

Λεμφικό Σύστημα: Λεμφαγγειογένεση και Λεμφογενής Διασπορά του Καρκίνου

Νόννη Α., Πατσούρης Ε.

Lymphatic System: Lymphangiogenesis and Lymphatic Cancer Dissemination

Nonni A, Patsouris E.

1st Department of Pathology, Medical School, University of Athens

The ability of tumour cells to metastasize is responsible for the majority of cancer patients' deaths. The lymphatic system is the primary route of metastasis. Despite its apparently important role in tumour dissemination, it remains unclear whether preexisting lymphatic vessels are sufficient to serve the metastasis or whether de novo lymphangiogenesis is required. This review refers to the structural and functional characteristics of the lymphatic vessels and to the recent evidence of tumour lymphangiogenesis and its correlation with metastasis. Molecular regulation of tumour lymphangiogenesis is also discussed. Although the progress that seems to have been achieved in this field, it has not been determined yet, whether the inhibition of lymphangiogenesis could be a realistic therapeutic strategy for inhibiting tumour cell dissemination.

Key words: cancer, lymphatic dissemination, lymphangiogenesis

Η δυνατότητα των κυττάρων των όγκων να μεδίστανται είναι υπεύδυνη για την πλειονότητα των θανάτων των ασθενών με καρκίνο. Το λεμφικό σύστημα είναι η κύρια οδός μετάστασής τους. Παρόλο όμως που το λεμφικό σύστημα κατέχει έναν τόσο ουσιώδη ρόλο, παραμένει αδιευκρίνιστο αν αρκούν για τη μετάσταση τα προϋπάρχοντα λεμφαγγεία ή αν είναι απαραίτητη η *de novo* λεμφαγγειογένεση. Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των λεμφαγγείων και στα πρόσφατα δεδομένα παρουσίας λεμφαγγειογένεσης στους όγκους, καθώς και συσχέτισης αυτής με τη μετάσταση. Συζητείται επίσης η ρύθμιση της λεμφαγγειογένεσης σε μοριακό επίπεδο. Αν και φαίνεται να παρατηρείται πρόοδος στο πεδίο της έρευνας για τη λεμφαγγειογένεση, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί αν η αναστολή αυτής θα μπορούσε να αποτελέσει μια ρεαλιστική θεραπευτική

προσέγγιση, που θα οδηγούσε σε αναστολή της μετάστασης των καρκινικών κυττάρων.

Λέξεις-κλειδιά: καρκίνος, λεμφογενής διασπορά, λεμφαγγειογένεση

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μετάσταση αναμφισβήτητα χαρακτηρίζει έναν όγκο ως κακοήδη και θεωρείται υπεύθυνη για την πλειονότητα των θανάτων από καρκίνο. Η πρωταρχική οδός διασποράς των περισσότερων τύπων καρκίνου είναι το λεμφικό σύστημα και η μετάσταση των κυττάρων του όγκου, μέσω των λεμφαγγείων, στους επικώριους λεμφαδένες, είναι ένας από τους σημαντικότερους δείκτες επιδεκτικότητας των κακοήδων νεοπλασμάτων, στον άνθρωπο. Για πολλά χρόνια θεωρήθηκε, ότι τα κακοήδη νεοπλασματα επιδηλιακής προέλευσης (καρκινώματα) τείνουν να μεθίστανται μέσω των λεμφαγγείων, ενώ τα αντίστοιχα νεοπλασματα μεσεγχυματογενούς προέλευσης (σαρκώματα) διασπείρονται αιματογενώς. Κλινικές παρατηρήσεις όμως, έδειξαν ότι η διάκριση αυτή δεν φαίνεται πλέον να ισχύει με τη μορφή του ιστορικού δόγματος, που κατείχε.

