictures in Crohn's disease are characterised by an accumulation of mast cells colocalised with laminin but not with fibronectin or vitronectin. *Gut* 45:210-217. DOI: 10.1136/gut.45.2.210
- [350] **Middel, P, Reich, K, Polzien, F, Blaschke, V, Hemmerlein, B, Herms, J, Korabiowska, M, Radzun, HJ (2001)**. Interleukin 16 expression and phenotype of interleukin 16 producing cells in Crohn's disease. *Gut* 49:795-803. DOI: 10.1136/gut.49.6.795
- [351] **Christy, AL, Brown, MA (2007)**. The multitasking mast cell: positive and negative roles in the progression of autoimmunity. *J Immunol* 179:2673-2679. DOI: 10.4049/jimmunol.179.5.2673
- [352] **Wintroub, BU, Mihm, MC, Goetzl, EJ, Soter, NA, Austen, KF (1978)**. Morphologic and functional evidence for release of mast-cell products in bullous pemphigoid. *N Engl J Med* 298:417-421. DOI: 10.1056/NEJM197802232980803
- [353] **Yamamoto, T, Katayama, I, Nishioka, K (1995)**. Mast cell numbers in multiple dermatofibromas. *Dermatology* 190:9-13. DOI: 10.1159/000246626
- [354] **Dines, KC, Powell, HC (1997)**. Mast cell interactions with the nervous system: relationship to mechanisms of disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:627-640. PMID: 9184654
- [355] **Geoffrey, R, Jia, S, Kwitek, AE, Woodliff, J, Ghosh, S, Lernmark, A, Wang, X, Hessner, MJ (2006)**. Evidence of a functional role for mast cells in the development of type 1 diabetes mellitus in the BioBreeding rat. *J Immunol* 177:7275-7286. DOI: 10.4049/jimmunol.177.10.7275

- [356] **Ishii, T, Fujita, T, Matsushita, T, Yanaba, K, Hasegawa, M, Nakashima, H, Ogawa, F, Shimizu, K, Takehara, K, Tedder, TF, Sato, S, Fujimoto, M (2009).** Establishment of experimental eosinophilic vasculitis by IgE-mediated cutaneous reverse passive arthus reaction. *Am J Pathol* 174:2225-2233. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080223
- [357] **Saini, SS, Paterniti, M, Vasagar, K, Gibbons, SP, Sterba, PM, Vonakis, BM (2009).** Cultured peripheral blood mast cells from chronic idiopathic urticaria patients spontaneously degranulate upon IgE sensitization: Relationship to expression of Syk and SHIP-2. *Clin Immunol* 132:342-348. DOI: 10.1016/j.clim. 2009.05.003
- [358] **Weaver, CT, Harrington, LE, Mangan, PR, Gavrieli, M, Murphy, KM (2006).** Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity* 24:677-688. DOI: 10.1016/j.immuni. 2006.06.002
- [359] **Brown, MA, Tanzola, MB, Robbie-Ryan, M (2002).** Mechanisms underlying mast cell influence on EAE disease course. *Mol Immunol* 38:1373-1378. DOI: 10.1016/s0161-5890(02)00091-3
- [360] **Rozniecki, JJ, Hauser, SL, Stein, M, Lincoln, R, Theoharides, TC (1995).** Elevated mast cell tryptase in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 37:63-66. DOI: 10.1002/ana.410370112
- [361] **Zhang, C, Li, X, Niu, D, Zi, R, Wang, C, Han, A, Wang, X, Li, K, Wang, J (2011).** Increased serum levels of  $\beta$ 2-GPI-Lp(a) complexes and their association with premature atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 412:1332-1336. DOI: 10.1016/j.cca.2011.03.029
- [362] **Patella, V, de Crescenzo, G, Ciccarelli, A, Marinò, I, Adt, M, Marone, G (1995).** Human heart mast cells: a definitive case of mast cell heterogeneity. *Int Arch Allergy Immunol* 106:386-393. DOI: 10.1159/000236871
- [363] **Constantinides, P (1995).** Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation* 92:1083. DOI: 10.1161/01.cir.92.5.1083

- [364] **Lee, M, Kovanen, PT, Tedeschi, G, Oungre, E, Franceschini, G, Calabresi, L (2003).** Apolipoprotein composition and particle size affect HDL degradation by chymase: effect on cellular cholesterol efflux. *J Lipid Res* 44:539-546. DOI: 10.1194/jlr.M200420-JLR200
- [365] **Takanami, I, Takeuchi, K, Naruke, M (2000).** Mast cell density is associated with angiogenesis and poor prognosis in pulmonary adenocarcinoma. *Cancer* 88:2686-2692. PMID: 10870050
- [366] **Conti, P, Castellani, ML, Kempuraj, D, Salini, V, Vecchiet, J, Tetè, S, Mastrangelo, F, Perrella, A, De Lutiis, MA, Tagen, M, Theoharides, TC (2007).** Role of mast cells in tumor growth. *Ann Clin Lab Sci* 37:315-322. PMID: 18000287
- [367] **Dabiri, S, Huntsman, D, Makretsov, N, Cheang, M, Gilks, B, Bajdik, C, Badjik, C, Gelmon, K, Chia, S, Hayes, M (2004).** The presence of stromal mast cells identifies a subset of invasive breast cancers with a favorable prognosis. *Mod Pathol* 17:690-695. DOI: 10.1038/modpathol.3800094.
- [368] **Alexandrakis MG, Passam FH, Pappa CA, Damilakis J, Tsirakis G, E, Passam AM, Stathopoulos EN, Kyriakou DS:** Serum Evaluation of Angigenic Cytokines Basic Fibroblast Growth Factor, Hepatocyte Growth Factor, and TNF-Alpha in Patients With Myelodysplastic Syndromes: Correlation with Bone Marrow Microvascular Density. *Int J Immunol Immunopathol Immunopharmacol* 2005: 18(2): 287-295. DOI: 101177/039463200501800211  
<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/039463200501800211>
- [369] **Ch'ng, S, Wallis, RA, Yuan, L, Davis, PF, Tan, ST (2006).** Mast cells and cutaneous malignancies. *Mod Pathol* 19:149-159. DOI: 10.1038/modpathol.3800474. DOI: 10.1038/modpathol.3800474
- [370] **Dyduch, G, Kaczmarczyk, K, Okoń, K (2012).** Mast cells and cancer: enemies or allies. *Pol J Pathol* 63:1-7. PMID: 22535614

