

Кістковий мозок та метастазування пухлин: взаємодія «пухлина — організм»

О. В. Кайряк

Донецький національний медичний університет, Лиман, Україна

Ключові слова: метастазування, тромбоцити, емпериполезис, трансцитоз, інтегрини

Вступ

Останніми роками вчені дізналися несподівані факти про добре відомі клітини крові, а саме про тромбоцити. Про зв'язок між наявністю пухлини та тромбозом відомо ще з XIX ст. після доповіді французького лікаря Armand Trousseau у 1865 р. [5]. Але чому існує така закономірність та як це здійснюється, стало відомо в останнє десятиріччя нашого часу. А на деякі запитання відповідей немає й досі.

Тромбоцити, або кров'яні пластинки, є найменшими з клітин крові. Крім того, вони не мають ядра, тому вважалось, що вони не мають нуклеїнових кислот. Виробляються тромбоцити в кістковому мозку, відшнуровуючись від поліплоїдних клітин, які мають назву мегакаріоцити. Мегакаріоцити є найбільшими клітинами серед усіх клітин гемопоєзу. Вражає, що поряд з диплоїдними клітинами в нашому організмі існують поліплоїди, які нормально функціонують та не малігнізуються. Життєвий цикл мегакаріоцита триває близько 10 днів. Час вироблення тромбоцитів активованими мегакаріоцитами триває 25 годин, потім мегакаріоцит гине. Клітини з більшою кількістю наборів хромосом більш інтенсивно виробляють тромбоцити.

«Функційні обов'язки» мегакаріоцитів виходять за рамки утворення тромбоцитів. З'ясувалось, що ці клітини мають toll-like рецептори, тобто пов'язані з вродженим імунітетом. Вони у разі необхідності продукують цитокіни, мають противірусні властивості і створюють сприятливі умови для функціонування плазматичних та стовбурних клітин — так звані «ніші».

Емпериполезис

Детальніше вивчення кісткового мозку виявило дуже цікаве явище, яке має назву емпериполезис. Це явище було описане у 1956 р. при взаємодії лімфоцитів з іншими клітинами. Термін походить від кількох грецьких слів (*em* — всередині, *peri* — навкруги, *poletai* — блукати) і описує блукання однієї клітини всередині іншої [10]. Від інших варіантів клітинної взаємодії емпериполезис відрізняється деякими рисами. По-перше, клітина-гість знаходиться всередині вакуолі, утвореної клітиною-хазяїном. По-друге, мембрана вакуолі губить щільність

і клітина-гість знаходиться всередині цитоплазми клітини-хазяїна. По-третє, можливий обмін протеїнами, нуклеїновими кислотами, уривками мембран та цитоплазматичними органелами між обома клітинами. Клітина-гість залишає клітину-хазяїна без будь-яких ушкоджень. Тривалість емпериполезису в середньому дорівнює 30 хвилинам (10–40 хвилин) [4]. В більш пізніх працях зафіксовано два варіанти емпериполезису — швидкий та повільний. При швидкому емпериполезису клітина-гість виходить з клітини-хазяїна за лічені хвилини, а при повільному затримується до години та більше. При повільному варіанті клітина-гість затримується навколо ядра, що може бути пов'язано з позичанням РНК у клітини-хазяїна [9]. Але можливий і зворотній варіант, коли відбувається позичання РНК у транзиторної клітини-гостя. Емпериполезис спостерігається у кістковому мозку людини в фізіологічних умовах у 1–6%. При стресі відсоток емпериполезису зростає. Підвищена кількість клітин в емпериполезисі реєструється при тривалому запаленні та хворобах, пов'язаних з кістковим мозком. Крім нейтрофілів, у середину мегакаріоцитів мігрують макрофаги та лімфоцити, але в меншому відсотку, ніж нейтрофіли. Це явище спостерігають у всіх досліджених ссавців (кішки, собаки, пацюки, миші, мавпи, людини), що свідчить про еволюційну затребуваність процесу. Може, в далекій давнині, коли тільки почала з'являтися багатоклітинність, інтерналізовані клітини ховались у великих клітинах від згубних факторів середовища.

