

В.И. Коненков, Ю.И. Бородин, Н.П. Бгатова

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ЛИМФАТИЧЕСКИХ И КРОВЕНОСНЫХ
СОСУДОВ ПРИ РАЗВИТИИ ОПУХОЛИ И МИШЕНИ БЛОКИРОВАНИЯ
МЕТАСТАЗОВ**

НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

Отсутствие до недавнего времени специфических маркеров лимфатических сосудов обусловило недостаточность знаний о молекулярном регулировании развития и функции лимфатической системы и ее роли в процессах метастазирования [2, 24, 26, 29, 32, 41]. За последнее десятилетие выявлено, что одними из основных регуляторов развития кровеносной и лимфатической сосудистых систем являются факторы роста эндотелия сосудов - VEGF. Определено 5 факторов роста этого семейства: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, наиболее хорошо исследованным является VEGF-A [27, 32]. В условиях нормального развития организма VEGF-A синтезируется, главным образом, макрофагами, а при новообразованиях - опухолевыми клетками [10, 48]. Мишенями являются клетки эндотелия кровеносных сосудов. VEGF-B обнаружен в клетках различных органов, но функция этого белка до конца не известна. VEGF-C оказывает влияние на лимфангиогенез, стимулируя пролиферацию эндотелиоцитов лимфатических капилляров. Этот фактор роста синтезируется эндотелием лимфатических сосудов, опухолевыми клетками и макрофагами, его мишенями являются эндотелиальные клетки лимфатических сосудов [49]. VEGF-D на 48% идентичен VEGF-C и также определяется в клетках лимфатической системы. Его функции до конца неизвестны [30, 37, 38].

Биологический эффект факторов семейства VEGF реализуется через их взаимодействие со своими высокоафинными тирозинкиназными рецепторами. К этой группе относятся рецепторы VEGFR-1, VEGFR-2 и VEGFR-3. Показано, что VEGFR-1 взаимодействует с VEGF-A, VEGF-B и PlGF (плацентарный фактор роста). Рецептор

VEGFR-2 может связываться с факторами VEGF-A, VEGF-B, PlGF и VEGF-C. Рецептор VEGFR-3 взаимодействует с VEGF-C и VEGF-D. Рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 преимущественно локализованы на эндотелии кровеносных сосудов, а 3-й рецептор VEGFR3 экспрессируется, в основном, эндотелием лимфатических сосудов. Все 3 рецептора относятся к суперсемейству рецепторных тирозинкиназ. Кроме того, факторы семейства VEGF взаимодействует с нетирозинкиназными рецепторами – нейропиллинами (NRP). Самостоятельно NRP не способны проводить сигнал в эндотелиальную клетку, а лишь усиливают сигнал от связывания лиганда с тирозинкиназным доменом. NRP-1 является корецептором VEGFR-1 и VEGFR-2, а NRP-2 – корецептором VEGFR-3. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад (более 20 молекул), который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их развитие и пролиферацию.

Наиболее изученным в настоящее время является опухолевый ангиогенез. В условиях гипоксии, связанной с активной пролиферацией опухолевых клеток экспрессируется индуцируемый при гипоксии фактор 1 (hypoxia inducible factor-1 α HIF-1 α), стимулирующий экспрессию опухолевыми клетками и макрофагами VEGF-A. Ген VEGF-A существует в 3-х изоформах с 189, 165, и 121 аминокислотами. Наиболее широко экспрессируется изоформа VEGF-A164. Однако все три изоформы необходимы для нормального развития и инактивация даже единственной копии гена VEGF-A заканчивается эмбриональной гибелью в связи блокированием развития сосудов. VEGF-A164/5 экспрессируется большинством злокачественных клеток опухолей животных и человека. В эксперименте показано, что повышение концентрации VEGF-A164 стимулирует развитие сосудистой сети [10].