- [371] **Angelica Aponte-Lopez, Samira Muñoz-Cruz:** Mast cells in the tumor microenvironment. *Adv Exp Med Biol* 2020; 1273:159-173. DOI:10.1007/978-3-030-49270-0\_9
- [372] **Paolino G, Cprsetti P, Moliterni E, Corsetti S, Didona D, Albanesi M, Mattozi C, Lido P, Calvieri S:** Mast cells and Cancer . *G Ital Dermatol Venereol* 2019 154: 650-68. DOI: 10.23736/S0392-0488.17.05818-7
- [373] **Strattan E, Palaniyandi S, Kumari R, Du J, Hakim N, HuangT, Kesaler MV, Jennings CD, Sturgill JL, Hildestrandt GC.** Mast Cells Are Mediators of Fibrosis and Effector Cell Recruitment in Dermal Chronic Graft – vs.-Host Disease *Front Immunol* 2019 10:2470. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02470.
- [374] **Dunphy CH:** Evaluation of Mast Cells in Myeloproliferative Disorders and Myelodysplastic syndromes. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 192(2):219-222. DOI: org/105858/2005-129-219-EOMCIM
- [375] **Komi, D.E.A., Redegeld F.A.:** Role of mast cells in shaping the tumor microenviroment. *Clin Rev Allergy Immunol* 2020(June): 58(3):313-325. DOI:10.1007/s10016-019-08753-w  
w.<https://link.springer.com/article/10.1007/s12016-019-08753-w>
- [376] **Hane, M.R., Giacomantonio C.A., Marshall, J.S.:** Mast cells and skin and breast cancers: A complicated and microenvironment-dependent role. *Cells* 2021 Apr 23: 10(5):986. DOI:10.3390/cells10050986, PMID33922465  
<https://www.mdpi.com/2073-4409/10/5/986>
- [377] **Kong, P., Christia, P., Frangogiannis, N.G.:** The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(4):549-74. DOI 10.1007/s00018-013-1349-6. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-013-1349-6>
- [378] **H-P Horny, A Greschniok, J-H Jordan, DM Menke, V Valent:** Chymase expressing bone marrow mast cells in mastocytosis and MDS: an



immunohistochemical and morphometric study. *J Clin Pathol* 2003;56(2):103-6. DOI:10.1136/jcp.56.2.103. <https://jcp.bmj.com/content/56/2/103>

- [379] **D Ribatti, G Polimeno, A Vacca, A Merzullo, E Grivalato, B Nicco, G Lucarelli, E Damacco:** Correlation of Bone Marrow angiogenesis and Mast Cells With Tryptase Activity in MDS. *Leukemia* 2002Sep; 16(9):1680-4. DOI:10.1038/sj.leu.2402586 <https://www.nature.com/articles/2402586>
- [380] **L Yang, Y Pian, EEksioglou, PKEpling-Burnette, S Wei:** The inflammatory microenvironment in MDS. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72(10):1959-66. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-015-1846-x>
- [381] **Weiner N, Folkman J, Pazza F, Bevilacqua P, Alfred EN, Moor S, Meli S, Gasparini G:** Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1875. DOI: 10.1093/JNCI/84.24.1875
- [382] **Chung YS, Maeda K, Sowa M:** Prognostic Value of angiogenesis in gastrointestinal tumors. *Eur J Cancer* 1996; 32:2501. DOI:10.1016/s0959-8049(96)00382-6
- [383] **Aguayo, A., Armillas-Canseco, F.M., Martínez-Baños, D.:** Antiangiogenesis in myelodysplastic syndrome. *Curr Cancer Drug Targets* 2001; 11(9):1044-52. DOI: 10.2174/156800911798073104
- [384] **De Palma, M., Biziato, D., Petrova, T.V.:** Microenvironmental regulation of tumor angiogen. DOIesis *Nat Rev Cancer* 2017; 17(8): 457-474. DOI: 10.1038/nrc.2017.51

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Mast Cells in Myelodysplastic Syndromes

Karras George MD<sup>1</sup>, Garlemou Kallina PhD<sup>1</sup>, Mpakosi Alexandra PhD<sup>3</sup>, Karadonta Argyroula MD<sup>2</sup>, Cholevas Vasileios<sup>1</sup>, Kyriakou Despoina MD, PhD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>University of Thessaly, Faculty of Medicine, Haematology Department, Biopolis Larisa 41334, Greece,

<sup>2</sup>University Hospital of Larisa, Biopolis, Larisa 41334, Greece,

<sup>3</sup> Department of Microbiology, General Hospital of Nikaia, Agios Panteleimon, Greece.

International Jurnal Cancer Research in press article no : 109962-IJCR-ANSI

**Running title:** Mast Cells in MDS

**Significance Statement:** The microenvironment plays an important role in MDS evolution. Studying the factors of the microenvironment that contribute to malignant clone growth and evolution and the use of proper agents targeting microenvironment might help in delaying disease progression.

**Contribution of the author:** Karras G, Garlemou K, Kyriakou D contributed in patients' follow up, BM smears' process and immunocytochemistry as well as microvascular density calculation, Mpakosi A did the ELISA measurements, Karadonta A and Cholevas V provided most of the patients, Karras G and Kyriakou D did the statistical analysis. All the authors contributed in the study design.

**Conflict of Interest:** There is no conflict of interest

## ABSTRACT

**Background and Objective:** Myelodysplastic syndromes (MDS) are clonal haemopoietic disorders with a high frequency of leukemic transformation. The role of mast cells (MCs) in this process is not well clarified. The aim was to study the number of mast cells, the secreted cytokines, and the microvascular density (MVD) in MDS and Controls to clarify the possible role of mast cells in the disease progression in these patients. **Materials and Methods:** Seventy-three patients and 60 healthy individuals were involved in the study. Thirty-Seven belonged to the low/intermediate-1 risk group and 36 to the high/intermediate-2 group. Toluidine Blue in bone marrow smears was used for MCs measurement. Tryptase and chymase expression was estimated by immunocytochemistry. CD34(+) cells were calculated by flow cytometry. Chymase and tryptase serum levels were measured by ELISA. MVD was calculated by measuring the number of endothelial cells per 0.0625mm<sup>2</sup> field area in paraffin sections. **Results:** An increased number of CD34 (+) cells, as well as MCs in the bone marrow of patients, was found. MCs in patients expressed predominantly tryptase and did not present dysplastic features. Serum tryptase was higher in MDS compared to the normals. MVD was higher in MDS compared to normals. There was a positive correlation between CD34(+) cells and MCs as well as between MCs and MVD. High/intermediate-2 patients had a higher number of MCs, CD34(+) cells and MVD compared to low/intermediate-1 cells and normals. **Conclusions:** MCs in MDS do not seem to belong to the malignant clone, accumulate probably reactively and may contribute to the clone evolution by supporting angiogenesis and tumour microenvironment.

**Keywords:** Mast Cells, Myelodysplastic Syndromes, angiogenesis, Refractory Anaemia, CD34(+) cells, Tryptase, bone marrow microenvironment

## INTRODUCTION

Mast cells (MC) are derived from the haematopoietic progenitor cell <sup>1</sup> and the committed MC was isolated in 2005<sup>2</sup>. They contribute to tissue regeneration, and tissue and organ homeostasis that present continuous increase and reconstruction through mediators they produce and store <sup>3-17</sup>. Their role in angiogenesis is also well recognized <sup>18</sup>.

In addition, MCs have a significant role in neuroimmunological regulation, neurogenesis and behaviour <sup>15,16</sup>. They also recognize and react to antigens, toxins, and pathogens they have an antigen presentation function and they have a role in immune tolerance through a complicated network of receptors, mediators and enzymes <sup>19-52</sup>.

