

М. В. Спринджук¹, А. П. Кончиц¹, Н. В. Царёва²

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА
И РАЗВИТИЕ ЛИМФАТИЧЕСКИХ КАПИЛЛЯРОВ
В ТКАНЯХ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ:
ВОПРОСЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА
И КОМПЬЮТЕР-АССИСТИРОВАННАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА**

*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси¹,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»²*

Проблема рака как ведущей причины смертности в мире особенно актуальна в наиболее развитых странах. Метастазирование опухолевых клеток через лимфатическое русло – ведущий механизм патогенеза многих злокачественных новообразований. Материал статьи сфокусирован на обсуждении вопросов, касающихся роста и развития лимфатических капилляров в тканях эпителиального рака яичников и компьютер-ассистированной морфологической характеристики лимфатических сосудов на основе анализа гистологических изображений с помощью оригинального программного обеспечения. Статья содержит также ссылки на источники информации для дальнейшего научного чтения, как для специалистов медицинских наук, так и для профессионалов компьютерных и смежных технических дисциплин.

Ключевые слова: лимфангиогенез, плотность лимфатических капилляров, канцерогенез, рак яичников, метастазирования, обработка изображений, программное обеспечение для медицины

М. V. Sprindzhuk¹, A. P. Konchits¹, N. V. Tsareva²

**IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF LYMPHANGIOGENESIS AND THE
DEVELOPMENT OF LYMPHATIC CAPILLARIES IN THE TISSUES OF EPITHELIAL
OVARIAN CANCER: ISSUES OF CARCINOGENESIS AND THE COMPUTER-ASSISTED
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS**

Оригинальные научные публикации

Ежегодно в мире регистрируется 165 тысяч новых случаев злокачественных новообразований яичников и 101 тысяча смертей от него, в США-23,4 тысячи и 13,9 тысячи, в России-11,7 тысячи и 7,3 тысячи. Во многих странах эта патология занимает среди злокачественных новообразований 6-е ранговое место. Злокачественные опухоли яичников встречаются у женщин всех возрастных групп, начиная с младенчества. В России доля рака яичников среди всех злокачественных новообразований колебалась от 3,2% в 70 лет и старше до 7,0% (в 40-54 года) и 7,4% (в 15-39 лет). Показатель заболеваемости достигал наибольшего значения (37,8 на 100000) в 70-74 года [1].

В странах Европейского Союза заболеваемость этой формой рака составляла 9,6 (на 100 тысяч женского населения, мировой стандарт), значительно выше она была в Дании (13,8 на 100000) и Австрии (13,3), а среди стран СНГ-в России (10,3) и Казахстане (9,3). Выше, чем в среднем по России, заболеваемость в Адыгее, Карачаево-Черкесии и Санкт-Петербурге. В 2000 году в России от рака яичника умерло 7,3 тысячи больных (5,5% среди всех злокачественных новообразований у женщин). Максимальная доля умерших в 40-59 лет (6,7%), минимальна-в 80 лет и старше (2,4%). В структуре умерших от злокачественных новообразований рак яичников стоит на 6-ом месте. В возрасте до 30 лет он является причиной смерти от 40 до 70% случаев среди всех опухолей гениталий. Вероятность заболеть раком яичников для новорожденной девочки в России составляет 1,0%, умереть-0,6%. Вероятность для 30-летней больной раком яичника умереть от этого заболевания в 17 раз выше, чем от другой причины, но с увеличением возраста различия сокращаются: в 50-54 года-до 8,5, в 60-64-до 3,7, а в 75-летнем возрасте имеется большая вероятность умереть от другой причины (22,9%), чем от основного заболевания (15%). В связи с высокой частотой запущенных случаев результаты, достигнутые в лечении злокачественных новообразований яичника, скромны. Согласно данным популяционных регистров, пятилетняя выживаемость варьирует от 12 до 42%. За последние 20 лет показатель 5-летней относительной выживаемости

больных раком яичника увеличился в США с 37% до 50%. При локализованном процессе он составлял 95%, если процесс переходил на окружающие ткани или имелись регионарные метастазы, то он достигал 79%, а при наличии отдаленных метастазов-всего 20%. Прогноз лучше у более молодых пациенток. Например, выживаемость достигает 64% у больных в возрасте 65 лет и только 30%-у женщин старше этого возраста.

Значительные различия в уровнях заболеваемости между отдельными группами населения и регионами являются основной не только для выявления предполагаемых факторов риска, но и определения теоретических возможностей профилактики заболевания. Систематизированные эпидемиологические сведения представлены в таблице 1. [1].

Определение лимфоангиогенеза и общие вопросы патогенеза метастазирования посредством распространения через русло лимфатических капилляров.

Ангиогенез лимфатических капилляров определяется как образование, рост и развитие лимфатических сосудов из уже существующих и функционирующих их предшественников. Ключевое значение в процессах лимфоангиогенеза придается недавно открытым и уже частично структурно и физиологически изученным факторам роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor = VEGF) подтипов C и D (см. рис. 1) [62-69].

На рост и развитие лимфатических капилляров также влияют следующие факторы:

- Циклооксигеназа-2 [70-75];
- Фактор роста фибробластов-2 [76-78];
- Ангиопоэтины и Tie1/Tie2 (рецепторы тирозин киназы) [79];
- Факторы роста тромбоцитарного происхождения [62];
- Инсулиноподобные факторы роста [80];
- Фактор роста клеток печени [81, 82];
- Фактор роста эндотелия сосудов-A [83-93];
- Оксид азота [94-96];
- Отдельную роль играют процессы воспаления [30, 62, 97-107].

