

SPROŠČANJE DEJAVNIKOV IMUNOGENE CELIČNE SMRTI HMGB1 IN ATP IZ CELIČNIH LINIJ SE POVEČUJE S ČASOM PO OBSEVANJU

Urša Kešar^{1,2}, Tanja Jesenko^{1,2}, Boštjan Markelc^{1,3}, Katja Uršič Valentinuzzi^{1,4}, Maja Čemažar^{1,5}, Primož Strojani^{2,6}, Gregor Serša^{1,3}

¹ Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

³ Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana, Slovenija

⁴ Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija

⁵ Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Polje 42, 6310 Izola, Slovenija

⁶ Sektor radioterapije, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: ukesar@onko-i.si

Ionizirajoče sevanje poškoduje genetski material celic (DNA) s čimer onemogoči njihovo nadaljnje deljenje. Poleg neposrednega citotoksičnega učinka s povzročitvijo apoptoze, pa obsevanje učinkuje tudi preko aktivacije imunskega sistema, tj. s povzročitvijo imunogene celične smrti (ICD) (1). ICD predstavlja način umiranja celic, ki učinkovito spodbudi pridobljeni imunski odziv proti neo-antigenom, ki jih sproščajo umirajoče ali mrtve celice (2). Imunski odziv ojačajo molekule DAMP (ang. damage-associated molecular patterns, oz. s poškodbo povezani molekulski vzorci), ki se sproščajo iz celic in služijo kot signali nevarnosti (3). Dve izmed molekul DAMP sta tudi jedrni protein HMGB1 (ang. high mobility group box 1, oz. protein visoko-mobilne skupine 1) in ATP, ki se ob ICD sprostita iz celic (4). Namen naše raziskave je bil ugotoviti kako doza obsevanja, čas po obsevanju vpliva na sproščanje HMGB1 in ATP iz treh različnih mišjih tumorskih celičnih linij, ki tvorijo različno imunogene tumorske modele. Uporabili smo celično linijo melanoma B16F10, karcinoma dojke 4T1 ter karcinoma debelega črevesa CT26. Obsevali smo jih z dozami pri katerih umre 30, 50 ali 70 % celic (IC_{30} , IC_{50} , IC_{70}), ki smo jih določili s testom klonogenosti, sproščanje HMGB1 in ATP pa spremljali 4, 24 in 48 h po obsevanju. Pokazali smo, da v primerjavi z ostalima linijama, največ proteina HMGB1 (absolutna vrednost) sprosti celična linija 4T1, sproščanje pa se povečuje z daljšanjem intervala od obsevanja. Sproščanje HMGB1 se povečuje tudi z dozo sevanja, ki pa je značilno le 48 ur po obsevanju celične linije CT26 v primerjavi z neobsevanimi kontrolnimi celicami. Največ ATP se v primerjavi z ostalima linijama sprosti pri celični liniji CT26. Koncentracija ATP narašča s časom po obsevanju in doseže maksimum 48 ur po obsevanju pri vseh treh linijah. 48 ur po obsevanju se pri vseh treh linijah začne pojavljati tudi apoptoza. Naši rezultati kažejo, da je sproščanje proteina HMGB1 ter sproščanje ATP odvisno od vrste tumorskih celic, doze obsevanja ter časa po obsevanju. Za nadaljnjeovrednotenje ICD bodopotrebnešedodatneraziskavesproščanjamolekulDAMP.

Literatura

1. Sia J, Szmyd R, Hau E, Gee HE. Molecular mechanisms of radiation-induced cancer cell death: a primer. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:41.
2. Galluzzi L, Vitale I, Warren S, et al. Consensus guidelines for the definition, detection and interpretation of immunogenic cell death. *J Immunother Cancer.* 2020; 8(1):e000337.
3. Kroemer G, Galluzzi L, Kepp O, Zitvogel L. Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annual Review of Immunology. Annu Rev Immunol.* 2013;31:51–72.
4. Kepp O, Galluzzi L, Martins I, et al. Molecular determinants of immunogenic cell death elicited by anticancer chemotherapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2011;30(1):61–69.

P7