

*Magyar Honvédség Egészségügyi Központ,
Tudományos Kutatóintézet, Sugárbiológiai Kutató Osztály*

A szomszédsági hatás és lehetséges szerepe az arterioszklerotikus folyamatokban

**Dr. Somosy Zoltán,
Dr. Galántai Rita Tünde, Ph.D.,
Dr. Horváth Győző ny. orvos alezredes,
Dr. Gachályi András ny. mérnök ezredes**

*Kulcsszavak: szomszédsági hatás, sejtek közötti kommunikáció,
mediátorok, ionizáló sugárzás, arterioszklerózis*

A sugárbiológiai kutatások során ismerték fel és jellemezték az ún. szomszédsági (bystander) hatást. Ebben a folyamatban a besugárzott sejtek által termelt egyes, intercelluláris mediátorként is funkcionáló anyagok, mint pl. a vízből vagy nitrogén oxidokból származó szabad gyökök, citokinek, mint a Fas ligandum (FasL), tumor nekrosis faktor alfa (TNF α), az eredetileg sugárhatásban nem érintett sejteket is károsíthatják. Ismeretes, hogy a bystander jelenség kialakításában szerepel az immunsejtek aktivációja, és az ezzel gyakran együtt járó gyulladásos folyamatok is. Az utóbbi években felismerték, hogy a szomszédsági hatást a besugárzás mellett más, fizikai, vegyi és biológiai ágensek (vírusok, baktériumok) is előidézhetik. A szomszédsági hatás során az ionizáló sugárzás, illetve a jelenséget előidéző más külső ágens hatása jelentős mértékben felerősödhet.

A szomszédsági hatás a különböző sejtkárosító ágensek által érintett, illetve ezekkel az ágensekkel közvetlenül nem érintkező sejtek közötti kommunikációs folyamatok következménye. Mivel az arterioszklerotikus kórfolyamatok kialakításában és fenntartásában az intercelluláris kommunikációval összefüggő folyamatok alapvetőek, ebben más tényezőkkel együtt a bystander mechanizmusok szerepe is minden bizonnyal fontosnak tekinthető. Jelen munkánkban összefoglaljuk a szomszédsági hatással kapcsolatos ismereteinket, és ezzel párhuzamosan áttekintjük, hogy a bystander mediátor anyagok milyen szerepet tölthetnek be az érlemezés kóroktanában és kórfejlődésében.

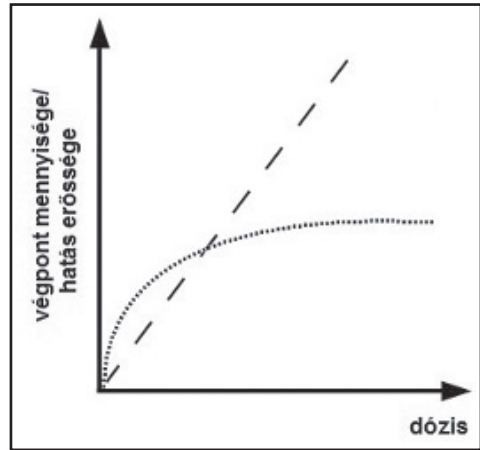
Hosszú ideig tartotta magát a sugárbiológia központi dogmájaként az elképzelés, hogy az ionizáló sugárzások biológiai hatása a DNS molekula sugárkárosodásának közvetlen következménye [1, 2]. Jelen tudásunk szerint azonban a *DNS támadáspont* mellett számos sejtorganelum, például a *plazma- és az endoplazmás retikulum membránok*, a *mitokondriumok*, valamint a *centroszómák* is szerepelhetnek az ionizáló sugárzás célpontjaként, melyek sugárkárosodása szintén közreműködhet a sejt, szövet, és szervezeti szintű változások kialakításában [3–7]. Az ilyen, nem DNS károsodásból származtatható végpontokat éppen a közvetlen elsődleges célszerv bizonytalansága miatt hívják a sugárzás „non-targeted”, vagyis kitüntetett célponthoz nem köthető hatásainak [2, 8, 9]. A non-targeted hatások közé sorolható a *genom instabilitás*, a kis sugárdózisoknál tapasztalható *hiperszenzitivitás*, az *adaptív válasz*, a különböző *gének* besugárzásokat követő *aktivitás változása*, a programozott sejthalál (*apoptózis*), és az ún. *késői sejthalál* jelensége. Ezenfelül vannak olyan, a besugárzott sejtek által termelt és intercelluláris mediátorként is funkcionáló anyagok, melyek közvetett módon, az elsődleges sugárhatásban közvetlenül nem érintett sejteket is károsíthatják. Ezt a jelenséget nevezik bystander vagy szomszédási hatásnak. A jelenségnek számos meghatározása ismert, melyeket Blyth és Sykes ismertet [10]. A szakirodalom a bystander jelenséget is a „non-targeted” hatások közé sorolja [2, 8, 9]. Jelen összefoglalónk tárgya ennek, az elsőként a sugárbiológiai kutatások során felismert és leírt jelenségnek az ismertetése, továbbá a szomszédási hatás lehetséges szerepének felvetése az érelmeszesedés kialakulásában, fenntartásában.

A szomszédási hatás

A szomszédási hatás felismeréséhez vezető egyik alapkísérlet során Nagasawa és Little azt tapasztalta, hogy kis dózisu alfa-sugárzással kezelt sejt kultúrában, ahol a számítások szerint a sejteknek csak 1%-a találkozhatott alfa-részecskével, a sejtek több mint 30%-ában figyeltek meg DNS károsodást, nevezetesen testvér kromatida kicserélődést [11]. A sugárzás DNS károsító hatásának megszorozódása azzal magyarázható, hogy a tenyészetben olyan sejtek is károsodtak, melyek – tekintettel az alfa-sugárzás rendkívül rövid hatótávolságára – nem lehettek kiteve az alfa-részecskék közvetlen hatásának. A vizsgálatok adatai szerint a közvetlenül károsodott sejtek különböző jelátvivő mechanizmusokon keresztül hatnak a környezetükben levő, esetünkben a sugárzás által közvetlenül nem érintett sejtekre [5, 6]. A hatás által közvetlenül érintett sejtekből származó biológiai szignálok átvittele *in vivo* és *in vitro* körülmények között egyaránt lehetséges.

Az utóbbi években a szomszédási hatás – eredetileg sugárbiológiában bevezetett – fogalma jóval szélesebb értelmet nyert. Felismerték ugyanis, hogy a szomszédási hatás indukciója nem korlátozódik az ionizáló sugárzásra. Kísérleti eredmények szerint a szomszédási hatás kialakulását az ionizáló sugárzásokon kívül más fizikai ágensek, például hőhatás [12] és UV expozíció is okozhatják [13, 14]. Ezenfelül szomszédási hatás tapasztalható különböző kémiai ágensekkel, például citosztatikumokkal [15], peszticidekkel [16], valamint toxikus fémekkel [17] történő kezelése során is. Megjegyzendő, hogy saját adataink szerint a malathion kezelés is okoz szomszédási hatásként értékelhető változásokat, nevezetesen a károsodott sejtek csoportokban he-

