

# PROTITUMORSKO DELOVANJE UTIŠANJA TRANSKRIPCijskega FAKTORJA E2F1 NA MODELU HUMANEGA KOLOREKTALNEGA KARCINOMA: *IN VITRO* IN *IN VIVO* SPOZNANJA

Simona Kranjc Brezar<sup>1,2</sup>, Tanja Jesenko<sup>1,2</sup>, Monica Cazzato<sup>3</sup>, Živa Pišljari<sup>1,2</sup>, Boštjan Markelc<sup>1</sup>, Tim Božič<sup>1</sup>, Gabriele Grassi<sup>3,4</sup>, Maja Čemažar<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup> Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

<sup>3</sup> Oddelek za znanosti o življenju, Univerzitetna bolnišnica Cattinara, Univerza v Trstu, Trst, Italija

<sup>4</sup> Oddelek za medicinske, kirurške in zdravstvene vede, Univerza v Trstu, Trst, Italija

<sup>5</sup> Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem, Izola, Slovenija

Transkripcijski faktor E2F1 igra ključno vlogo pri raku debelega črevesa, saj uravnava ključne procese, ki so vključeni v začetek, napredovanje in metastaziranje tumorja. Njegova prekomerna izraženost je povezana z nenadzorovano celično proliferacijo, zaviranjem apoptoze, spodbujanjem angiogeneze in povečano invazivnostjo v celicah kolorektalnega karcinoma. V tem pogledu lahko transkripcijski faktor E2F1 predstavlja zanimivo tarčo za zdravljenje raka. Namen naše študije je bil raziskati protitumorsko učinkovitost utišanja transkripcijskega faktorja E2F1 z elektroporacijo majhnih interferenčnih RNA (siRNA), usmerjenih proti E2F1 (siE2F1), na človeškem modelu kolorektalnega karcinoma HT-29, tako *in vitro* na celični kulturi kot *in vivo* na subkutanih ksenograftih.

V *in vitro* pogojih smo določili terapevtski potencial siRNA molekul proti transkripcijskemu faktorju E2F1 po genskem elektroprenosu v humane celice kolorektalnega karcinoma HT-29 tako na nivoju določanja viabilnosti celic s testom PrestoBlue™ kot tudi na nivoju izražanja transkripcijskega faktorja E2F1 z metodo kvantitativne reverzne transkripcije (qPCR). Nadalje smo na modelu humanih tumorjev HT29 *in vivo* določili protitumorsko delovanje utišanja E2F1 po trikratnem intratumorskem genskem elektroprenosu siE2F1 s testom zaostanka v rasti tumorjev ter tudi raven izraženosti transkripcijskega faktorja E2F1 (qPCR) po terapiji. Poleg tega smo ocenili tudi delež proliferacije in nekroze ter ožiljenosti tumorjev po utišanju transkripcijskega faktorja siE2F1 z genskim elektroprenosom.

Rezultati kažejo, da utišanje transkripcijskega faktorja E2F1 po genskem elektroprenosu v tumorske celice zmanjša sposobnost preživetja celic HT-29 na 60 % v primerjavi s samo elektroporacijo in kaže na dobro protitumorsko učinkovitost. Utišanje transkripcijskega faktorja E2F1 po genskem elektroprenosu v tumorje *in vivo* je povzročila 15-dnevno zakasnitev rasti tumorja in ozdravili smo 12,5 % tumorjev v primerjavi s kontrolno skupino nezdravljenih tumorjev. Protitumorska učinkovitost utišanja transkripcijskega faktorja E2F1 je bila povezana z zmanjšano ravni izraženosti mRNA transkripcijskega faktorja E2F1 v celicah kolorektalnega raka tako *in vitro* kot *in vivo*. Na nivoju morfolologije tumorjev utišanje transkripcijskega faktorja E2F1 48 ur po zadnji terapiji zmanjša delež proliferacije tumorskih za 40%, zviša delež nekroze za 34% in zmanjša delež ožiljenosti tumorjev za 41%.

Utišanje transkripcijskega faktorja E2F1 po genskem elektroprenosu se je izkazalo za obetaven pristop zdravljenja humanega kolorektalnega karcinoma zaradi neposrednih terapevtskih učinkov na tumorske celice. Vendar so potrebne dodatne študije za pojasnitev natančnih mehanizmov, ki so za to odgovorni.

## Zahvala

Raziskava je potekala v okviru raziskovalnega programa P3-0003, ki ga financira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS)