

Niestabilność genetyczna i efekt sąsiedztwa indukowane przez promieniowanie jonizujące

Maria Konopacka

Uszkodzenia genetyczne żywych komórek, indukowane promieniowaniem jonizującym, zachodzą na drodze bezpośredniego oddziaływania promieniowania z cząsteczką DNA lub pośrednio, poprzez indukcję krótko żyjących reaktywnych form tlenu. W ostatnim dziesięcioleciu wykazano ponadto, że biologiczne efekty, takie jak zabicie komórek, indukcja mutacji, powstawanie uszkodzeń chromosomów i zmiany ekspresji wielu genów, pojawiają się w komórkach leżących poza polem działania promieniowania.

Opisano dwa główne zjawiska, będące konsekwencją oddziaływania promieniowania na komórki nie ekspozowane na jego działanie.

Pierwsze zjawisko, które obejmuje zmiany genetyczne charakterystyczne dla niestabilności występuje w komórkach potomnych, pochodzących z podziału komórek, które przeżyły napromienianie. Zmiany te przekazywane są w kolejnych generacjach napromienionych jednokrotnie komórek.

Drugie zjawisko, które definiowane jest jako efekt sąsiedztwa (bystander effect), wynika z kontaktu komórek napromienionych z komórkami niepoddanymi działaniu promieniowania. Zjawisko to indukowane jest przez czynniki sygnałowe wysyłane z komórek napromienionych drogą połączeń międzykomórkowych (gap junction) lub czynników uwalnianych do środowiska, w którym te komórki się znajdują.

W obu tych zjawiskach istnieje prawdopodobnie wspólny mechanizm powstawania zmian biologicznych, związany z indukcją procesów charakterystycznych dla warunków stresu oksydacyjnego. Nie wszystkie czynniki sygnałowe i drogi międzykomórkowe ich przekazywania są jeszcze dobrze poznane.

W poniższym przeglądzie przedstawiony jest aktualny stan wiedzy na temat biochemicznych i molekularnych mechanizmów przekazywania sygnałów z komórek napromienionych do sąsiednich.

Radiation-induced genomic instability and bystander effects

Radiation-induced damage to living cells results from either a direct hit to cellular DNA, or from indirect action which leads to DNA damage from radiation produced short-lived radicals. However in recent years there is evidence that biological effects such as cell killing, mutation induction, chromosomal damage and modification of gene expression can occur in a cell populations that in themselves receive no radiation exposure. All these effects contain two phenomena. In the first, radiation-induced genomic instability, biological effects occur in the progeny of the irradiated cells after many generations of cell division. In the second, radiation-induced bystander effects, they arise in cells that receive no radiation but respond to damage signals transmitted from irradiated cells. There are evidence that transmission may be mediated either by direct intercellular communication through gap junctions, or by soluble factors released into the surrounding medium. The recent studies indicate that in both phenomena, the biological effects appear to be associated with an up-regulation of oxidative metabolism. The present paper is designed to review the background leading to our current knowledge of these two phenomena.

Słowa kluczowe: promieniowanie jonizujące, niestabilność genetyczna, efekt sąsiedztwa, metabolizm tlenowy

Key words: ionizing radiation, genomic instability, bystander effect, oxidative metabolism

Niestabilność genetyczna indukowana w klonach komórek napromienionych

Genom komórkowy jest bezustannie narażony na działanie czynników destabilizujących prawidłową replikację DNA i podział. Czynnikiemami tymi są niektóre związki chemiczne, promieniowanie jonizujące oraz produkty powstające podczas wewnątrzkomórkowego metabolizmu tlenowego. Integralność genomu jest chroniona przez enzymatyczne mechanizmy kontrolujące wierność replikacji DNA i przebieg cyklu komórkowego oraz enzymy rozpoznające i naprawiające uszkodzony DNA. Niesprawność procesów katalizowanych przez te białka jest jedną z przyczyn prowadzących do powstawania niestabilnego genomu.