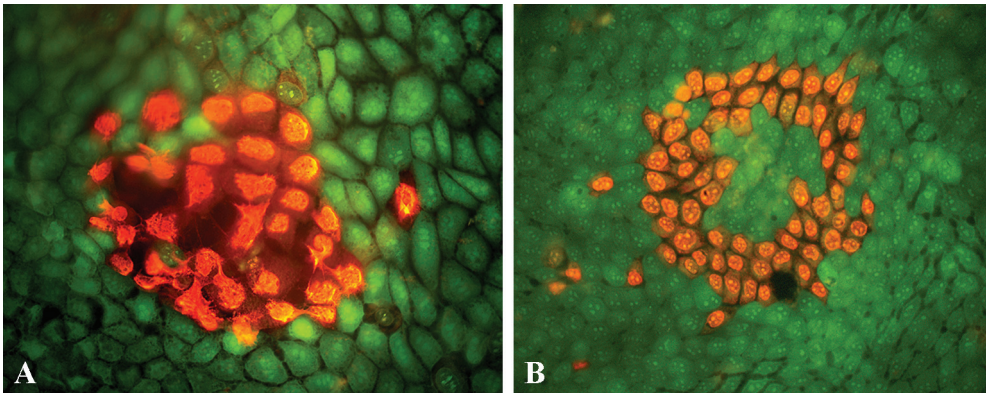
lyezkednek el [18]. Kísérleti adatok állnak rendelkezésre, melyek szerint vírus vagy baktérium fertőzött szervezetekben olyan sejtek is károsodnak, melyek közvetlenül nem érintkeztek a kórokozókkal, azaz ilyen esetben is beszélhetünk szomszédsági hatásról [19, 20]. Újabban felvetődött, hogy a szomszédsági hatás kialakításáért nem valamilyen specifikus károsodás felelős, hanem a jelenség a sejt-, szövet-, vagy éppen szervezeti szintet érő aspecifikus stresszhatás következménye [19, 21, 22]. A szomszédsági hatás kialakulásának dóziszfüggését számos szerző vizsgálta [5, 6, 23–27]. Szomszédsági hatás esetén a dózis-hatás összefüggés általában telítési görbével írható le (1. ábra), vagyis a bystander folyamat során kialakuló végpontok mennyisége és ezáltal a változások mértéke csak egy viszonylag szűk tartományban arányos a dózissal, ezt követően a dózis emelésével telítésbe megy át, s ennek mértéke már nem változik jelentősen a dózis további növelésével. Ez a dózis-hatás görbe lefutás úgy értelmezhető, hogy a hatást átadó, a közvetlenül károsodott sejtekből kikerülő jelátvivő vegyületek mennyisége



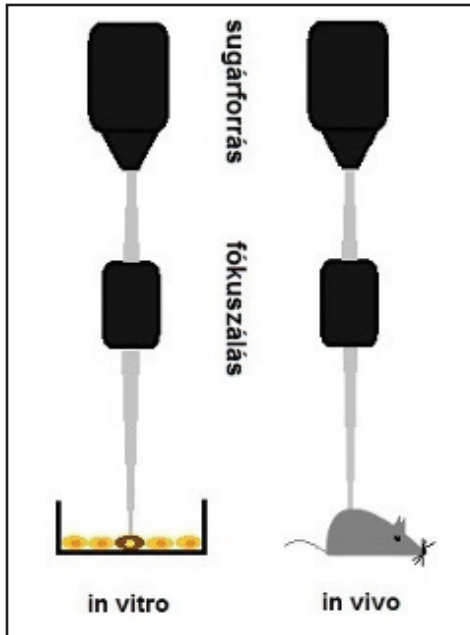
1. ábra: Dózis-hatás görbe direkt-hatás (szaggatott vonal), illetve szomszédsági hatás esetén

csak szűk dózistartományban növekszik. (Az 1. ábrán szereplő „direkt károsodás” nem azonos a sugárbiológiában ismert, sztochasztikus hatásokra vonatkozó lineáris összefüggéssel.)

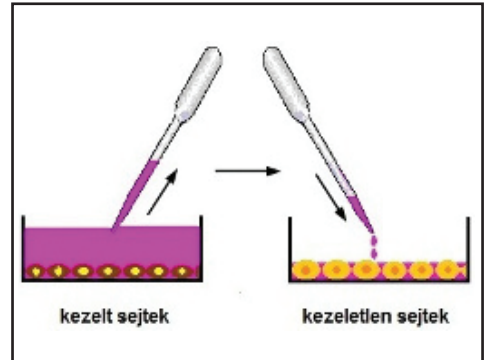
A szomszédsági hatás kimutatása és egyes részleteinek vizsgálata többféle kísérleti rendszerben lehetséges. Bystander hatásra utalhat egy adott végpont (pl. apoptózis,



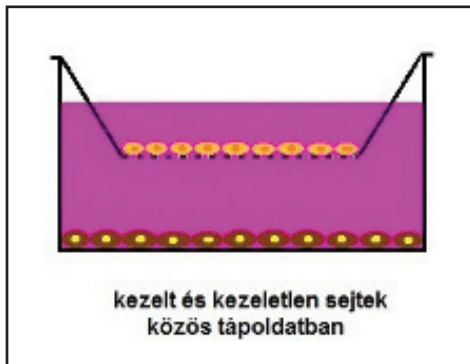
2. ábra: Szomszédsági hatás által károsodott MDCK sejtek röntgen besugárzást (6 Gy, 8 óra) követően (A,) illetve a kultúra öregedésének hatására (B). A sejtek festése „élő-holt” festéssel történt (Molecular Probes LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit for mammalian cells). Az elpusztult sejtek pirosan festődnek.



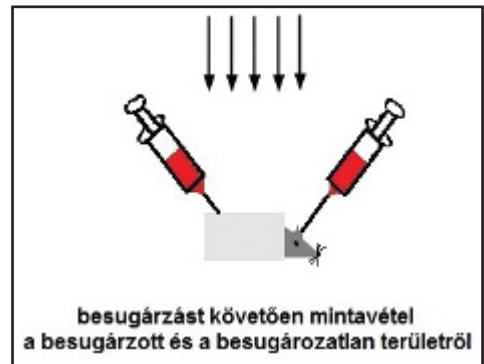
3.a ábra: Mikrosugárnyaláb besugárzás



3.b ábra: Médium csere



3.c ábra: Ko-kultúra



3.d ábra: In vivo részleges besugárzás

3. ábra: A szomszédsági hatás tanulmányozására gyakran használatos módszerek

örökítő anyag károsodás) egyenlőtlen eloszlása a vizsgált biológiai rendszerben [28]. Könnyen belátható, hogy számos külső hatás, beleértve a diffúz ionizációt eredményező sugárzásfajtákkal és különböző vegyi anyagokkal történő kezeléseket, a sejt kultúrát vagy szövetet összességében egyenletesen éri, s a kialakuló változások is nagy valószínűséggel egyenletesen helyezkednek el. Amenny-

nyben ezek a változások az adott biológiai rendszerben szomszédsági hatásként is megjelennek, az egyenletes eloszlás megszűnik. A 2. ábrán saját anyagunkból mutatunk be példát, ahol a kezelés röntgen besugárzással történt, s a vizsgált végpont sejtpusztulás volt. Malathionnal (peszticid) történő kezeléseket követően az apoptotikus sejtek szintén csoportokban helyezkednek el [18].

Az ionizáló sugárzás hatására kialakuló szomszédsági hatás tanulmányozására jól használható módszer a *mikrosugárnyaláb* (microbeam) besugárzásos technika [29–31]. Ezzel a technikával irányítottan lehet besugározni egyes szöveteket, különálló sejtcsoportokat, sejteket, sőt sejtoranellumokat is (3.a ábra). Pontosan meghatározható a besugárzási dózis, részecske besugárzás esetén a részecskék száma, energiája. Ezzel a technikával végzett kísérletek során jól elkülöníthetők a közvetlenül sugárkárosodott és a bystander sejtek, és pontos adatok nyerhetők a szomszédsági hatás kiterjedéséről, mértékéről. Ez a technika az *in vitro* körülmények között végzett kísérletek mellett *in vivo* rendszerekben is jól alkalmazható. Ugyanakkor a kísérletek kivitelezése speciális technikai hátteret igényel, melynek következtében ilyen vizsgálatokra alkalmas kísérleti rendszerrel csak néhány nagy laboratórium rendelkezik.

Az *in vitro* körülmények között kialakuló szomszédsági hatás tanulmányozására használható a *médium csere* [1, 32]. Ebben az esetben a biológiai hatás vizsgálata a citotoxikus ágensnek (pl. ionizáló sugárzás) kitett sejtekről származó tápoldattal való kezeléseket követően történik. A besugárzott sejtekről eltávolított tenyésztő oldatot meghatározott idő elteltével lecserélik egy kezeletlen tenyésztőről származóval (3.b ábra). Ilyenkor elmondható, hogy a besugárzott (károsító ágenssel kezelt) sejteken tapasztalt elváltozások túlnyomóan az adott kezelés közvetlen károsító hatásának következményei, s a besugárzott tenyészetekből származó tápoldatban növő sejteken a szomszédsági hatás alakul ki.

A szomszédsági hatás vizsgálatára gyakran használnak ún. ko-kultúrát [33].

