

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lucija Jelaska

**Uloga i značenje proteina toplinskog šoka u
anti-tumorskoj imunosti**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Lucija Jelaska

**The role and significance of heat shock
proteins in anti-tumor immunity**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna biologija na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Nade Oršolić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Uloga i značenje proteina toplinskog šoka u anti-tumorskoj imunosti

Lucija Jelaska

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Proteini toplinskog šoka prisutni su u svim stanicama i neophodni su za njihovo preživljavanje. Indukciju ekspresije gena za HSP potiču stresni uvjeti od kojih je najvažniji toplinski šok. Zaštitna uloga u stanicama olakšava preživljavanje i progresiju tumora štiteći takve promijenjene stanice od smrti. Kada dođe do ispuštanja HSP iz stanice tijekom nekroze ili vezikulama takvi šaperoni dobivaju i novu ulogu pokretača anti-tumorske imunosti. Vežući se samostalno na receptore makrofaga preuzimaju ulogu signala opasnosti i pokreću upalni odgovor i aktivaciju makrofaga koji proždiru tumorske stanice. Oslobođeni HSP-ovi mogu se povezivati u komplekse s drugim ispuštenim tumorskim antigenima i kao takvi olakšavaju njihov unos u antigen-predodne stanice. Dendritične stanice antigene unesene u sklopu takvih kompleksa prerađuju i izlažu na površini MHC-I molekulama naivnim CD8⁺ stanicama T. Tim procesom križnog predočavanja započinje adaptivni imunski odgovor koji uključuje citotoksično djelovanje T-stanica. Mehanizam kojim CTL razaraju tumorske stanice ovisan je o HSP70 vezanim za membranu ciljne stanice koji pospješuje ulaz proapoptotskog ispuštenog enzima granzima B. HSP vezan za membranu omogućuje prirodno ubilačkim stanicama ubijanje tumorskih stanica koje su izbjegle napad stanica T i time poboljšava ukupni protutumorski odgovor.

Ključne riječi: eHSP, križno predočavanje, CTL, granzim B
(18 stranica, 2 slike, 49 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: Prof. dr. sc. Nada Oršolić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The role and significance of heat shock proteins in anti-tumor immunity

Lucija Jelaska

Rooseveltovej trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Heat shock proteins exist in all cells and are necessary for their survival. The induction of HSP gene expression is triggered in stressful conditions, with heat shock being the most important one. Their protective role in cells facilitates survival and tumor progression by protecting these altered cells from death. When HSP is released from the cell during necrosis or by vesicles, these chaperones take on a new role as drivers of anti-tumor immunity. By binding independently to macrophage receptors, they take on the role of danger signals and initiate an inflammatory response and macrophage activation, which leads to the capture and destruction of tumor cells. Released HSPs can also form complexes with other released tumor antigens, facilitating their uptake by antigen-presenting cells. Dendritic cells process the antigens taken up within these complexes and present them with MHC-I molecules to naïve CD8⁺ T cells. This process of cross-presentation initiates an adaptive immune response, including the cytotoxic actions of T cells. The mechanism by which CTLs destroy tumor cells depends on membrane-bound HSP70 on the target cell, which enhances the entry of the pro-apoptotic enzyme granzyme B. Membrane-bound HSP also enables natural killer cells to kill tumor cells that have evaded T cell attack, thereby enhancing the overall anti-tumor response.

Keywords: eHSP, cross-presentation, CTL, granzyme B
(18 pages, 2 figures, 49 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Nada Oršolić, PhD

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PROTEINI TOPLINSKOG ŠOKA	2
2.1 EKSPRESIJA HSP-A.....	2
3. POVEZANOST HSP-A S RAZVOJEM TUMORA.....	4
3.1. OBITELJI HSP VAŽNE ZA TUMORIGENEZU	5
4. IZVANSTANIČNI HSP	6
4.1 IZLUČIVANJE HSP-a.....	6
4.2. ULOGE eHSP U TUMORIGENEZI	8
5. ANTI-TUMORSKI MEHANIZMI UROĐENE IMUNOSTI.....	9
6. ANTI-TUMORSKI MEHANIZMI ADAPTIVNE IMUNOSTI	12
6.1 KRIŽNO PREDOČAVANJE.....	12
6.2 IZVRŠITELJI ADAPTIVNE IMUNOSTI.....	13
7. LIJEČENJE TUMORA	15
8. ZAKLJUČAK	15
9. LITERATURA.....	16
10. ŽIVOTOPIS.....	18

1. UVOD

Proteini toplinskog šoka (engl. *heat shock proteins*, HSP) grupa su vrlo konzerviranih proteina poznatih i pod imenom molekularni šaperoni. Otkrio ih F. Ritossa 1962. godine tijekom istraživanja reakcije modelnog organizma na toplinski šok, a danas je njihova prisutnost potvrđena i u arhejama i eubakterijama (Sevin i sur. 2015). Osim njihove ključne uloge u održavanju stanične homeostaze i zaštiti stanice od štetnih učinaka stesa uključeni su i u poticanje protutumorskog odgovora urođene i adaptivne imunosti.

Anti-tumorska imunost predstavlja odgovor urođene i adaptivne imunosti na stanice tumora. Stanice imunskog sustava prepoznaju i uništavaju klonove abnormalnih stanica i prije nastanka tumora. To je važan zaštitni mehanizam tijela koji onemogućava razvoj i progresiju tumora (Abbas i sur. 2018). Tumorske kao i sve ostale stanice u citoplazmi sadrže molekule HSP koje izlaskom iz stanice dobivaju ulogu pokretača imunosne reakcije. Urođena imunost predstavlja prvu liniju obrane protiv promijenjenih stanica koju posreduju fagociti i prirodnoubilačke stanice, a HSP ih mogu sami aktivirati ili olakšati njihovu aktivaciju drugim antigenima. Ispušteni HSP-ovi pospješuju unos tumorskih antigena u antigen-predočne stanice i indukciju adaptivne imunosti. Glavni posrednici anti-tumorske adaptivne imunosti su citotoksične stanice T (Calderwood 2018).

2. PROTEINI TOPLINSKOG ŠOKA

Proteini toplinskog šoka imaju ključnu ulogu u stanicama jer sudjeluju u procesima smatanja i sazrijevanja novosintetiziranih proteina, sastavljanju proteinskih kompleksa te inhibiciji denaturacije proteina (Yang i sur. 2021). Konstitutivno eksprimirani članovi ove vrste proteina postoje u svim staničnim odjeljcima i esencijalni su za funkciju stanice, dok se inducibilni članovi eksprimiraju u uvjetima stresa, najčešće toplinskog šoka. Sintetiziraju se u raznim fiziološkim i okolišnim uvjetima koji vode do nakupljanja nesmotanih proteina poput anoksije, hipoksije, prisutnosti teških metala, upale, infekcije ili tijekom antitumorske kemoterapije kako bi se održale pravilne strukture i funkcije staničnih proteina i stanica zaštitila od apoptoze (Wu i sur. 2017). Posljednjim istraživanjima otkrivena je i njihova uloga u onkogenezi i malignoj progresiji prijenosom signala za proliferaciju i diferencijaciju stanica, regulaciju staničnog ciklusa, izbjegavanje apoptoze, metastaziranje, invaziju i angiogenezu (Yang i sur. 2021).