В 2001 году, по данным S. Schorppmann и соавт., 2002 [108] имелся всего один источник литературы, в котором, где приводилось описание исследования лимфоангиогенеза в яичниках. Тогда считалось, что лимфатическое русло играет значительно меньшую роль в патогенезе рака яичников чем в прогрессировании злокачественных опухолей другой локализации, в частности молочной железы и шейки матки. Согласно первым исследованиям патоморфологии яичников, с использованием новейших маркеров, специфически окрашивающих лимфокапилляры (см. таб. 2), наблюдалось преимущественное расположение их в околоопухолевой зоне, которая выделяется скоплением жировых клеток, тяжами соединительной ткани, наличием рядом расположенной опухоли, а также соседством с крупными кровеносными сосудами. Внутри самой опухоли сосуды, как правило, не визуализируются, что может свидетельствовать о том, что непосредственно к опухоли лимфатические каналы не подходят, зато питают её строму, принося с лимфой субстрат, формирующий микроокружение, которое и имеет, возможно, решающее значение на поведение опухоли и, в конечном счёте, на судьбу, борющегося со смертельной болезнью пациента.

Принципы и современные возможности так называемой «цифровой патологии» и малоизученные об-

Таблица 1. Проблема рака яичников в мире: данные статистики и эпидемиологии.

Страна	Ежегодно регистрируется новых случаев	Смертность	Источник
Россия	11,000	7,300	[1]
Великобритания	6,627	4,356	[2]
США	16,2 на 100,000 населения	14,600 смертей ежегодно	[3]
Европа	61,000	Максимум - 9,3-14,3/100,000 в Дании и минимум - 3,6-4,5 в Португалии	[4-6]

Таблица 2. Обзор основных иммунохимических маркеров лимфангиогенеза.

Маркер	Химическая структура и функция	Место экспрессии	Источник литературы, где маркер изучался и применялся в 2010 г.
D2-40	Моноклональное антитело, распознающее онкофетальный антиген	D2-40 реагирует с O-связанным сиалогликопротеином, найденным на лимфатическом эндотелии, эмбриональном яичке и на поверхности тестикулярных гермином.	[7-18]
LYVE-1	Рецептор экстрацеллюлярного матрикса/лимфатической жидкости	Экспрессируется на лимфатическом эндотелии кровеносных синусоидных эндотелиальных клеток селезенки и синцитиотрофобласта плаценты	[19-23]
VEGFR-3	Трансмембранный рецептор тирозин киназы для VEGF-C и VEGF-D	Преимущественно экспрессируется на лимфатическом эндотелии зрелых нормальных тканей, но также реактивируется на сосудах при патологии	[24-31]
Подопланины	Гликопротеин мембраны подоцитов клубочка	Экспрессируется на лимфатических капиллярах и остеобластах, альвеолярных клетках легких и подоцитах почек	[8, 13, 14, 16, 20, 21, 32-55]
Prox-1	Протени, необходимый для развития эмбриональных лимфатических капилляров	Экспрессируется на лимфатическом эндотелии незрелых клеток хрусталика, сердца, поджелудочной железы и нервной системы	[56, 57]
Десмоплагин	Связывается с кадгеринами десмосом для формирования адгезионного комплекса	Мелкий лимфатический эндотелий, эпителий и сердечная мышца	[58-61]



Рисунок 1. Предлагаемая схема патогенеза рака яичников с точки зрения придания ведущего значения в этом процессе прорастанию лимфатических капилляров.

ласти патологической микроанатомии эндокринных органов и яичников в частности

Основная проблема экспертной оценки гистопатологических слайдов – явная субъективность такого диагностического решения. В связи с этим компьютерное программное обеспечение и информационные технологии в общем смысле слова однозначно необходимы не только для улучшения комфорта работы гистопатологов, но и для возможности беспристрастно количественно оценивать диагностические объекты. Очевидно, что программные оболочки применяются для медицинских целей с тех пор, как появились первые персональные компьютеры, и последние десять лет характеризуются действительно широким распространением и доступностью всевозможных компьютеров и другой техники. Новая микроскопическая техника также требует создания программного обеспечения для раскрытия всех технических возможностей аппаратуры. Современные среды для разработки компьютерных программ и возможности объектно-ориентированного программирования на языках высокого уровня особенно при доступе к открытым для бесплатного использования кодам уже созданных программ, позволяют разработчикам быстрее, чем раньше, создавать дополнительные приложения к программному обеспечению и вообще, про-

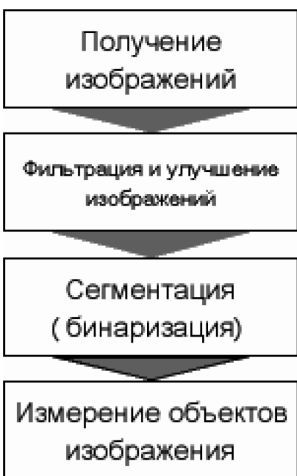


Рисунок 2. Схема получения гистопатологических изображений и их обработки [109].

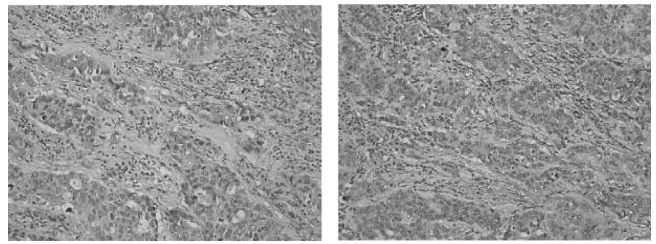


Рисунок 3. Эпителиальная опухоль яичников, окраска – гематоксилин и эозин с дополнительным прокрашиванием иммуномаркером D2-40. Коричневым цветом высвечиваются лимфатические сосуды.