Ebben az esetben speciálisan kialakított tenyésztő edényekben a besugárzott (kezelt) sejtek közös tápoldatban vannak a besugározatlan (kezeletlen) sejtekkel (3.c ábra).

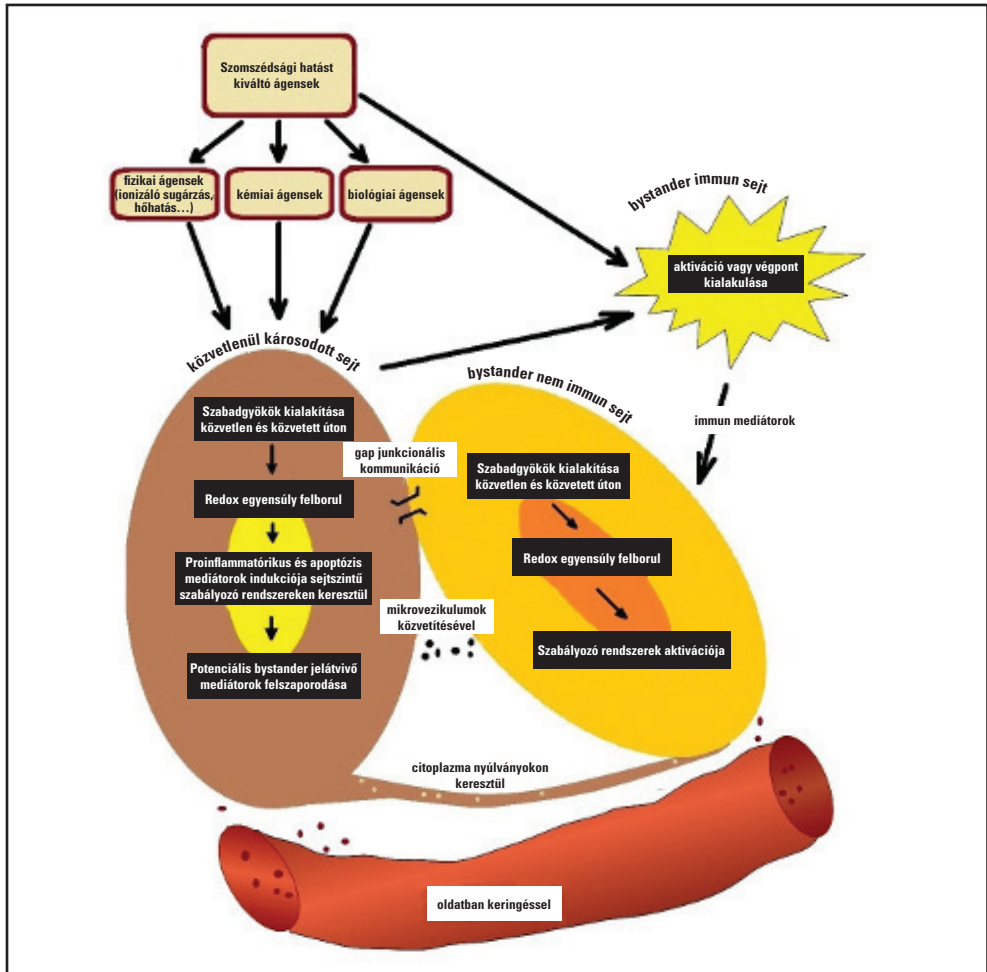
Az *in vivo* hatások tanulmányozására az említetteken kívül elterjedt vizsgálati módszer, amikor különböző testtájakat, szerveket izoláltan sugároznak be (3.d ábra), és vizsgálják a besugárzott, illetve árnyékolt testtájakat, továbbá a testfolyadékok, jellemzően a vér egyes paramétereinek változásait [34]. Gyakran a részlegesen besugárzott szervezetből származó vér biológiai hatásait *in vitro* rendszerben tanulmányozzák. Az *in vivo* szomszédsági hatás tapasztalható besugárzott szervezetbe transzplantált sejtek, szövetek esetében is.

A szomszédsági hatás kialakulásának fázisai

A szomszédsági hatás három jól elkülöníthető szakaszra bontható [10,35]. A folyamat *kezdeti lépései* a bystander hatást előidéző ágens és a vele kapcsolatba kerülő sejtek kölcsönhatása során játszódhatnak le. A *második* alapvető szakasznak tekinthető a bystander szignál sejtek közötti átvitele, melyet *harmadik szakaszként* követnek a szomszédsági hatást kialakító sejtekben lezajló történések. A folyamat vázlatos összefoglalását a 4. ábrán mutatjuk be.

A bystander folyamat első szakasza

A szomszédsági hatást előidéző ágensek eltérőek lehetnek. Mint fentebb már említettük, feltételezések szerint a bystander jelenség kiváltója a sejtkárosító ágensek aspecifikus, általános stresszt előidéző hatása [21, 22]. A behatás által elsődlegesen (direkt módon) érintett sejtekben oxida-



4. ábra: A szomszédosági hatás folyamatának vázlatos összefoglalása

tív stresszt okozó, az ágens által közvetlenül vagy közvetve vízből keletkező reaktív szabadgyökök (hidroxil-gyök ($\text{OH}\cdot$), hidratált elektron (e_{aq}^-), perhidroxil-gyök ($\text{HO}_2\cdot$), hidrogénperoxid (H_2O_2), illetve nitrogén oxidokból származó szabadgyökök ($\text{NO}\cdot$, $\text{NO}_2\cdot$, ONOO^-)) jelennek meg [5, 6, 31, 36–40]. Ez a folyamat károsítja a sejtszintű szabadgyök egyensúlyt kialakító és fenntartó sejtservecskéket, nevezetesen a plazmamembránt, az endoplazmatikus retikulum membránokat, illetve a mitokondriumokat, és felborítja ezek homeosztázisát [41, 42].

A megbomlott szabadgyök egyensúly szabályozási folyamatokat aktivál, melynek eredményeként különböző mediátor anyagok szintetizálódnak, melyek részt vesznek a hatásra megjelenő különböző végpontok (sejtpusztulás, DNS károsodással összefüggő elváltozások, gyulladással összefüggő elváltozások, gyulladás, proliferáció gátlás, stb.) kialakításában [42]. Azoknál az ágenseknél, melyek rendelkeznek közvetlen DNS károsító hatással, a helyzet bonyolódik azzal, hogy az említett végpontok az örökítő anyag károsodásának következtében is megjelenhetnek.

A szomszédsági hatás jelátviteli szakasza

A károsító hatás által közvetlenül érintett sejtekben lejátszódó bonyolult, a sejt- és szövetszerveződés különböző szintjeit érintő folyamatokkal párhuzamosan megkezdődik a bystander szignálként funkcionáló vegyületek sejtek közötti átvitele. A bystander jelátvitel fontos jellemzői a bystander hatást generáló jelek kibocsátásának időpontja és időtartama, a jelátvitel távolsága, irányultsága, a jelátviteli anyagok kémiai és biológiai természetete, valamint a jelátvitelt lehetővé tevő mechanizmusok.

A bystander hatást generáló jelek kibocsátási időpontjára és időtartamára számos kísérleti adat áll rendelkezésre [5, 6, 31, 40]. A szomszédsági hatás megjelenéséhez szükséges idő széles időintervallumban mozog. *In vitro* kísérleti rendszerekben – tápoldat cserés módszerrel végzett vizsgálatok szerint – általában fél és egy óra közé tehető az az idő, amely szükséges ahhoz, hogy a kiváltó ágensnek kitett sejtekről a kezelést követően leszívott tápoldat jelentősebb változásokat idézzon elő a kezeletlen sejteken. Természetesen a szignalizációban résztvevő anyagok életideje is fontos meghatározó tényező a folyamatban. Ugyanakkor *in vivo* bystander folyamat során a szabadgyökök emelkedett mennyisége a vérben 24 óra elteltével is mérhető [31].