Niestabilność genetyczna definiowana jest jako pojawianie się nowych zmian genetycznych podczas procesów progresji nowotworu oraz zmian pojawiających się we frakcji klonów komórek przeżywających ekspozycję na promieniowanie [1]. Zmiany te obejmują powstawanie *de novo* aberracji chromosomowych, opóźnionej śmierci reprodukcyjnej w kolejnych generacjach uprzednio napromienionych komórek oraz nowe mutacje genów regulujących replikację i reperację uszkodzonego DNA. Zidentyfikowano już kilka genów, których mutacje są związane z powstawaniem niestabilności genetycznej. Należą do nich geny kodujące białko p53, geny *NBS*, *BRC1* i *BRC2* kodujące białka naprawy DNA drogą rekombinacji, gen *FA* (*francconi anemia*) kontrolujący przebieg cyklu komórkowego oraz gen *BS* (*blooms syndrome*) kodujący helikazę biorącą udział w replikacji i naprawie DNA [2]. Opisano także istnienie zależności pomiędzy pojawianiem się indukowanej przez promieniowanie X niestabilności genetycznej u myszy a spadkiem ekspresji kinazy DNA-PK i niesprawną reperacją pęknięć nici DNA na drodze łączenia końców (*end joining*) [3]. Kinaza DNA-PK pełni także ważną rolę w funkcjonowaniu telomerów, dlatego też sugeruje się, że utrata telomerów w warunkach spadku ekspresji tego enzymu może być związana z pojawieniem się niestabilnego genomu [4]. Zgodnie z tym poglądem, niestabilność genetyczna przekazywana w kolejnych generacjach komórek pochodzących od komórki napromienionej byłaby konsekwencją utraty telomerów.

Charakterystyczną cechą niestabilnych klonów pochodzących z podziałów komórki ekspozowanej na działanie promieniowania jonizującego jest pojawianie się nie letalnych aberracji chromosomowych, obejmujących rearanżacje i niewielkie delecje [1]. Zmiany te wykazywane są w wielu generacjach, pochodzących od komórek przeżywających napromienienie. Niestabilność chromosomowa indukowana jest przez czynniki pozakomórkowe. Już wcześniej zaobserwowano, że surowica krwi pochodząca od osób poddanych radioterapii indukuje w hodowli prawidłowych limfocytów ludzkich aberracje chromosomowe charakterystyczne dla niestabilności [5]. W badaniach późniejszych niestabilność chromosomową indukowaną przez promieniowanie wykazano w wielu pokoleniach komórek krwiotwórczych

in vivo [6]. Wykazano także, że napromienienie zaledwie pojedynczej komórki w populacji komórek glejaka ludzkiego [7] lub limfocytów T [8] powodowało powstawanie niestabilności genetycznej w komórkach całej badanej populacji.

Efekt sąsiedztwa – cytotoksyczne i genotoksyczne zmiany indukowane w komórkach poza polem napromienienia

W komórkach nie poddanych działaniu promieniowania, a znajdujących się w środowisku komórek napromienionych efekt sąsiedztwa obserwowany jest jako wzrost mutacji, aberracji chromosomowych, zmiany w przeżywalności klonogennej komórek, indukcja apoptozy i zmiany ekspresji wielu białek [9, 10].

Opisano trzy główne drogi indukowania zmian w komórkach nienapromienionych, mających bezpośredni lub pośredni kontakt z komórkami napromienionymi:

- 1) napromienienie jądra pojedynczej komórki w hodowli *in vitro* indukuje pojawienie się zmian genetycznych w komórce napromienionej oraz w komórkach sąsiednich. Efekt ten opisano dla różnego typu komórek ekspozowanych na cząsteczki α [11-13];
- 2) napromienienie cytoplazmy z ominięciem jądra komórki wiązką cząsteczek α indukuje nowe mutacje spontaniczne w komórkach ekspozowanych i sąsiednich [14, 15];
- 3) umieszczenie komórek nienapromienionych w podłożu zebranych z komórek napromienionych (podłoże kondycjonowane) powoduje pojawienie się wielu zmian genetycznych oraz spadek przeżywalności w tych komórkach. Efekt ten opisano dla różnego rodzaju promieniowania w zakresie niskich dawek (poniżej 1 Gy) [11, 16, 17].

Efekt sąsiedztwa jest indukowany przez promieniowanie jonizujące o wysokiej energii (*high LET*) obejmujące cząsteczki α [11, 18] oraz promieniowanie o niskim współczynniku liniowego przekazywania energii (*low LET*), w tym promieniowanie X i γ [17, 19-21]. Wyniki wielu opisanych eksperymentów pozwalają na wyciągnięcie wniosków, że promieniowanie o wysokiej energii indukuje wysyłanie sygnałów głównie drogą połączeń międzykomórkowych [22], podczas gdy promieniowanie o niskiej energii uruchamia niezależny od komunikowania się komórek tą drogą drugi mechanizm, związany z wydzielaniem czynników sygnałowych do podłoża hodowlanego [19]. Oba mechanizmy działają niezależnie od siebie i indukują w nienapromienionych komórkach zmiany biochemiczne, charakterystyczne dla chronicznego stresu oksydacyjnego [22], prowadzące do pojawiania się uszkodzeń cytogenetycznych, mutacji i apoptozy [1, 10]. Indukowanie wyżej wymienionych zmian w komórkach sąsiednich jest dobrze udokumentowane, jednak nie ma w literaturze zgodności odnośnie zmian w przeżywalności komórek leżących poza polem napromieniania. W wielu pracach wykazano, że czynniki uwalniane z napromienionych komórek powodują spadek

przeżywalności klonogennej komórek sąsiednich [19, 20]. Niezależnie w innych pracach wykazano efekt odwrotny – wzmaganie aktywności proliferacyjnych i przeżycia komórek poddanych działaniu podłoża kondycjonowanego [23, 24].

Ostatnio opisano, że czynniki wysyłane z napromienionych komórek indukują uszkodzenia genomu mitochondrialnego nienapromienionych komórek. W badaniach tych obserwowano wzrost mutacji punktowych i delecji w DNA mitochondrialnym oraz wzrost liczby mitochondrium w komórkach hodowanych w podłożu kondycjonowanym, zebranych z napromienionych hodowli tej samej linii [25].

Przesyłanie sygnałów przez kontakt komórka-komórka

Jednym z mechanizmów przesyłania sygnałów z komórek napromienionych do komórek leżących poza polem ekspozycji, a znajdujących się w środowisku komórek napromienionych jest kontakt poprzez kanały międzykomórkowe (*gap junction*). Kanały te utworzone są z błon oddzielnych, sąsiadujących ze sobą komórek. Tworzą one sieć połączeń, która koordynuje wzajemne interakcje między komórkami oraz synchronizuje ich aktywność w tkankach. W strukturze kanałów znajdują się białka koneksyny, określające właściwości selektywne danego typu komórek. Tymi kanałami przesyłane są cząsteczki o niskim ciężarze (<1,2 kDa) uczestniczące w procesach embriogenezy, metabolizmu i wzrostu komórek. Znaczenie tego mechanizmu w zjawisku sąsiedztwa wyjaśniają wyniki badań przeprowadzonych na liniach komórek charakteryzujących się rozwiniętym systemem kanałów, bądź też pozbawionych zdolności ich tworzenia. W komórkach poddanych działaniu cząsteczek α oraz w komórkach leżących poza wiązką promieniowania badano poziom zmian genetycznych. Wykazano kilkakrotny wzrost liczby mutacji, mikrojąder oraz wzrost ekspresji białek p53 i p21 [22] tylko w liniach komórek z silnie rozwiniętym systemem połączeń międzykomórkowych. W eksperymentach tych wykazano również, że chemiczne inhibitory kanałów (np. oktan lub DDT) hamowały powstawanie zmian genetycznych i zmian ekspresji wybranych białek w komórkach sąsiednich.

Przy zastosowaniu technik barwienia immunohistochemicznego wykazano, że w przesyłaniu sygnałów z komórek napromienionych bierze udział koneksyna 43 [22]. W innych badaniach przedstawiono dane, że ekspresja tego białka wzrasta w warunkach stresu oksydacyjnego indukowanego w komórkach przez promieniowanie γ , cząsteczki α i nadtlenek wodoru. W warunkach stresu oksydacyjnego komórki wytwarzają szereg cytokin, wśród nich IL-1 β , IL-8, TNF α i FGF, które aktywują koneksynę 43 [13, 26].