Крім мегакаріоцитів, емпериполезис спостерігається в гепатоцитах. Вважають, що інтерналізація аутореактивних Т-клітин може бути одним з механізмів підтримання ауто толерантності [3]. Це припущення виникло по аналогії з фактом існування в тимусі епітеліальних клітин-няньок, які здійснюють негативну селекцію аутологічних дозріваючих лімфоцитів. Одна клітина-нянька здатна піклуватися про 200 лімфоцитів, які знаходяться у неї всередині. Клітина-нянька має епітеліальне походження, експресує цитокератини, але поряд з ними має представництво HLA II, що є типовим тільки для імункомпетентних клітин [6].

Завдяки емпериполезису здійснюється хронізація вірусних процесів, зокрема вірусних гепатитів [8, 17]. Більш вірогідно віднести це явище до клітинного канібалізму, бо CD8⁺ має велику кількість літичних ферментів, завдяки яким здійснює в реальному часі імунний нагляд, розпізнаючи та вбиваючи пошкоджені клітини.

Ідея про невідповідний характер органоспецифічного метастазування бере начало в сюжетах Євангелія, а саме у притчі про ґрунт та насіння, і пов'язана з прізвиськом видатного онколога минулого S. Paget [15]. В наш час з'ясувалося, що метастазуванню передують формування премоетастатичних ніш, які полегшують розвиток макрометастазів. Але якими чинниками здійснюється органоспецифічне метастазування, до недавнього часу вважалося загадковою проблемою. Метастатичні ніші формуються завдяки екстраклітинним везикулам, зокрема і екзосомам. Екзосоми є найменшими за розміром екстраклітинними везикулами (30–100 нм), їхній вантаж упакований у ліпідну мембрану, на поверхні якої знаходяться тетраспаніни та інтегрини [7]. В середині екзосом знайшли протеїни, усі види РНК та ДНК. В екзосомах знайшли ретротранспозони L1 та ALU. Кількість цих послідовностей збільшується при пухлинному зростанні [1]. Якщо вони з'являються у нових місцях геному, це призводить до мутацій і росту генетичної нестабільності, тому їх вважають своєрідними пухлинними маркерами.

Інтегрини: адресна пошта до тканин

Інтегрини відносять до молекул адгезії, завдяки яким тканини та органи багатоклітинного організму не розсипаються на клітини та міжклітинну речовину. Завдяки принципу комплементарності вони визначають міжклітинну взаємодію та кооперацію клітин одну з одною і з міжклітинною речовиною. Інтегрини є творцями тканинної архітектури, тому що вони зв'язують компоненти міжклітинного матриксу з цитоскелетом. Ці молекули здатні проводити інформацію в двох напрямках — з клітини до міжклітинного середовища та навпаки — з міжклітинного середовища до клітини. Важливою особливістю інтегринів є здатність їх субодиниць до взаємодії однієї з одною в різноманітних комбінаціях, що забезпечує вибірковість взаємодії з тим чи іншим лігандом. Інтегрини складаються з α - та β -ланцюгів, комбінація яких створює велику кількість варіантів молекул. До нашого часу у ссавців ідентифіковано 18 α - і 8 β -ланцюгів, які можуть формувати 24 варіанти інтегринів на клітинній поверхні. З'ясована ще одна важлива деталь: представництво інтегринів є тканинспецифічним [18].