In malignancies the role of MCs is controversial. In most cases increased presence of MCs is related to poor prognosis and rapid disease progression <sup>53,54</sup>. In some cases, MCs are related to better prognosis <sup>55</sup>. MCs are attracted to the tumour environment from factors secreted by the tumour. They contribute to tumour growth through the secretion of angiogenic and mitogenic factors <sup>56</sup>. Their antineoplastic function is achieved through the inhibition of cell growth, induction of apoptosis, reduction of cell mobilization, and enhancement of antineoplastic inflammation <sup>57</sup>.

In haematological malignancies, MCs have been described to belong to the malignant clone or be reactive and infiltrate the microenvironment.

Myelodysplastic syndromes are a heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell malignancies characterized by dysplastic features, ineffective haemopoiesis, and frequent evolution to acute leukaemia <sup>58-65</sup>.

There were some publications on MCs in MDS,  $\leftrightarrow$  microvascular density (MVD) and disease progression. The results are controversial and the number of patients is small.<sup>66,67</sup>

Hence this article studied the number of MCs, the tryptase and chymase production and the MVD as well as their relation to the risk status of the patient to contribute to the study of the role of these cells in these syndromes.

## MATERIALS AND METHODS

**Study area:** The study was carried out at the Hematology Department, University Hospital of Larisa, University of Thessaly, Larisa, Greece from 2009 to 2017.

### *Patients*

Seventy-three consecutive patients have been studied 37 females and 36 males with MDS who were referred to the University Hospital of Larisa between the years 2009 and 2012. The median age of males was 72 years (range 35-86) and of females 69 years (range 59-81). For MDS classification FAB<sub>2</sub> and WHO 2008 classification system were used. According to these systems, 21 patients had refractory anaemia (RA) (11 females and 10 males). The median age of males was 62 years (range 59-86) and of females 78 years (range 66-85). Eighteen patients had Refractory Anemia with Excess of Blasts (RAEB) 8 males and 10 females with the median age for males 60.5 years (range 35-75) and for females 74 years (range 58-79). Eighteen patients had Refractory Anemia with Excess of Blasts in Transformation (RAEB-T), 10 males and 8 females, with the median age for the males 66 years (range 55-77) and for the females 79.5 (range 59-80). Sixteen patients had Refractory anaemia with ringed sideroblasts (RARS) 8 males and 8 females with the median age for males 64.5 years (range 63-86) and for females 75 years (range 65-88). Patients with CMML and secondary MDS were excluded.

In addition the patients were classified according to IPSS-1997 in low/intermediate-1 risk (37 patients) and high/intermediate-2 risk (36 patients). The median age of patients

in the low/intermediate-1 risk group was 72.5 years (range 57-88) and in the high/intermediate-2 risk group was 68 years (range 35-80).

In the study, 60 normal individuals have been included 32 males and 28 females. The median age for the males was 75 years (range 56-90) and for females 74 years (range 66-90).

### Methods

Bone marrow (BM) smears and paraffin sections were prepared from the posterior iliac crest. Mast cells were calculated using toluidine blue stain (mean value of positive cells per 1000 nucleated cells in 3 slides). For estimating the expression of tryptase and chymase mouse-anti-human moAbs were used (ABCAM -Discovery Drive, Cambridge Biomedical Campus Cambridge, CD2 OAX, UK and MA5-11717, CC1 -Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA respectively) and PAP kit (DAKO-(Agilent, Waldbronn, Germany). Every cell was graded from 0+ to 4+ depending on the intensity of the stain and the score was calculated as the mean value of 200 cells as previously described <sup>68</sup>.

Haemopoietic progenitor CD34+ cells were measured by flow cytometry using the anti-CD34 moAb (K567-FITC).

The levels of chymase and tryptase in serum were measured using ELISA kits (INVITROGEN-Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) according to the manufacturer's instructions.

Microvascular density (MVD) was investigated as previously described <sup>67</sup>. Microvessels were measured per 0.0625mm<sup>2</sup> field area.

### **Statistical Analysis**

For statistical analysis, the t-test was used for the comparison of parametric values and Wilcoxon's test (Bonferroni's correction) for nonparametric values. The correlation Coefficient (R<sup>2</sup>) was used for examining possible correlations between various parameters.

## RESULTS

### CD 34+ cells in bone marrow

In Table 1 the percentage of CD34+ cells in each group of patients is shown. In detail, CD34+ cells in the normal individuals were  $1.08 \pm 0.87\%$ . In MDS patients they were  $5.3 \pm 3.83\%$ . Specifically, in various MDS categories, CD34+ cells were  $2.52 \pm 1.2\%$  in RA,  $1.37 \pm 0.5\%$  in RARS,  $8.94 \pm 2.01\%$  in high/intermediate-2 and  $2.027 \pm 1.117\%$  in low/intermediate-1. There was a significant difference between high/intermediate-2 and normals ( $p < 0.01$ ), between high/intermediate-2 and low/intermediate-1 ( $p < 0.01$ ), between low/intermediate-1 and normals ( $p < 0.01$ ) and between RA and normals ( $p < 0.01$ ). There was no significant difference between RARS and normals ( $p > 0.1$ ).

### Mast cells in bone marrow (BMMCs)

The percentage of mast cells in bone marrow in each group of patient are shown in Table 1. In normals, the percentage of mast cells was  $1.82 \pm 0.93\%$ . In MDS it was  $5.767 \pm 3.45\%$ . In RA it was  $4.38 \pm 1.16\%$ , in RARS  $2.18 \pm 0.75\%$ , in low/intermediate-1  $3.43 \pm 1.48\%$  and in high/intermediate-2  $8.16 \pm 3.26\%$ . There was a significant difference between high/intermediate-2 and low/intermediate-1 ( $p < 0.01$ ) as well as the normals ( $p < 0.01$ ). There was a significant difference between low/intermediate and normals ( $p < 0.01$ ) as well as between RA and normals ( $p < 0.01$ ). There was no difference between RARS and normals ( $p > 0.1$ ). In the total MDS group, the mast cells were higher than the normals ( $p < 0.01$ ).

### Immunocytochemical detection of tryptase and chymase in the bone marrow.

Results are presented in Table 1. In detail in the total MDS group, the tryptase positivity score in bone marrow mast cells (BMMC) was  $2.328 \pm 1.45$  while in the normals it was  $0.8 \pm 0.82$  and the difference was statistically significant ( $p < 0.01$ ). In high/intermediate-2 the score was  $3.694 \pm 0.467$  and it was significantly higher than that of low/intermediate-1 ( $1 \pm 0.57$ ,  $p < 0.01$ ) and normal ( $p < 0.01$ ). In low/intermediate-1 the score did not differ from the score in normals ( $p > 0.1$ ). In MDS-RA and MDS-RARS the scores were  $1.19 \pm 0.60$  and  $0.75 \pm 0.447$  respectively and did not differ from the normals and low/intermediate-1 ( $p > 0.1$ ), but it was significantly lower than that of high/intermediate-2 ( $p < 0.01$ ).

