

Scharakteryzowanie odpowiedzi zależnej od czynnika transkrypcyjnego nf- κ B w komórkach z różnym statusem p53 poddanych działaniu promieniowania jonizującego.

Szlaki zależne od czynnika transkrypcyjnego NF- κ B należą do najważniejszych ścieżek sygnałowych uruchamianych w odpowiedzi na czynniki stresu komórkowego i mających istotne znaczenie dla odpowiedzi na czynniki stosowane w terapii przeciwnowotworowej. NF- κ B jest aktywowany przede wszystkim w odpowiedzi na patogeny, a największą grupę genów docelowych stanowią geny zaangażowane w stymulację odpowiedzi immunologicznej i stanu zapalnego. Stwierdzono jednak, że odpowiedź zależna od NF- κ B uruchamiana jest również w komórkach poddanych działaniu promieniowania jonizującego, a uruchomione w ten sposób mechanizmy mają znaczenie dla zjawiska tzw. „sterylnego zapalenia”. Liczne prace wskazują, iż p53 poprzez m.in. białko p21 pośrednio stymuluje ścieżkę NF- κ B. Celem projektu doktorskiego było scharakteryzowanie sposobu aktywacji ścieżek molekularnych zależnych od czynnika NF- κ B w napromieniowanych komórkach, w tym określenie zależności od dawki promieniowania oraz porównanie tego typu odpowiedzi z „klasyczną” ścieżką NF- κ B aktywowaną przez czynniki prozapalne, a także określenie wpływu obecności białka p53 na aktywację atypowej ścieżki NF- κ B. W projekcie wykorzystany został model *in vitro* z zastosowaniem panelu linii komórkowych (m.in. komórki pochodzące z raka jelita grubego i kostniako-mięsaka), w tym również linie z różnym statusem p53. Oceniona została kinetyka aktywacji ścieżki NF- κ B i jej zależność od dawki promieniowania na poziomie białka oraz ekspresji genów. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono niewielkie różnice w aktywacji ścieżki NF- κ B pomiędzy poszczególnymi liniami komórkowymi, natomiast nie stwierdzono znaczących różnic pomiędzy komórkami p53+ a p53-. Aktywacja ścieżki po promieniowaniu była opóźniona i słabsza w porównaniu do tej aktywowanej przez cytokinę TNF α . Na poziomie transkryptu zaobserwowano różnice pomiędzy komórkami z różnym statusem p53, jednakże różniły się one w zależności od genu oraz linii, np.: w liniach HCT116 i RKO ekspresja w komórkach p53+ była przeważnie niższa, natomiast w linii U2-OS była wyższa. Podobnie jak w przypadku białka, także tutaj odpowiedź po promieniowaniu była słabsza i opóźniona niż ta indukowana cytokiną. Podsumowując, z przeprowadzonych badań wynika, iż obecność p53, zarówno w komórkach stymulowanych cytokinami, jak i napromieniowanych, wpływa na ekspresję genów, które są celami NF- κ B, co odzwierciedla znaną interferencję między obydwojema czynnikami transkrypcyjnymi, ponieważ p53 bezpośrednio i pośrednio wpływa na ekspresję wielu genów zależnych od NF- κ B, natomiast nie ma wpływu na aktywację szlaku adresowanego na poziomie inhibitora I κ B α i efektoru NF- κ B.