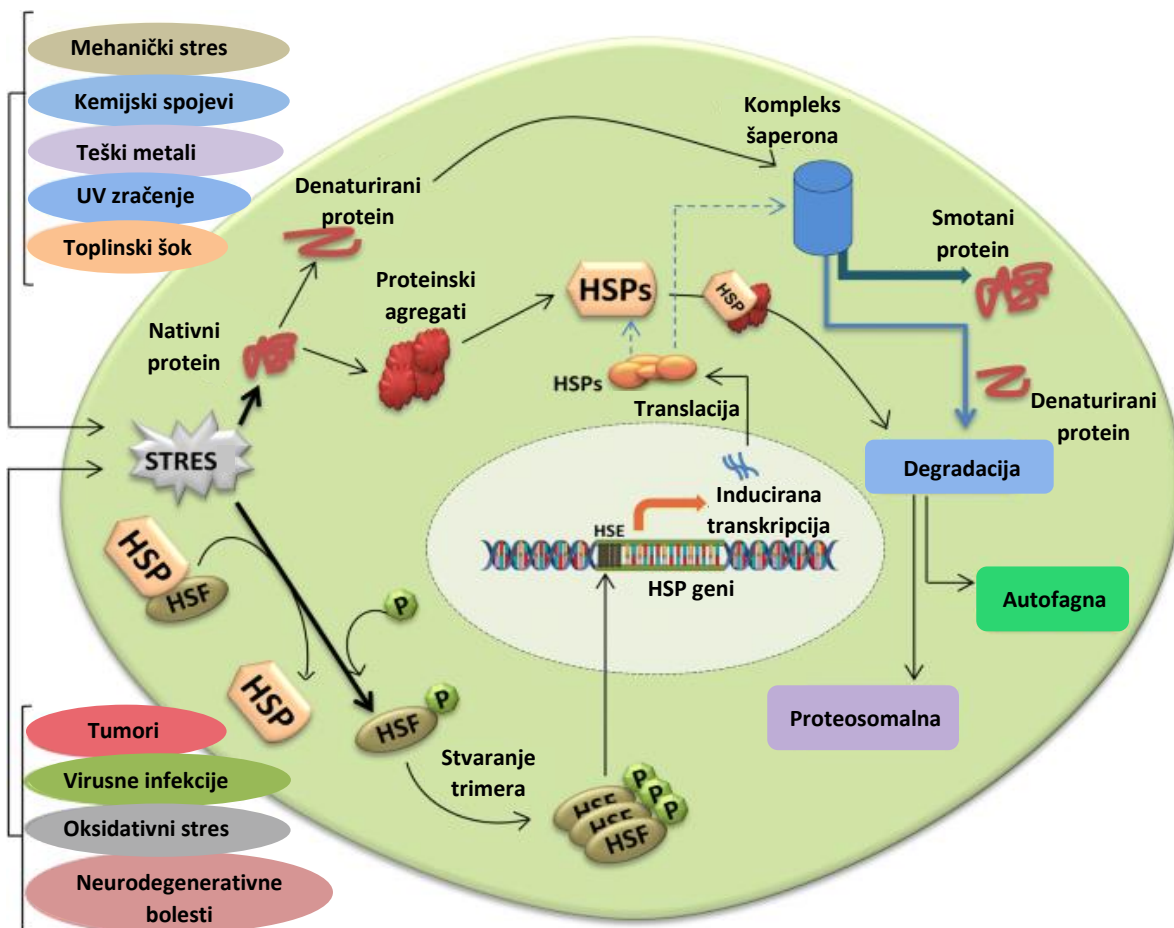
Budući da u vrijeme otkrića nije bila poznata njihova uloga, tim su proteinima dodijeljena imena prema njihovoj molekularnoj masi izraženoj u kilodaltonima pa se danas dijele na obitelji HSP27, 40, 60, 70, 90 i obitelj velikih koja obuhvaća HSP110 i GRP170 (Calderwood 2018). Unatoč činjenici da između različitih obitelji ne postoji homologija ni u slijedu ni strukturi i da je svaka kodirana različitim genima čija je transkripcija ovisna o različitim transkripcijskim čimbenicima, šaperoni su grupirani zbog indukcije u sličnim uvjetima (Borges i sur. 2012). Različiti HSP-ovi tipično ne djeluju sami, nego u kompleksima s drugim šaperonima i košaperonima. Manji HSP-ovi poput HSP27 obavljaju svoje uloge bez utroška ATP-a, dok su veći poput HSP70 i HSP90 ovisni o hidrolizi ATP-a i kofaktorima (Secl i sur. 2021).

Proteini toplinskog šoka štite stanicu i od proteinskih agregata koji nastaju u stresnim uvjetima usmjeravanjem nepravilno smotanih proteina u proteosomalnu razgradnju prije formiranja agregata ili disocijacijom proteina iz već stvorenih (Klimczak i sur. 2019). HSP27 stvaraju komplekse koji se vežu s nesmotanim proteinima i sprječavaju njihovu agregaciju. Takve proteine preuzimaju HSP70 koji ih smataju te prosljeđuju HSP90 koji im pomažu u postizanju nativne strukture (Calderwood 2018).

2.1 EKSPRESIJA HSP-A

Denaturacija proteina u stanicama započinje jak odgovor na toplinski šok (engl. *heat shock response*, HSR) ili prekomjernu ekspresiju HSP-ova u stanicama (Slika 1.). Čimbenici toplinskog šoka (engl. *heat shock factor*, HSF) reguliraju ekspresiju vezanjem na elemente toplinskog šoka (engl. *heat shock elements* HSE) smještene uzvodno od gena za HSP (Yang i sur. 2021).

Najvažniji transkripcijski čimbenik, HSF-1 aktivira se u uvjetima toksičnim za proteine. U inaktivnom stanju tijekom homeostaze nalazi se u citoplazmi u interakciji s HSP90, a nakon aktivacije stresnim čimbenicima ta se interakcija prekida i čimbenik prelazi u jezgru gdje ga kinaza fosforilira (Calderwood 2018). Fosforilirani oblik HSF-1 je trimer koji se veže na visoko konzervirane HSE-ove te se taj kompleks HSF-1-HSE veže na promotorsku regiju i započinje transkripciju skupine gena za HSP (Kim i Yenari 2017). Nastala mRNA transportira se u citoplazmu gdje se translira u HSP, a HSF-1 disocira s DNA uz pomoć kompleksa HSP90 i vraća se u citoplazmu (Almeida i sur. 2011).



Slika 1. Prikaz funkcija HSP u stanici i indukcije ekspresije. Preuzeto i prilagođeno iz Iyer i sur. 2021.

3. POVEZANOST HSP-A S RAZVOJEM TUMORA

Tumor je učestala bolest koja predstavlja veliki zdravstveni problem u cijelom svijetu zbog visoke stope smrtnosti. Pojam tumor označava abnormalan rast stanica u normalnim tkivima koji vodi do poremećaja njihove funkcije i građe. Dije se na benigne i maligne ovisno o sposobnosti širenja stanica na druge dijelove tijela kroz žile odnosno metastaziranja (Abbas i sur. 2018). Maligni fenotip tumora ili rak osim poremećaja regulacije proliferacije stanica obilježavaju i otpornost na apoptotsku smrt, heterogenost te mogućnost invazije okolnih tkiva (Yang i sur. 2021). Rast tumora kompleksan je proces tijekom kojeg tumorske stanice stječu i mogućnost preuređenja tumorskog mikro-okoliša (engl. *tumor microenvironment*, TME) poticanjem angiogeneze, upale i izbjegavanjem imunonadzora (Welch i sur. 2019).

Rast i napredovanje tumora prate aktivacija i porast ekspresije onkoproteina čija stabilnost i pravilno smatanje ovise o HSP-ovima. Nakupljanje mutiranih i nesmotanih proteina, produkata transkripcije onkogeni, okida HSR i prekomjernu ekspresiju HSP gena (Calderwood i sur. 2010). U tim uvjetima šaperoni osiguravaju autonomne signale za proliferaciju stanica stabilizacijom sudionika signalnog slijeda poput kinaza i transkripcijskih čimbenika, ali i neosjetljivost na signale za inhibiciju rasta stabilizacijom mutiranih inaktivnih oblika proteina za popravak DNA i supresora rasta tumora (Kim i Yenari 2017). Zbog njihove presudne uloge u transformaciji stanica i evoluciji tumora pa time i obaveznoj prisutnosti u stanicama raka i njihovoj okolini, šaperoni služe kao biomarkeri za dijagnosticiranje različitih vrsta i stadija tumora te kao mete u antitumorskom liječenju (Klimczak i sur. 2019). Prekomjerna ekspresija HSP-ova i u TME, odnosno u hipoksičnim i kiselim uvjetima s manjkom hranjivih tvari djeluje imunosupresivno što također pridonosi nastanku tumora i otpornosti na terapije (Yang i sur. 2021).