Для тромбоцитів характерно представництво α IIb β 3 молекул у невеликій кількості в клітині, яка знаходиться у стані спокою і лавиноподібно зростає при їх активації [14]. Крім β 3 (α IIb β 3, α V β 3), на тромбоцитах знайдено також інтегрини з β 1-мотивом α 2 β 1 (collagen receptor), α 5 β 1 (fibronectin receptor) та α 6 β 1 (laminin receptor) [14]. Для виконання своєї головної функції — гемостазу — кров'яні пластинки повинні змінити форму, тому при

активації повинне бути чітке з'єднання між мембраною та цитоскелетом. Це з'єднання здійснюється завдяки білку під назвою талін. Усі інтегрини мають зовнішній, трансмембранний та цитоплазматичний регіони. Часто кажуть про цитоплазматичний хвіст інтегрину (tail). Тому протеїн, який з'єднує хвіст інтегрину з актиновим цитоскелетом, назвали таліном. З'єднання таліна з хвостами інтегринів викликає їх конформацію і є активаційним сигналом. Талін з'єднується як з α -, так і з β -ланцюгами інтегринів. Іншим протеїном, без якого не здійснюється активація тромбоцитів, є кіндлін 3. Миші з нокаутованим геном кіндліну 3 демонструють летальність після народження, пов'язану з анемією та геморагіями. Одним з найбільш вагомих учасників активаційного каскаду тромбоцитів є мала ГТФаза Rap1b. Цей протеїн належить до Ras родини і регулює інтегрини з β 1-, β 2-, β 3-мотивами [14]. Активаційні сигнали збуджують Rap1b, він приєднує гуанідинтрифосфат і таким чином активується (Rap1b — GTP). Активована молекула підштовхує талін до мембрани, де він з'єднується з хвостом β 3-інтегрину, що змінює його конформацію. Кіндлін 3 приєднується до таліна, збільшуючи міцність з'єднання його з цитоплазматичним хвостом інтегрину [11]. Рентгеноструктурний аналіз показав, чим відрізняється активована форма інтегрину від інтактної. Умовно в інтегриновому гетеродимері виокремлюють голову, тіло та ноги. Активний центр знаходиться в голові структури. Неактивований інтегрин поводить себе як «бідний родич»: α - та β -ланцюги притиснуті одне до одного, голова лежить біля мембрани, тіло зігнуто, ніби інтегрин комусь вклоняється. Активований інтегрин нагадує моряка на палубі судна з високо піднятою головою: його ноги широко розставлені, тулуб випрямлений, а голова готова до прийняття сигналів [2].

Як було зазначено вище, інтегрини демонструють тканинну специфічність, що має безпосереднє значення в процесі метастазування. Відомо про роль інтегринів в метастазуванні, коли вони знаходяться на поверхні екзосом і беруть участь у формуванні премоетастатичних ніш, визначаючи майбутню локалізацію метастазів [7]. На етапі подолання гематотканинного бар'єру циркулюючим пухлинним клітинам важливо причепитись до активованого ендотелію. Це з'єднання здійснюється завдяки молекулам адгезії, зокрема і інтегринам. Як з'ясувалося, до активації ендотелію причетні нейтрофіли [12]. Нейтрофіли використовують ще один механізм в метастазуванні, а саме нейтрофільні пастки (NET)s. Нейтрофільні пастки є особливою формою клітинної загибелі, при якій вміст ядра сукупно з цитоплазмою викидається клітиною в оточуюче середовище, утворюючи сітку. Цей тип клітинної загибелі найчастіше виникає при запаленні, але його спостерігали і в пухлинах. Відкриття нетозу і його зв'язку з запаленням та метастазуванням підтверджує теорію корифея світової онкології Рудольфа Вірхова. У цих сітках заплутуються тромбоцити, і такий механізм тромбоутворення полегшує зв'язування циркулюючих пухлинних клітин

з активованим ендотелієм. Ці наукові уявлення теоретично обґрунтовують факт тривалого призначення антитромботичних препаратів з метою профілактики прогресування злоякісних пухлин.

Емпериоплезис спостерігається не тільки в нормі. Яку роль це явище відіграє при злоякісних новоутвореннях?

Досі наукова спільнота вважає виникнення тромбів при метастазуванні випадковим стохастичним процесом. Так це чи ні? Можна припустити, що метастазування не є випадковим.