Сначала, VEGF-A приводит в движение сложную цепь событий, которые ведут к образованию кровеносных сосудов и стромы. Шаги и механизмы какими опухоли производят строму, близко сходны с событиями заживающей раны, в которой VEGF-A также экспрессируется [10]. Образование стромы опухоли и заживление раны характеризуются гиперпроницаемостью кровеносных сосудов, утечкой плазмы, отложением экстравазального

фибриногена, чтобы формировать фибриновый гель, который служит временной стромой для кровеносных сосудов и перемещения фибробластов. В обоих случаях, фибриновый гель находится в состоянии деградации и, в последствии, замещается либо опухолью, либо рубцом. Интерстициальная жидкость насыщена белками, в ней присутствуют структурные белки, обычно не имеющие место в зрелой строме: типа фибрина, тенасцина, эмбриональные формы фибронектина, измененные протеогликаны [31]. Известно, что развитие стромы связано с кооперативным действием различных цитокинов и ингибиторов, каждый из которых имеет определенную количественную и временную последовательность экспрессии. Среди них – фактор сосудистой проницаемости, другие члены семейства факторов роста - фактора роста плаценты (PlGF), и другие цитокины - трансформирующий фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, TGF-, PDGF, FGFs, ангиопоэтин-1 и-2 и их соответствующие рецепторы и ингибиторы [5]. Несовершенный характер стромы опухоли, по-видимому, обусловлен отклонениями в нормальном стромагенезе, отсутствием некоторых процессов и активности некоторых цитокинов [40].

Изменения, происходящие с кровеносными сосудами при развитии опухолевого процесса, связаны с реорганизацией существующих сосудов и их новообразованием. Реорганизация сосудов – многоступенчатый процесс, в который вовлекается разрушение базальной мембраны, отделение перицитов, истончение эндотелиальной выстилки. Параллельно идет образование тонкостенных сосудов с небольшим содержанием перицитов и прерывистой базальной мембраной с тромбозом и нарушением структуры. Такие сосуды отличаются от нормальных артерий и вен большим размером, более тонкой, и часто асимметричной мышечной оболочкой, присутствием периваскулярного фиброза [10].

В эксперименте показано, что лимфангиогенез развивается параллельно с ангиогенезом но в более медленном темпе. Размеры лимфатических сосудов значительно возрастают. В отличие от венул лимфатики не имеют перицитов и базальной мембраны и увеличиваются в ответ на отек. Формирование гигантских лимфатиков связано только с

пролиферацией эндотелия, без необходимости в деградации базальной мембраны, отделения перицитов или истончения эндотелия материнских сосудов, как в случае развития кровеносных сосудов опухоли [10].

Изменения, происходящие в лимфатической системе при прогрессии опухолей, изучены в гораздо меньшей степени. Открытие лимфатических эндотелиальных маркеров облегчило детальный анализ природы и структурной организации лимфатических сосудов и их роста (лимфангиогенез) [28, 30]. В последние годы было идентифицировано несколько функциональных молекул, экспрессируемых эндотелиальными клетками лимфатических сосудов: 5' - нуклеотидазы, LIVE-1, VEGFR-3, podoplanin и Prox-1 [4, 25]. LYVE-1 - эндотелиальный гиалуроновый рецептор лимфатических сосудов - обеспечивает взаимодействие с матриксными протеогликанами. Prox1 - фактор транскрипции, связанный развитием лимфатических сосудов в эмбриогенезе. Podoplanin – интегральный мембранный мукопротеин, экспрессируемый эндотелием лимфатических капилляров [39]. В результате открытия маркеров эндотелия лимфатических сосудов было уточнено происхождение эндотелиоцитов лимфатических капилляров в эмбриогенезе - из эндотелиоцитов эмбриональных вен [29].