Czynniki sygnałowe uwalniane z napromienionych komórek

Do chwili obecnej w literaturze dostępne są głównie informacje opisujące odpowiedź komórek w zjawisku sąsiedztwa, natomiast brak jest danych odnośnie natury bezpośrednich czynników odpowiedzialnych za indukcję tego zjawiska. W mechanizmie przekazywania sygnałów drogą połączeń kanałami międzykomórkowymi można się spodziewać, że czynnik sygnałowy jest jonem lub cząsteczką o niskim ciężarze. Nie wiadomo jeszcze, czy te same czynniki odpowiedzialne są za efekt sąsiedztwa, indukowany przez czynniki uwalniane do środowiska z napromienionych komórek. Z wcześniejszych doniesień wynika, że stabilne czynniki uwalniane przez napromienione komórki do podłoża są białkami [19]. Te pozakomórkowe czynniki mogą być wolnymi rodnikami organicznymi białek [27]. Rodniki te tworzą się poprzez włączenie atomu wodoru do cząsteczki fenyloalaniny i pojawiają się już po kilku minutach w napromienionych *in vitro* komórkach, a okres ich półtrwania wynosi około 20 godzin. Wykazano, że rodniki te odpowiedzialne są za indukcję mutacji i aberracji chromosomowych. Chociaż do chwili obecnej nie opisano znaczenia tych rodników w zjawisku sąsiedztwa, to można przypuszczać, że te długo żyjące rodniki tworzą się w białkach uczestniczących w procesach replikacji lub reperacji DNA, włączając polimerazy oraz histony i białka strukturalne chromatyny. Zmieniona struktura tych białek zaburza wierność replikacji DNA oraz przyczynia się do powstawania mutacji i zmian w cyklu komórkowym. Poza tym formowanie rodników w innych białkach może prowadzić do aktywacji specyficznych dróg sygnałowych w komórkach.

Wiele danych literaturowych wskazuje, że czynniki uwalniane przez komórki napromienione do środowiska, w którym się znajdują, indukują w nie napromienionych komórkach procesy prowadzące do generowania reaktywnych form tlenu i azotu (ROS/NO) poprzez aktywowanie różnych mediatorów. Najczęściej opisywanym mediatorem odpowiedzi sąsiedztwa jest TGF β 1 (*transforming growth factor*). Cytokina ta jest aktywowana w ciągu 30 min w napromienionych komórkach i jest wydzielana z napromienionych komórek do podłoża [23, 28]. Wykazano, że w komórkach nie napromienionych TGF β 1 aktywuje poprzez receptor kinazy seryno-treoninowej, enzymatyczny kompleks oksydazy błonowej NADPH. Oksydaza ta generuje nadtlenek wodoru w reakcji dwuelektronowej redukcji tlenu [29]. Podobny mechanizm działania opisano dla cytokin FGF i PDGF-BB, należących do MGF (*mitogenic growth factor*). Czynniki te aktywują receptory kinazy tyrozynowej na powierzchni błony komórkowej, niezależnie od aktywacji NADPH. W regulowanej przez białko p21 jednoelektronowej redukcji tlenu generowane są jony ponadtlenkowe [29].

Drugą ważną dla zjawiska sąsiedztwa cytokiną jest interleukina 8 (IL-8) [13]. Cytokina ta stymuluje kinazy rodziny MAPK (ERK1/2, JNK i p38), oraz czynniki transkrypcyjne, zależne od ATM (SP1 i AP1) [22], które aktywują różne drogi sygnałowe w komórkach, np. szlak

fosfolipazy C γ [30] i szlak cyklooksygenazy-2 (COX-2) [31] i białka odpowiedzi zapalnej [32]. Generowane w tych szlakach ROS na nowo aktywują cytokiny, stwarzając w komórkach warunki chronicznego stresu oksydacyjnego [1, 26].

Dane literaturowe odnośnie roli białka p53 w przekazywaniu sygnałów prowadzących do powstawania odpowiedzi w komórkach sąsiednich są rozbieżne. W badaniach przeprowadzonych na hodowli komórek nabłonkowych płuca szczura wykazano, że ekspresja tego białka wzrasta w komórkach „trafionych” przez cząsteczki α oraz w komórkach leżących poza wiązką. W późniejszych eksperymentach wykazano, że wzrost ekspresji białka p53 jest hamowany przez inhibitory kanałów międzykomórkowych [22]. Natomiast w eksperymentach, w których komórki nienapromienione hodowano w podłożu zebranym z komórek napromienionych, obserwowano spadek ekspresji białka p53, przy jednoczesnym wzroście stężenia ROS [23]. Wyniki te sugerują, że mechanizm przekazywania sygnałów kanałami połączeń międzykomórkowych jest zależny od p53, natomiast mechanizm związany z sekrecją cytokin jest niezależny od p53 [22].