The chymase score in BMMC in the total MDS group was  $0.78 \pm 0.71$ , while in the normals it was  $0.9 \pm 0.3$ . In high/intermediate-2 MDS the score was  $0.804 \pm 0.749$  and the difference between the 3 groups was not significant ( $p > 0.1$ ). In the low/intermediate-1 group the score was  $0.75 \pm 0.68$ , in MDS-RA  $0.66 \pm 0.58$  and MDS-RARS it was  $0.875 \pm 0.718$ . There was no statistically significant difference among all groups ( $p > 0.1$ ).

#### Serum tryptase and chymase levels

The levels of serum tryptase in the normals were found  $7.8 \pm 3.21$  ng/mL, in total MDS group were  $40.96 \pm 35.4$ , in high/intermediate-2 were  $73.31 \pm 20.87$ , in low/intermediate-1 were  $9.48 \pm 4.217$ , in MDS-RA  $10.75 \pm 4.83$ , in MDS-RARS  $7.806 \pm 2.503$ . There was a significant difference between total MDS and high/intermediate-2 compared to the low/intermediate-1 and normals ( $p < 0.1$ ). The levels of serum chymase (pg/mL) were not detected in any category of MDS and normals (**Table 1**).

#### Correlation of tryptase levels and BM CD34+ and mast cells

There was a strong positive correlation between serum tryptase levels and BMMC ( $R^2 = 0.6837$ ). There was also a positive correlation between BMCMCs and BM CD34+ cells ( $R^2 = 0.4369$ ) (**Fig. 1 and 2**).

#### Microvascular density in bone marrow (MVD)



The MVD (microvessel number/0.0625 mm<sup>2</sup>) in the entire group of MDS was 6.3±3.3 and was significantly higher than the normals (2.23±0.38, p<0.01). In high/intermediate-2 the MVD was 7.89±2.8, in low/intermediate-1 it was 4.8±2.2, in MDS-RA it was 4.98±1.8, and in MDS-RARS it was 5±2.0. There was a significantly higher MVD in high/intermediate-2 compared to low/intermediate-1, MDS-RA, MDS-RARS and normal (p<0.01). There was also a significant difference between low/intermediate-1, MDS-RA, MDS-RARS and normals (p<0.01). There was a positive correlation between BMMC and MVD (**Fig. 3**).

## DISCUSSION

An increased number of MBMCs and MVD in MDS possible pathogenetic connection between them was found in our study. There were several publications regarding the presence of mast cells in malignant diseases, including haematological malignancies, and their role in disease progression is controversial. The mechanisms by which they contribute are not completely clarified.<sup>53-54, 57,69,70</sup>

A higher number of mast cells in higher-risk MDS as well as higher numbers of BMMC in the entire MDS group compared to normals was found. This was in agreement with what has been reported earlier by others<sup>66</sup> This also found in agreement with earlier reports<sup>71</sup> that these cells secrete tryptase predominantly that was detected by immunocytochemistry in BM as well as in the serum of patients. In reactive mastocytosis such as in allergic conditions, it has been reported that the mast cells are tryptase and chymase-producing<sup>72</sup> and are peripheral and not BM mast cells. Although in a previous study there was no difference in BMMC numbers in the various MDS categories<sup>66</sup>, an increase in BMMC in higher-risk MDS was found. The fact that was detected increased numbers of BMMC were in higher risk MDS which is considered a more advanced stage of the disease probably means that the number of BMMC increases with disease progression. Whether they contribute to the disease progression or they accumulate reactively is not clear. In earlier reports, it has been found that in some cases, the mast cells belong to the malignant clone and in these cases, they present dysplastic features<sup>66,73-74</sup>. In this study dysplastic features (elongated shape,

abnormal granulation, and abnormal accumulation) were not found in BMMC but this does not exclude the neoplastic origin of these cells. Studies during disease progression in each case, genetic studies, and MC cultures could help to clarify the origin of these cells. Probably the majority of BMMCs accumulate in response to tumour-secreted factors in BM but it is not known if the cytokines that BMMCs secrete contribute to disease progression.

It has been reported that MC is involved in angiogenesis<sup>16-18,56-57,75</sup> and neoangiogenesis is important for tumour growth<sup>76-78</sup>.

We found increased MVD in MDS compared to the normals. We also found higher MVD in high/intermediate-2 risk MDS compared to the low/intermediate-1, in contrast to a previous study<sup>67</sup>. The MVD is positively correlated with the number of BMMC. This raises the suggestion that BMMCs may contribute to tumour progression by enhancing angiogenesis. The heterogeneity of the MDS group may be responsible for the contradictory results in the literature<sup>67</sup>.

Many previous studies suggested that MC involvement in fibrosis in many situations like liver cirrhosis, lung fibrosis, renal fibrosis, scleroderma, etc.<sup>3,10,79-80</sup>. There are no adequate data to clarify the mechanism through which MCs exert their fibrotic action. We did not have enough patients to study the possible relation of BMMCs in MDS with BM fibrosis.

## **Conclusion**

In conclusion, an increase in BMMCs in MDS was found and they were higher in the advanced stages of the disease. To clarify whether they contribute to disease progression further studies are required with MC cultures and clonality investigation in various stages of the disease.

## **REFERENCES**

1. Födinger, M, Fritsch, G, Winkler, K, Emminger, W, Mitterbauer, G, Gadner, H, Valent, P, Mannhalter, C (1994). Origin of human mast cells: development from

transplanted hematopoietic stem cells after allogeneic bone marrow transplantation.

Blood84:2954-2959.PMID:7949167

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120713091>

2. Jamur, M, Grodzki, A, Berenstein, E, Hamawy, M, Siraganian, R, Oliver, C (2005). Identification and characterization of undifferentiated mast cells in mouse bone marrow. *Blood* 105:4282-4289. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0756
3. Galli, S, Tsai, M (2008). Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci* 49:7-19. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2007.09.009
4. Jamur, MC, Oliver, C (2011). Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Front Biosci (Schol Ed)* 3:1390-1406. DOI: 10.2741/231  
<https://www.imrpress.com/journal/FBS/3/4/10.2741/231>
5. Huang, C, Wong, GW, Ghildyal, N, Gurish, MF, Sali, A, Matsumoto, R, Qiu, WT, Stevens, RL (1997). The tryptase, mouse mast cell protease 7, exhibits anticoagulant activity in vivo and in vitro due to its ability to degrade fibrinogen in the presence of the diverse array of protease inhibitors in plasma. *J Biol Chem* 272:31885-31893. DOI: 10.1074/jbc.272.50.31885
6. Gottwald, T, Coerper, S, Schäffer, M, Köveker, G, Stead, RH (1998). The mast cell-nerve axis in wound healing: a hypothesis. *Wound Repair Regen* 6:8-20. DOI: 10.1046/j.1524-475x.1998.60104.x
7. Thomas, VA, Wheelless, CJ, Stack, MS, Johnson, DA (1998). Human mast cell tryptase fibrinogenolysis: kinetics, anticoagulation mechanism, and cell adhesion disruption. *Biochemistry* 37:2291-2298. DOI: 10.1021/bi972119z
8. Rock, MJ, Despot, J, Lemanske, RF (1990). Mast cell granules modulate alveolar macrophage respiratory-burst activity and eicosanoid metabolism. *J Allergy Clin Immunol* 86:452-461. DOI: 10.1016/s0091-6749(05)80199-x