Первым шагом распространения опухоли большинства раковых образований и главным прогностическим индикатором прогрессирования болезни является метастазирование опухоли к региональным лимфатическим узлам [8, 47]. Исследования, проведенные на экспериментальных моделях рака и некоторых типах раковых образований человека показали, что опухоли могут активно индуцировать формирование лимфатических сосудов, и что опухолевый лимфангиогенез коррелирует с метастазированием в лимфоузлы [14, 19, 21]. Метастатические опухолевые клетки могут продолжить продвигать рост лимфатических сосудов даже после метастазирования в региональные лимфоузлы, обеспечивая их дальнейшее распространение. Этот факт подтолкнул ученых к мысли о том,

что не само наличие лимфатической системы, а именно рост и пролиферация новых лимфатических путей способствует быстрому и масштабному метастазированию [14].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста-С (VEGF-C) и VEGF-D были первыми специфическими идентифицированными факторами лимфангиогенеза, с преобладающим действием через VEGF рецептор 3 (VEGFR-3), который экспрессируется эндотелиальными клетками лимфатических сосудов. Большое число клинических исследований показало корреляцию между опухолевой экспрессией VEGF-C или VEGF-D и метастазированием в лимфатический узел [11, 14].

На различных моделях опухолевого роста было показано, что в опухолевый ангиогенез вносят существенный вклад эндотелиальные клетки предшественники. Однако, при изучении относительного вклада костномозговых предшественников эндотелиальных клеток и существующего эндотелия для развития лимфангиогенеза, было выявлено, что в течение опухолевого лимфангиогенеза и распространения раковых клеток через лимфатики, вновь образованные лимфатические сосуды вырастают, преимущественно, из существующей ранее местной лимфатической сети [16,17].

В настоящее время малоизученными являются механизмы, лежащие в основе трансэндотелиального перехода опухолевых клеток в лимфатический сосуд [22]. Предполагается, что важную роль в проникновении клеток опухоли в лимфатическую систему играет связанный с опухолью лимфангиогенез, вызванный сверхэкспрессией VEGF-C и VEGF-D. По мнению авторов [35], лимфангиогенез способствует гиперплазии перитуморальных лимфатических сосудов и метастазированию в лимфатические узлы, а также обеспечивает вовлечение эндотелиальных клеток в хемотаксическую вербовку и внутрилимфатический трансэндотелиальный транспорт опухолевых клеток. Однако механизмы, лежащие в основе переселения клеток опухоли через лимфатический эндотелий, и их метастатического распространения, являются неизвестными [33]. Согласно данным литературы, в основе миграционного процесса и инвазии в сосуд может быть

взаимодействие между опухолевой клеткой и эндотелием, пассивный транспорт клеток опухоли, или возможно образование лимфатических каналов, в которых экспрессируется CCL21 (CCL21 относится к хемокинам CC, которые взаимодействуют с хемокиновым рецептором CCR7 – и вовлечены в регуляцию различных клеток иммунной системы, таких как дендритные клетки, Т-клетки и природные клетки-киллеры) .

Согласно другим данным, прохождение клеток опухоли возможно через межэндотелиальные соединения, после открытия межклеточных контактов [28]. Имеются сведения, что клетки опухоли проходят через разрушенные участки эндотелиальных клеток, в связи с высоким давлением в опухоли.

Г. Азали (2007) продемонстрировал прохождение клеток опухоли через интраэндотелиальные каналы, независимо от межэндотелиальных контактов [3]. Автор исследовал 2 популяции клеток опухоли - стромальные клетки опухоли (эндотелиоциты лимфатических капилляров) и непосредственно опухолевые клетки, хорошо выявляемые морфологически по электронно-плотным цитоплазме и ядру. Основываясь на ультраструктурных изображениях различных моментов трансэндотелиального перехода опухолевых клеток, путем использования серийных срезов лимфатического сосуда опухоли, было показано прохождение опухолевых клеток через интраэндотелиальные каналы, без использования межклеточных контактов [3].