Generowane w komórkach sąsiednich NO/ROS aktywują różne ścieżki sygnałowe, na co wskazuje zwiększona ekspresja białek odpowiedzialnych za indukcję apoptozy, zahamowanie cyklu komórkowego i naprawa DNA [22]. Wykazano, że podłoże zebrane z napromienionych fibroblastów ludzkich linii MRC5 indukuje w nie napromienionych komórkach syntezę białka A (RPA), kluczowego enzymu w naprawie NER (naprawa przez wycinanie nukleotydów), BER (naprawa przez wycinanie zasad) i rekombinacji homologicznej [33]. Białko to uczestniczy w naprawie oksydacyjnych uszkodzeń zasad i pęknięć nici DNA, typowych uszkodzeń indukowanych przez ROS. Ostatnio wskazuje się na istotne znaczenie wydajności procesów naprawy uszkodzeń DNA komórek w ich odpowiedzi na czynniki uwalniane z napromienionych komórek. Zbadano cytotoxycywność podłoża kondycjonowanego dla linii komórek różniących się zdolnościami naprawy uszkodzeń DNA. Otrzymano wysoką śmiertelność klonogenną komórek charakteryzujących się defektami w naprawie, w porównaniu z komórkami o wydajnej naprawie [34]. Największy spadek liczby kolonii przeżywających w podłożu kondycjonowanym obserwowano w linii fibroblastów ludzkich ATBr, cechującej się defektem ścieżki ATM, co wskazuje na znaczenie tego szlaku w naprawie uszkodzeń DNA, indukowanych przez czynniki zawarte w podłożu kondycjonowanym. Wykazano również, że komórki z defektami w naprawie podwójno-niciowych pęknięć DNA, spowodowanymi utratą genów kodujących Ku70, Ku80 oraz polimerazy DNA-PK i ADP (rybozę), są bardziej podatne na indukcję aberracji chromosomowych przez czynniki uwalniane z napromienionych komórek [35].

Metabolizm tlenowy w zjawisku sąsiedztwa

Wyniki wielu badań wskazują na podobny mechanizm powstawania odpowiedzi sąsiedztwa i niestabilności genetycznej, wywołane przebywaniem komórek nie napromienionych w środowisku komórek poddanych bezpośrednio działaniu promieniowania. Tym wspólnym mechanizmem jest prawdopodobnie zaburzony metabolizm tlenowy. Powstające w jego wyniku produkty redukcji tlenu (ROS), obejmujące nadtlenek wodoru, anionorodnik ponadtlenkowy i rodnik hydroksylowy, stanowią potencjalne zagrożenie dla struktur komórkowych. Poziomy tych produktów regulują wewnątrzkomórkowe systemy obronne, obejmujące enzymy antyoksydacyjne (SOD – dysmutazę ponadtlenkową, CAT – katalazę oraz peroksydazę i reduktazę glutationową), a także czynniki nieenzymatyczne (glutation, metaloproteiny, aminokwasy i witaminy antyoksydacyjne). Przesunięcie równowagi w stronę zwiększonej produkcji ROS przy obniżonym poziomie antyoksydantów komórkowych, powoduje powstawanie zmian biochemicznych grupowanych jako stres oksydacyjny. ROS generowane są nie tylko w wyniku endogennych procesów komórkowych, ale również powstają na skutek działania czynników zewnętrznych takich, jak promieniowanie jonizujące.

Wyniki wielu eksperymentów udowodniły, że czynniki sygnałowe uwalniane z napromienionych komórek generują ROS w komórkach sąsiednich. Przedstawiają to wyniki badań z zastosowaniem barwników fluorescencyjnych, które wykazują bezpośrednio obecność ROS w komórkach sąsiednich [20, 36, 37]. Wyniki eksperymentów, w których obserwowano hamowanie efektu sąsiedztwa w obecności antyoksydantów nieenzymatycznych, takich jak L-laktat i L-deprenyl [38] lub witamin antyoksydacyjnych C i E [21], również wskazują na udział ROS w tym zjawisku. Taki sam efekt uzyskano przy zastosowaniu antyoksydantów enzymatycznych SOD i CAT, co wskazuje, że nadtlenek wodoru i jony ponadtlenkowe są mediatorami zjawiska sąsiedztwa [12, 22]. W podobnych eksperymentach nie zaobserwowano hamującego działania DMSO – zmiatacza rodników hydroksylowych, co może świadczyć o tym, że rodniki te nie są bezpośrednio indukowane w zjawisku sąsiedztwa [39]. Rodniki hydroksylowe są prawdopodobnie generowane w kolejnych reakcjach jonów ponadtlenkowych z nadtlakiem wodoru (w reakcji Habera-Weisa).