Hu és *mtsai* adatai szerint a DNS kettős száltörés (DSB, double strand break) már 2 perccel a bystander hatás inicializációját követően megjelenik, s maximumát 30 perc után éri el [24]. Más végpontok, pl. az apoptózis sejtpusztulás több óra, vagy nap után manifesztálódik. Ugyanakkor egyes végpontok, köztük több non-targeted hatás (genom instabilitás,

elhúzódó apoptózis, tumoros átalakulás, stb.) kialakulásához kifejezetten hosszú idő szükséges. Ezek az elváltozások *in vitro* rendszerekben alkalmasint csak 10–20 nemzedékkel később jelennek meg [31, 40]. Nyilvánvalónak tűnik, hogy a jelátvitel mellett a szomszédsági hatás időtartamának másik meghatározó tényezője az adott végpont (hatás) kialakulásának ideje. Médiumcserés kísérleti eredmények szerint *in vitro* körülmények között optimális mértékű szomszédsági hatást a besugárzás után 30–60 perccel lecserélt tápoldattal lehet előidézni, azaz a jelátvivő vegyületek megjelenése és kikerülése a tápoldatba elsősorban erre az időintervallumra korlátozódik [1, 32]. Ezt az időtartamot a jelátvivő anyag kikerülési sebessége mellett annak stabilitása határozza meg. Az *in vivo* bystander folyamatok esetében ez az időintervallum módosulhat, általában növekszik. Így pl. besugárzott egérből származó csontvelővel kondicionált médium 1 órával a besugárzás után nem volt hatásos, de 24 órával később már szignifikáns változás volt tapasztalható a DNS károsító hatásban, illetve az apoptózis indukcióban [23]. A tápoldat cserés és azonos kultúrában végzett bystander végpontok kialakulási dinamikájában tapasztalt különbség (30–60 perc), valamint a 2–30 perces bystander jelátviteli időpontok, különböző párhuzamos jelátviteli mechanizmusok létéről tanúskodnak. Az említett DNS száltörést okozó jelátvivő anyag(ok) átvitelében is feltételezhetőek eltérő mechanizmusok, hiszen az említett szerzők adatai szerint a folyamat lindánnal (gap junkcionális kommunikáció gátló) és dimetilszulfóxiddal (gyökfogó) egyaránt gátolható [24]. Ez arra utal, hogy a DSB-t kiváltó bystander szignál átvitelében mindkét kommunikációs forma (réskapcsolat, szabadgyökök) egyaránt részt vehet.

A bystander jelek hatótávolsága és irányultsága

A bystander szignalizáció folyamata során elkülöníthetünk rövid [24–27] és hosszabb hatótávolságú [8, 43–47] *jelátviteli folyamatokat*. A rövid hatótávolságú jelátvitel során a bystander szignálok hatóköre néhány 10 μm -tól (néhány sejtátmérő) néhány mm-ig terjedhet [24–27].

A bystander folyamatokat előidéző közvetlen hatásban érintett sejtek és szövetek által kiválasztott jelátvivő anyagok a vérkeringés közreműködésével más (távolabbi) szervekre és szervrendszerekre is hatást gyakorolhatnak [43–47]. Nagyobb hatótávolságú bystander jelátvitelnek tekinthető az ionizáló sugárzás hatására kialakuló, ún. *abscopalis (távoli) hatás* jelensége [48]. Ez azt jelenti, hogy a szervezet részleges besugárzásának helyétől távol klinikailag megfigyelhető sugárbiológiai hatás tapasztalható. Például a lép besugárzását követően is kialakulhat egy csontvelői hipocellularitás. Más ilyen ismert hatás, amikor a tumorterápia során a besugárzási mezőbe nem kerülő tumorok is változnak.

Az elsődlegesen kikerülő mediátor anyagok a vérkeringésbe kerülve stimulálják az

immunsejteket (T-sejtek, makrofágok), s ezeken keresztül az immunrendszert. A T-sejtek stimulációja speciális, ún. bystander stimuláció. Ebben az esetben a T-sejt aktiváció, s az ezzel kapcsolatos fenotípusos és funkcionális változások kialakulása nem a specifikus T-sejt receptor (TCR), hanem más receptorok stimulációján keresztül történik [49]. Ugyanakkor az eltérő stimulációs úton kiváltott fenotípusos változások, valamint a sejtek proliferációjában, a citotoxicitásban, citokin produkcióban bekövetkező változások, illetve az apoptózis kialakulása hasonló a TCR stimulációt követően tapasztaltakhoz. Ezekhez a folyamatokhoz társulhat egyes bystander jelátvivők további multiplikációja. Az immunsejtekből kikerülő mediátorok a továbbiakban szintén hathatnak a bystander sejtekre, illetve visszahatnak az eredetileg károsodott sejtre is. Ezeket a potenciális jelátviteli folyamatokat, illetve lehetséges összefüggéseit a 4. ábrán mutatjuk be.

A bystander folyamatban résztvevő jelátvitel irányultságának kérdése összefügg a jelátvitelt kialakító mechanizmussal, illetve a folyamatban résztvevő egyéb sejtekkel és faktorokkal. Minden bizonnyal ezt a kérdést az adott, aktuális jelátvivő,

JELÁTVIVŐ ANYAG, VEGYÜLET	IRODALOM
Reaktív oxigén szabadgyökök – hidroxil gyökök – nitrogén oxidból származó szabadgyökök	5, 6, 31, 38–40
Citokinek – TGF β 1, (transforming growth factor beta1) – TNF α , (tumor nekrosis faktor-alfa), – FasL (Fas ligand), – Interleukinok (IL-3, IL-6, IL-8, IL-12, IL-33)	1, 5, 6, 31, 38, 40, 50–54
Extracelluláris DNS (ec-DNA)	55, 56
Kalcium	57
ATP	58

I. táblázat: *Bystander jelátvitelben szereplő anyagok*

illetve a közvetlenül károsodott sejt típusa és állapota (pusztuló, túlélő) befolyásolja, vagy határozza meg.

A rövid hatótávolságú (a sejt közvetlen szomszédságában ható) jelátvitel során kérdéses, és számos esetben tisztázatlan, hogy egyrészt az elsődlegesen károsodott sejtekből kikerülő bystander szignált hordozó anyag visszahat-e (és ha igen, mennyiben) az őt kibocsátó sejtre, másrészt a bystander sejtek a bennük bekövetkező folyamatok és végpontok kialakulásával párhuzamosan mennyiben szekretálnak további jelkeltő és jelátvivő (jelátvivő) molekulákat. *Ivanov* és *mtsai* 2010-ben publikált közleményükben leírták, hogy egyes interleukinok (IL-33, IL-6 és IL-8) kikerülhetnek a környezetbe a bystander sejtekből [50].

A bystander jelátvitelben szereplő anyagok

A bystander jelátvitelben szereplő anyagok meghatározására jelentős számú vizsgálat történt. A vizsgálatok során azonosított fontosabb bystander jelátvivőket az *I. táblázatban* soroltuk fel. Ezek az anyagok nagymértékű egyezést mutatnak a közvetlenül károsodott sejtekben kimutatható, illetve belőlük felszabaduló anyagokkal.

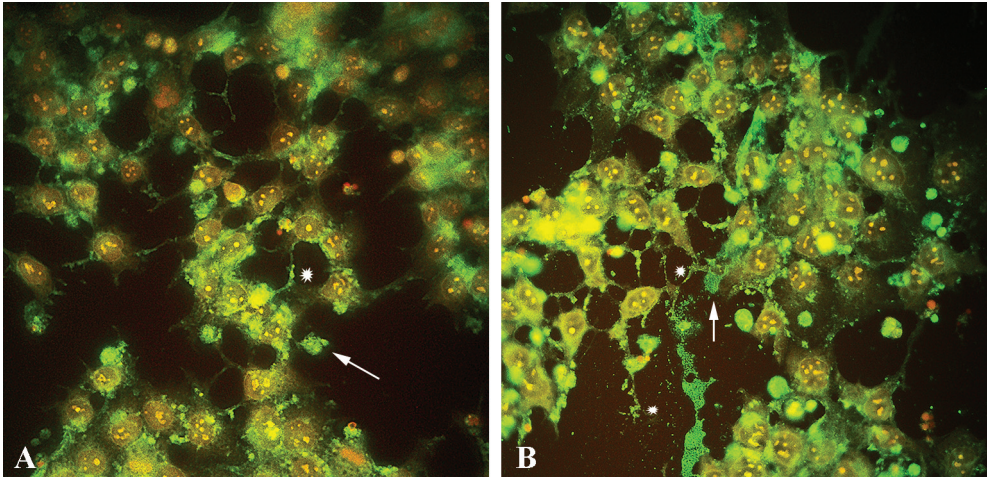
A bystander jelátvitel másik fontos jellemzője a sejtek közötti átvitel módja, formája és mechanizmusa. Ez történhet a *sejtek között közvetlenül, valamilyen sejtkapcsolón keresztül*, és megvalósulhat a *sejtek közötti térbe, illetve a keringésbe kikerülő molekulák, vagy mikrorészecskék (mikrovezikulák) közreműködésével*.