Tumorske stanice na površini izražavaju tumorske specifične antigene (engl. *tumor-specific antigens*, TSA) koji mogu biti jedinstveni za neki tumor ili prisutni u više tumora iste vrste, ali ne postoje u normalnim stanicama. Antigeni pridruženi tumoru (engl. *tumor associated antigens*, TAA) naziv je za tumorske antigene izražene i na normalnim zdravim stanicama. To su klasične stanične sastavnice s promijenjenim izražajem na tumorskim stanicama koje prepoznaju T-limfociti i protutijela odnosno izvršitelji adaptivne imunosti. Te sastavnice mogu biti i atipične citoplazmatske ili jezgrine bjelančevine koje nastaju ekspresijom onkogeni i mutiranih tumor-supresorskih gena ili prekomjerno izražene nepromijenjene površinske bjelančevine koje imunosne stanice prepoznaju kao strane. Predočavaju se u sklopu glavnoga sustava tkivne podudarnosti skupine 1 (engl. *major histocompatibility complex class I*, MHC-I) na površini tumorskih stanica ili na dendritičnim stanicama (engl. *dendritic cells*, DC) koje su fagocitirale tumorske stanice ili apoptotska tjelešca nastala iz tumorskih stanica u sklopu MHC-I i MHC-II (Abbas i sur. 2018). Citoplazmatski tumorski antigeni ispušteni iz umirućih tumorskih stanica prije

interakcije sa antigen-predočnim stanicama (engl. *antigen-presenting cells*, APC) povezuju se s proteinima toplinskog šoka koji ih stabiliziraju i time stimuliraju aktivaciju anti-tumorske imunosti. Određeni šaperoni izlučeni iz tumorskih stanica također sami mogu pokrenuti imunosnu reakciju kao signali opasnosti koji aktiviraju APC (Srivastava 2002). Tumorske stanice izlučuju veliki broj šaperona, a najviše se istražuju uloge HSP90, HSP70 i HSP27 koji se nazivaju i izvanstanični HSP-ovi (engl. *extracellular HSP*, eHSP) (Secli i sur. 2021).

3.1. OBITELJI HSP VAŽNE ZA TUMORIGENEZU

HSP27 je najviše istraživani član obitelji malih HSP-ova kodirane HSPB genima. Ima ključnu ulogu u nekoliko signalnih puteva vezanih za tumorigenezu, otpornost na liječenje i inhibiciju apoptoze zbog čega je prekomjerno eksprimiran u tumorskim tkivima i koristi se kao biomarker. Ti su šaperoni građeni od N-terminalne domene koja im omogućuje povezivanje u multimerne i aktivnost, domene s kristalinom te C-terminalne domene za fleksibilnost i funkciju (Wu i sur. 2017)

Obitelj HSP70 šaperona koji imaju ključnu ulogu u preživljavanju stanica i razvoju tumora kodirana je HSPA genima, aktivnost im ovisi o košaperonima. Posjeduju dvije funkcionalne domene, C-terminalnu koja veže peptide i denaturirane proteine i N-terminalnu ATP-aznu domenu koja kontrolira otvaranje i zatvaranje peptid vezujuće domene (Bukau i sur. 1998). Upravo takva građa omogućuje članovima ove obitelji šaperona formiranje kompleksa s peptidima, njihov prijenos do izvršnih stanica imunskog sustava i oponašanje uloge receptora (Calderwood i sur. 2005).

Kao i HSP27 i HSP70, HSP90 imaju vrlo važne uloge u smatanju, stabilizaciji, aktivaciji, agregaciji i degradaciji onkoproteina. Šaperoni iz obitelji HSP90 kodirani su genima HSPC, formiraju dimere i građeni su od 3 domene: N-terminalne ATP vezujuće domene kao i u HSP70, srednje protein vezujuće domene i C-terminalne dimerizirajuće domene (Wu i sur. 2017). Aktivnost ovih šaperona ovisi o molekularnim košaperonima i pravilnoj strukturi kompleksa koji stvaraju s njima. Takvi multišaperonski kompleksi zaduženi su za smatanje ključnih medijatora signalnih puteva za napredovanje tumora (Pratt i Toft 2003).

4. IZVANSTANIČNI HSP

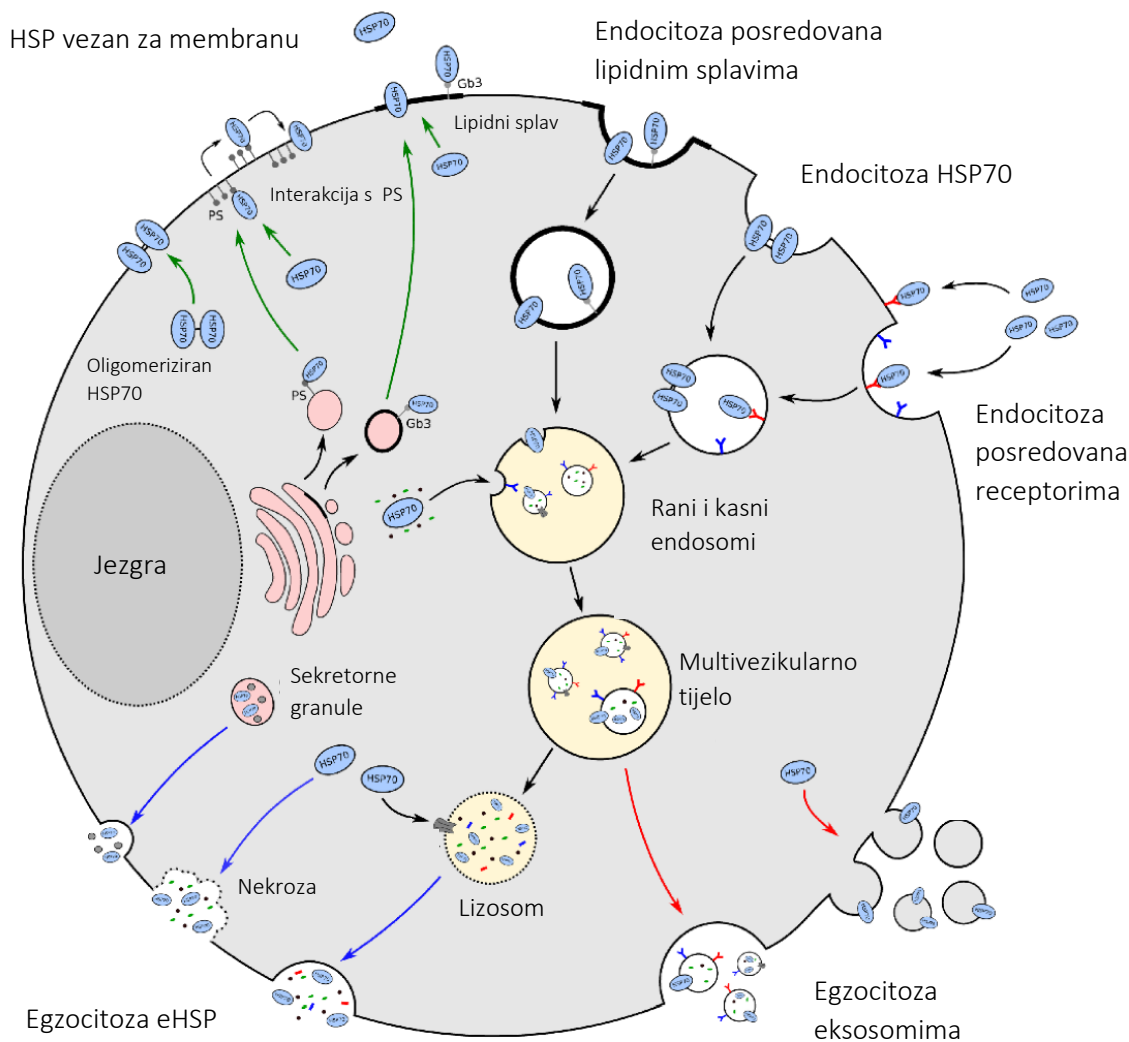
Izvanstanični šaperoni i šaperoni vezani za membranu stanica razlikuju se od unutarstaničnih šaperona svojom ulogom u pokretanju imunskog odgovora. Dok unutarstanični HSP-ovi štite stanicu od smrti izazvane stresom i neophodni su za napredovanje tumora, eHSP-ovi imaju dvojaku ulogu u anti-tumorskom imunskom odgovoru. Oni stabiliziraju antigene i potiču njihovo predočavanje antigen-predočnim stanicama te u tom smislu obavljaju funkciju prijenosnika. S druge strane, imaju ulogu izvanstaničnih signalnih liganada koji vezanjem za receptore na ciljnim stanicama pokreću signalne putove važne za staničnu fiziologiju i patologiju (Batulan i sur. 2016). Slobodni HSP70 otpušteni iz tumorskih stanica mogu potaknuti proupalni odgovor makrofaga nakon vezanja na specifične receptore na njihovim površinama. Vezanjem za receptore na monocitima, makrofagima i DC mogu pokrenuti odgovor urođene imunosti (Calderwood i sur. 2016). Oni stimuliraju lučenje proupalnih citokina i čine tumorske stanice osjetljivijima na prirodno ubilačke stanice (engl. *natural killer cells*, NK stanice) (Gross i sur. 2003).