Відомо, що в нейтрофілах ідентифікували нуклеїнові кислоти пухлинного походження. В процесі емпериоплезису мегакаріоцит отримує ці РНК від нейтрофілу і далі передає тромбоцитам. Тромбоцити, отримавши частини мембрани нейтрофіла від мегакаріоцита, за принципом комплементарності залишаються в тій ділянці дистантного органу, де є запалення і є споріднені мембранні антигени. Таким чином може здійснюватися один з варіантів органоспецифічного метастазування (відстрочене метастазування). Проміжним органом при цьому є кістковий мозок.

Завдяки хомінгу до кісткового мозку потрапляють В-лімфоцити пам'яті [16]. Ці лімфоцити вже здійснили свою функцію при первинній імунній відповіді. Якщо зустріч з антигеном буде повторною, буде розвинена вторинна імунна відповідь. Вторинна імунна відповідь скорочена в часі в порівнянні з первинною завдяки тому, що вже існує прекомітований

до цього антигену клон. В лімфоцитах цього клону вже відбулась молекулярна перебудова ланцюгів і селекція, тому на ці події лімфоцитам не потрібно витрачати час. Але до вторинної зустрічі з антигеном залишкам клону потрібно десь переховуватись. І кістковий мозок якнайкраще відповідає вимогам «імунологічної схованки», де знаходяться клітини пам'яті до вторинного контакту з антигеном. До кісткового мозку з периферії потрапляють не тільки В-, а й Т-лімфоцити. Т-лімфоцити належать до аутореактивних клонів. При порівнянні нормальних мишей і звірят, хворих на цукровий діабет I типу, було з'ясовано, що Т-лімфоцити при цукровому діабеті потрапляють до лімфатичних вузлів підшлункової залози та кісткового мозку [13].

Таким чином, при метастазуванні злоякісних пухлин нуклеїнові кислоти пухлинної природи з нейтрофілами, макрофагами, В-клітинами пам'яті та екзосомами пухлинної природи потрапляють до кісткового мозку. Завдяки цьому мегакаріоцит отримує притаманні пухлині нуклеїнові кислоти. Згодом мегакаріоцит передає цю поєднану з пухлиною інформацію тромбоцитам, які поширюють її макроорганізмом. Ми пропонуємо ще один можливий шлях розвитку метастатичної хвороби, а саме опосередкований кістковим мозком, де можуть роками та десятиріччями переховуватись гемопоетичні клітини, до яких раніше потрапили пухлиноасоційовані нуклеїнові кислоти, спроможні до злоякісної трансформації або активації росту метастазів.

Література:

- Balaj L., Lessard R., Dai L., Cho Y. J., Pomeroy S. L., Breakefield X. O., Skog J. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nat. Commun.* 2011. Vol. 2, No 1. P. 180.
- Bennett J. S., Berger B. W., Billings P. C. The structure and function of platelet integrins. *J. Thromb. Haemost.* 2009. Vol. 7, Suppl. 1. P. 200–205.
- Benseler V., Warren A., Vo M., Holz L. E., Tay S. S., Le Couteur D. G., Breen E., Allison A. C., van Rooijen N., McGuffog C., Schlitt H. J. Hepatocyte entry leads to degradation of autoreactive CD8 T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 108, No 40. P. 16735–16740.
- Cunin P., Nigrovic P. A. Megakaryocyte emperipolesis: a new frontier in cell-in-cell interaction. *Platelets.* 2020. Vol. 31, No 6. P. 700–706.
- D'Ambrosi S., Nilsson R. J. Platelets and tumor-associated RNA transfer. *Blood.* 2021. Vol. 137, No 23. P. 3181–3191.
- Guyden C. J., Martinez M., Chilukuri V. E. R., Reid V., Kelly F., Samms M. O. Thymic nurse cells participate in heterotypic internalization and repertoire selection of immature thymocytes; their removal from the thymus of autoimmune animals may be important to disease etiology. *Current Molecular Medicine.* 2015. Vol. 15, No 9. P. 828–835.
- Hoshino A., Costa-Silva B., Shen T. L., Rodrigues G., Hashimoto A., Tesic Mark M., Molina H., Kohsaka S., Di Giannatale A., Ceder S., Singh S. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature.* 2015. Vol. 527, No 7578. P. 329–335.
- Hu Y., Jiang L., Zhou G., Liu S., Liu Y., Zhang X., Zhao S., Wu L., Yang M., Ma L., Wang X. Emperipolesis is a potential histological hallmark associated with chronic hepatitis B. *Curr. Mol. Med.* 2015. Vol. 15, No 9. P. 873–881.
- Huang F. Y., Cunin P., Radtke F. A., Darbousset R., Grieshaber-Bouyer R., Peter A., Nigrovic P. A. Neutrophil transit time and localization within the megakaryocyte define morphologically distinct forms of emperipolesis. *Blood Advances.* 2022. Vol. 6, No 7. P. 2081–2091.
- Humble J. G., Jayne W. H. W., Pulvertaft R. J. V. Biological interaction between lymphocytes and other cells. *Br. J. Haematol.* 1956. Vol. 2. P. 283–294.
- Janus-Bell E., Mangin P. H. The relative importance of platelet integrins in hemostasis, thrombosis and beyond. *Haematologica.* 2023. Vol. 108. P. 1734–1747.
- Leach J., Morton J. P., Sansom O. J. Neutrophils: Homing in on the myeloid mechanisms of metastasis. *Molecular Immunology.* 2019. Vol. 110. P. 69–76.

13. Li R., Perez N., Karumuthil-Melethil S., Vasu C. Bone marrow is a preferential homing site for autoreactive T-cells in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2007. Vol. 56, No 9. P. 2251–2259.
14. Nieswandt B., Varga-Szabo D., Elvers M. Integrins in platelet activation. *J. Thromb. Haemost.* 2009. Vol. 7, Suppl. 1. P. 206–209.
15. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*. 1889. Vol. 133, No 3421. P. 571–573.

УДК 612.419:616-006-033.2

doi: 10.33149/vkr.2024.02.09

UA **Кістковий мозок та метастазування пухлин: взаємодія «пухлина — організм»**

О. В. Кайряк

Донецький національний медичний університет, Лиман, Україна

Ключові слова: метастазування, тромбоцити, емпериполезис, трансцитоз, інтегрини

Поєднання тромбозу та прогресії злоякісних пухлин є добре відомим фактом. Проте вичерпної відповіді на питання, чому спостерігається така закономірність, немає. Тромбоцити, або кров'яні пластинки, відшнуровуються в кістковому мозку від мегакаріоциту, поліплоїдної клітини, що містить до 64 наборів гаплоїдних хромосом людини. Мегакаріоцити функціонують не тільки як кровотворні клітини, а й клітини, що беруть участь у вродженому імунитеті. У другій половині ХХ ст. було відкрито явище, яке отримало назву емпериполезис. При емпериполезисі спостерігається співіснування клітин: клітина-гість фагоцитується клітиною-хазяїном, та її лізису немає, і вона залишає господарську клітину неушкодженою. У цьому явищі можливий взаємний обмін внутрішньоклітинним вмістом. Емпериполезис спостерігається у кістковому мозку людини в нормі у 4–6%. Емпериполезис збільшується при стресі та хронічному запаленні. Крім нейтрофілів, «гостями» мегакаріоциту є макрофаги та лімфоцити. Крім емпериполезису, передача інформації пухлинної природи клітинам-прогениторам кісткового мозку здійснюється позаклітинними везикулами. Далі інформація передається тромбоцитам, що сприяють утворенню тромбу, що полегшує адгезію як екзосом, так і циркулюючих пухлинних клітин. Адресна доставка екзосом та лімфоцитів у тканину-мішень здійснюється молекулами адгезії — інтегринами. Вони визначають як міжклітинну взаємодію, так і кооперацію паренхіми зі стромою. Інтегрини є творцями тканинної архітектури, оскільки вони пов'язують компоненти міжклітинного матриксу з цитоскелетом. Ці молекули здатні передавати інформацію двоспрямовано — з клітини в міжклітинне середовище і навпаки — з навколишнього середовища в клітину.