Hám- és endothelsejteknel a sejtek között található sejtkapcsoló komplex dinamikus kommunikációt tesz lehetővé. A sejtkapcsoló komplex egyik eleme, a réskapcsolat (gap-junkció) egy nyit-

ható-zárható csatornát alakít ki a két szomszédos sejt között, melyen keresztül lehetőség van ionok (kálium, kalcium), másodlagos jelátvivők (cAMP, cGMP, IP3), és kis molekulású anyagcsere termékek (pl. glükóz) átvitelére. Így ez a membrán szerkezeti elem egyaránt létrehozhat elektromos és biokémiai kapcsolatokat. Ezeket a struktúrákat speciális fehérjék, ún. connexin molekulák építik fel, melyek szerkezeti változása szabályozza a csatorna nyitott vagy zárt állapotát [59].

Számos kísérleti bizonyíték ismeretes arra, hogy a réskapcsolatok részt vesznek a bystander szignál átvitelében [5, 6, 25, 31, 60–62]. Rendelkezésre állnak közvetlen mérési eredmények egyes potenciális jelátvivő anyagok (kalcium, ATP) vonatkozásában és a réskapcsolatok szerepére számos közvetett adat is utal [63]. Így például leírták, hogy a bystander folyamat során, illetve a szomszédsági hatás átvitelében kulcsszerepet játszó citokinek, például a TNF vagy a FASL a connexin molekulák expresszióját idézik elő [64]. Ugyanakkor a réskapcsolatokon keresztül történő kommunikációt gátló szerek, mint az oktanol és a carbenoxolon befolyásolják a szomszédsági hatás mértékét [65].

A mostanában intenzíven tanulmányozott citoplazma nyúlványokon (nanotubulus) keresztül történő intercelluláris kommunikáció is közreműködhet a bystander szignál átvitelében [60, 66, 67]. Ez a sejtkapcsolati forma egymástól távolabb lévő sejteket köt össze egymással, lehetővé téve különböző anyagok, esetleg sejtorganellumok, például mitokondriumok kölcsönös cseréjét. A nanotubulusok bystander jelátvitelben betöltött szerepe részleteiben még nem ismeretes. Az irodalomból ismert [52] és saját kísérleti adataink is bizonyít-



5. ábra: FasL (A) és kaszpáz 3 (B) *in vitro* intercelluláris transzportja choriocarcinoma (JAR) sejtvonalon. Az aktivált sejtek nagy mennyiségben termelnek FasL-ot, illetve kaszpáz 3-at [90]. Mindkét anyag megfigyelhető a sejtek citoplazma vakuólumaiban, illetve a sejtközötti térben látható vezikulákban (nyíl), továbbá ezzel párhuzamosan a sejtek között kialakult citoplazma nyúlványokban és nyúlványokon is (csillag). Az ábrán bemutatott munkában a közlemény szerzőin kívül részt vett Cseh Katalin biológus (MH Honvédkórház Tudományos Kutató Intézet) és Váliczkó Éva biológus (Országos F.J.C. Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet). Együttműködésüket köszönjük.

ják, hogy az apoptózis (programozott sejthalál) folyamatának aktív közreműködői, a FasL és a kaszpáz 3 enzim intercelluláris transzportjában ezek a struktúrák szerepelnek. Saját kísérleti anyagunkban ezeknek az anyagoknak a megjelenése citoplazma nyúlványokban immunohisztokémiai módszerrel kimutatható egy olyan kísérleti rendszerben, mely a FasL sejtek közötti transzportját modellezi (5. ábra).

Ugyancsak újabban felismert intercelluláris szignálizációs út a sejtekből kikerülő ún. mikrovezikulumokon keresztüli jelátvitel [68,69]. Ezek a vezikulumok származhatnak a citoplazmából, lehetnek plazmamembrán eredetűek és kialakulhatnak a pusztuló sejtekből is. A jelátvivő anyagok és molekulák elhelyezkedhetnek a vezikulumok határoló

membránjában, de lehetnek ezek belsejében is. A bystander jelkeltő és átvivő molekulák közül a FasL esetében erre a potenciális jelátviteli útra több irodalmi adat is utal [53,54]. Az előzőkben említett vizsgálati eredményeink (5. ábra) azt mutatják, hogy a nyúlványokon keresztüli átvitel mellett a sejtek közötti térben látható, citoplazma eredetű vezikulákban is kimutatható a FasL, illetve az aktív kaszpáz 3 enzim.

A szomszédsági hatást kialakító sejtekben lezajló történések

A bystander folyamat harmadik szakaszában a szomszédsági hatásban érintett sejtekben a sejtek közötti jelátvivő anyagok hatására kialakulnak a különböző végpontok. Ezeknek a végpontoknak a kialakulása során a bystander sejtekben természetesen aktiválódnak a külön-

böző jelátvivő folyamatok [5, 6, 40]. A sugárzásban közvetlenül érintett sejthez hasonló, vagy azokkal megegyező végpontok, pl. DNS károsodás, illetve sejtpusztulás kialakulása a bystander sejtekben nem szükségszerűen azonos mechanizmusok eredménye [70, 71].

A szomszédsági hatás különböző fázisaiban lejátszódó változások lefolyásának lehetséges ideje is számos vizsgálat tárgyát képezte, és ezzel kapcsolatban több elképzelés is ismert. Az első szakasz kinetikáját a folyamat során kialakuló elsődleges jelátvivők (reaktív hidroxil- és a nitrogénoxidból kialakuló szabadgyökök) megjelenése és a felezési idővel jellemezhető élettartama határozhatja meg. Ezek keletkezése gyors és dinamikus folyamat, néhány század másodperctől néhány perces időintervallumba tehető. Ugyanakkor ismeretes, és az előzőekben már utaltunk is rá, hogy különböző másodlagos jelátvivők, pl. egyes citokinek, szintén részt vesznek a bystander jelátvitelben. Ezek kialakulása az elsődlegesen károsodott sejtekben az expozíciót követően már perces vagy órás intervallumba tehető.

Újabban kimutatták, hogy a reaktív oxigén és nitrogén oxid gyökök, citokinek stb. kiválasztása a közvetlen stresszhatásnak kitett sejtek mellett ilyen hatásnak nem kitett sejten is megtörténhet. Így leírták bystander jelátvivő anyagok kiválasztását *senescens* (osztódóképességét elvesztett, kórosan öregedett), és tumorosan *transzformált* sejtekben is. Ezek a sejtek folyamatosan károsíthatják a környezetükben lévő egészséges sejteket, illetve a kiválasztott biológiailag aktív anyagok a keringésbe jutva elváltozásokat idézhetnek elő távolabbi helyeken is [72, 73]. Bonyolítja a helyzetet, hogy ilyen sejtalakok kialakulhatnak különbö-

ző bystander folyamatot indukáló ágens hatására közvetlenül, a velük történő kezelések eredményeként és bystander végpontként is.

Az utóbbi években számos szerző feltételezi, hogy a nagy számban keletkező és felszabaduló szabadgyökök egyensúlyának krónikus vagy akut felbomlása lenne a kiváltó oka számos, a patológiás öregedéssel összefüggő változásnak vagy komplex kórképnek, mint például az elhízás, sarcopenia, metabolikus szindróma, demencia, rák, arterioszklerózis, csontritkulás [42, 74–76]. A reaktív szabadgyök egyensúly különböző sejt- és szövetszintű szabályozó mechanizmusokon keresztül felbomlása proinflammatorikus molekulák (citokinek, adhéziós molekulák, nitrogén oxid szintáz, ciklooxigenáz) megjelenését vagy kóros mértékű képződését eredményezi, mely aztán öngerjesztő és öfenntartó módon krónikus gyulladással sokkal összefüggő kórképekhez vezethet. Ez a krónikus gyulladással analóg szöveti reakció az arterioszklerózis esetében az érfalban alakul ki [76].