9. Kanwar, S, Kubes, P (1994). Ischemia/reperfusion-induced granulocyte influx is a multistep process mediated by mast cells. *Microcirculation* 1:175-182. DOI: 10.3109/10739689409148272 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3109/10739689409148272>
10. Levi-Schaffer, F, Kupietzky, A (1990). Mast cells enhance migration and proliferation of fibroblasts into an in vitro wound. *Exp Cell Res* 188:42-49. DOI: 10.1016/0014-4827(90)90275-f
11. Katayama, I, Yokozeki, H, Nishioka, K (1992). Mast-cell-derived mediators induce epidermal cell proliferation: clue for lichenified skin lesion formation in atopic dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol* 98:410-414. DOI: 10.1159/000236218 <https://www.karger.com/article/Abstract/236218>
12. Ribatti, D., Crivellato, E.: Mast cells , angiogenesis and cancer. *Adv Exp Med Biol* 2011; 716: 270-88. DOI: 10.1007/978-1-4419-9533-2\_14
13. Moulin, V, Castilloux, G, Auger, FA, Garrel, D, O'Connor-McCourt, MD, Germain, L (1998). Modulated response to cytokines of human wound healing myofibroblasts compared to dermal fibroblasts. *Exp Cell Res* 238:283-293. DOI: 10.1006/excr.1997.3827
14. Matsuda, H, Koyama, H, Sato, H, Sawada, J, Itakura, A, Tanaka, A, Matsumoto, M, Konno, K, Ushio, H, Matsuda, K (1998). Role of nerve growth factor in coetaneous wound healing: accelerating effects in normal and healing-impaired diabetic mice. *J Exp Med* 187:297-306. DOI: 10.1084/jem.187.3.297
15. Schäffer, M, Beiter, T, Becker, HD, Hunt, TK (1998). Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair? *Arch Surg* 133:1107-1116. DOI: 10.1001/archsurg.133.10.1107
16. Van Nassauw, L, Adriaensen, D, Timmermans, JP (2007). The bidirectional communication between neurons and mast cells within the gastrointestinal tract. *AutonNeurosci* 133:91103. DOI: 10.1016/j.autneu.2006.10.003 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1566070206002682>

17. Beltrami, CA, Mallardi, F, Ribatti, D (2004). The mast cell: an active participant or an innocent bystander? *Histol Histopathol* 19:259-270. DOI: 10.14670/HH-19.259 [https://www.hh.um.es/Abstracts/Vol\\_19/19\\_1/19\\_1\\_259.htm](https://www.hh.um.es/Abstracts/Vol_19/19_1/19_1_259.htm)
18. De Palma, M., Biziato, D., Petrova, T.V.: Microenvironmental regulation of tumor angiogen. *DOIesis Nat Rev Cancer* 2017; 17(8): 457-474. DOI: 10.1038/nrc.2017.51
19. Marshall, JS (2004). Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol* 4:787-799. DOI: 10.1038/nri1460
20. Burd, PR, Rogers, HW, Gordon, JR, Martin, CA, Jayaraman, S, Wilson, SD, Dvorak, AM, Galli, SJ, Dorf, ME (1989). Interleukin 3-dependent and -independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med* 170:245257. DOI:10.1084/jem.170.1.245 <https://rupress.org/jem/article/170/1/245/58107/Interleukin-3-dependent-and-independent-mast-cells>
21. Galli, S, Kalesnikoff, J, Grimaldeston, M, Piliponsky, A, Williams, C, Tsai, M (2005b). Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances. *AnnuRevImmunol* 23:749786. DOI:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025 <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025>
22. Metcalfe, DD, Peavy, RD, Gilfillan, AM (2009). Mechanisms of mast cell signaling in anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 124:639-646; quiz 647-638. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.08.035 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091674909013189>
23. Gilfillan, A, Tkaczyk, C (2006). Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev Immunol* 6:218-230. DOI: 10.1038/nri1782
24. Galli, S, Nakae, S, Tsai, M (2005a). Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 6:135-142. DOI: 10.1038/ni1158
25. Wyczolkowska, J, Rydzynski, K, Prouvostdanon, A (1992). Concavalin A-induced activation of hamster mast-cells - Morphological changes and histamine secretion.

26. Moreno, A, Jamur, M, Oliver, C, Roque-Barreira, M (2003). Mast cell degranulation induced by lectins: effect on neutrophil recruitment. *Int Arch Allergy Immunol* 132:221230. DOI:10.1159/000074303 <https://www.karger.com/Article/Abstract/74303>
27. de Almeida Buranello, PA, Moulin, MR, Souza, DA, Jamur, MC, Roque-Barreira, MC, Oliver, C (2010). The lectin ArtinM induces recruitment of rat mast cells from the bone marrow to the peritoneal cavity. *PLoS One* 5, e9776. DOI: 10.1371/journal.pone.0009776. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0009776>
28. Hill, PB, MacDonald, AJ, Thornton, EM, Newlands, GF, Galli, SJ, Miller, HR (1996). Stem cell factor enhances immunoglobulin E-dependent mediator release from cultured rat bone marrow-derived mast cells: activation of previously unresponsive cells demonstrated by a novel ELISPOT assay. *Immunology* 87:326-333. DOI:10.1046/j.13652567.1996.455545.x <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2567.1996.455545.x>
29. Hundley, TR, Gilfillan, AM, Tkaczyk, C, Andrade, MV, Metcalfe, DD, Beaven, MA (2004). Kit and FcepsilonRI mediate unique and convergent signals for release of inflammatory mediators from human mast cells. *Blood* 104:2410-2417. DOI: 10.1182/blood-2004-02-0631
30. Tkaczyk, C, Horejsi, V, Iwaki, S, Draber, P, Samelson, LE, Satterthwaite, AB, Nahm, DH, Metcalfe, DD, Gilfillan, AM (2004a). NTAL phosphorylation is a pivotal link between the signaling cascades leading to human mast cell degranulation following Kit activation and Fc epsilon RI aggregation. *Blood* 104:207-214. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2769
31. Metz, M, Siebenhaar, F, Maurer, M (2008). Mast cell functions in the innate skin immune system. *Immunobiology* 213:251-260. DOI: 10.1016/j.imbio.2007.10.017 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0171298507001362>

