SOUHRN

Prokázali jsme, že všechny námi sledované buňky hematologického systému hynou po ozáření apoptózou. Ke studiu jsme použili buňky imortalizovaných nádorových linií HL-60 a MOLT-4, kmenové buňky krvetvorky a periferní lymfocyty.

Apoptózu jsme sledovali pomocí stanovení subG_1 vrcholu detekujícím buňky s nízkým obsahem DNA, stanovení mitochondriálního membránové antigenu APO2.7, a stanovení exprese fosfatidylserinu na buněčné membráně pomocí Annexinu V.

Buňky HL-60 (lidské promyelocytární leukémie) jsou buňky relativně málo diferencované, bez funkčního proteinu p53 a po ozáření dávkami do 10 Gy je u nich indukována apoptóza až do bloku v G_2 fázi (oddálená apoptóza). Po ozáření vysokými dávkami je indukována rychlá apoptóza z té fáze buněčného cyklu, ve které byly buňky ozářeny.

Druhou modelovou linií byly buňky T lymfocytární leukémie MOLT-4. MOLT-4 mají wild typ proteinu p53 a jsou velmi radiosenzitivní. **Za 16 hodin po ozáření jsme prokázali dávkovou závislost vzestupu indukce apoptózy od 0,2 do 5 Gy měřením exprese mitochondriálního membránového antigenu APO2.7 bez permeabilizace.**

Pro studium indukce apoptózy u lidských lymfocytů jsme sledovali vazbu Annexinu V a propidium jodidu ve souvislosti s CD znaky jednotlivých subpopulací lymfocytů.

V rozmezí 1-10 Gy jsme 16 h po in vitro gama ozáření pozorovali dávkově závislý vzestup A^+ PBMC. Prokázali jsme, že relativní velikost populace A^+/PI^- se s časem významně nemění, jsou to buňky krátce žijící a apoptické buňky se akumulují v pozdní A^+/PI^+ fázi, kde jejich počet stoupá v dávkové závislosti.

V subpopulaci A^-/PI^- **buněk jsme prokázali v rozmezí 1-10 Gy dávkovou závislost poklesu počtu NK buněk 16 hodin po ozáření, což představuje dobrý indikátor obdržené dávky v oblasti vysokých dávek záření. U malých dávek (do 3 Gy) jsme dávkovou závislost poklesu počtu $CD3^-/CD8^+$ buněk prokázali za 48 hodin po ozáření.**

NK buňky mohou být rozděleny na dvě subpopulace, podle density znaku CD56, tj. $CD56^{high}$ a $CD56^{low}$. Při srovnání radiosensitivity $CD56^{high}$ a $CD56^{low}$ je subpopulace $CD56^{high}$ významně citlivější k účinkům ionizujícího záření než subpopulace $CD56^{low}$.

Studium NK buněk při ozáření in vivo pacientů s nádory je komplikováno faktem, že NK buňky reagují zvýšenou apoptózou na přítomnost nádorových buněk a procento apoptických buněk je již před ozářením významně vyšší než u zdravých dárců.

V případě ozáření pacientek s karcinomy endometria a čípku děložního technikou box (relativně malý objem oblasti břicha) dávkou 2 Gy došlo po 24 h inkubaci lymfocytů in vitro k relativně malému poklesu počtu NK buněk. Po celotělovém ozáření pacientky s hematologickou malignitou (2 Gy) jsme prokázali výrazný pokles NK buněk především 48 h po ozáření, což je v souladu s experimenty in vitro.