

VPLIV RADIOTERAPIJE NA AKTIVACIJO TUMORSKIH ENDOTELIJSKIH CELIC

Iva Šantek, Tim Božič, Gregor Serša, Boštjan Markelc

Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Aberantno tumorsko žilje povzroča nastanek hipoksičnih območij, ki so odporna na radioterapijo (RT). Obsevanje ne cilja samo rakavih celic, ampak tudi mikrookolje tumorja, vključno s tumorskim žiljem. Poleg apoptoze tumorskih endotelijskih celic (TEC) lahko obsevanje povzroči tudi normalizacijo/preoblikovanje žil ali aktivacijo TEC, kar lahko zmanjša hipoksijo in poveča infiltracijo imunskih celic. Še vedno pa je odziv tumorskega žilja in TEC na obsevanje slabo poznan. V ta namen želimo natančneje določiti učinek obsevanja na aktivacijo TEC in normalizacijo tumorskega žilja. V naši raziskavi smo pokazali, da *in vitro* obsevanje človeških endotelijskih celic HUVEC, EA.hy926 in Hulec5a ter mišjih endotelijskih celic bEnd.3, 2H11 in SVEC4-10 z enkratnimi odmerki sevanja od 0 do 10 Gy povzroči od doze odvisno zmanjšanje proliferacije in povečanje smrti endotelijskih celic (EC). Transkriptomska analiza celic HUVEC, obsevanih z enkratno dozo 2 ali 5 Gy, in TEC, izoliranih iz tumorjev mišjega karcinoma debelega črevesa MC38 po obsevanju z enkratno dozo 15 Gy je pokazala povečano izražanje genov sodelujočih v imunskem odzivu in aktivaciji EC ter zmanjšano regulacijo celičnega cikla. Ravno tako je prostorska transkriptomska analiza podkožnih tumorjev karcinoma debelega črevesa CT26 po frakcioniranem obsevanju s 5 x 5 Gy pokazala povečano izražanje genov sodelujočih v imunskem odzivu in aktivaciji EC. Opažene spremembe na transkripcijskem nivoju so bile nato potrjene z imunohistokemičnim in imunofluorescenčnim barvanjem na *in vivo* in *in vitro* nivoju. Opažene spremembe na EC *in vitro* ter mišjih TEC izoliranih iz mišjih tumorjev smo nato s prostorsko transkriptomiko in imunohistokemičnim barvanjem potrdili na vzorcih tumorjev pacientov, ki so prejeli neoadjuvantno (predoperativno) radioterapijo (RT), pri čemer je bil režim obsevanja 5 x 5 Gy. Uporabljeni so bili vzorci tumorjev bolnikov kliničnega TNM stadija: cTNM stadij II in cTNM III, ki so bili fiksirani v formalinu in vklopljeni v parafinu (FFPE). Pri vsakem pacientu je bil vključen vzorec bioptičnega vzorca tumorja pred RT, ter vzorec tumorja iz resekcije rektuma po RT. Odziv EC na obsevanje trenutno raziskujemo tudi na modelu žilja na čipu. V naši raziskavi smo pokazali, da obsevanje zmanjšuje rast in preživetje EC. Poleg tega, vpliva tudi na transkriptom EC in TEC, kar vodi v njihovo aktivacijo ter posledično povečano infiltracijo imunskih celic v tumor, s čimer se lahko izboljša protitumorski imunski odziv.

Zahvala

Raziskava je potekala v okviru raziskovalnega projekta J3-2529, ki ga financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS).