

## STRESZCZENIE

Szok cieplny (ang. *heat shock*, HS) wpływa na kluczowe procesy komórkowe. Jednym z istotnych systemów sygnałowych, na którego działanie wpływa HS jest ścieżka zależna od czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (ang. *Nuclear Factor  $\kappa$ B*), głównego regulatora odpowiedzi prozapalnej i losów komórki. Sygnalizacja NF- $\kappa$ B oparta jest o jądrowo-cytoplazmatyczne translokacje, które za pomocą dynamiki regulują ekspresję genów docelowych. Odpowiedź na HS obejmuje zależną od czynnika HSF1 (ang. *Heat Shock Factor 1*) transkrypcję genów kodujących białka szoku cieplnego (HSP), jako część wewnątrzkomórkowego systemu naprawczego. Obecnie wiadomo, że HS hamuje aktywację NF- $\kappa$ B, jednak specyficzne mechanizmy oddziaływania ścieżki odpowiedzi na szok cieplny (ang. *Heat Shock Response*, HSR) i sygnalizacji NF- $\kappa$ B wciąż nie zostały dobrze poznane. W niniejszej pracy doktorskiej za pomocą konfokalnej mikroskopii przyżyciowej zbadano odpowiedź NF- $\kappa$ B po HS na poziomie pojedynczych komórek oraz znaleziono „okno czasowe”, w którym HS efektywnie tłumia aktywację NF- $\kappa$ B przez cytokiny. Analiza indukowanej odpowiedzi komórek U2OS (kostniakomięsak) i MCF7 (gruczolakorak piersi) ze stabilną ekspresją NF- $\kappa$ B p65-EGFP bezpośrednio po HS w 43°C, wykazała komórkowo swoiste oraz zależne od czasu trwania szoku tłumienie aktywacji NF- $\kappa$ B. W szczególności, komórki U2OS wykazały odpowiedzi typu „wszystko-albo-nic”, a czas ekspozycji na HS regulował w populacji frakcję komórek odpowiadających na TNF $\alpha$ . Analiza po zakończeniu 1h HS (tzw. *recovery*) w linii MCF7 p65-EGFP wykazała zanikające w czasie kilku godzin tłumienie odpowiedzi NF- $\kappa$ B. „Okno czasowe” zależało od zastosowanej cytokiny. O ile odpowiedzi na IL1 $\beta$  po 4h powracały do stanu przed HS, odpowiedzi na TNF $\alpha$  pozostawały tłumione. TNF $\alpha$  i IL1 $\beta$ , poprzez niezależne ścieżki transdukcji sygnału prowadzą do aktywacji kinaz IKK, które aktywują NF- $\kappa$ B poprzez fosforylację jego inhibitora. Z możliwych mechanizmów regulacyjnych wykluczono wpływ HS na wiązanie obu cytokin do swoich receptorów oraz na ich internalizację. Natomiast wykazano, że HS powodował zmniejszenie poziomu zdolnych do aktywacji białek IKK $\alpha/\beta$ , ale tylko do 2-3 h po HS, co jest zgodne z „oknem czasowym” odpowiedzi na IL1 $\beta$ . Wyciszenie ekspresji HSF1 pokazało udział zależnej od jego aktywacji ścieżki HSR w regulacji indukowanej przez TNF $\alpha$  (nie IL1 $\beta$ ) odpowiedzi komórek. Uzyskane wyniki wykazują, że potencjalne interakcje między ścieżkami NF- $\kappa$ B i HSR zachodzą na poziomie transdukcji sygnału od receptora do IKK, a regulacja za sprawą HSR dotyczy ścieżki receptora dla TNF $\alpha$ . Zaobserwowana heterogeniczność odpowiedzi oraz „okno czasowe” sugeruje konieczność dokładniejszych badań związanych z zastosowaniem hipertermii w leczeniu nowotworów.