фессионально развиваться. Появляется все больше и больше способов и методов создавать программное обеспечение и больше информационных ресурсов для публикации научно-исследовательской работы, для изучения рынка программного обеспечения, и, конечно для целей образования на всех уровнях. Изображения гистологических объектов, которые представляют собой фотографии млекопитающего, обработанные физическими и химическими методами, представляются в памяти компьютера в виде организованной матрицы элементарных частиц изображения: так называемых пикселей (см. рис. 2). Инструкции написанной программы для анализа изображений позволяют прочитать последовательность пикселей изображения, их сложную организацию и свойства и при необходимости манипулировать ими, что может технически задаваться математическими формулами в виде алгоритмов. На выходе анализа изображений исследователь получает числа, которые могут характеризовать как различные глазом человека объекты данного изображения, так и свойства, ему физиологически недоступные. Диагностическая значимость таких суррогатных цифр подвергается критической оценке многих исследователей и в настоящее время изучается многими группами учёных путем статистических экспериментов, где количественные данные, полученные с помощью компьютера, анализирующего изображения, противопоставляются клиническим и лабораторным и производится поиск математических закономерностей между этими явлениями с помощью статистических тестов (например, дисперсионного анализа, параметрической и непараметрической линейной корреляции и некоторых вариантов линейной регрессии). В онкологии, анализировать и обрабатывать можно как гистопатологические изображения тонкоигольной биопсии, и изображения, полученные после хирургического оперативного удаления органа или его части. Таким образом, возникает идея сравнить изображения нормы, тонкоигольной биопсии, тканей удаленного органа и выявить общее и частное и интерпретировать полученные данные так, чтобы можно было получить числа-коэффициенты, которые служили бы надежными предикторами (предсказательными факторами) событий, связанных с течением болезни в будущем пациента. Целью анализа изображений до-или интраоперационной биопсии тканей опухоли может явиться поиск таких цифровых индексов, полученных путем интерпретации свойств объектов изображений, на основании которых хирург может обоснованно принять какое-либо лечебно-диагностическое решение. Количественное компьютер-ассистированное изучение микроскопической морфологии лимфангиогенеза в эндокринных опухолях и в тканях яичников, в частности – это молодая, сравнительно малоизу-

■ Оригинальные научные публикации

ченая научная тема. Меньше всего публикаций (по данным крупнейших онлайн баз (ScienceDirect, SpringerLinks, WileyScience, HighWirePress, MEDLINE, Scielo, SCOPUS, GoogleScholar и др.) касается лимфангиогенеза в тканях яичников, как нормальных, так и патологических (см. рис. 3) Напротив, больше литературных источников имеется по вопросам лимфангиогенеза в матке, шейке матки, эндометрии. На технические возможности изучения роста и развития лимфатических капилляров, безусловно, повлияли внедрения в гистохимическую практику новых маркеров, как ангиогенеза кровеносных сосудов, так и лимфатических (см. таб. 1).

Несмотря на смертельно опасную природу рака яичников, индивидуальный прогноз заболевания трудно поддается диагностической оценке. Наблюдается четыре варианта развития болезни:

- малая часть пациентов вылечивается операцией с последующей химиотерапией;
- в другой группе пациентов случается рецидив после сравнительно продолжительного интервала времени;
- у других летальный рецидив произойдет в течение нескольких месяцев после начала первичной терапии;
- у отдельной части пациентов будет наблюдаться резистентность к первичному лечению [110].

Молекулярные и клинические прогностические факторы прогрессирования эпителиального рака яичников, доступные в настоящее время для применения считаются однозначно несовершенными. При этом заболевании, уровни VEGF-C, VEGF-D и VEGFR-3 (R = рецептор) значительно коррелируют с наличием метастазов в лимфатических узлах и перитонеальным распространением в верхнем этаже брюшной полости.

Более того, экспрессия VEGF-C хорошо коррелирует с экспрессией c-erbB2, генов металлопротеиназы матрикса, ангиогенеза и низкого апоптотического индекса. VEGF-C и VEGF-D показали себя как значительные предикторы худшего выживания пациентов, что свидетельствует о том, что измерение уровня фактора роста лимфатических сосудов может улучшить возможности прогноза пациентов больных раком яичников, имеющих плохой прогноз [65, 110].

При использовании поликлонального антитела, окрашивающего подоплатин, нового маркера для лимфатического эндотелия, Briner P. и соавт. [111] (2000) была исследована плотность лимфатических капилляров в образцах ткани 90 пациентов с эпителиальным раком яичников, которые лечились радикальной хирургией и химиотерапией. Анализ выживания был выполнен, используя однофакторный и многофакторный анализ. Кроме того, было выполнено сравнение значений плотности лимфатических и кровеносных капилляров, с помощью иммунного окрашивания. В результате плотность лимфатических капилляров была значительно ниже чем CD34 кровеносных ($p < 0.0001$). Не было выявлено отчетливой связи между значениями плотности микрососудов и различными гистологическими и клиническими параметрами. Плотность лимфатических капилляров не имела никакого влияния на выживание пациентов. Таким образом, ученые пришли к заключению о том, что формирование лимфатических сосудов не имеет никакого влияния на прогрессию эпителиального рака яичников. Но можно ли судить только по значениям плотности микрососудов, полученных от ничтожно маленькой части опухоли о её развитии в живом организме-хозяине? Очевидно, что даже при сканировании и фотографировании всей поверхности микроскопического слайда, который состав-

ляет миллиардную часть целой эллипсоидной опухоли, и анализе различных свойств такого изображения, данные будут, что называется, экстраполированными. Безусловно, что если взять десятки таких участков опухоли и с каждого взять много фотографий, достоверность такой диагностической информации может оказаться существенно выше.

Таким образом, рост и развитие лимфатических капилляров в яичниках человека по-прежнему остается малоизученной темой. Факторы роста эндотелия сосудов (C и D) – основные факторы индукции прогрессирования лимфангиогенеза. Так как существует практическая необходимость в своевременной дифференциальной диагностики опухолей яичников, создании математических моделей предсказания прогноза болезни и разработки эффективных таргетных лекарственных средств, изучение патоморфологии лимфангиогенеза с использованием современного программного обеспечения может внести свой вклад в понимание процессов патогенеза опухолей репродуктивной системы. Имеется необходимость в производстве недорогой техники для сканирования всего слайда опухоли, создании новых алгоритмов анализа изображений с целью найти клинически полезный параметр-предиктор, полученный в процессе обработки изображений, который может иметь значимость для принятия диагностических и терапевтических решений.