4.1 IZLUČIVANJE HSP-a

HSP-ovi nemaju signal za sekreciju pa se iz stanica izlučuju alternativnim mehanizmima (Slika 2.). Najjednostavniji od njih je otpuštanje iz stanice vezikulama, transmembranskim prijenosnicima ili običnom translokacijom kroz dvosloj (Rabouille 2017). U netoksičnim uvjetima izlučuju se sekretornim lizosomima koji fuzioniraju s plazma membranom (Calderwood 2018). Kada koncentracija šaperona u stanici naraste zbog HSR, HSP-ovi se pakiraju, izlučuju i prenose do ciljnih stanica na površini malenih vezikula nazvanih eksosomi. Eksosomi nastaju iz kasnih endosoma koji hvataju HSP iz citoplazme i oblikuju multivezikularna tijela prije sekrecije (Albakova i sur. 2021). Šaperoni također mogu biti otpušteni i iz nekroznih stanica koje su izgubile membransku cjelovitost. Uz HSP tada u TME izlaze i tumorski antigeni na koje se eHSP vežu i stvaraju komplekse HSP-peptid (engl. *HSP-peptid complex*, HSP-PC). Najčešći šaperoni koji stupaju u takve interakcije su HSP70, a njihove komplekse stanice imunskog sustava prepoznaju kao signale opasnosti (engl. *damage-associated molecular patterns*, DAMP) koji ih aktiviraju (Multhoff i sur. 2012). Nastali HSP-PC imaju dva glavna poticajna učinka na APC, induciraju odgovor urođene imunosti aktivacijom njihovog sazrijevanja, ali i odgovor adaptivne imunosti transportom peptidnih antigena u APC do MHC molekula (Noessner i sur. 2002; Srivastava 2002).

Izvanstanični HSP mogu biti vezani za membranu povezivanjem s fosfolipidima iz lipidnog dvosloja stanične membrane ili biti dio lipidnog splava (Horváth i sur. 2008). HSP70 umeće se u membranu tumorskih stanica svojim C-krajem nakon prepoznavanja fosfatidilserina (engl. *phosphatidylserine*, PS) na

vanjskoj strani membrane i tako se jednim krajem izlaže izvanstaničnoj okolini i obavlja funkciju receptora tumorskih antigena (Secli i sur. 2021). Šaperoni vezani za membrane čine tumorske stanice osjetljivijima na citotoksično djelovanje NK stanica sa specifičnim receptorima za vezanje HSP70 (Gross i sur. 2003). Osim HSP70, HMGB1 (engl. *high mobility group box 1 protein*) učestali je signal opasnosti izložen na membrani tumorskih stanica, a njegova se koncentracija na površini povećava nakon zračenja i liječenja hipertermijom (Scaffidi i sur. 2002). Neoštećene tumorske stanice sadržavaju PS u unutarnjem sloju membrane, dok se HSP70 i HMGB1 nalaze unutar citoplazme sve dok se ne nađu u nepovoljnim uvjetima koji induciraju staničnu smrt. Zato se premještanje PS i smještaj HSP molekula na vanjskoj strani tumorskih stanica smatraju jednim od signala za razaranje tih stanica (Multhoff i sur. 2012).



Slika 2. Načini sekrecije HSP70 iz stanica. Preuzeto i prilagođeno iz Linder i von Strandmann 2021.

4.2. ULOGE eHSP U TUMORIGENEZI

Osim njihove uloge u anti-tumorskoj imunosti, eHSP-ovi mogu ubrzati rast tumorskih stanica i njihovu malignost podržavajući razvoj i održavanje karakterističnih obilježja stanica raka (Calderwood 2018). HSP70 i HSP27 najvažniji su i najaktivniji šaperoni u subverziji programirane stanične smrti ili apoptoze utječući na procese ovisne o lizosomnim enzimima katepsinima, glavnim čimbenicima u apoptozi, i o tumor supresorima poput p53. Djeluju inhibirajući na proapoptotske molekule moduliranjem nekoliko signalnih kaskada. Ovi šaperoni inhibiraju i signalne putove za starenje stanica što im omogućava neprekinutu proliferaciju (Calderwood i sur. 2006). Poznata je i aktivnost eHSP u TME u kojem stupaju u doticaj s različitim receptorima endotelnih stanica i time potiču preuređenje izvanstaničnog matriksa i promoviraju epitelno-mezenhimalnu izmjenu kojom epitelne stanice dobivaju mogućnost migracije i invazije okolnog tkiva, a time i metastaznog širenja raka (Seclì i sur. 2021). Preuređenje izvanstaničnog matriksa u tumorima podrazumijeva vezanje eHSP, najčešće HSP90 α i HSP70, na prisutne enzime i njihovu aktivaciju te prekomjernu sintezu kolagena koji služi kao okosnica tumorskim stanicama i olakšava invaziju okolnog tkiva (Gkretsi i Stylianopoulos 2018). Jedna od karakteristika tumora je i mogućnost stvaranja novih krvnih žila ili angiogeneza koju stimuliraju HSP27, HSP70 i HSP90 potičući proliferaciju i pokretljivost endotelnih stanica (Calderwood i sur. 2006). U TME aktivacijom kinaza pod utjecajem HSP90 i HSP27 dolazi i do aktivacije fibroblasta i makrofaga koji preuzimaju ulogu fibroblasta i makrofaga pridruženih tumoru koji luče citokine za napredovanje raka ili djeluju protuupalno (Bohonowych i sur. 2014).

5. ANTI-TUMORSKI MEHANIZMI UROĐENE IMUNOSTI

Receptori antigen-predočnih stanica vežu eHSP čime se aktiviraju signalni putevi za sintezu citokina i aktivaciju stanica pa šaperoni nose i ime „šaperokini“ (Das i sur. 2019). HSP-ovi reguliraju proizvodnju upalnih citokina, TNF- α , IL-6, IL-10 i IL-12, ključnih za odgovor urođene imunosti, a omjer u kojem ti citokini nastaju određuje prirodu imunosnog odgovora, anti-tumorskog i proupalnog (Tsan i Gao 2004). Aktivacijom APC-a, makrofaga i dendritičnih stanica, započinje ekspresija gena za kostimulacijske molekule B7.1 (CD80), B7.2 (CD86), CD40 i MHC-II. Izražaj tih molekula na površini potreban je za efektivnu interakciju antigen-predočnih stanica s CD8⁺ limfocitima i njihovu aktivaciju. Stimulacijom makrofaga šaperoni potiču proizvodnju kemokina i dušikovog (II) oksida (NO) aktivacijom inducibilne NO sintetaze (Panjwani i sur. 2002; Calderwood i sur. 2005).