Предполагается, что эндотелий лимфатических сосудов способен к образованию интерстициальных матричных молекул, которые обуславливают узнавание, ориентацию, и хемоаттракцию опухолевых клеток к лимфатическому сосуду [6]. Полагают, что лимфатический эндотелий посылает сигналы, с высвобождением хемокинов, типа CCL21/SLC, экспрессируемых высоким эндотелием венул лимфатических узлов, Т-зон селезенки и эндотелием лимфатических сосудов многих органов. Кроме того, если CCL21/SLC играет роль посредника для привлечения лимфоцитов в лимфатический сосуд, можно предположить, что экспрессия CCR7 могла бы обеспечить рекрутирование клеток

опухоли в лимфатические сосуды. Остается открытым вопрос о пассивном или активном перемещении опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы. Иммуногистохимическое окрашивание на рецепторы к хемокинам свидетельствует об активности процесса [6].

Имеются сведения о существовании взаимосвязи между плотностью лимфатических сосудов в опухоли и выживанием пациентов [44, 45]. С другой стороны, получены данные о том, что метастазирование в лимфатические узлы не зависит от плотности лимфатиков в опухоли. Авторы полагают, что основной вклад в метастазирование лимфоузлов вносят краевые лимфатические сосуды [48]. В тоже время окончательно неясно, какие лимфатические сосуды - внутри-опухолевые или около-опухолевые, играют более важную роль в обсеменении опухолевыми клетками. Некоторые авторы полагают, что внутри-опухолевые лимфатические сосуды не потенцируют метастазирования из-за высокого давления, обнаруживаемого внутри опухоли [45]. Напротив, при анализе лимфатических структур карциномы головы и шеи человека было показано, что внутри-опухолевые лимфатические сосуды играют существенную роль в предопределении появления рецидивов, тяжести болезни и чувствительности к терапии [46]. Присутствие внутри-опухолевых лимфатических сосудов создаёт прямую дорогу опухолевым клеткам для достижения удаленных мест. Однако авторы отмечают, что присутствие около-опухолевых лимфатических сосудов столь же эффективно может служить для транспорта клеток опухоли, так, как они менее подвержены напряжению, сдавливанию и обеспечивают больший объём тока [4, 7].

Нашими исследованиями [1] динамики развития кровеносных и лимфатических микрососудов в экспериментальной лимфосаркоме LS было показано, что в течение первых суток после трансплантации опухолевые клетки заполняют интерстициальные пространства между мышечными волокнами. Возрастает содержание кровеносных капилляров в межмышечных пространствах. На вторые и третьи сутки в интерстиции формируются

капиллярные сети, заполненные эритроцитами. Вокруг капиллярных сетей идет накопление опухолевых клеток. По периферии опухолевого роста начинается формирование однослойного лимфатического канала, выстланного узкими эндотелиальными клетками, который заполняется опухолевыми клетками [1]. Наши результаты согласуются с данными других авторов [10], показавших стимулирование пролиферации лимфатического эндотелия и формирование гигантских лимфатических каналов при ведении фактора роста сосудов VEGF-A. При этом лимфангиогенез развивался параллельно с ангиогенезом, но в более медленном темпе и увеличенные в размере лимфатики определялись через 3 дня после инъекции VEGF-A.

Выявлены различия в структурной организации кровеносных и лимфатических капилляров в зависимости от их локализации в опухоли [1]. Вокруг кровеносных и лимфатических капилляров, расположенных на периферии опухоли, отмечали широкие перикапиллярные пространства. Эндотелиоциты имели узкую вытянутую цитоплазму с большим содержанием микропиноцитозных везикул, умеренным количеством рибосом, мембран гранулярной эндоплазматической сети и других органелл. Эндотелиоциты кровеносных и лимфатических капилляров прицентральной части опухоли имели повышенную плотность мембран гранулярной эндоплазматической сети и рибосом, как прикрепленных, так и свободных. В то же время сниженной была величина объемной плотности микропиноцитозных везикул. Перикапиллярные пространства в данных участках опухоли не выявлялись в связи с плотным расположением опухолевых клеток вокруг сосудов [1].

