

---

## Abstrakt

Senescence je stav, kdy se buňka přestane dělit, mění expresi některých genů a je trvale zastavena v určité fázi buněčného cyklu. Nenádorové buňky vystupují z cyklu po určitém počtu buněčných dělení, nebo jsou-li poškozeny natolik, že jejich další dělení již není žádoucí. U nádorových buněk může být senescence indukována podprahovým stresem např. subletálními dávkami chemoterapeutik. Nádorové buňky tak neumírají, ale zůstávají v tkáni a mění svůj fenotyp na fenotyp charakteristický sekrecí faktorů, které tkáň dále ovlivňují. Stav senescence tedy může měnit odpověď nádorových buněk na léčbu pomocí apoptózu indukujících terapeutik. V této práci jsme se soustředili na analýzu rozdílů v apoptotické signalizaci mezi proliferujícími a senescentními nádorovými buňkami indukované různými proapoptotickými látkami. Pomocí bromodeoxyuridinu (BrdU) jsme u nádorových pankreatických (PANC-1) a mesoteliálních (H28) buněk indukovali replikační stres, jehož vlivem se buňky přestaly dělit a získaly fenotyp senescentních buněk. U těchto buněk jsme pozorovali zvýšenou rezistenci vůči apoptóze indukované ligandem TRAILem v kombinaci s homoharringtoninem (HHT) a zvýšenou senzitivitu senescentních buněk vůči Fas ligandu, camptothecinu a mVESu. Tyto buňky také vykazovaly zvýšenou expresi antiapoptotického proteinu c-FLIP a změny v expresi proteinů z rodiny Bcl-2 proteinů. Snížení exprese c-FLIP prostřednictvím shRNA sice neovlivnilo odolnost senescentních nádorových buněk vůči TRAIL +HHT indukované apoptóze, ale zvýšilo jejich citlivost k BrdU. V rámci této práce jsme rovněž připravili klony H28 buněk se současnou inducibilní expresí dvou inhibitorů cyklin dependentních kináz (CDK), p21<sup>CIP1/WAF1</sup> and p16. Tyto buňky svým fenotypem připomínaly buňky senescentní a současně téměř neodpovídaly vůči většině použitých apoptogenů. Tyto výsledky napovídají, že “pouze” zastavené buňky postrádají některé vlastnosti senescentních buněk, které jsou pravděpodobně spjaté s poškozením DNA. Naše práce navazuje na některé již dříve publikované výsledky popisující změny v apoptotických drahách u senescentních buněk a přináší nové zajímavé informace o možné roli proteinu c-FLIP, receptorů smrti, Bcl-2 proteinů a inhibitorů CDK v kontextu buněčné senescence a apoptotické signalizace.

**Klíčová slova:** apoptóza, buněčná smrt, senescence, receptory smrti, c-FLIP, p21<sup>CIP1/WAF1</sup>, p16<sup>ARF/INK4a</sup>, nádorové buňky