Prvi mehanizam anti-tumorske urođene imunosti koji pokreću šaperoni odnosno kompleksi HSP-P je diferencijacija i aktivacija APC vezanjem na specifične receptore na njihovoj površini. Postoji nekoliko vrsta površinskih struktura na koje se HSP-PC mogu vezati. Prvi od njih sadrži nespecifične receptore na APC slične Toll-u (engl. *toll-like receptors*, TLR), a to je kompleks CD14/TLR 2/4 povezan sa signalnim putem za sintezu proupalnih citokina. Kompleksi HSP-P također se mogu vezati na receptor CD91 koji omogućuje njihov unos u stanicu i predočavanje antigena MHC-I molekulama. Najvažniji receptor je lektinski receptor tipa C LOX-1 prisutan na dendritičnim stanicama zbog njegove uloge u križnom predočavanju antigena (Delneste i sur. 2002; Srivastava 2002). Velika koncentracija slobodnih eHSP70 u krvi također može započeti urođeni imunosni odgovor vezanjem za TLR na APC koji u tom slučaju imaju ulogu DAMP-a. Vezanje signala opasnosti na receptore makrofaga započinje signalni put za sintezu citokina čimbenik tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*, TNF- α) koji zbog svoje funkcije poremećaja cirkulacije uzrokuje odumiranje tumorskog tkiva. Posljednji način aktivacije stanica je prepoznavanje HSP70 izloženih na membrani samih tumorskih stanica do čega dolazi u stresnim uvjetima poput onih koje izazivaju tretmani ionizirajućim zračenjem ili kemoterapije. U tom slučaju površinski kompleksi HSP-peptid mogu biti prepoznati od strane APC istim receptorima koji ih prepoznaju kada se nalaze slobodni u krvi (Multhoff i sur. 2012). Unos antigena i HSP-PC pojačan je nakon tretmana ionizirajućim zračenjem i toplinskog šoka jer oštećene tumorske stanice ispuštaju proteine koje APC u njihovoj blizini prepoznaju (Calderwood 2018). Nakon uspješnog vezanja HSP-PC ili slobodnog eHSP na receptore aktiviraju se signalni putevi koji vode do transkripcijskog čimbenika NF- κ B (engl. *nuclear factor κ B*) koji započinje ekspresiju gena za TNF- α , IL-1 β i IL-6 kao i za kostimulacijske molekule B7 (Asea i sur. 2000). Kompleks se unosi u citosol APC i prerađuje u dva različita puta. Ako se tumorski antigen iz HSP-PC procesira putem za preradu izvanstaničnih bjelančevine onda će biti predočen u sklopu MHC-II molekula, ali ako se nakon

endocitoze prenosi u proteazom i prerađuje putem za unutarstanične bjelančevine bit će predočen MHC-I molekulama. HSP70 pomaže u prijenosu peptida do MHC-I molekula koje prepoznaju citotoksični limfociti T čime se aktivira adaptivna imunost (Milani i sur. 2002).

Makrofagi su ključne stanice urođene imunosti i dio mononuklearno-fagocitnog sustava. Smatraju se prvom linijom obrane jer među prvima prepoznaju i uklanjaju patogene te započinju upalu. Procesom fagocitoze unose i probavljaju mrtve i oštećene stanice te patogene. Zbog sposobnosti predočavanja antigena drugim imunostnim stanicama spadaju u APC (Abbas i sur. 2018). U TME koji okružuje maligne tumore broj makrofaga puno je veći nego u normalnim okolnim tkivima. Ti su makrofagi izašli iz tumorskog krvotoka kao monociti i diferencirali u tumoru pridružene makrofage (engl. *tumor-associated macrophages*, TAM) koji izlučuju razne citokine, predočavaju antigene T-stanicama i pomažu u njihovoj aktivaciji (Bingle i sur. 2002). Imaju sposobnost sprječavanja, ali i poticanja rasta i širenja tumora što ovisi o načinu aktivacije ili polarizaciji. M1 makrofagi s proupalnim fenotipom sudjeluju u uništenju tumora. Aktiviraju ih eHSP i interferon γ (IFN- γ) koji izlučuju pomoćničke stanice T čime se povećava njihova sposobnost ubijanja progutanih (ingestiranih) apoptotskih tjelešaca mehanizmom ispuštanja NO uz citokine IFN- γ i čimbenik nekroze tumora. Sudjeluju u indukciji stanične imunosti aktivacijom CD8⁺ T stanica i luče proupalne citokine. Za razliku od njih makrofagi M2, aktivirani alternativnim aktivirajućim podražajima se smatraju imunosupresivnim i ne sudjeluju u anti-tumorskoj imunosti (Mantovani i sur. 2002).

Osim makrofaga, bitni sudionici u urođenom protutumorskom odgovoru su i prirodnoubilačke stanice čija je glavna uloga razaranje zaraženih i tumorskih stanica te dodatno stvaranje IFN- γ za aktivaciju makrofaga (Abbas i sur. 2018). NK stanice na površini imaju inhibitorne i aktivacijske receptore koji mogu prepoznati MHC-I molekule s antigenima izražene na ciljnim stanicama. Integracija signala koji dolaze s aktivacijskih i inhibitornih receptora regulira njihovu funkciju i omogućava im razlikovanje normalnih od zaraženih i stresom promijenjenih stanica. Aktivacijski receptori stupaju u interakciju s ligandima na stanicama koje treba ukloniti, a inhibitorni prepoznaju molekule izražene na stanicama koje treba sačuvati (Ljunggren i sur. 1990). Interakcija inhibitornih receptora i MHC-I molekula prisutnih na svim normalnim stanicama koči signalni put aktivacije stanica NK i njihove ubilačke aktivnosti, ali ih čini podložnijima za napad citotoksičnih stanica T. Pojedine tumorske stanice zato smanjuju izražaj MHC-I kao mehanizam obrane od stanica CTL, ali time postaju osjetljive na napad stanica NK. Odsutnost MHC-I molekula na površini stanice povezano je s invazivnim i metastaznim fenotipom malignih tumora (Bubenik 2003). Nakon aktivacije, NK stanice izražavaju aktivacijski KIR/KAR receptor CD94 i receptor NKG2D koji se vežu na HSP70 prisutne na membrani tumorskih stanica i čine ih osjetljivima na citolitičku aktivnost stanica NK. Nakon doticaja NK-stanice ispuštaju granule s proteinima koji induciraju apoptozu. Od oslobođenih enzima najvažniji u anti-tumorskoj imunosti je granzim B koji se veže na tumorske stanice s HSP70-PC na površini

i u njih ulazi direktno ili kroz pore koje formiraju perforini te započinje apoptozu (Kägi i sur. 1994; Gross i sur. 2003a). Stanice NK i CTL imaju još jedan mehanizam razaranja stanica koji uključuje receptore smrti nalik receptorima za TNF. Stanice u stresnim uvjetima počinju izražavati Fas receptore na koje se vežu Fas-ligandi (FasL) čime se aktivira kaskada kaspaza koja uzrokuje smrt stanice apoptozom. Tumorske stanice su zbog velike koncentracije zaštitnih šaperona HSP70 i HSP27 neosjetljive na ovaj put uništenja, dok na apoptozu uzrokovanu granzimom B ovi šaperoni nemaju negativan utjecaj. HSP-ovi u citoplazmi inhibiraju djelovanje citokroma c koji vodi do aktivacije kaspaza i time sprječavaju nakupljanje pocijepanih proteina i smrt stanice (Bruey i sur. 2000).