Az arterioszklerózis kialakulása, a szomszédsági hatás lehetséges szerepe

A továbbiakban összefoglaló közlemények alapján vázlatosan ismertetjük az arterioszklerózis betegség és ezzel együtt az arterioszklerotikus plakkok kialakulását, sejtes és nemsejtes felépítését [76–81].

Az arterioszklerózist és az ezzel együtt járó érfalelváltozásokat, az ún. arterioszklerotikus plakkok kialakulását az érfal sérülése idézi elő. Ilyen sérüléseket okozhatnak a vérkeringés dinamikai tényezői által előidézett nyíróerők. Az okozott elsődleges elváltozások kialakulását elősegítheti, a kórfolyamat fej-

lődését pedig súlyosbíthatja különböző külső fizikai tényezők, kémiai anyagok, és nem utolsósorban mikrobiális ágensek jelenléte. A sérülés következtében megnő az érfal permeabilitása, és egy komplex folyamat eredményeként kialakul az arterioszklerotikus plakk. Az intima érintett részében elhelyezkedő plakkban toxikus anyagok halmozódnak fel, és különböző típusú sejtek vándorolnak be. A egyik ilyen toxikus anyag az oxidált LDL, melyet a nagy számban felgyülemelő és aktiválódott makrofágok, valamint az érfal mélyebb rétegeiből bevándorló simaizom sejtek felvesznek, kialakítva az ún. habos sejteket. A habos sejteken kívül a plakk jellegzetes összetevője az elpusztult sejtekből kiszabadult szabad koleszterin. A plakkban egyéb immunsejtek, például aktív T-sejtek és természetes ölüsejtek, valamint a B-sejtből átalakult, antitest termelő plazmasejtek, illetve aktivált simaizomsejtek halmozódnak fel. A szerkezet részét képezik még különböző kötőszöveti elemek, mint a glükózaminoglikánok és kollagén rostok, illetve a csökkent vérrellátású területeken lerakódó kalciumhidroxipatit. A plakkot kívülről szintén kötőszövet borítja. A plakkban lévő habos sejtek termelik a gyulladással kapcsolatos folyamatokra jellemző kémiai anyagokat, nevezetesen a proinflammatorikus (interferon-1, TNF- α) és egyéb citokineket (pl. FasL), kemokineket, szöveti faktort, extracelluláris mátrix metalloproteinázokat, reaktív oxigén- és nitrogén gyököket, prosztanoidokat, stb. [82].

Az arterioszklerózis iniciációjával és a plakkok kialakulásával kapcsolatos jelátvivő folyamatok, a plakkok kialakulásában közreműködő sejtek, azok funkcionális állapota, az ott megjelenő intercelluláris mediátorok és az általuk

kialakított kommunikációs formák nagymértékű hasonlatosságot vagy azonoságot mutatnak a bystander kölcsönhatás során tapasztaltakhoz. Erre hozunk néhány konkrét példát az alábbiakban. Az arterioszklerózis kialakulásában, illetve a kialakulás valószínűségét növelő ágensek között ugyanazok a biológiai, mikrobiális, kémiai és fizikai tényezők szerepelnek, melyek a bystander folyamat indukciójáért is felelőssé tehetőek. Ismert például, hogy az ionizáló sugárzás jelentősen növeli az arterioszklerózis kialakulási valószínűségét [83–85]. Feltevételek szerint az érkárosodások kialakításában alapvető a sugárkárosodott sejtekből származó, a besugárzás által indukált oxidatív stressz következtében aktiválódó proinflammatorikus gének és az ezek irányításával szintetizálódó, gyulladást előidéző anyagok szerepe [83]. Az arterioszklerotikus plakkban felgyülemelő számos sejtfeleség közül a makrofágok és a T-sejtek aktivált állapotban vannak. Az aktivált sejtek jelentős mennyiségben választanak ki különböző citokineket és egyéb faktorokat, melyek hatást gyakorolnak a szomszédos sejtekre. Rendelkezésre állnak kísérleti adatok, melyek szerint az arterioszklerotikus plakkban lévő sejtek egyes biokémiai paraméterek alapján senescensnek tekinthetők, melyekre a mediátor anyagok folyamatos kiválasztása jellemző [86, 87]. Ha áttekintjük az arterioszklerotikus plakkban lévő sejtek által kiválasztott citokineket és egyéb mediátor anyagokat, olyan proinflammatorikus (interferon-1, TNF- α) és egyéb citokineket (pl. FasL), kemokineket, szöveti faktort, extracelluláris mátrix metalloproteinázokat, reaktív oxigén- és nitrogén szabadgyököket és prosztanoidokat találunk közöttük, melyek jelentős egyezést mutatnak a bystander hatás ki-

alakításában résztvevő anyagokkal (*I. táblázat*). Legújabb kutatási eredmények szerint a kémiai kommunikáció mellett kimutatható a plakk sejtes elemei közötti mikrovezikuláris kommunikáció is. Rautou és munkatársai továbbá Wang és munkatársai is olyan mikrostruktúrákat figyeltek meg az arterioszklerotikus plakkban, melyek elősegítik az érben a monociták letapadását és transz-
endoteliális migrációját [88, 89].

A fentiekben ismertetett példák alapján feltételezhető, hogy az arterioszklerotikus plakk kialakulásában, progressziójában, destabilizációjában, leválásában, vagy esetlegesen az új plakk megjelenésében résztvevő intercelluláris kommunikációs utak számos esetben szomszédsági hatásként jelennek meg, vagyis az aktiválódott sejtekből származó kémiai, biológiai szignálok hatására a folyamat során „egészséges sejtek” károsodnak [79]. A szomszédsági hatás folyamatának vizsgálata során felhalmozódott és jelen munkánkban vázlatosan összefoglalt ismeretanyag hozzájárulhat, és új szempontokat adhat az arterioszklerózis folyamatának jobb megértéséhez is.

IRODALOM

- [1] *Mothersill, C., Seymour, C. B.*: Radiation-induced bystander effects and the DNA paradigm: an „out of field” perspective. *Mutat. Res.*, 2006, 597: 5–10.
- [2] *Baverstock, K., Belyakov, O. V.*: Some important questions connected with non-targeted effects. *Mutat. Res.*, 2010, 687(1–2): 84–88.
- [3] *Köteles, G. J.*: New aspects of cell membrane radiobiology and their impact on radiation protection. *At. Energy Rev.*, 1979, 17(1): 3–30.
- [4] *Somosi, Z.*: Radiation response of cell organelles. *Micron.*, 2000, 31: 165–181.
- [5] *Hamada, N., Matsumoto, H., Hara, T., Kobayashi, Y.*: Intercellular and intracellular signaling pathways mediating ionizing radiation-induced bystander effects. *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, 2007, 48: 87–95.
- [6] *Hei, T. K., Zhou, H., Ivanov, V. N. et al.*: Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2008, 60: 943–950.
- [7] *Gupta, S., Kass, G. E., Szegezdi, E., Joseph, B. J.*: The mitochondrial death pathway: a promising therapeutic target in diseases. *Cell Mol. Med.*, 2009, 6: 1004–1033.
- [8] *Morgan, W. F.*: Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: I. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vitro. *Radiat. Res.*, 2003, 159: 567–580.
- [9] *Iyer, R., Lehnert, B. E.*: Effects of ionizing radiation in targeted and nontargeted cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000, 376(1): 14–25. Review
- [10] *Blyth, B.J., Sykes, P.J.*: Radiation-induced bystander effects: what are they, and how relevant are they to human radiation exposures? *Radiat. Res.*, 2011, 176(2): 139–57.
- [11] *Nagasawa, H., Little, J. B.*: Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.*, 1992, 52: 6394–6396.
- [12] *Purschke, M., Laubach, H. J., Anderson, R. R., Manstein, D.*: Thermal injury causes DNA damage and lethality in unheated surrounding cells: active thermal bystander effect. *J. Invest. Dermatol.*, 2010, 130(1): 86–92.
- [13] *Banerjee, G., Gupta, N., Kapoor, A., Raman, G.*: UV induced bystander signaling leading to apoptosis. *Cancer Lett.*, 2005, 223(2): 275–284.
- [14] *Dabrowska, A., Goś, M., Janik, P.*: “Bystander effect” induced by photodynamically or heat-injured ovarian carcinoma cells (OVP10) in vitro. *Med. Sci. Monit.*, 2005, 11(9): BR316–324.
- [15] *Thomas-Schoemann, A., Lemare, F., Mongaret, C. et al.*: Bystander effect of vinorelbine alters antitumor immune response. *Int. J. Cancer*, 2011, 129(6): 1511–1518.
- [16] *Silins, I., Högberg, J.*: Combined toxic exposures and human health: biomarkers of