Список полезных научных вебсайтов:

- <http://highwire.stanford.edu/>
- <http://patentgenius.com/>
- <http://ru-patent.info/>
- <http://scirus.com/>
- <http://scopus.com/>
- <http://freemedicaljournals.com>
- <http://pubmed.gov>
- <http://googlescholar.com>
- <http://lib.med.by/d.aspx>
- <http://www.plos.org/index.php>
- <http://search.nap.edu>
- <http://find.galegroup.com>
- <http://www.bioone.org>
- <http://www.biomedcentral.com/>
- <http://www.mendeley.com/>
- www.r-project.org/
- <http://orthography.morphology.ru/>
- <http://www.bccancer.bc.ca/PPI/RecommendedLinks/crosscultural/default.htm>
- http://statistiksoftware.com/free_software.html

Литература

1. *Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований: Россия, 2000 год* <http://demoscope.ru/weekly/2002/089/analit03.php>.
2. *Cancer incidence and mortality in the United Kingdom* <http://www.statistics.gov.uk/StatBase/Product.asp?vlnk=14209>.
3. Arab, M. Incidence rate of ovarian cancer in Iran in comparison with developed countries. *Indian / M. Arab [et al.] // J Cancer. Jul-Sep;47(3):322 – 7.*
4. Bray, F. Ovarian cancer in Europe: Cross-sectional trends in incidence and mortality in 28 countries, 1953 – 2000 / F. Bray [et al.] // *Int J Cancer. 2005 Mar 1;113(6):977 – 90.*
5. Gonzalez-Diego, P. Time trends in ovarian cancer mortality in Europe (1955-1993): effect of age, birth cohort and period of death / P. Gonzalez-Diego [et al.] // *Eur J Cancer. 2000 Sep;36(14):1816 – 24.*
6. http://www.ecancermedia.com/Ovarian_Cancer_Factsheet.aspx.
7. Zhen, L. F. Expressions of D2-40 and CD34 in invasive ductal carcinoma of the breast and the clinical implications / L. F. Zhen [et al.] // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. Jul;30(7):1548 – 51.*
8. Plaza, J. A. Immunolabeling Pattern of Podoplanin (D2-40) May Distinguish Basal Cell Carcinomas From Trichoepitheliomas: A Clinicopathologic

and Immunohistochemical Study of 49 Cases / J. A. Plaza [et al.] // Am J Dermatopathol. Jun 17.

9. Raica, M. Diagnostic and clinical significance of D2-40 expression in the normal human thymus and thymoma / M. Raica [et al.] // Rom J Morphol Embryol. 51(2):229 – 34.

10. Hu, Y. Value of D2-40 in the Differential Diagnosis of Pleural Neoplasms With Emphasis on Its Positivity in Solitary Fibrous Tumor / Y. Hu [et al.] // Appl Immunohistochem Mol Morphol. Apr 27.

11. Mahalingam, M. D2-40 expression in primary scarring and non-scarring alopecia / M. Mahalingam, M. P. Hoang // Am J Dermatopathol. Jul;32(5):427 – 31.

12. Jin, Z. W. Fetal anatomy of peripheral lymphatic vessels: a D2-40 immunohistochemical study using an 18-week human fetus (CRL 155 mm) / Z. W. Jin [et al.] // J Anat. Jun;216(6):671 – 82.

13. Plaza, J. A. Value of p63 and podoplanin (D2-40) immunoreactivity in the distinction between primary cutaneous tumors and adenocarcinomas metastatic to the skin: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 79 cases / J. A. Plaza [et al.] // J Cutan Pathol. Apr;37(4):403 – 10.

14. Agaimy, A. Lymphatics and D2-40/podoplanin expression in gastrointestinal stromal tumours of the stomach with and without lymph node metastasis: an immunohistochemical study with special reference to the Carney triad / A. Agaimy, J. A. Carney // J Clin Pathol. Mar;63(3):229 – 34.

15. Mahalingam, M. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing primary skin adnexal carcinomas from metastatic adenocarcinoma to skin: an immunohistochemical reappraisal using cytokeratin 15, nestin, p63, D2-40, and calretinin / M. Mahalingam [et al.] // Mod Pathol. May;23(5):713 – 9.

16. DeBald, M. Increased detection of lymphatic vessel invasion by D2-40 (podoplanin) in early breast cancer: possible influence on patient selection for accelerated partial breast irradiation / M. DeBald [et al.] // Int J Radiat Oncol Biol Phys. Jul 15;77(4):1128 – 33.

17. Bandarchi, B. D2-40, a novel immunohistochemical marker in differentiating dermatofibroma from dermatofibrosarcoma protuberans / B. Bandarchi [et al.] // Mod Pathol. Mar;23(3):434 – 8.

18. Kadota, K, Huang CL, Liu D, Nakashima N, Yokomise H, Ueno M, et al. The clinical significance of the tumor cell D2-40 immunoreactivity in non-small cell lung cancer. Lung Cancer. Jan 8.

19. Matsumoto, N, Mukae S, Tsuda H, Sawada A, Okazaki Y, Nagai K, et al. Prognostic value of LYVE-1-positive lymphatic vessel in tongue squamous cell carcinomas. Anticancer Res. Jun;30(6):1897 – 903.

20. Noda, Y, Amano I, Hata M, Kojima H, Sawa Y. Immunohistochemical Examination on the Distribution of Cells Expressed Lymphatic Endothelial Marker Podoplanin and LYVE-1 in the Mouse Tongue Tissue. Acta Histochem Cytochem. May 1;43(2):61 – 8.

21. Ribatti, D, Nico B, Cimpean AM, Raica M. Podoplanin and LYVE-1 expression in lymphatic vessels of human neuroblastoma. J Neurooncol. Feb 27.