Izloženi PS karakteristično je obilježje stanica u apoptozu kakve makrofazi uklanjaju fagocitozom bez indukcije upale (Multhoff i sur. 2012). U slučaju da ih zbog imunosupresivne okoline ne uspiju ukloniti te stanice postaju nekrozne. Nekroza je imunogeničniji oblik smrti tumorskih stanica jer omogućava otpuštanje antigena i DAMP molekula iz stanica koje su tijekom procesa programirane stanične smrti izgubile cjelovitost membrane. Ispuštene molekule DC unose ili koriste kao kostimulatore za vlastitu aktivaciju i time indukciju specifične anti-tumorske imunost (Scaffidi i sur. 2002).

6. ANTI-TUMORSKI MEHANIZMI ADAPTIVNE IMUNOSTI

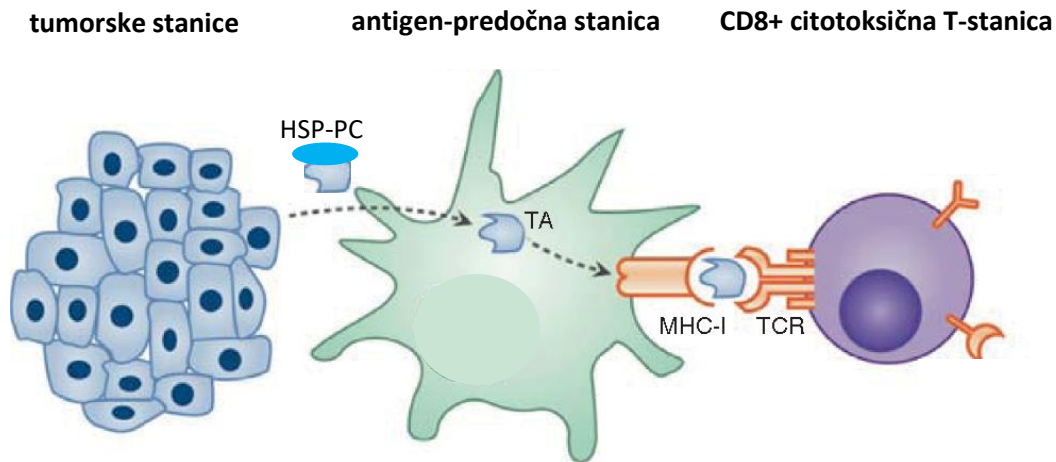
Indukcija adaptivne anti-tumorske imunosti podrazumijeva aktivaciju citotoksičnih protutumorskih T-stanica koje mogu prepoznati i uništiti ciljne tumorske stanice. Kao i sve normalne stanice, stanice tumora na površini imaju MHC-I molekule koje predočavaju peptide prisutne u citoplazmi stanice. Peptidi koje predočavaju tumorske stanice su tumorski antigeni koje stanice imunskog sustava prepoznaju kao strane i aktiviraju specifični anti-tumorski odgovor protiv njih. Citotoksične T-stanice ili limfociti T (engl. *cytotoxic T limfocyte*, CTL) glavni su način obrane u adaptivnoj imunosti protiv tumora. Aktiviraju ih antigen-predočne stanice, makrofagi ili dendritične koje su preradile tumorske antigene i migrirale u limfne čvorove s naivnim CD8⁺ T limfocitima. APC predočavaju prerađene tumorske antigene u sklopu MHC-I molekula T-staničnim receptorima na površini CD8⁺ limfocita uz kostimulacijske molekule potrebne za njihovu aktivaciju i početak klonalne ekspanzije. Naivne CD8⁺ specifične za antigen prije izvršavanja svoje uloge moraju proliferirati i diferencirati kako bi njihov broj bio dovoljno velik za uništenje izvora antigena. Tumorske stanice ne izražavaju kostimulacijske molekule potrebne za poticanje T-staničnog odgovora ni MHC-II molekule za podraživanje pomoćničkih CD4⁺ stanica T za diferencijaciju CD8⁺ stanica T pa se protutumorski odgovor stanica T započinje križnim predočavanjem (Multhoff i sur. 2012; Abbas i sur. 2018).

6.1 KRIŽNO PREDOČAVANJE

Križno predočavanje dendritičnim stanicama (Slika 3.) proces je koji podrazumijeva predočavanje antigena podrijetlom iz druge stanice i aktivaciju stanica T specifičnih za antigen. Poveznica je između urođene i adaptivne imunosti što doprinosi optimalnom anti-tumorskom odgovoru. DC proždiru tumorske stanice ili njihove antigene, prerađuju ih u peptide proteazomima u citosolu i izražavaju na površini u sklopu MHC-I umjesto MHC-II što je tipičan način izražavanja endocitiranih molekula. Mogućnost prelaska molekula iz endosomskih vezikula u citosol (spajanjem fagosoma sa endoplazmatskim retikulom) je svojstvo koje posjeduju samo dendritične stanice (Abbas i sur. 2018).

Izvanstanični HSP-ovi u kompleksu s tumorskim antigenima vežu se na specifične receptore na DC i time ih aktiviraju te podupiru križno predočavanje. Na prvi od dva najbitnija HSP receptora, SRECI (receptor iz obitelji receptora čistača), mogu se vezati šaperoni iz skoro svih obitelji HSP, dok se na drugi, LOX-1, vežu samo HSP60 i HSP70 (Murshid i sur. 2011). Antigeni u kompleksu s HSP zaštićeni su od razaranja i učinkovitije se unose u dendritične stanice, a predočavanje kompleksa HSP-peptid širi raspon ciljnih antigena na koje imunski sustav može odgovoriti odnosno njihovu imunogenost (Das i sur. 2019).

HSP-PC mogu se unijeti i endocitozom u dendritične stanice što također rezultira njihovom aktivacijom. Izražene MHC-I molekule s tumorskim antigenima na površini DC prepoznaju T stanični receptori naivnih CD8⁺ stanica u limfnim organima koje nakon proliferacije i diferencijacije migriraju do ciljnih stanica (Abbas i sur. 2018).



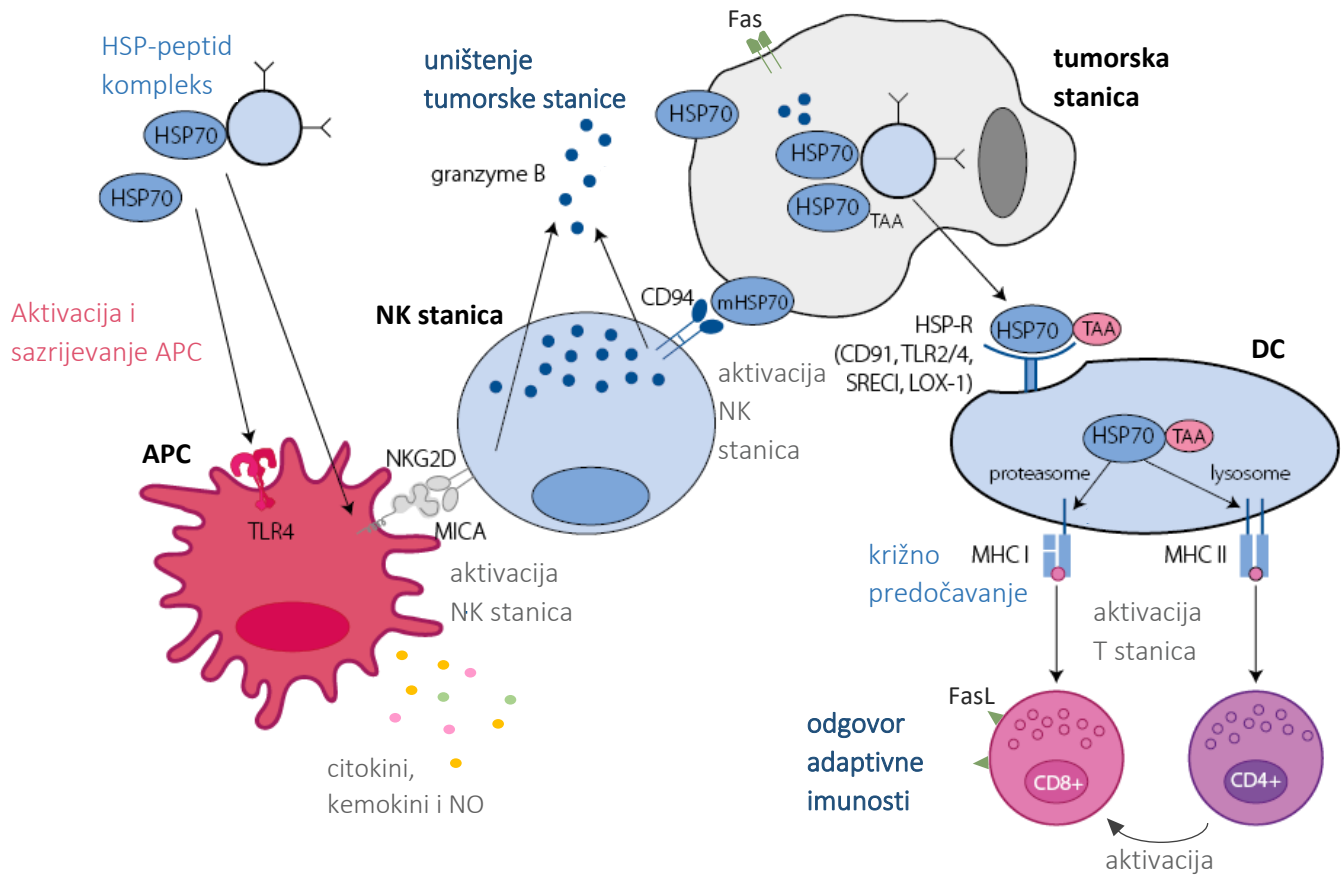
Slika 3. Križno predočavanje tumorskih antigena. Preuzeto i prilagođeno iz Robert-Tissot i sur. 2016.