Drugim mediatorem uczestniczącym w powstawaniu odpowiedzi sąsiedztwa jest tlenek azotu [40]. Jest on biologicznym regulatorem i czynnikiem sygnałowym stresu oksydacyjnego, regulującym w komórkach poziom glutationu. Rola tlenu azotu w powstawaniu efektu sąsiedztwa opisana jest w poprzednim przeglądzie [9].

Wyniki ostatnio opublikowanych prac sugerują istnienie innych, niezależnych od ROS, szlaków prowadzących do powstawania efektu sąsiedztwa. W badaniach przeprowadzonych na fibroblastach ludzkich, hodowanych w podłożu kondycjonowanym, wykazano wzrost poziomu ROS, przy czym enzymy antyoksydacyjne SOD i CAT hamowały tylko tworzenie się mikrojąder, a nie

wpływały na przeżywanie tych komórek [20]. Ponadto ROS utrzymywały się w napromienionych bezpośrednio fibroblastach do 60 godzin po ekspozycji i do 30 godzin, w komórkach trzymanyh w podłożu kondycjonowanym.

Na istnienie dwóch – zależnego i niezależnego od ROS – mechanizmów powstawania zmian genetycznych w komórkach sąsiednich wskazują także wyniki eksperymentów przeprowadzonych na linii białaczki ludzkiej K562. Komórki tej linii inkubowano w podłożu kondycjonowanym w obecności witamin antyoksydacyjnych C i E. Po różnym czasie inkubacji odnotowano redukcję liczby mikrojąder w komórkach poddanych działaniu podłoża kondycjonowanego z dodatkiem witamin, w porównaniu z komórkami hodowanymi w samym podłożu kondycjonowanym. Obecność witamin w podłożu kondycjonowanym pozostawała bez wpływu na liczbę komórek wykazujących kondensację chromatyny, charakterystyczną dla procesów apoptozy [21]. Wyniki tych doświadczeń sugerują, że przeżywanie komórek oraz ścieżki prowadzące do indukcji apoptozy w komórkach sąsiednich są procesami niezależnymi od indukcji ROS, natomiast powstawanie mikrojąder, które wynikają z niezreperowanych pęknięć nici DNA, zależy od ROS.

Podsumowanie

Przedstawione w niniejszym przeglądzie dane z piśmiennictwa dostarczyły dowodów wskazujących na to, że śmierć i powstawanie zmian genetycznych w komórkach bezpośrednio eksponowanych na działanie promieniowania jonizującego, jak również w komórkach sąsiednich, leżących poza polem ekspozycji, jest związana z istnieniem chronicznego stresu oksydacyjnego, indukowanego przez czynniki uwalniane z napromienionych komórek [1, 18]. Najnowsze doniesienia wskazują także na istnienie innych, niezależnych od indukcji ROS, mechanizmów powstawania zmian, określanych jako niestabilność genetyczna i efekt sąsiedztwa. Istnieją sugestie, że zmiany genetyczne przekazywane w kolejnych generacjach komórek pochodzących od komórki napromienionej są zakodowane genetycznie. Zgodnie z przedstawionymi powyżej danymi literaturowymi, nowe mutacje, prowadzące do powstania niestabilności genetycznej, pojawiają się w sekwencjach mikrosatelitarnych lub wynikają z rekombinacji telomerowych powtarzających się sekwencji [41] i są przekazywane transgeneracyjnie. Ostatnio opublikowane dane wskazują na znaczenie powtarzających się sekwencji mobilnych w powstawaniu niestabilności genetycznej. Aktywacja tych sekwencji następuje podczas naprawy uszkodzeń DNA indukowanych przez czynniki stresu genotoksycznego. Opisano retranspozycję mobilnych elementów genomu ludzkiego L1 (*long interspersed elements* – LINE 1) po ekspozycji komórek na działanie promieniowania γ [42]. Retranspozycji tej towarzyszył wzrost miejsc fosforylacji histonu H2AX w jądrach napromienionych komórek. Wzrost fosforylacji histonu H2AX, który jest markerem podwójnoniciowych pęknięć nici DNA obserwowano także w komórkach poddanych dzia-