22. Arimoto, J, Ikura Y, Suekane T, Nakagawa M, Kitabayashi C, Iwasa Y, et al. Expression of LYVE-1 in sinusoidal endothelium is reduced in chronically inflamed human livers. J Gastroenterol. Mar;45(3):317 – 25.

23. Banerji, S, Hide BR, James JR, Noble ME, Jackson DG. Distinctive properties of the hyaluronan-binding domain in the lymphatic endothelial receptor Lyve-1 and their implications for receptor function. J Biol Chem. Apr 2;285(14):10724 – 35.

24. Smith, NR, Baker D, James NH, Ratcliffe K, Jenkins M, Ashton SE, et al. Vascular endothelial growth factor receptors VEGFR-2 and VEGFR-3 are localized primarily to the vasculature in human primary solid cancers. Clin Cancer Res. Jul 15;16(14):3548 – 61.

25. Ni, X.F, Wu CP, Jiang JT. Serum VEGFR-3 and survival of advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX. World J Gastroenterol. May 7;16(17):2163 – 9.

26. Saharinen, P, Helotera H, Miettinen J, Norrmen C, D'Amico G, Jeltsch M, et al. Claudin-like protein 24 interacts with the VEGFR-2 and VEGFR-3 pathways and regulates lymphatic vessel development. Genes Dev. May;24(9):875 – 80.

27. Galvagni, F, Pennacchini S, Salameh A, Rocchigiani M, Neri F, Orlandini M, et al. Endothelial cell adhesion to the extracellular matrix induces c-Src-dependent VEGFR-3 phosphorylation without the activation of the receptor intrinsic kinase activity. Circ Res. Jun 25;106(12):1839 – 48.

28. Seyama, K, Mitani K, Kumasaka T, Gupta SK, Oommen S, Liu G, et al. Lymphangioliomyoma cells and lymphatic endothelial cells: expression of VEGFR-3 in lymphangioliomyoma cell clusters. Am J Pathol. Apr;176(4):2051-2; author reply 2 – 4.

29. Tokuyama, W, Mikami T, Masuzawa M, Okayasu I. Autocrine and paracrine roles of VEGF/VEGFR-2 and VEGF-C/VEGFR-3 signaling in angiosarcomas of the scalp and face. Hum Pathol. Mar;41(3):407 – 14.

30. Fliester, M. J., Wilber A, Hall KL, Iwata C, Miyazono K, Nisato RE, et al. Inflammation induces lymphangiogenesis through up-regulation of VEG-

FR-3 mediated by NF-kappaB and Prox1. Blood. Jan 14;115(2):418 – 29.

31. Donnem, T, Al-Saad S, Al-Shibli K, Busund LT, Bremnes RM. Co-expression of PDGF-B and VEGFR-3 strongly correlates with lymph node metastasis and poor survival in non-small-cell lung cancer. Ann Oncol. Feb;21(2):223 – 31.

32. Hou, T. Z, Bystrom J, Sherlock JP, Qureshi O, Parnell SM, Anderson G, et al. A distinct subset of podoplanin (gp38) expressing F4/80+ macrophages mediate phagocytosis and are induced following zymosan peritonitis. FEBS Lett. Jul 31.

33. Cortez, M.A, Nicoloso MS, Shimizu M, Rossi S, Gopisetty G, Molina JR, et al. miR-29b and miR-125a regulate podoplanin and suppress invasion in glioblastoma. Genes Chromosomes Cancer. Jul 27.

34. Cueni, L. N, Hegyi I, Shin JW, Albinger-Hegyi A, Gruber S, Kunstfeld R, et al. Tumor lymphangiogenesis and metastasis to lymph nodes induced by cancer cell expression of podoplanin. Am J Pathol. Aug;177(2):1004 – 16.

35. Hata, M, Amano I, Tsuruga E, Kojima H, Sawa Y. Immunoelectron microscopic study of podoplanin localization in mouse salivary gland myoepithelium. Acta Histochem Cytochem. May 1;43(2):77-82.

36. Chaipan, C, Steffen I, Tsegaye TS, Bertram S, Glowacka I, Kato Y, et al. Incorporation of podoplanin into HIV released from HEK-293T cells, but not PBMC, is required for efficient binding to the attachment factor CLEC-2. Retrovirology.7:47.

37. Shintaku, M, Honda T, Sakai T. Expression of podoplanin and calretinin in meningioma: an immunohistochemical study. Brain Tumor Pathol. Apr;27(1):23 – 7.

38. Hansen, T, Kirkpatrick CJ. Expression of podoplanin in Warthin tumours. Oral Maxillofac Surg. Apr 22.

39. Arizumi, T, Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Li G, Xu Y, et al. Expression of podoplanin in human bone and bone tumors: New marker of osteogenic and chondrogenic bone tumors. Pathol Int. Mar;60(3):193 – 202.

40. Kreppel, M, Scheer M, Drebber U, Ritter L, Zoller JE. Impact of podoplanin expression in oral squamous cell carcinoma: clinical and histopathologic correlations. Virchows Arch. May;456(5):473 – 82.

41. Margăritescu, C, Raica M, Pirici D, Simionescu C, Mogoanta L, Stinga AC, et al. Podoplanin expression in tumor-free resection margins of oral squamous cell carcinomas: an immunohistochemical and fractal analysis study. Histol Histopathol. Jun;25(6):701 – 11.

42. Sun, Q, Yan M, Zhou XJ, Li XM, Mao L, Chen WT. [Effects of Podoplanin on cell proliferation and cell cycle in oral leukoplakia cells.]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. Jan;45(1):6 – 10.

43. Zustin, J, Scheuer HA, Friedrich RE. Podoplanin expression in human tooth germ tissues and cystic odontogenic lesions: an immunohistochemical study. J Oral Pathol Med. Jan;39(1):115 – 20.

44. Shi, P, Liu W, Zhou ZT, He QB, Jiang WW. Podoplanin and ABCG2: malignant transformation risk markers for oral lichen planus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. Mar;19(3):844 – 9.