Таким чином, при метастазуванні злоякісних пухлин нуклеїнові кислоти пухлинної природи з нейтрофілів,

16. Paramithiotis E., Cooper M. D. Memory B lymphocytes migrate to bone marrow in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94, No 1. P. 208–212.
17. Siero F., Tay S. S., Warren A., Le Couteur G. D., McCaughan W. G., Bowen G. D., Bertolino P. Suicidal emperipolesis: a process leading to cell-in-cell structures, T cell clearance and immune homeostasis. *Curr. Mol. Med.* 2015. Vol. 15, No 9. P. 819–827.
18. Takada Y., Ye X., Simon S. The integrins. *Genome Biology*. 2007. Vol. 8. P. 1–9.

макрофагів, екзосом та В-клітин пам'яті потрапляють у кістковий мозок. Завдяки цьому мегакаріоцит отримує властиві пухлинні нуклеїнові кислоти. Надалі мегакаріоцит передає цю інформацію тромбоцитам. Ми пропонуємо ще один можливий шлях розвитку метастазування, а саме опосередкований кістковим мозком, де можуть роками та десятиліттями перебувати клітини, пов'язані з гемопоезом, до яких раніше потрапили нуклеїнові кислоти, здатні здійснити злоякісну трансформацію або активувати зростання метастазів.

EN **Bone marrow and tumor metastasis: tumor — organism interaction**

О. V. Kajryak

Donetsk National Medical University, Lyman, Ukraine

Key words: metastasis, platelets, emperipolesis, transcytosis, integrins

The combination of thrombosis and the progression of malignant tumors is a well-known fact. However, the reason for this observed pattern remains unclear. The megakaryocyte, a polyploid cell containing up to 64 haploid sets of human chromosomes, detaches platelets in the bone marrow. Megakaryocytes function not only as hematopoietic cells but also as cells involved in innate immunity. Researchers discovered a phenomenon called emperipolesis in the second half of the 20th century. During emperipolesis, cell coexistence is observed: the host cell phagocytoses the guest cell without lysing it, allowing for the mutual exchange of intracellular contents. With this phenomenon, mutual exchange of intracellular contents is possible. Emperipolesis occurs normally in human bone marrow in 4–6% of cases and increases in stress and chronic inflammation. Besides the neutrophils, the “guests” of the megakaryocyte are macrophages and lymphocytes. In addition to emperipolesis, extracellular vesicles transmit tumor information to bone marrow progenitor cells. Next, the information is transmitted to platelets that contribute to the formation of a blood clot, facilitating the adhesion of both exosomes and circulating tumor cells. Targeted delivery of exosomes and lymphocytes to the target tissue is carried out by adhesion molecules — integrins. They determine both intercellular interaction and cooperation between the parenchyma and the stroma. Integrins are the creators of tissue architecture, as they connect components of the intercellular matrix

with the cytoskeleton. These molecules are capable of transmitting information bidirectionally — from the cell to the intercellular environment and vice versa — from the environment to the cell.

Thus, during metastasis of malignant tumors, nucleic acids of a tumor nature from neutrophils, macrophages, exosomes, and memory B cells enter the bone marrow. Due to this, the megakaryocyte receives

tumor-specific nucleic acids. The megakaryocyte subsequently transmits this information to platelets. We suggest another way that metastasis might start: it could be through the bone marrow, where cells involved in hematopoiesis can stay for years or even decades. These cells may have received nucleic acids that can turn them into cancer cells or start metastases growing.