32. Fukuda, M, Ushio, H, Kawasaki, J, Niyonsaba, F, Takeuchi, M, Baba, T, Hiramatsu, K, Okumura, K, Ogawa, H (2013). Expression and functional characterization of retinoic acid-inducible gene-I-like receptors of mast cells in response to viral infection. *J Innate Immun* 5:163-173. DOI: 10.1159/000343895
33. Graham, AC, Hilmer, KM, Zickovich, JM, Obar, JJ (2013). Inflammatory response of mast cells during influenza A virus infection is mediated by active infection and RIG-I signaling. *J Immunol* 190:4676-4684. DOI: 10.4049/jimmunol.1202096
34. Gordon, JR, Galli, SJ (1990). Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF-alpha/cachectin. *Nature* 346:274-276. DOI: 10.1038/346274a0
35. Huang, C, Friend, DS, Qiu, WT, Wong, GW, Morales, G, Hunt, J, Stevens, RL (1998). Induction of a selective and persistent extravasation of neutrophils into the peritoneal cavity by tryptase mouse mast cell protease 6. *J Immunol* 160:1910-1919. PMID: 9469453 <https://www.jimmunol.org/content/160/4/1910>
36. Biedermann, T, Kneilling, M, Mailhammer, R, Maier, K, Sander, CA, Kollias, G, Kunkel, SL, Hültner, L, Röcken, M (2000). Mast cells control neutrophil recruitment during T cell-mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein 2. *J Exp Med* 192:1441-1452. DOI: 10.1084/jem.192.10.1441
37. De Filippo, K, Dudeck, A, Hasenberg, M, Nye, E, van Rooijen, N, Hartmann, K, Gunzer, M, Roers, A, Hogg, N (2013). Mast cell and macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. *Blood* 121:4930-4937. DOI: 10.1182/blood-2013-02-486217
38. Supajatura, V, Ushio, H, Nakao, A, Okumura, K, Ra, C, Ogawa, H (2001). Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by Toll-like receptor 4. *J Immunol* 167:2250-2256. DOI: 10.4049/jimmunol.167.4.2250
39. Rodriguez, AR, Yu, JJ, Murthy, AK, Guentzel, MN, Klose, KE, Forsthuber, TG, Chambers, JP, Berton, MT, Arulanandam, BP (2011). Mast cell/IL-4 control of *Francisella tularensis* replication and host cell death is associated with increased ATP

- production and phagosomal acidification. *Mucosal Immunol* 4:217-226. DOI: 10.1038/mi.2010.59
40. Rodriguez, AR, Yu, JJ, Guentzel, MN, Navara, CS, Klose, KE, Forsthuber, TG, Chambers, JP, Berton, MT, Arulanandam, BP (2012). Mast Cell TLR2 Signaling Is Crucial for Effective Killing of *Francisella tularensis*. *J Immunol*. DOI: 10.4049/jimmunol.1200039
41. Féger, F, Varadaradjalou, S, Gao, Z, Abraham, SN, Arock, M (2002). The role of mast cells in host defense and their subversion by bacterial pathogens. *Trends Immunol* 23:151-158. DOI: 10.1016/s1471-4906(01)02156-1
42. Di Nardo, A, Vitiello, A, Gallo, RL (2003). Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J Immunol* 170:2274-2278. DOI: 10.4049/jimmunol.170.5.2274 <https://www.jimmunol.org/content/170/5/2274>
43. Wei, OL, Hilliard, A, Kalman, D, Sherman, M (2005). Mast cells limit systemic bacterial dissemination but not colitis in response to *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun* 73:1978-1985. DOI: 10.1128/IAI.73.4.1978-1985.2005
44. Campagna, S, Saint, N, Molle, G, Aumelas, A (2007). Structure and mechanism of action of the antimicrobial peptide piscidin. *Biochemistry* 46:1771-1778. DOI: 10.1021/bi0620297 <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi0620297>
45. Malaviya, R, Ross, EA, MacGregor, JI, Ikeda, T, Little, JR, Jakschik, BA, Abraham, SN (1994). Mast cell phagocytosis of FimH-expressing enterobacteria. *J Immunol* 152:1907-1914. PMID: 8120397 <https://www.jimmunol.org/content/152/4/1907>
46. von Köckritz-Blickwede, M, Goldmann, O, Thulin, P, Heinemann, K, Norrby-Teglund, A, Rohde, M, Medina, E (2008). Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood* 111:3070-3080. DOI: 10.1182/blood-2007-07-104018
47. Maurer, M, Wedemeyer, J, Metz, M, Piliponsky, AM, Weller, K, Chatterjea, D, Clouthier, DE, Yanagisawa, MM, Tsai, M, Galli, SJ (2004). Mast cells promote



homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature* 432:512-516. DOI: 10.1038/nature03085 <https://www.nature.com/articles/nature03085>

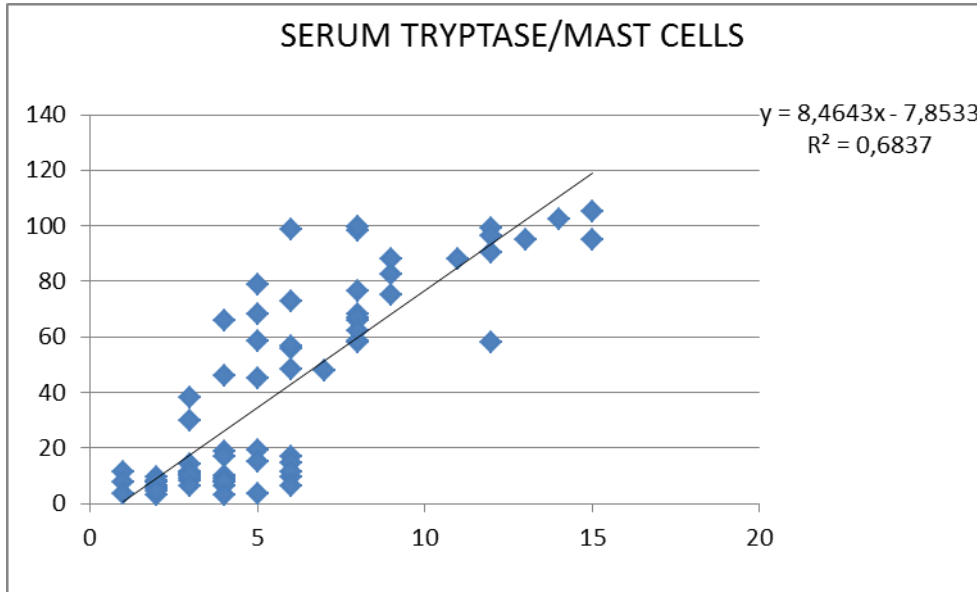
48. Metz, M, Piliponsky, AM, Chen, CC, Lammell, V, Abrink, M, Pejler, G, Tsai, M, Galli, SJ (2006). Mast cells can enhance resistance to snake and honeybee venoms. *Science* 313:526-530. DOI: 10.1126/science.1128877
49. Schneider, LA, Schlenner, SM, Feyerabend, TB, Wunderlin, M, Rodewald, HR (2007). Molecular mechanism of mast cell mediated innate defense against endothelin and snake venom sarafotoxin. *J Exp Med* 204:2629-2639. DOI: 10.1084/jem.20071262 <https://rupress.org/jem/article/204/11/2629/46553/Molecular-mechanism-of-mast-cell-mediated-innate>
50. Piliponsky, AM, Chen, CC, Nishimura, T, Metz, M, Rios, EJ, Dobner, PR, Wada, E, Wada, K, Zacharias, S, Mohanasundaram, UM, Faix, JD, Abrink, M, Pejler, G, Pearl, RG, Tsai, M, Galli, SJ (2008). Neurotensin increases mortality and mast cells reduce neurotensin levels in a mouse model of sepsis. *Nat Med* 14:392-398. DOI: 10.1038/nm1738
51. UM, Faix, JD, Abrink, M, Pejler, G, Pearl, RG, Tsai, M, Galli, SJ (2008). Neurotensin increases mortality and mast cells reduce neurotensin levels in a mouse model of sepsis. *Nat Med* 14:392-398. DOI: 10.1038/nm1738
52. Akahoshi, M, Song, CH, Piliponsky, AM, Metz, M, Guzzetta, A, Abrink, M, Schlenner, SM, Feyerabend, TB, Rodewald, HR, Pejler, G, Tsai, M, Galli, SJ (2011). Mast cell chymase reduces the toxicity of Gila monster venom, scorpion venom, and vasoactive intestinal polypeptide in mice. *J Clin Invest* 121:4180-4191. DOI: 10.1172/JCI46139 <https://www.jci.org/articles/view/46139>
53. Takanami, I, Takeuchi, K, Naruke, M (2000). Mast cell density is associated with angiogenesis and poor prognosis in pulmonary adenocarcinoma. *Cancer* 88:2686-2692. PMID:10870050 <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142%2820000615%2988%3A12%3C2686%3A%3AAID-CNCR6%3E3.0.CO%3B2-6>