45. Rodrigo, J.P, Garcia-Carracedo D, Gonzalez MV, Mancebo G, Fresno MF, Garcia-Pedrero J. Podoplanin expression in the development and progression of laryngeal squamous cell carcinomas. Mol Cancer.9:48.

46. Hanna, A, Pang Y, Bedrossian CW, Dejmeck A, Michael CW. Podoplanin is a useful marker for identifying mesothelioma in malignant effusions. Diagn Cytopathol. Apr;38(4):264 – 9.

47. Shen, Y, Chen CS, Ichikawa H, Goldberg GS. SRC induces podoplanin expression to promote cell migration. J Biol Chem. Mar 26;285(13):9649 – 56.

48. Uhrin, P, Zaujec J, Breuss JM, Olcaydu D, Chrenek P, Stockinger H, et al. Novel function for blood platelets and podoplanin in developmental separation of blood and lymphatic circulation. Blood. May 13;115(19):3997 – 4005.

49. Rahadiani, N, Ikeda J, Makino T, Tian T, Qiu Y, Mamat S, et al. Tumor-igenic role of podoplanin in esophageal squamous-cell carcinoma. Ann Surg Oncol. May;17(5):1311 – 23.

50. Barth, K, Blasche R, Kasper M. T1alpha/podoplanin shows raft-associated distribution in mouse lung alveolar epithelial E10 cells. Cell Physiol Biochem.25(1):103 – 12.

51. Kanner, W.A, Galgano MT, Atkins KA. Podoplanin expression in basal and myoepithelial cells: utility and potential pitfalls. Appl Immunohistochem Mol Morphol. May;18(3):226 – 30.

52. Okamoto, E, Kikuchi K, Miyazaki Y, Gonzalez-Alva P, Oku Y, Tanaka A, et al. Significance of podoplanin expression in keratocystic odontogenic tumor. J Oral Pathol Med. Jan;39(1):110 – 4.

53. Bolzoni, Villaret A, Schreiber A, Facchetti F, Fisogni S, Lonardi S, Lombardi D, et al. Immunostaining patterns of CD31 and podoplanin in previously untreated advanced oral/oropharyngeal cancer: prognostic implications. Head Neck. Jun;32(6):786 – 92.

54. Birke, K, Lutjens-Drecoll E, Kerjaschki D, Birke MT. Expression of podoplanin and other lymphatic markers in the human anterior eye segment. Invest Ophthalmol Vis Sci. Jan;51(1):344 – 54.