- exposure and effect. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2011, 8(3): 629–647.
- [17] *Mothersill, C., Salbu, B., Heier, L. S. et al.*: Multiple stressor effects of radiation and metals in salmon (*Salmo salar*). *J. Environ. Radioact.*, 2007, 96(1–3): 20–31.
- [18] *Somosy Z., Galántai R., Bognár G. et al.*: Malathion hatása humán placenta modellsejtekre I. Cito- és genotoxicitás vizsgálata. *Honvéderorvos*, 2011, 63(3–4.): 134–145.
- [19] *McCoy, L., Tsunoda, I., Fujinami, R. S.*: Multiple sclerosis and virus induced immune responses: autoimmunity can be primed by molecular mimicry and augmented by bystander activation. *Autoimmunity*, 2006, 39(1): 9–19.
- [20] *Horwitz, M. S., Bradley, L. M., Harbertson, J. et al.*: Diabetes induced by Coxsackie virus: initiation by bystander damage and not molecular mimicry. *Nat. Med.*, 1998, 4(7): 781–785.
- [21] *Olsson, M. G., Nilsson, E. J., Rutardóttir, S. et al.*: Bystander cell death and stress response is inhibited by the radical scavenger $\alpha(1)$ -microglobulin in irradiated cell cultures. *Radiat. Res.*, 2010, 174(5): 590–600.
- [22] *Autsavapromporn, N., De Toledo, S. M., Buonanno, M. et al.*: Intercellular Communication Amplifies Stressful Effects in High-Charge, High-Energy (HZE) Particle-Irradiated Human Cells. *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, 2011, 52(4): 408–414.
- [23] *Burr, K. L., Robinson, J. I., Rastogi, S. et al.*: Radiation-induced delayed bystander-type effects mediated by hemopoietic cells. *Radiat. Res.*, 2010, 173(6): 760–768.
- [24] *Hu, B., Wu, L., Han, W. et al.*: The time and spatial effects of bystander response in mammalian cells induced by low dose radiation. *Carcinogenesis*, 2006, 27(2): 245–251.
- [25] *Gaillard, S., Pusset, D., de Toledo, S. M. et al.*: Propagation distance of the alpha-particle-induced bystander effect: the role of nuclear traversal and gap junction communication. *Radiat. Res.*, 2009, 171(5): 513–520.
- [26] *Belyakov, O. V., Mitchell, S. A., Parikh, D. et al.*: Biological effects in unirradiated human tissue induced by radiation damage up to 1 mm away. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(40): 14203–14208.
- [27] *Fournier, C., Becker, D., Winter, M. et al.*: Cell cycle-related bystander responses are not increased with LET after heavy-ion irradiation. *Radiat. Res.*, 2007, 167(2): 194–206.
- [28] *Reznikov, K., Kolesnikova, L., Pramanik, A. et al.*: Clustering of apoptotic cells via bystander killing by peroxides. *FASEB J.*, 2000, 14(12): 1754–1764.
- [29] *Prise, K. M., Belyakov, O. V., Folkard, M., Michael, B.D.*: Studies of bystander effects in human fibroblasts using a charged particle microbeam. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1998, 74: 793–798.
- [30] *Prise, K. M., Belyakov, O. V., Folkard, M. et al.*: Investigating the cellular effects of isolated radiation tracks using microbeam techniques. *Adv. Space Res.*, 2002, 30(4): 871–876.
- [31] *Prise, K. M., O'Sullivan, J. M.*: Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2009, 9: 351–360.
- [32] *Mothersill, C., Seymour, C. B.*: Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the medium. *Radiat. Res.*, 1998, 149(3): 256–262.
- [33] *Zhou, H., Suzuki, M., Geard, C. R., Hei, T. K.*: Effects of irradiated medium with or without cells on bystander cell responses. *Mutat. Res.*, 2002, 499(2): 135–141.
- [34] *Koturbash, I., Loree, J., Kutanzi, K. et al.*: *In vivo* bystander effect: cranial X-irradiation leads to elevated DNA damage, altered cellular proliferation and apoptosis, and increased p53 levels in shielded spleen. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2008, 70(2): 554–562.
- [35] *Fakir, H., Hofmann, W., Tan, W. Y., Sachs, R. K.*: Triggering-response model for radiation-induced bystander effects. *Radiat. Res.*, 2009, 171(3): 320–331.
- [36] *Riley, P. A.*: Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1994, 65(1): 27–33.
- [37] *Wallace, S. S.*: Enzymatic processing of radiation-induced free radical damage in DNA. *Radiat. Res.*, 1998, 150(5 Suppl): S60–79.
- [38] *Shao, C., Prise, K. M., Folkard, M.*: Signaling factors for irradiated glioma cells induced

- bystander responses in fibroblasts. *Mutat. Res.*, 2008, 638(1-2): 139-45.
- [39] Han, W., Chen, S., Yu, K. N., Wu, L.: Nitric oxide mediated DNA double strand breaks induced in proliferating bystander cells after alpha-particle irradiation. *Mutat. Res.*, 2010, 684(1-2): 81-89.
- [40] Rzeszowska-Wolny, J., Przybyszewski, W. M., Widel, M.: Ionizing radiation-induced bystander effects, potential targets for modulation of radiotherapy. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009, 625: 156-164.
- [41] Dröge, W.: Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 2002, 82(1): 47-95.
- [42] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J. et al.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007, 39(1): 44-84.
- [43] Watson, G. E., Lorimore, S. A., Macdonald, D. A., Wright, E. G.: Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation. *Cancer Res.*, 2000, 60(20): 5608-5611.
- [44] Lorimore, S. A., Coates, P. J., Scobie, G. E. et al.: Inflammatory-type responses after exposure to ionizing radiation in vivo: a mechanism for radiation-induced bystander effects? *Oncogene*, 2001, 20(48): 7085-7095.
- [45] Hardt, W. D.: Infected cell in trouble: bystander cells ring the bell. *Immunity*, 2010, 33: 652-654.
- [46] Fujinami, R. S., von Herrath, M. G., Christen, U., Whitton, J. L.: Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2006, 19(1): 80-94.
- [47] Ilnytskyy, Y., Koturbash, I., Kovalchuk, O.: Radiation-induced bystander effects in vivo are epigenetically regulated in a tissue-specific manner. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2009, 50(2): 105-113.
- [48] Mole, R. H.: Whole body irradiation- radiobiology or medicine? *Br. J. Radiol.*, 1953, 26: 234-241.
- [49] Bangs, S. C., McMichael, A. J., Xu, X. N.: Bystander T cell activation--implications for HIV infection and other diseases. *Trends Immunol.*, 2006, 27(11): 518-524.
- [50] Ivanov, V. N., Zhou, H., Ghandhi, S. A. et al.: Radiation-induced bystander signaling pathways in human fibroblasts: a role for interleukin-33 in the signal transmission. *Cell Signal.*, 2010, 22(7): 1076-1087.
- [51] Barcellos-Hoff, M. H., Nguyen, D. H.: Radiation carcinogenesis in context: how do irradiated tissues become tumors? *Health Phys.*, 2009, 97(5): 446-457.
- [52] Arkwright, P. D., Luchetti, F., Tour, J. et al.: Fas stimulation of T lymphocytes promotes rapid intercellular exchange of death signals via membrane nanotubes. *Cell Res.*, 2010, 20(1): 72-88.
- [53] Albanese, J., Dainiak, N.: Ionizing radiation alters Fas antigen ligand at the cell surface and on exfoliated plasma membrane-derived vesicles: implications for apoptosis and intercellular signaling. *Radiat. Res.*, 2000, 153(1): 49-61.
- [54] Albanese, J., Dainiak, N.: Modulation of intercellular communication mediated at the cell surface and on extracellular, plasma membrane-derived vesicles by ionizing radiation. *Experimental Hematology*, 2003, 31: 455-464.
- [55] Ermakov, A. V., Konkova, M. S., Kostyuk, S. V. et al.: An extracellular DNA mediated bystander effect produced from low dose irradiated endothelial cells. *Mutat. Res.*, 2011, 712(1-2): 1-10.
- [56] Kostyuk, S. V., Ermakov, A. V., Alekseeva, A. Y. et al.: Role of extracellular DNA oxidative modification in radiation induced bystander effects in human endotheliocytes. *Mutat. Res.*, 2012, 729(1-2): 52-60.
- [57] Block, G. J., DiMattia, G. D., Prockop, D. J.: Stanniocalcin-1 regulates extracellular ATP-induced calcium waves in human epithelial cancer cells by stimulating ATP release from bystander cells. *PLoS One.*, 2010, 5(4): e10237.
- [58] Mancuso, M., Pasquali, E., Leonardi, S. et al.: Oncogenic bystander radiation effects in patched heterozygous mouse cerebellum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, 105: 12445-12450.
- [59] Goodenough, D. A., Paul, D. L.: Gap junctions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2009, 1(1): a002576.