6.2 IZVRŠITELJI ADAPTIVNE IMUNOSTI

Nastali klonovi su protutumorske stanice CTL sa receptorima specifičnim za antigene koje nakon doticaja s MHC-I molekulama na površini tumorskih stanica koje predočavaju taj specifični antigen te stanice prepoznaju i razaraju (Slika 4.). Ubijanje tumorskih stanica pomoću CD8⁺ T-stanica posredovano je signalima smrti kao što su perforin, granzim B, FasL, TNF i NO. Diferencirane CTL izlučuju IFN- γ za klasičnu aktivaciju makrofaga, a povezivanjem CD40 liganda s CD40 molekulama na makrofagima aktivira se NF- κ B koji potiče ekspresiju gena za fagolizosomske enzime poput fagocitne oksidaze i dušik oksid sintaze kojima makrofagi uništavaju unesene stanice ili stanice u okolnom tkivu (Multhoff i sur. 2012; Abbas i sur. 2018).

CD4⁺ pomoćničke stanice T osiguravaju citokine za diferencijaciju naivnih CD8⁺ u izvršne i memorijske kao i IFN- γ koji povećavaju izražaj MHC-I na tumorskim stanicama. Aktivirane DC aktiviraju i specifične vrste stanica T s ograničenom raznolikošću antigenskih receptora, stanice T- γ δ i NKT stanice, koje pomažu u lizi tumorskih stanica. Nadalje, aktivirane dendritične stanice proizvode upalne citokine, kemokine i molekule NO koje uz aktivirane CD8⁺ limfocite T sudjeluju u uništenju tumora (Das i sur.

2019). Iz liziranih tumorskih stanica u TME otpuštaju se tumorski antigeni što izaziva nastanak memorijskih CTL koji djeluju protiv ponovne pojave i metastaze tumora. Jedan od ispuštenih antigena je i HSP70, a njegova prisutnost u krvi uzrokuje stvaranje specifičnih anti-HSP70 protutijela koje stvaraju aktivirane B-stanice (Pockley i sur. 1998).



Slika 4. Uloge HSP u poticanju odgovora anti-tumorske imunosti. Preuzeto i prilagođeno iz Boliukh i sur. 2022.

7. LIJEČENJE TUMORA

Imunoterapija tumora koristi razne metode liječenja koje uključuju terapiju antitijelima, inhibitorima, citokinima i metodu prijenosa stanica adaptivne imunosti (Das i sur. 2019). Liječenje inhibitorima HSP pokazalo se kao metoda s obećavajućim ishodima. Inhibicija aktivnosti šaperona u stanicama tumora čije održavanje ovisi o njima dovelo je do gubitka velikog broja onkogenih proteina i umanjenog rasta stanica pa i njihove smrti. Visoka doza zračenja ili kemoterapije oštećuje tumorske stanice i vodi do nekroze uzrokujući povećanje koncentracije izvanstaničnog HSP70 i pojačanu aktivaciju anti-tumorskog odgovora nositelja tumora (Calderwood 2018). Hipertermija je metoda protutumorskog liječenja koja uključuje primjenu povišene temperature na području tumora. Temperatura viša od fiziološke uzrokuje promjene u metabolizmu stanica, razaranje proteina i inhibiciju mehanizama popravaka oštećenja DNA i time uzrokuje smrt stanica. HSP se eksprimiraju u takvim uvjetima i štite stanicu pa ih je potrebno inhibirati prije tretmana (Oei i sur. 2015; Vriend i sur. 2017).

8. ZAKLJUČAK

Proteini toplinskog šoka imaju važnu ulogu u tumorigenezi, ali i aktivaciji odgovora urođene i adaptivne anti-tumorske imunosti. Izvanstanični HSP otpušteni na razne načine iz tumorskih stanica i vezani na membrane mogu se vezati samostalno ili u kompleksu s tumorskim antigenima na specifične receptore na površini makrofaga ili dendritičnih stanica. Aktivacijom stanica urođene imunosti koje ih unose endocitozom potiču indukciju proupalnog odgovora i uništenje tumorskih stanica od strane makrofaga, ali i započinju protutumorski odgovor adaptivne imunosti. Dendritične stanice križno predočavaju unesene antigene u sklopu MHC-I molekula i tako aktiviraju citotoksične stanice T sposobne ubiti specifične tumorske stanice mehanizmom koji dijele sa stanicama NK odnosno ispuštanjem granula s enzimima. HSP70 vezan za membranu ciljnih stanica olakšava ulaz ispuštenog granzima B i indukciju apoptotske smrti te stanice. Razvijaju se načini liječenja tumora koji uključuju inhibiciju HSP-ova nužnih za preživljavanje tumorskih stanica kao i pojačanu aktivaciju protutumorskog odgovora imunskog sustava.