Оригинальные научные публикации

55. *Gonzalez-Alva*, P, Tanaka A, Oku Y, Miyazaki Y, Okamoto E, Fujinami M, et al. Enhanced expression of podoplanin in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med. Jan*;39(1):103 – 9.
56. *Cimpean*, A.M, Seclaman E, Ceausu R, Gaje P, Feflea S, Anghel A, et al. VEGF-A/HGF induce Prox-1 expression in the chick embryo chorioallantoic membrane lymphatic vasculature. *Clin Exp Med. Sep*;10(3):169 – 72.
57. *McGovern*, S, Pan J, Oliver G, Cutz E, Yeager H. The role of hypoxia and neurogenic genes (Mash-1 and Prox-1) in the developmental programming and maturation of pulmonary neuroendocrine cells in fetal mouse lung. *Lab Invest. Feb*;90(2):180 – 95.
58. *Hobbs*, R.P, Han SY, van der Zwaag PA, Bolling MC, Jongbloed JD, Jonkman MF, et al. Insights from a Desmoplakin Mutation Identified in Lethal Acantholytic Epidermolysis Bullosa. *J Invest Dermatol. Jul* 8.
59. *Cabral*, R.M, Wan H, Cole CL, Abrams DJ, Kelsell DP, South AP. Identification and characterization of DSP1a, a novel isoform of human desmoplakin. *Cell Tissue Res. Jul*;341(1):121 – 9.
60. *Bolling*, M.C, Veenstra MJ, Jonkman MF, Diercks GF, Curry CJ, Fisher J, et al. Lethal acantholytic epidermolysis bullosa due to a novel homozygous deletion in DSP: expanding the phenotype and implications for desmoplakin function in skin and heart. *Br J Dermatol. Feb* 3.
61. *Mahoney*, M.G, Sadowski S, Brennan D, Pikander P, Saukko P, Wahl J, et al. Compound heterozygous desmoplakin mutations result in a phenotype with a combination of myocardial, skin, hair, and enamel abnormalities. *J Invest Dermatol. Apr*;130(4):968 – 78.
62. *Da*, M.X, Wu Z, Tian HW. Tumor lymphangiogenesis and lymphangiogenic growth factors. *Arch Med Res. 2008 May*;39(4):365 – 72.
63. *Bednarek*, W, Mazurek-Kociubowska M, Sobstyl M, Wiertel I, Czekierdowski A. [Expression of lymphangiogenesis marker neuropilin-1 in different types of ovarian cancer]. *Ginekolog. Pol. Mar*;81(3):176 – 82.
64. *Zhao*, R.W, Yang S.H, Cai LQ, Zhang J, Wang J, Wang ZH. [Roles of vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor in lymphangiogenesis in epithelial ovarian carcinoma]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 2009 Oct*;44(10):760 – 4.
65. *Sapoznik*, S, Cohen B, Tzuman Y, Meir G, Ben-Dor S, Harmelin A, et al. Gonadotropin-regulated lymphangiogenesis in ovarian cancer is mediated by LEDGF-induced expression of VEGF-C. *Cancer Res. 2009 Dec* 15;69(24):9306 – 14.
66. *Jeon*, B.H, Jang C, Han J, Kataru RP, Piao L, Jung K, et al. Profound but dysfunctional lymphangiogenesis via vascular endothelial growth factor ligands from CD11b+ macrophages in advanced ovarian cancer. *Cancer Res. 2008 Feb* 15;68(4):1100 – 9.
67. *Brown*, H.M, Dunning KR, Robker RL, Pritchard M, Russell DL. Requirement for ADAMTS-1 in extracellular matrix remodeling during ovarian folliculogenesis and lymphangiogenesis. *Dev Biol. 2006 Dec* 15;300(2):699 – 709.
68. *Sundar*, S.S, Zhang H, Brown P, Manek S, Han C, Kaur K, et al. Role of lymphangiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer. 2006 Jun* 5;94(11):1650 – 7.
69. *Hsieh*, C.Y, Chen CA, Chou CH, Lai KP, Jeng YM, Kuo ML, et al. Overexpression of Her-2/NEU in epithelial ovarian carcinoma induces vascular endothelial growth factor C by activating NF-kappa B: implications for malignant ascites formation and tumor lymphangiogenesis. *J Biomed Sci. 2004 Mar-Apr*;11(2):249 – 59.
70. *Bhattacharjee*, R.N, Timoshenko AV, Cai J, Lala PK. Relationship between cyclooxygenase-2 and human epidermal growth factor receptor 2 in vascular endothelial growth factor C up-regulation and lymphangiogenesis in human breast cancer. *Cancer Sci. Jun* 14.
71. *Guo*, G.L, Yang GL, Li ZY, You J, Yang K, Huang DP, et al. [The effect of cyclooxygenase-2 on lymphangiogenesis in breast cancer]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi. 2008 Jan* 15;46(2):132 – 5.
72. *Da*, M.X, Wu XT, Wang J, Guo TK, Zhao ZG, Luo T, et al. Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor-C correlates with lymphangiogenesis and lymphatic invasion in human gastric cancer. *Arch Med Res. 2008 Jan*;39(1):92 – 9.
73. *Iwata*, C, Kano MR, Komuro A, Oka M, Kiyono K, Johansson E, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses lymph node metastasis via reduction of lymphangiogenesis. *Cancer Res. 2007 Nov* 1;67(21):10181 – 9.
74. *Barnes*, N.L, Warnberg F, Farnie G, White D, Jiang W, Anderson E, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition: effects on tumour growth, cell cycling and lymphangiogenesis in a xenograft model of breast cancer. *Br J Cancer. 2007 Feb* 26;96(4):575 – 82.
75. *Su*, J.L, Shih JY, Yen ML, Jeng YM, Chang CC, Hsieh CY, et al. Cyclooxygenase-2 induces EP1- and HER-2/Neu-dependent vascular endothelial growth factor-C up-regulation: a novel mechanism of lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma. *Cancer Res. 2004 Jan* 15;64(2):554 – 64.
76. *Shin*, J.W, Min M, Larrieu-Lahargue F, Canron X, Kunstfeld R, Nguyen L, et al. Prox1 promotes lineage-specific expression of fibroblast growth factor (FGF) receptor-3 in lymphatic endothelium: a role for FGF signaling in lymphangiogenesis. *Mol Biol Cell. 2006 Feb*;17(2):576 – 84.
77. *Kubo*, H, Cao R, Brakenhielm E, Makinen T, Cao Y, Alitalo K. Blockade of vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling inhibits fibroblast growth factor-2-induced lymphangiogenesis in mouse cornea. *Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Jun* 25;99(13):8868 – 73.
78. *Tan*, Y. Basic fibroblast growth factor-mediated lymphangiogenesis of lymphatic endothelial cells isolated from dog thoracic ducts: effects of heparin. *Jpn J Physiol. 1998 Apr*;48(2):133 – 41.
79. *Thurston*, G. Role of Angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Cell Tissue Res. 2003 Oct*;314(1):61 – 8.
80. *Bjornndahl*, M, Cao R, Nissen LJ, Clasper S, Johnson LA, Xue Y, et al. Insulin-like growth factors 1 and 2 induce lymphangiogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Oct* 25;102(43):1559 – 8.
81. *Zhang*, Q.H, Qian K, Li XJ, Pu J, Wu XT. [Experimental study of the hepatocyte growth factor contributing to lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in gastric cancer]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. 2007 May*;10(3):212 – 6.
82. *Saito*, Y, Nakagami H, Morishita R, Takami Y, Kikuchi Y, Hayashi H, et al. Transfection of human hepatocyte growth factor gene ameliorates secondary lymphedema via promotion of lymphangiogenesis. *Circulation. 2006 Sep* 12;114(11):1177 – 84.
83. *Wuest*, T.R, Carr DJ. VEGF-A expression by HSV-1-infected cells drives corneal lymphangiogenesis. *J Exp Med. Jan* 18;207(1):101 – 15.
84. *Wang*, X.L, Ai ZS, Fang JP, Tang RY, Chen XM. [Expression of vascular endothelial growth factors (VEGF)-A, -C and -D and their prognostic significance and relationship with angio- and lymphangiogenesis in gastric cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2008 Nov*;30(11):837 – 43.
85. *Shin*, J.W, Huggenberger R, Detmar M. Transcriptional profiling of VEGF-A and VEGF-C target genes in lymphatic endothelium reveals endothelial-specific molecule-1 as a novel mediator of lymphangiogenesis. *Blood. 2008 Sep* 15;112(6):2318 – 26.
86. *Chen*, J.S, Zhang YJ, Hu SE, Zhang HQ. [Effects of VEGF-A/VEGF-C antisense oligodeoxynucleotide on angiogenesis, lymphangiogenesis, and tumor growth of breast cancer]. *Ai Zheng. 2007 Sep*;26(9):972 – 6.
87. *Halin*, C, Tobler NE, Vigl B, Brown LF, Detmar M. VEGF-A produced by chronically inflamed tissue induces lymphangiogenesis in draining lymph nodes. *Blood. 2007 Nov* 1;110(9):3158 – 67.
88. *Mallory*, BP, Mead TJ, Wiginton DA, Kulkarni RM, Greenberg JM, Akeson AL. Lymphangiogenesis in the developing lung promoted by VEGF-A. *Microvasc Res. 2006 Jul-Sep*;72(1-2):62 – 73.
89. *Kadowaki*, I, Ichinohasama R, Harigae H, Ishizawa K, Okitsu Y, Kameoka J, et al. Accelerated lymphangiogenesis in malignant lymphoma: possible role of VEGF-A and VEGF-C. *Br J Haematol. 2005 Sep*;130(6):869 – 77.
90. *Hirakawa*, S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiyama K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med. 2005 Apr* 4;201(7):1089 – 99.
91. *Cursiefen*, C, Chen L, Borges LP, Jackson D, Cao J, Radziejewski C, et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest. 2004 Apr*;113(7):1040 – 50.
92. *Cao*, R, Eriksson A, Kubo H, Alitalo K, Cao Y, Thyberg J. Comparative evaluation of FGF-2-, VEGF-A-, and VEGF-C-induced angiogenesis, lymphangiogenesis, vascular fenestrations, and permeability. *Circ Res. 2004 Mar* 19;94(5):664 – 70.
93. *Nagy*, J.A, Vasile E, Feng D, Sundberg C, Brown LF, Manseau EJ, et al. VEGF-A induces angiogenesis, arteriogenesis, lymphangiogenesis, and vascular malformations. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 2002*;67:227 – 37.
94. *Lahdenranta* J, Hagendoorn J, Padera TP, Hoshida T, Nelson G, Kashiwagi S, et al. Endothelial nitric oxide synthase mediates lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res. 2009 Apr* 1;69(7):2801 – 8.
95. *Massi*, D, De Nisi MC, Franchi A, Mourmouras V, Baroni G, Panielos J, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in melanoma: implications in lymphangiogenesis. *Mod Pathol. 2009 Jan*;22(1):21-30.
96. *Franchi*, A, Massi D, Santucci M, Masini E, Degl'Innocenti DR, Magnelli L, et al. Inducible nitric oxide synthase activity correlates with lymphangiogenesis and vascular endothelial growth factor-C expression in head and neck squamous cell carcinoma. *J Pathol. 2006 Feb*;208(3):439 – 45.
97. *Guo*, R, Zhou Q, Proulx ST, Wood R, Ji RC, Ritchlin CT, et al. Inhibition of lymphangiogenesis and lymphatic drainage via vascular endothelial growth factor receptor 3 blockade increases the severity of inflammation in a mouse model of chronic inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum. 2009 Sep*;60(9):2666 – 76.
98. *Okazaki*, T, Ni A, Ayeni OA, Baluk P, Yao LC, Vossmeier D, et al. alpha5beta1 Integrin blockade inhibits lymphangiogenesis in airway inflammation. *Am J Pathol. 2009 Jun*;174(6):2378 – 87.