54. Conti, P, Castellani, ML, Kempuraj, D, Salini, V, Vecchiet, J, Tetè, S, Mastrangelo, F, Perrella, A, De Lutiis, MA, Tagen, M, Theoharides, TC (2007). Role of mast cells in tumor growth. *Ann Clin Lab Sci* 37:315-322. *PMID: 18000287*  
<http://www.annclinlabsci.org/content/37/4/315.abstract>
55. Dabiri, S, Huntsman, D, Makretsov, N, Cheang, M, Gilks, B, Bajdik, C, Badjik, C, Gelmon, K, Chia, S, Hayes, M (2004). The presence of stromal mast cells identifies a subset of invasive breast cancers with a favorable prognosis. *Mod Pathol* 17:690-695.  
*DOI: 10.1038/modpathol.3800094*
56. Ch'ng, S, Wallis, RA, Yuan, L, Davis, PF, Tan, ST (2006). Mast cells and cutaneous malignancies. *Mod Pathol* 19:149-159. *DOI: 10.1038/modpathol.3800474*
57. Dyduch, G, Kaczmarczyk, K, Okoń, K (2012). Mast cells and cancer: enemies or allies? *Pol J Pathol* 63:1-7. *PMID: 22535614* <https://www.termedia.pl/Mast-cells-and-cancer-enemies-or-allies-,55,18476,0,1.html>
58. Kurzrock R: Myelodysplastic Syndrome Overview. *Sem Hematol* 2002; 39: 18-25.  
*DOI:10.1053/shem.2002.35981*<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0037196302500561>
59. Valent P, Horny HP: Minimal Diagnostic Criteria for Myelodysplastic Syndromes and Separation from ICUS and IDUS: Update and Open Questions. *Eur J Clin Invest* 2009;39:548-53.*DOI:10.1111/j.1365-2362.2009.02151.x*  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2362.2009.02151.x>
60. Warlick, E.D., Smith, B.D.: Myelodysplastic syndromes: review of pathophysiology and current novel treatment approaches. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7(6): 541-58. *DOI: 10.2174/156800907781662284*
61. Scott, B.L., Deeg, H.J.: Myelodysplastic syndromes. *Annu Rev Med* 2010;61:345-58.  
*DOI: 10.1146/annurev.med.051308.132852.*

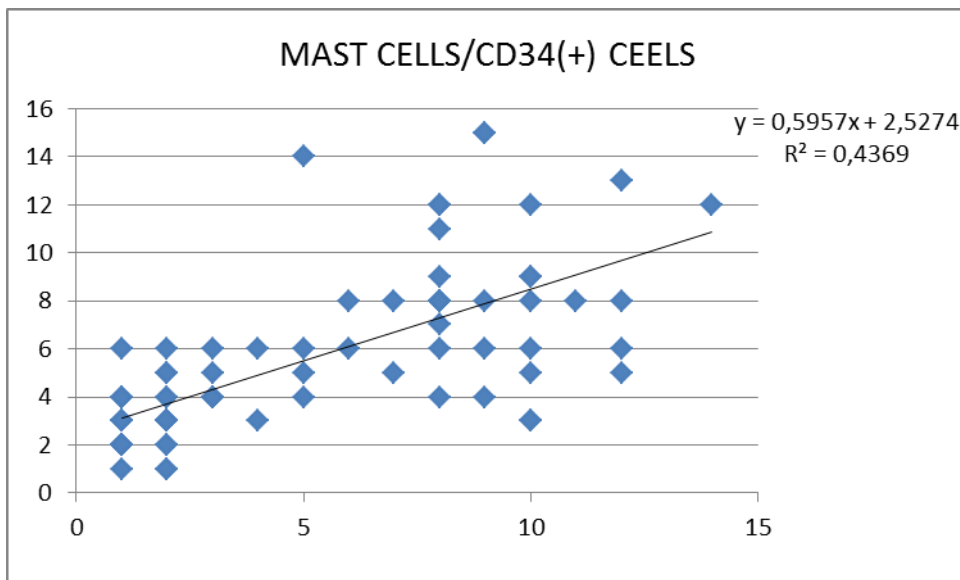
62. Greenberg PL. The smoldering myeloid leukemic states: clinical and biologic features. *Blood* 1983;61:1035-1044. PMID: 6340754 <https://ashpublications.org/blood/article/61/6/1035/163436/The-smoldering-myeloid-leukemic-states-clinical>
63. Koefler HP, Golde DW. Human preleukemia. *Ann Intern Med* 1980;93:347-353. DOI: 10.7326/0003-4819-93-2-347 <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/0003-4819-93-2-347>
64. Noel P, Solberg LA: Myelodysplastic Syndromes. Pathogenesis, diagnosis and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 1992;12:193-215. DOI: 10.1016/1040-8428(92)90054 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/104084289290054T>
65. Helström-Lindberg, E., Tobiasson, M., Greenberg, P.: Myelodysplastic syndromes: moving towards personalized management. *Haematologica* 2020; 105(7):1765-1779. DOI: 10.3324/haematol.2020.248955.
66. CH Dunphy: Evaluation of mast cells in Myeloproliferative disorders and Myelodysplastic syndromes. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129(2):219-222. DOI: 10.5858/2005129219EOMCIM. <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/129/2/219/459082/Evaluation-of-Mast-Cells-in-Myeloproliferative>
67. Alexandrakis MG, Passam FH, Pappa CA, Damilakis J, Tsirakis G, Kandidaki E, Passam AM, Stathopoulos EN, Kyriakou DS: Serum Evaluation of Angiogenic Cytokines Basic Fibroblast Growth Factor, Hepatocyte Growth Factor, and TNF-Alpha in Patients With Myelodysplastic Syndromes: Correlation with Bone Marrow Microvascular Density. *Int J Immunol Immunopathol Immunopharmacol* 2005; 18(2):287-295. DOI: 10.1177/039463200501800211 <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/039463200501800211>
68. Kyriakou, D., Eliopoulos, G.A., Papadakis, A., Alexandrakis, M., Eliopoulos, G.D.: Decreased expression of c-myc oncoprotein by peripheral blood mononuclear cells in thalassaemia patients receiving desferrioxamine. *Eur J Haematol* 1998;60(1):21-7. DOI: 10.1111/j.1600-0609.tb00992.x