łaniu podłoża zebranego z komórek napromienionych [20]. Dane te sugerują udział mobilnych powtarzających się sekwencji w powstawaniu niestabilności genetycznej i efektu sąsiedztwa, ale dopiero następne badania, poszerzone o nowoczesne techniki, opierające się na badaniach ekspresji genów z zastosowaniem analizy mikromacierzy DNA, zadecydują o ich znaczeniu w tym zjawisku.

Dr Maria Konopacka

Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach
ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-100 Gliwice
e-mail: m_konopacka@epf.pl

Piśmiennictwo

- Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation. I. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vitro. *Radiat Res* 2003; 159: 567-80.
- D'Andrea AD, Grompe M. The Franconi Anemia/BRCA pathway. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 23-34.
- Okayasu R, Suetomi K, Yu Y i wsp. A deficiency in DNA repair and DNA-PKcs expression in the radiosensitive BALB/c mouse. *Cancer Res* 2000; 60: 4342-5.
- Bailey S, Brennenman M, Halbrook J i wsp. The kinase activity of DNA-PK is required to protect mammalian telomeres. *DNA Repair* 2004; 3: 225-33.
- Hollowell J, Littlefield I. Chromosome damage induced by plasma of X-rayed patients: an indirect effect of X-ray. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968; 129: 240-4.
- Watson G, Pocock D, Papworth D i wsp. In vivo chromosomal instability and transmissible aberrations in the progeny of haemopoietic stem cells induced by high- and low- LET radiation. *Int J Radiat Biol* 2001; 77: 409-17.
- Moore SR, Marsden S, Macdonald D i wsp. Genomic instability in human lymphocytes irradiated with individual charged particles: involvement of tumor necrosis factor α in irradiated cells but not bystander cells. *Radiat Res* 2005; 163: 183-90.
- Shao C, Stewart V, Folkard M i wsp. Nitric oxide-mediated signaling in the bystander response of individually targeted glioma cells. *Cancer Res* 2003; 63: 8437-42.
- Konopacka M, Rzeszowska-Wolny J. „Bystander effect” – uszkodzenia genetyczne indukowane poza polem napromieniania. *Nowotwory J Oncol* 2002; 52: 139-44.
- Snyder AR. Review of radiation-induced bystander effects. *Human Exp Toxicol* 2004; 23: 87-9.
- Nagasawa H, Little JB. Induction of a sister chromatid exchanges by extremely low doses of α -particles. *Cancer Res* 1992; 52: 6394-6.
- Narayanan P, Goodwin E, Lehnert B. Alpha particles initiate biological production of superoxide anions and hydrogen peroxide in human cells. *Cancer Res* 1997; 57: 3963-71.
- Narayanan P, La Rue KEA, Goodwin EH i wsp. Alpha particles induce the production of interleukin-8 by human cells. *Radiat Res* 1999; 152: 57-63.
- Wu LJ, Randers-Pehrson G, Xy A. Targeted cytoplasmic irradiation with alpha particles induce mutations in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4959-64.
- Shao C, Folkard M, Michael BD i wsp. Targeted cytoplasmic irradiation induces bystander responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13495-500.
- Seymour CB, Mothersill C. Delayed expression of lethal mutations and genomic instability in the progeny of human epithelial cells that survived in a bystander-killing environmental. *Radiat Oncol Invest* 1997; 5: 106-10.
- Prise KM, Folkard M, Michael BD. Bystander responses induced by low LET radiation. *Oncogene* 2003; 22: 7043-9.
- Lorimore S, Kadhim MA, Pocock D i wsp. Chromosomal instability in the descendants of unirradiated surviving cells after alpha-particle irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5730-3.