99. *Kataru, RP, Jung K, Jang C, Yang H, Schwendener RA, Baik JE, et al.* Critical role of CD11b+ macrophages and VEGF in inflammatory lymphangiogenesis, antigen clearance, and inflammation resolution. *Blood*. 2009 May 28;113(22):5650 – 9.

100. *Halin, C, Detmar M.* Chapter 1. Inflammation, angiogenesis, and lymphangiogenesis. *Methods Enzymol*. 2008;445:1 – 25.

101. *Kajiya, K, Sawane M, Huggenberger R, Detmar M.* Activation of the VEGFR-3 pathway by VEGF-C attenuates UVB-induced edema formation and skin inflammation by promoting lymphangiogenesis. *J Invest Dermatol*. 2009 May;129(5):1292 – 8.

102. *Xu, X, Lu H, Lin H, Li X, Ni M, Sun H, et al.* Aortic adventitial angiogenesis and lymphangiogenesis promote intimal inflammation and hyperplasia. *Cardiovasc Pathol*. 2009 Sep-Oct;18(5):269 – 78.

103. *Xing, L, Ji RC.* Lymphangiogenesis, myeloid cells and inflammation. *Expert Rev Clin Immunol*. 2008 Sep;4(5):599 – 613.

104. *Xu, X, Lu H, Lin H, Ni M, Sun H, Li C, et al.* Lymphangiogenesis promotes inflammation and neointimal hyperplasia after adventitia removal in the rat carotid artery. *Int J Cardiol*. 2009 May 29;134(3):426 – 7.

105. *Cursiefen, C, Maruyama K, Jackson DG, Streilein JW, Kruse FE.* Time course of angiogenesis and lymphangiogenesis after brief corneal inflam-

Оригинальные научные публикации

mation. *Cornea*. 2006 May;25(4):443 – 7.

106. *Schoppmann, SF.* Lymphangiogenesis, inflammation and metastasis. *Anticancer Res*. 2005 Nov-Dec;25(6C):4503 – 11.

107. *Maruyama, K, Li M, Cursiefen C, Jackson DG, Keino H, Tomita M, et al.* Inflammation-induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b-positive macrophages. *J Clin Invest*. 2005 Sep;115(9):2363 – 72.

108. *Schoppmann, SF, Horvat R, Birner P.* Lymphatic vessels and lymphangiogenesis in female cancer: mechanisms, clinical impact and possible implications for anti-lymphangiogenic therapies (Review). *Oncol Rep*. 2002 May-Jun;9(3):455 – 60.

109. *Barone, F, Clark R, Feuerstein G, Lenkinski R, Sarkar S.* Quantitative comparison of magnetic resonance imaging (MRI) and histologic analyses of focal ischemic damage in the rat. *Brain research bulletin*. 1991;26(2):285 – 91.

110. *Lymphangiogenesis in cancer metastasis*. 1st ed. New York: Springer; 2009.

111. *Birner, P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Kowalski H, et al.* Lymphatic microvessel density in epithelial ovarian cancer: its impact on prognosis. *Anticancer Res*. 2000 Sep-Oct;20(5A):2981 – 5.

Работа выполнена в рамках проектов CRDF-4028 и МНТЦ-1682

Поступила 23.05.2012 г.