69. Komi, D.E.A., Redegeld F.A.: Role of mast cells in shaping the tumor microenvironment. *Clin Rev Allergy Immunol* 2020(June): 58(3):313-325. DOI: [10.1007/s12016-019-08753-w](https://link.springer.com/article/10.1007/s12016-019-08753-w). <https://link.springer.com/article/10.1007/s12016-019-08753-w>
70. Hane, M.R., Giacomantonio C.A., Marshall, J.S.: Mast cells and skin and breast cancers: A complicated and microenvironment-dependent role. *Cells* 2021 Apr 23: 10(5):986. DOI:10.3390/cells10050986, PMID33922465 <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/5/986>
71. H-P Horny, A Greschniok, J-H Jordan, DM Menke, V Valent: Chymase expressing bone marrow mast cells in mastocytosis and MDS: an immunohistochemical and morphometric study. *J Clin Pathol* 2003;56(2):103-6. DOI:10.1136/jcp.56.2.103. <https://jcp.bmj.com/content/56/2/103>
72. G Pelger, E Ronberg, I Waern, S Wernersson: Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood* 115:4981 <https://ashpublications.org/blood/article/115/24/4981/27185/Mast-cell-proteases-multifaceted-regulators-of>
73. D Ribatti, G Polimeno, A Vacca, A Merzullo, E Grivalato, B Nicco, G Lucarelli, E Damacco: Correlation of Bone Marrow angiogenesis and Mast Cells With Tryptase Activity in MDS. *Leukemia* 2002 Sep; 16(9):1680-4. DOI:10.1038/sj.leu.2402586 <https://www.nature.com/articles/2402586>
74. L Yang, Y Pian, EEksioglou, PKEpling-Burnette, S Wei: The inflammatory microenvironment in MDS. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72(10):1959-66. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-015-1846-x>
75. D'Amore PA, Thompson RW (1987). Mechanisms of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 49:453-464. DOI: [10.1146/annurev.ph.49.030187.002321](https://doi.org/10.1146/annurev.ph.49.030187.002321)
76. Weiner N, Folkman J, Pazza F, Bevilacqua P, Alfred EN, Moor S, Meli S, Gasparini G: Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84:1875. DOI: [10.1093/JNCI/84.24.1875](https://doi.org/10.1093/JNCI/84.24.1875)

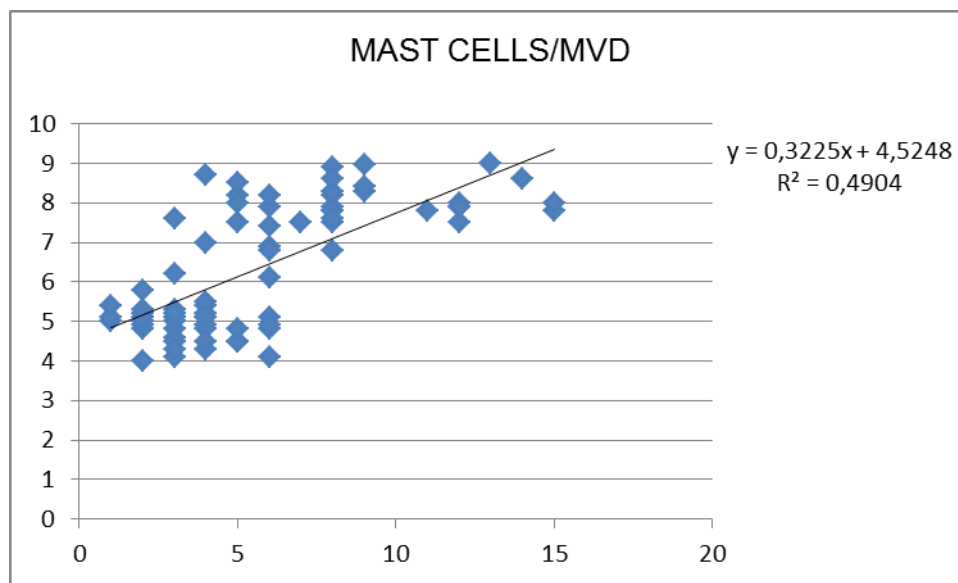
77. Chung YS, Maeda K, Sowa M: Prognostic Value of angiogenesis in gastro-intestinal tumors. *Eur J Cancer* 1996; 32:2501. DOI:10.1016/s0959-8049(96)00382-6
78. Aguayo, A., Armillas-Canseco, F.M., Martínez-Baños, D.: Antiangiogenesis in myelodysplastic syndrome. *Curr Cancer Drug Targets* 2001; 11(9):1044-52. DOI: 10.2174/156800911798073104
79. Kong, P., Christia, P., Frangogiannis, N.G.: The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(4):549-74. DOI 10.1007/s00018-013-1349-6. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-013-1349-6>
80. Strattan, E., Palaniyandi, S., Kumari, R., Du, J., Hakim, N., Huang, T., Kessler, M.V., Jennings, C.D., Sturgill, J.L., & Hildebrandt, G. C. (2019). Mast cells are mediators of fibrosis and effector cell recruitment in dermal chronic graft-vs.-host disease. *Frontiers in Immunology*, 10, 2470. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02470. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02470/full>



**Figure 1.** Correlation between bone marrow mast cells (x-axis) and serum tryptase levels (y-axis) in MDS patients. Footnote: There is a strong positive correlation between the 2 parameters ( $R^2=0.6837$ ).



**Figure 2.** Correlation between BMMCs (y-axis) and BMCD34+ cells (x-axis) in MDS patients. Footnote: There was a positive correlation between the 2 parameters ( $R^2=0.4369$ ).



**Figure 3.** Correlation between bone marrow mast cells (x-axis) and bone marrow microvessel density-MVD(y-axis) in MDS patients. Footnote: There is a positive correlation between the 2 parameters ( $R^2=0.4904$ ).

**Table 1:** Results: Studied parameters in each group of patients and controls (CD34+cells, BMMCs, MVD, Tryptase score+, chymase score, serum tryptase).

ΑΞΘΕΝΕΙΣ	CD34+ cells(%)	BMMC's (%)	MVD Microvessels/ 0.0625mm <sup>2</sup>	Tryptase score	Chymase score	Serum tryptase (ng/ml)
MDS	5.3±3.83	5.767±3.45	6.3±3.3	2.328±1.45	0.78±0.71	40.26±35.4
MDS-RA	2.52±1.2	4.38±1.16	4.98±1.8	1.19±0.60	0.66±0.58	10.75±4.83
MDS-RARS	1.37±0.5	2.18±0.75	5±2.0	0.75±0.447	0.875±0.718	7.806±2.503
MDS low/int-1	2.027±1.117	3.43±1.48	4.8±2.2	1.0±0.57	0.75±0.68	9.48±4.217
MDS high/int2	8.94±2.01	8.16±3.26	7.89±2.8	3.694±0.467	0.804±0.749	73.31±20.87
MAPTYPEΣ	1.08±0.87	1.82±0.93	2.23±0.38	0.8±0.82	0.9±0.447	7.8±3.21