9. LITERATURA

- Abbas AK, Lichtman A, Pillai S (2018): Stanična i molekularna imunologija. Zagreb, Medicinska naklada.
- Albakova Z, Siam MKS, Sacitharan PK, Ziganshin RH, Ryazantsev DY, Sapozhnikov AM. (2021): Extracellular heat shock proteins and cancer: New perspectives. *Transl Oncol.* 14(2): 100995. doi:10.1016/j.tranon.2020.100995
- Almeida MB, do Nascimento JL, Herculano AM, Crespo-López ME. (2011): Molecular chaperones: toward new therapeutic tools. *Biomed Pharmacother.* 65(4): 239-243.
- Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, et al. (2000): HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat Med.* 6(4): 435-442.
- Batulan Z, Pulakazhi Venu VK, Li Y, et al. (2016): Extracellular Release and Signaling by Heat Shock Protein 27: Role in Modifying Vascular Inflammation. *Front Immunol.* 7: 285. doi:10.3389/fimmu.2016.00285
- Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. (2002): The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol.* 196(3): 254-265.
- Bohonowych JE, Hance MW, Nolan KD, Defee M, Parsons CH, Isaacs JS (2014): Extracellular Hsp90 mediates an NF- κ B dependent inflammatory stromal program: implications for the prostate tumor microenvironment. *Prostate.* 74(4): 395-407.
- Boliukh I, Rombel-Bryzek A, Radecka B (2022): Immunological aspects of heat shock protein functions and their significance in the development of cancer vaccines. *Nowotwory J Oncol.* 72: 174–183.
- Borges TJ, Wieten L, van Herwijnen MJ, et al. (2012): The anti-inflammatory mechanisms of Hsp70. *Front Immunol.* 3: 95. doi:10.3389/fimmu.2012.00095
- Bruey JM, Ducasse C, Bonniaud P, et al. (2000): Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat Cell Biol.* 2(9): 645-652.
- Bubeník J. (2003): Tumour MHC class I downregulation and immunotherapy. *Oncol Rep.* 10(6): 2005-2008.
- Bukau B, Horwich AL. (1998): The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell.* 92(3): 351-366.
- Calderwood SK. (2018): Heat shock proteins and cancer: intracellular chaperones or extracellular signalling ligands?. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 373(1738): 20160524. doi:10.1098/rstb.2016.0524.
- Calderwood SK, Gong J, Murshid A. (2016): Extracellular HSPs: The Complicated Roles of Extracellular HSPs in Immunity. *Front Immunol.* 7: 159. doi:10.3389/fimmu.2016.00159
- Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR. (2006): Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci.* 31(3): 164-172.
- Calderwood SK, Theriault JR, Gong J. (2005): Message in a bottle: role of the 70-kDa heat shock protein family in anti-tumor immunity. *Eur J Immunol.* 35(9): 2518-2527. doi:10.1002/eji.200535002.
- Calderwood SK, Xie Y, Wang X, et al. (2010): Signal Transduction Pathways Leading to Heat Shock Transcription. *Sign Transduct Insights.* 2: 13-24.
- Das JK, Xiong X, Ren X, Yang JM, Song J. (2019): Heat Shock Proteins in Cancer Immunotherapy. *J Oncol.* 2019: 3267207. doi:10.1155/2019/3267207

- Delneste Y, Magistrelli G, Gauchat J, et al. (2002): Involvement of LOX-1 in dendritic cell-mediated antigen cross-presentation. *Immunity*. 17(3): 353-362
- Gkretsi V, Stylianopoulos T. (2018): Cell Adhesion and Matrix Stiffness: Coordinating Cancer Cell Invasion and Metastasis. *Front Oncol*. 8: 145. doi:10.3389/fonc.2018.00145.
- Gross C, Hansch D, Gastpar R, Multhoff G. (2003): Interaction of heat shock protein 70 peptide with NK cells involves the NK receptor CD94. *Biol Chem*. 384(2): 267-279.
- Gross C, Koelch W, DeMaio A, Arispe N, Multhoff G. (2003): Cell surface-bound heat shock protein 70 (Hsp70) mediates perforin-independent apoptosis by specific binding and uptake of granzyme B. *J Biol Chem*. 278(42): 41173-41181.
- Horváth I, Multhoff G, Sonnleitner A, Vigh L. (2008): Membrane-associated stress proteins: more than simply chaperones. *Biochim Biophys Acta*. 1778(7-8): 1653-1664.
- Iyer K, Chand K, Mitra A, Trivedi J, Mitra D. (2021): Diversity in heat shock protein families: functional implications in virus infection with a comprehensive insight of their role in the HIV-1 life cycle. *Cell Stress Chaperones*. 26(5): 743-768.
- Kägi D, Vignaux F, Ledermann B, et al. (1994): Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science*. 265(5171): 528-530.
- Kim JY, Yenari M. (2017): Heat Shock Proteins and the Stress Response. *Primer on Cerebrovascular Diseases: Second Edition*. Elsevier Science, str. 273-275.
- Klimczak M, Biecek P, Zylicz A, Zylicz M. (2019): Heat shock proteins create a signature to predict the clinical outcome in breast cancer. *Sci Rep*. 9(1): 7507. doi:10.1038/s41598-019-43556-1
- Linder M, Pogge von Strandmann E. (2021): The Role of Extracellular HSP70 in the Function of Tumor-Associated Immune Cells. *Cancers (Basel)*. 13(18): 4721. doi:10.3390/cancers13184721
- Ljunggren HG, Kärre K. (1990): In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today*. 11(7): 237-244.
- Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. (2002): Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol*. 23(11): 549-555.
- Milani V, Noessner E, Ghose S, et al. (2002): Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. *Int J Hyperthermia*. 18(6): 563-575.
- Multhoff G, Pockley AG, Streffer C, Gaipl US. (2012): Dual role of heat shock proteins (HSPs) in anti-tumor immunity. *Curr Mol Med*. 12(9): 1174-1182.
- Murshid A, Theriault J, Gong J, Calderwood SK. (2011): Investigating receptors for extracellular heat shock proteins. *Methods Mol Biol*. 787: 289-302.
- Noessner E, Gastpar R, Milani V, et al. (2002): Tumor-derived heat shock protein 70 peptide complexes are cross-presented by human dendritic cells. *J Immunol*. 169(10): 5424-5432.
- Oei AL, Vriend LE, Crezee J, Franken NA, Krawczyk PM. (2015): Effects of hyperthermia on DNA repair pathways: one treatment to inhibit them all. *Radiat Oncol*. 10: 165. doi:10.1186/s13014-015-0462-0

- Panjwani NN, Popova L, Srivastava PK. (2002): Heat shock proteins gp96 and hsp70 activate the release of nitric oxide by APCs. *J Immunol.* 168(6): 2997-3003.
- Pockley AG, Shepherd J, Corton JM. (1998): Detection of heat shock protein 70 (Hsp70) and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol Invest.* 27(6): 367-377.
- Pratt WB, Toft DO. (2003): Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. *Exp Biol Med (Maywood).* 228(2): 111-133.
- Rabouille C. (2017): Pathways of Unconventional Protein Secretion. *Trends Cell Biol.* 27(3): 230-240.
- Robert-Tissot C, Speiser DE. (2016): Anticancer Teamwork: Cross-Presenting Dendritic Cells Collaborate with Therapeutic Monoclonal Antibodies. *Cancer Discov.* 6(1): 17-19.
- Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. (2002): Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature.* 418(6894): 191-195.
- Secli L, Fusella F, Avalle L, Brancaccio M. (2021): The dark-side of the outside: how extracellular heat shock proteins promote cancer. *Cell Mol Life Sci.* 78(9): 4069-4083.
- Sevin M, Girodon F, Garrido C, de Thonel A. (2015): HSP90 and HSP70: Implication in Inflammation Processes and Therapeutic Approaches for Myeloproliferative Neoplasms. *Mediators Inflamm.* 2015: 970242. doi:10.1155/2015/970242
- Srivastava P. (2002): Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annu Rev Immunol.* 20: 395-425.
- Tsan MF, Gao B. (2004): Cytokine function of heat shock proteins. *Am J Physiol Cell Physiol.* 286(4): 739-744.
- Vriend LEM, van den Tempel N, Oei AL, et al. (2017): Boosting the effects of hyperthermia-based anticancer treatments by HSP90 inhibition. *Oncotarget.* 8(57): 97490-97503.
- Welch DR, Hurst DR. (2019): Defining the Hallmarks of Metastasis. *Cancer Res.* 79(12): 3011-3027.
- Wu J, Liu T, Rios Z, Mei Q, Lin X, Cao S. (2017): Heat Shock Proteins and Cancer. *Trends Pharmacol Sci.* 38(3): 226-256.
- Yang S, Xiao H, Cao L. (2021): Recent advances in heat shock proteins in cancer diagnosis, prognosis, metabolism and treatment. *Biomed Pharmacother.* 142: 112074. doi:10.1016/j.biopha.2021.112074

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Rijeci 20.8.2001. gdje sam pohađala prva dva razreda osnovne školu u OŠ Nikola Tesla. Osnovnoškolsko obrazovanje sam završila 2016. u OŠ Split 3 u Splitu. Od 2016 do 2020. pohađala sam prirodoslovno-matematički smjer Prve sušačke hrvatske gimnazije u Rijeci. Tada upisujem preddiplomski sveučilišni studij Molekularna biologija na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakultetu u Zagrebu.