- [60] Wang, X., Veruki, M. L., Bukoreshtliev, N. V. et al.: Animal cells connected by nanotubes can be electrically coupled through interposed gap-junction channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107: 17194–17199.
- [61] Ballarini, F., Biaggi, M., Ottolenghi, A., Saporita, O.: Cellular communication and bystander effects: a critical review for modeling low-dose radiation action. *Mutat. Res.*, 2002, 501(1–2): 1–12.
- [62] Harada, K., Nonaka, T., Hamada, N. et al.: Heavy-ion-induced bystander killing of human lung cancer cells: role of gap junctional intercellular communication. *Cancer Sci.*, 2009, 100(4): 684–688.
- [63] Lyng, F. M., Maguire, P., McClean, B. et al.: The involvement of calcium and MAP kinase signaling pathways in the production of radiation-induced bystander effects. *Radiat. Res.*, 2006, 165(4): 400–409.
- [64] Heinrich, M., Oberbach, A., Schlichting, N. et al.: Cytokine effects on gap junction communication and connexin expression in human bladder smooth muscle cells and suburothelial myofibroblasts. *PLoS One.*, 2011, 6(6): e20792.
- [65] Cusato, K., Bosco, A., Rozental, R. et al.: Gap junctions mediate bystander cell death in developing retina. *J. Neurosci.*, 2003, 23(16): 6413–6422.
- [66] Rustom, A., Saffrich, R., Markovic, I. et al.: Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science*, 2004, 303: 1007–1010.
- [67] Tarakanov, A. O., Goncharova, L. B.: Cell-cell nanotubes Tunneling through several types of synapses. *Commun. Integr. Biol.*, 2009, 2: 359–361.
- [68] Ratajczak, J., Wysoczynski, M., Hayek, F. et al.: Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*, 2006, 20: 1487–1495.
- [69] Schorey, J. S., Bhatnagar, S.: Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic.*, 2008, 9(6): 871–881.
- [70] Chaudhry, M. A.: Bystander effect: biological endpoints and microarray analysis. *Mutat. Res.*, 2006, 597(1–2): 98–112.
- [71] Ghandhi, S. A., Yaghoobian, B., Amundson, S. A.: Global gene expression analyses of bystander and alpha particle irradiated normal human lung fibroblasts: synchronous and differential responses. *BMC Med Genomics*, 2008, 1: 63.
- [72] Coppé, J. P., Patil, C. K., Rodier, F. et al.: Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.*, 2008, 6(12): 2853–2868.
- [73] Nagar, S., Morgan, W. F.: The death-inducing effect and genomic instability. *Radiat. Res.*, 2005, 163(3): 316–323.
- [74] Rahman, K.: Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin. Interv. Aging*, 2007, 2(2): 219–236.
- [75] Chung, H. Y., Sung, B., Jung, K. J. et al.: The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid. Redox. Signal*, 2006, 8(3–4): 572–581.
- [76] Galkina, E., Ley, K.: Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, 27: 165–197.
- [77] Shah, P. K.: Inflammation and plaque vulnerability. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 2009, 23(1): 31–40.
- [78] Gray, K., Bennett, M.: Role of DNA damage in atherosclerosis-bystander or participant? *Biochem. Pharmacol.*, 2011, 82(7): 693–700.
- [79] Liang, K. P., Gabriel, S.E.: Autoantibodies: innocent bystander or key player in immunosenescence and atherosclerosis? *J. Rheumatol.*, 2007, 34(6): 1203–1207.
- [80] Boyle, J. J.: Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture. *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 2005, 3(1): 63–68.
- [81] Kaperonis, E. A., Liapis, C. D., Kakisis, J. D. et al.: Inflammation and atherosclerosis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2006, 31(4): 386–393.
- [82] Kzhyskowska, J., Neyen, C., Gordon, S.: Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis. *Immunobiology*, 2012, 217(5): 492–502.
- [83] Weintraub, N. L., Jones, W. K., Manka, D.: Understanding radiation-induced vascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2010, 55: 1237–1239.
- [84] Baker, J. E., Moulder, J. E., Hopewell, J. W.: Radiation as a risk factor for cardiovascular

- disease. *Antioxid. Redox. Signal*, 2011, 15(7): 1945–1956.
- [85] *Hatoum, O. A., Otterson, M. F., Kopelman, D. et al.*: Radiation induces endothelial dysfunction in murine intestinal arterioles via enhanced production of reactive oxygen species. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006, 26(2): 287–294.
- [86] *Lee, M. Y., Wang, Y., Vanhoutte, P. M.*: Senescence of cultured porcine coronary arterial endothelial cells is associated with accelerated oxidative stress and activation of NFκB. *J. Vasc. Res.*, 2010, 47(4): 287–298.
- [87] *Gorgoulis, V. G., Pratsinis, H., Zacharatos, P. et al.*: p53-dependent ICAM-1 overexpression in senescent human cells identified in atherosclerotic lesions. *Lab. Invest.*, 2005, 85(4): 502–511.
- [88] *Rautou, P. E., Leroyer, A. S., Ramkhalawon, B. et al.*: Microparticles from human atherosclerotic plaques promote endothelial ICAM-1-dependent monocyte adhesion and transendothelial migration. *Circ. Res.*, 2011, 108(3): 335–343.
- [89] *Wang, J. G., Williams, J. C., Davis, B. K et al.*: Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1β-dependent manner. *Blood*, 2011, 118(8): 2366–2374.
- [90] *Hammer, A., Hartmann, M., Sedlmayr, P et al.*: Expression of functional Fas ligand in choriocarcinoma. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2002, 48(4): 226–234.

Z. Somosy,
Rita Tünde Galántai Ph.D.,
Lt.Col. (ret.) Gy. Horváth M.D.,
Col. (ret.) (eng.) A. Gachályi

Possible role of bystander effect in arteriosclerotic processes

Bystander effect was discovered and described first in radiation biology. In the course of bystander process intercellu-

lar mediators released by the irradiated cells, such as reactive oxygen- and nitric oxide free radicals, cytokines, Fas ligand (FasL), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) induce the injury of non-irradiated (bystander) cells. The activation of immune cells and the following inflammatory processes take also part in this process. In recent years it was revealed that, besides ionizing radiations, bystander effect can also be provoked by other physical factors, chemical- and biological agents (viruses, bacterias). As a result of the bystander process, the harmful aftermaths of the damaging effect can be intensified significantly.

Bystander effect is the outcome of the intercellular communication between directly effected and non-effected cells. Since the intercellular communication is essential in the generation and maintenance of the arteriosclerotic processes, it is very plausible that intercellular interactions leading to bystander effects also play an important role in the pathomechanism of this vascular disease. In the present study we provide an overview of the current knowledge related to bystander effect, and parallelly review the possible roles of bystander mediator materials in the induction and further development of arteriosclerosis.

Key-words: bystander effect, intercellular mediators, ionizing radiation, arteriosclerosis

Dr. Somosy Zoltán
 1134 Budapest, Róbert Károly krt. 44.