В настоящее время является доказанным, что опухолевый лимфангиогенез вносит вклад в распространение рака и степень опухоль-ассоциированного лимфангиогенеза может служить прогностическим параметром для риска метастазирования, а блокада роста лимфососудов могла бы запретить метастазирование опухоли в лимфатический узел [34, 43]. В научной литературе обсуждаются различные подходы к блокированию путей

метастазирования опухолевых клеток [36]. Известно, что подавлением передачи сигналов VEGFR-3 можно блокировать опухолевый лимфангиогенез и метастазирование в лимфатический узел. Однако лимфатический путь метастазирования может быть не единственным путем распространения опухолевых клеток. Для запрещения метастазирования требуется блокирование других возможных путей распространения клеток опухоли, таких как кровеносные сосуды. Дальнейшие исследования механизмов, лежащих в основе распространения клеток опухоли и их взаимодействия с эндотелием кровеносных и лимфатических капилляров, должны продвинуть понимание опухолевой инвазии [15].

Показано индуцирование лимфангиогенеза в сторожевом лимфатическом узле путем гиперэкспрессии VEGF-A первичной опухолью. Предполагается, что опухоль может подготавливать пути для метастазирования, посредством продукции лимфангиогенных факторов. Этот механизм может стать новой терапевтической мишенью для предотвращения метастазов [21].

Выявлено, что ингибирование VEGF-C подавляет лимфангиогенез и спонтанное метастазирование в лимфатические узлы и легкое, увеличивает выживание и модулирует инфильтрацию дендритных клеток и лимфоцитов в опухоль. Основываясь на этих данных, авторы полагают, что подавление лимфангиогенеза может быть терапевтической стратегией блокирования метастазов опухоли и увеличения выживаемости пациентов с раком груди [3, 7, 19, 34, 42]. В то же время, на некоторых моделях опухолей выявлено, что распространение опухолевых клеток по лимфатическим путям не вносит большой вклад в системное метастазирование, в связи с более медленно развивающимся лимфангиогенезом, по сравнению с ангиогенезом. В этих типах опухолей лимфатические узлы фактически действуют как барьеры против распространения опухолевых клеток [17].

Слабо изучены механизмы, которые регулируют клеточное узнавание и взаимодействие внутри лимфатических сосудов, включая сложные синусные структуры лимфатических узлов [12]. Использование в качестве мишеней эндотелиоцитов

лимфатических капилляров может быть потенциальной терапевтической стратегией блокирования метастазирования [17].

Для блокирования ангио - и лимфангиогенеза разрабатываются различные по строению таргетные препараты: химерные или гуманизированные моноклональные антитела, которые специфически связываются с молекулами трансмембранных антигенов (рецепторов факторов роста), экспрессированных на поверхности злокачественных клеток [9, 13, 20, 40]; препараты из малых синтетических молекул, в отличие от моноклональных антител проникающие внутрь клетки и блокирующие внутриклеточный тирозинкиназный домен рецептора фактора роста [18, 23]; антисмысловые нуклеотиды (лечебные препараты из коротких синтетических отрезков ДНК), связывающиеся с мРНК и являющиеся комплементарными к Vcl2 белку мРНК [15]; природные соединения, ингибирующие матриксные металлопротеиназы.