19. Mothersill C, Seymour CB. Medium from irradiated human epithelial but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells. *Int J Radiat Biol* 1997; 71: 421-7.
20. Yang H, Asaad N, Held KD. Medium-mediated intercellular communication is involved in bystander responses of X-ray-irradiated normal human fibroblasts. *Oncogene* 2005; 24: 2096-103.
21. Konopacka M, Rzeszowska-Wolny J. The bystander effect-induced formation of micronucleated cells is inhibited by antioxidants, but the parallel induction of apoptosis and loss of viability are not affected. *Mutat Res* 2006; 593: 32-8.
22. Azzam EI, Toledo SM, Little JB. Direct evidence for the participation of gap junction-mediated intercellular communication in the transmission of damage signals from α -particle irradiated to nonirradiated cells. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 473-8.
23. Iyer R, Lehnert BE. Factors underlying the cell growth-related bystander responses to α particles. *Cancer Res* 2000; 60: 1290-8.
24. Gerashchenko BI, Howell RW. Flow cytometry as a strategy to study radiation-induced bystander effects in co-culture system. *Cytometry* 2003; 54A: 1-7.
25. Murphy JEJ, Nugent S, Seymour CB i wsp. Mitochondrial DNA point mutations and a novel deletions induced by direct low-LET radiation and by medium from irradiated cells. *Mutat Res* 2005; 585: 127-36.
26. Barcellos-Hoff MH, Brooks AL. Extracellular signaling via the microenvironment; a hypothesis relating carcinogenesis, bystander effects and genomic instability. *Radiat Res* 2001; 156: 618-27.
27. Kumagai J, Masui K, Itagaki Y i wsp. Long-lived mutagenic radicals induced in mammalian cells by ionizing radiation are mainly localized to proteins. *Radiat Res* 2003; 160: 95-102.
28. Barcellos-Hoff MH, Dix TA. Redox-mediated activation of latent transforming growth factor- β 1. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 1077-83.
29. Thannickal VJ, Day RM, Klinz SG i wsp. Ras-dependent and -independent regulation of reactive oxygen species by mitogenic growth factors and TGF- β 1. *FASEB* 2000; 14: 1741-1748.
30. Kamata H, Hirata H. Redox regulation of cellular signaling. *Cell Signal* 1999; 11: 1-14.
31. Zhou H, Ivanov VN, Gillespie J i wsp. Mechanism of radiation-induced Bystander effect: role of the cyclooxygenase-2 signaling pathway. *PNAS* 2005; 102: 14641-5.
32. Osterreicher J, Skopek J, Jahns J i wsp. Beta 1-integrin and IL 1alpha expression as bystander effect of medium from irradiated cells: the pilot study. *Acta Histochem* 2003; 105: 223-30.
33. Balajee AS, Ponnaiya B, Bashar R i wsp. Induction of replication protein A in bystander cells. *Radiat Res* 2004; 162: 677-86.
34. Mothersill C, Seymour RJ, Seymour CB. Bystander effects in repair-deficient cell lines. *Radiat Res* 2004; 161: 256-63.
35. Little JB. Genomic instability and bystander effects: a historical perspective. *Oncogene* 2003; 22: 6978-87.
36. Limoli CL, Giedziński E, Morgan WF i wsp. Persistent oxidative stress in chromosomally unstable cells. *Cancer Res* 2003; 63: 3107-11.
37. Kadhim MA, Moore SR, Goodwin EH. Interrelationship among radiation-induced genomic instability, bystander effects, and the adaptive response. *Mutat Res* 2004; 568: 21-32.
38. Mothersill C, Stamato TD, Perez ML i wsp. Involvement of energy metabolism in the production of 'bystander effect' by radiation. *Brit J Cancer* 2000; 82:1740-6.
39. Zhou H, Randers-Pehrson G, Waldren CA i wsp. Induction of a bystander mutagenic effect of α particles in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2099-104.
40. Matsumoto H, Hayashi S, Hatashita M i wsp. Induction of radioresistance by nitric oxide-mediated bystander effect. *Radiat Res* 2001; 155: 387-96.
41. Day JP, Limoli CL, Morgan WF. Recombination involving interstitial telomere repeat-like sequences promotes chromosomal instability in Chinese hamster cells. *Carcinogenesis* 1998; 19: 259-65.
42. Farkash EA, Kao KD, Horman SR I wsp. Gamma radiation increases endonuclease-dependent L1 retransposition in a cultured cell assay. *Nucleic Acid Res* 2006; 34: 1196-204.

Otrzymano: 28 sierpnia 2006 r.

Przyjęto do druku: 21 listopada 2006 r.