В настоящее время открытыми вопросам опухолевого лимфангиогенеза являются: Каковы механизмы взаимодействия опухолевых клеток с эндотелием лимфатических сосудов? Если ли различия между лимфатическими сосудами различных опухолей? Какие молекулы эндотелия лимфатических сосудов запускают лимфатическое метастазирование? Какие, кроме исследованных, молекулы активны в сигнальной системе, запускающей лимфангиогенез? Есть ли индивидуальные предпосылки для активации лимфангиогенеза, приводящее к риску метастазирования? Предполагается, что огромный научный интерес к изучению механизмов опухолевого лимфангиогенеза даст возможность в ближайшем будущем получить ответы на некоторые из этих вопросов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бгатова Н.П., Мешалкин Ю.П., Изаак Т.И., и др. Микроциркуляторное русло экспериментальной лимфосаркомы и метастазирование опухолевых клеток при введении наночастиц. // Бюллетень СО РАМН. - 2008. - N5. - С.18-25.
2. Achen M.G., Stacker S.A. Molecular control of lymphatic metastasis // Ann N Y Acad Sci. -2008. – N 1131. – P. 225-234.
3. Azzali G. Tumor Cell Transendothelial Passage in the Absorbing Lymphatic Vessel of Transgenic Adenocarcinoma Mouse Prostate.// American Journal of Pathology. - 2007. – Vol.170. – P.334-346.
4. Bono P., Wasenius V.-M., Heikkilä P. et al. LYVE-1–Positive Lymphatic Vessel Numbers Are Associated with Poor Outcome in Breast Cancer.// Clinical Cancer Research. -2004. - Vol.10. – P.7144-7149.
5. Cao R., Björndahl M.A., Religa P. et al. PDGF-BB induces intratumoral lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis.//Cancer Cell. - 2004. – Vol.6. – N.4. – P.333-345.
6. Carrière V., Colisson R., Jiguet-Jiglaire C. et al. Cancer Cells Regulate Lymphocyte Recruitment and Leukocyte-Endothelium Interactions in the Tumor-Draining Lymph Node.// Cancer Research. - 2005. - Vol.65. – P.11639-11648.
7. Chen Zh., Varney M.L., Backora M.W. et al. Down-Regulation of Vascular Endothelial Cell Growth Factor-C Expression Using Small Interfering RNA Vectors in Mammary Tumors Inhibits Tumor Lymphangiogenesis and Spontaneous Metastasis and Enhances Survival.// Cancer Research. - 2005. – Vol.65.- P.9004-9011.
8. Dadras S.S., Paul Th., Bertoncini J. et al. Tumor Lymphangiogenesis A Novel Prognostic Indicator for Cutaneous Melanoma Metastasis and Survival.// American Journal of Pathology. - 2003. – Vol.162. – P.1951-1960.

9. Dirkx A.E. M., Egbrink M.G.A., Castermans K. et al. Anti-angiogenesis therapy can overcome endothelial cell anergy and promote leukocyte-endothelium interactions and infiltration in tumors // *The FASEB Journal*. – 2006. – Vol. – 20. – P. 621-630.
10. Dvorak H.F. Rous-Whipple Award Lecture. How Tumors Make Bad Blood Vessels and Stroma.// *American Journal of Pathology*. 2003. - Vol. 162. - N. 6. – P.1747-1757.
11. Farnsworth R.H., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic endothelium: An important interactive surface for malignant cells.// *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. - 2006. – Vol.19. – N.1. – P. 51-60.
12. Gale N.W., Prevo R., Espinosa J. et al. Normal Lymphatic Development and Function in Mice Deficient for the Lymphatic Hyaluronan Receptor LYVE-1.// *Molecular and Cellular Biology*. - 2007. – N.2. – Vol.27. – P.595-604.
13. Gridelli C., Maione P., Gaizo F. et al. Sorafenib and Sunitinib in the Treatment of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer // *The Oncologist*. – 2007. - Vol. 12. - N. 2. – P. 191-200.
14. Harrell M.I., Iritani B.M., Ruddell A. Tumor-induced sentinel lymph node lymphangiogenesis and increased lymph flow precede melanoma metastasis.// *Am J Pathol*. - 2007. – Vol.170. – N.2. – P.774-786.
15. He Y, Kozaki K, Karpanen T. et al. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling.// *J Natl Cancer Inst*. – 2002. – Vol. 94. – N 11. P. 819-825.
16. He Y., Rajantie I., Ilmonen M. et al. Preexisting Lymphatic Endothelium but not Endothelial Progenitor Cells Are Essential for Tumor Lymphangiogenesis and Lymphatic Metastasis.// *Cancer Research*. - 2004.-Vol.64.-P.3737-3740.
17. He Y, Rajantie I, Pajusola K, et al. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels.// *Cancer Res*. - 2005. – Vol.65. – N 11. – P. 4739-4746.

18. Heckman C.A., Holopainen T., Wirzenius M. et al. The tyrosine kinase inhibitor cediranib blocks ligand-induced vascular endothelial growth factor receptor-3 activity and lymphangiogenesis // *Cancer Res.* – 2008. – Vol. 68. – N 12. – P. 4754-4762.
19. Hirakawa S., Brown L.F., Kodama Sh. et al. VEGF-C-induced lymphangiogenesis in sentinel lymph nodes promotes tumor metastasis to distant sites // *Blood.* - 2007. - Vol. 109. – N.3. – P. 1010-1017.
20. Hirakawa S., Detmar M. New insights into the biology and pathology of the cutaneous lymphatic system.//*Journal of Dermatological Science.* - 2004. – Vol.35. – N.1. – P.1-8.
21. Hirakawa S., Kodama Sh., Kunstfeld R. et al. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis.// *JEM.*- 2005.- Vol. 201.-N. 7.- P.1089-1099.
22. Johnson L.A., Clasper S., Holt A.P. et al. An inflammation-induced mechanism for leukocyte transmigration across lymphatic vessel endothelium.// *JEM.* - 2006. – Vol.203. - N.12. – P.2763-2777.
23. Kane R.C., Farrell A.T., Saber H. et al. The crucial role of macrophages in lymphangiogenesis.// *J. Clin. Invest.* - 2005. – Vol. 115. – P. 2316-2319.
24. Kim H., Dumont D.J. Molecular mechanisms in lymphangiogenesis: model system and implication in human disease.// *Clin.Genet.* - 2003. - Vol.64. – N. 4. - P.282-292.
25. Koukourakis M I, Giatromanolaki A., Sivridis E. et al. LYVE-1 immunohistochemical assessment of lymphangiogenesis in endometrial and lung cancer.// *Journal of Clinical Pathology* – 2005. – Vol.58. – P. 202-206.
26. Laakkonen P., Waltari M., Holopainen T. et al. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3 Is Involved in Tumor Angiogenesis and Growth.// *Cancer Research.* -2007. – Vol.67. – N.2. – P.593-599.
27. McColl B.K., Stacker S.A., Achen M.G. Molecular regulation of the VEGF family -- inducers of angiogenesis and lymphangiogenesis. *APMIS.*- 2004. – Vol 112. – N 7-8. – P. 463-480.

28. Nisato E.R. Harrison J.A., Buser R. et al. Generation and Characterization of Telomerase-Transfected Human Lymphatic Endothelial Cells with an Extended Life Span // American Journal of Pathology.- 2004. – Vol 165. - N 1 – P. 11-24.
29. Oliver G., Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature.// Genes and Development. - 2002. - Vol. 16, No. 7, P. 773-783.
30. Omachi T., Kawai Y., Mizuno R. et al. Immunohistochemical demonstration of proliferating lymphatic vessels in colorectal carcinoma and its clinicopathological significance.//Cancer Letters. - 2007. – Vol. 246. – N.1-2. – P.167-172.
31. Pathak A.P., Artemov D., Neeman M., Bhujwalla Z.M. Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Xenografts Is Associated with Increased Regions of Extravascular Drain, Lymphatic Vessel Area, and Invasive Phenotype // Cancer Research. – 2006. – Vol. 66. – P. 5151-5158.
32. Pepper M.S. Lymphangiogenesis and Tumor Metastasis: Myth or Reality?//Clinical Cancer Research.- 2001.- Vol. 7.- P.462-468.
33. Pepper M.S., Skobe M. Lymphatic endothelium: morphological, molecular and functional properties.//The Journal of Cell Biology.2003.-Vol.163. - N. 2.-P.209-213.
34. Renyi-Vamos F, Tovari J, Fillinger J. et al. Lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis, prognosis, and angiogenic phenotype in human non-small cell lung cancer.// Clin Cancer Res. – 2005. – Vol 15. – N 11(20). – P. 7344-7353.
35. Sautera B., Foedingera D, Sterniczky B. et al. Immunoelectron Microscopic Characterization of Human Dermal Lymphatic Microvascular Endothelial Cells: Differential Expression of CD31, CD34, and Type IV Collagen with Lymphatic Endothelial Cells vs Blood Capillary Endothelial Cells in Normal Human Skin, Lymphangioma, and Hemangioma In Situ.//Journal of Histochemistry and Cytochemistry. - 1998. - Vol. 46. – P.165-176.

36. Schomber T., Zumsteg A., Strittmatter K. et al. Differential effects of the vascular endothelial growth factor receptor inhibitor PTK787/ZK222584 on tumor angiogenesis and tumor lymphangiogenesis // *Mol Cancer Ther.* - 2009. – N 1. – P. 55-63.
37. Schoppmann S.F., Birner P., Stöckl J. et al. Tumor-Associated Macrophages Express Lymphatic Endothelial Growth Factors and Are Related to Peritumoral Lymphangiogenesis.//*American Journal of Pathology.* - 2002. - Vol.161. - P.947-956.
38. Schoppmann S.F., Fenzl A., Nagy K. et al. VEGF-C expressing tumor-associated macrophages in lymph node positive breast cancer: impact on lymphangiogenesis and survival.//*Surgery.* - 2006. – Vol.139. – N.6. – P. 839-846.
39. Shayan R., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic vessels in cancer metastasis: bridging the gaps// *Carcinogenesis.* - 2006. – Vol. 27. – N 9. – P. 1729-1738.
40. Sivridis E., Giatromanolaki A., Koukourakis M.I. "Stromatogenesis" and Tumor Progression.//*International Journal of Surgical Pathology.* - 2004. - Vol.12. - N.1. – P.1-9.
41. Stacker S.A., Baldwin M.E., Achen M.G. The role of tumor lymphangiogenesis in metastatic spread.// *The FASEB Journal.* - 2002.-Vol.16. - P.922-934.
42. Thiele W., Sleeman J.P. Tumor-induced lymphangiogenesis: A target for cancer therapy?//*Journal of Biotechnology.* - 2006. - Vol.124. - N.1. – P. 224-241.
43. Tobler N.E., Detmar M. Tumor and lymph node lymphangiogenesis--impact on cancer metastasis.// *J Leukoc Biol.* - 2006. – Vol.80. – N.4. – P.691-696.
44. Van der Auwera I., Van den Eynden G.G., Collarets C.G. et al. Tumor Lymphangiogenesis in Inflammatory Breast Carcinoma: A Histomorphometric Study.//*Clinical Cancer Research.* - 2005. - Vol. 11. – P. 7637-7642.
45. Van der Schaft D.W., Pauwels P., Hulsmans S. et al. Absence of lymphangiogenesis in ductal breast cancer at the primary tumor site.//*Cancer Letters.* – 2007. – Vol. 254. – N 1. – P. 128-136.

46. Warburton G., Nikitakis N.G., Roberson P. et al. Histopathological and Lymphangiogenic Parameters in Relation to Lymph Node Metastasis in Early Stage Oral Squamous Cell Carcinoma.//Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. - 2007. – Vol. 65. – N.3. – P. 475-484.
47. Wissmann C., Detmar M. Pathways Targeting Tumor Lymphangiogenesis // Clinical Cancer Research. – 2006. - Vol. 12. – N 1. – P. 6865-6868.
48. Wong SY, Haack H, Crowley D. et al. Tumor-secreted vascular endothelial growth factor-C is necessary for prostate cancer lymphangiogenesis, but lymphangiogenesis is unnecessary for lymph node metastasis.// Cancer Res. - 2005 – Vol. 65. – N 21. – P. 9789-9798.
49. Zeng Y., Opeskin K., Goad J., Williams T.D. Tumor-Induced Activation of Lymphatic Endothelial Cells via Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Is Critical for Prostate Cancer Lymphatic Metastasis // Cancer Res. - 2006. – Vol. 66: - N 1. - .P. 9566-9575.