Το λεμφικό και το αγγειακό σύστημα, παρόλο που δομικά είναι διακριτά συστήματα, λειτουργικά αλληλοσυnergάζονται για να διατηρήσουν την ιστική ομοιόσταση. Μάλιστα, το λεμφικό σύστημα συμπληρώνει τις λειτουργίες του αγγειακού συστήματος ρυθμίζοντας την ισορροπία των ιστικών υγρών, διευκολύνοντας τη μεταφορά των πρωτεϊνών του διάμεσου χώρου και αναλαμβάνοντας ανοσολογικό ρόλο. Ενώ όμως οι μηχανισμοί της αγγειογένεσης αποτέλεσαν αντικείμενο ευρείας μελέτης, τα τελευταία χρόνια, πολύ λίγα είναι τα δεδομένα για την κατανόηση των ρυθμιστικών μηχανισμών της ανάπτυξης των λεμφαγγείων και της λειτουργίας αυτών, τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις¹.

Τα λεμφαγγεία αποτελούν ένα σύστημα μονόδρομης μεταφοράς υγρού και πρωτεϊνών, που συλλέγονται από το διάμεσο χώρο και επιστρέφονται στην κυκλοφορία του αίματος. Η απόφραξη ή η δυσλειτουργία των λεμφαγγείων έχει σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση των πρωτεϊνών στο διάμεσο χώρο, την προοδευτική αύξηση της ωσμωτικής πίεσης αυτού και κατά συνέπεια την ανάπτυξη οιδήματος (συσσώρευση υγρού)². Λόγω της υψηλής δια-

περατότητας των λεμφαγγειακών τριχοειδών, η σύσταση της λέμφου είναι σχεδόν ίδια με αυτή του διάμεσου υγρού και παρόμοια αλλά λιγότερο συμπυκνωμένη με τη σύσταση του πλάσματος του αίματος. Επίσης, τα λεμφαγγεία αλλά και οι λεμφαδένες είναι σημαντικά συστατικά του ανοσολογικού συστήματος, καθώς μέσω των λεμφαγγείων φθάνουν στους λεμφαδένες αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τα οποία είναι ιδιαίτερης σημασίας για την ανάπτυξη της κυτταρικής ανοσίας.

2. ΔΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΛΕΜΦΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Υπάρχουν πέντε κύριες κατηγορίες αγωγών στο λεμφικό σύστημα, που είναι οι εξής:

- τα λεμφικά τριχοειδή (lymphatic capillaries)
- τα αδροιστικά αγγεία (collecting vessels)
- οι λεμφαδένες
- τα λεμφικά στελέχη (lymphatic trunks) και
- οι πόροι.

Η διάμετρος αυτών κυμαίνεται από 10 μm έως 2 mm.

Η λέμφος σχηματίζεται όταν διάμεσο υγρό μετακινείται μέσα στα λεμφικά τριχοειδή. Από αυτά φθάνει στα αδροιστικά αγγεία και στη συνέχεια περνά τουλάχιστον από μία και συνηδέστερα από μερικές ομάδες λεμφαδένων. Τα αδροιστικά αγγεία οδηγούν τη λέμφο σε μεγαλύτερα στελέχη κι αυτά με τη σειρά τους στους λεμφικούς πόρους. Τελικά η λέμφος επιστρέφει μέσω των λεμφικών πόρων στη ροή του αίματος¹.

Τα λεμφικά τριχοειδή είναι σχηματισμοί που απολήγουν τυφλά και αποτελούνται από ένα μόνο στίχο συνεχόμενων (χωρίς ενδιάμεσα διαστήματα) ενδοθηλιακών κυττάρων, ανάλογα με τα τριχοειδή του αίματος. Όμως, διαφέρουν από τα τελευταία³⁻⁵ γιατί έχουν πιο ανώμαλο και ευρύτερο αυλό (10-60 μm σε διάμετρο) και το ενδοθηλίό τους τυπικά χαρακτηρίζεται από ένα ιδιαίτερα λεπτοσυσπυκνωμένο κυτταρόπλασμα, εκτός από την περιοχική γύρω από τον πυρήνα. Επίσης, τα λεμφικά τριχοειδή δεν έχουν βασική μεμβράνη (αν έχουν αυτή είναι φτωχή αναπτυγμένη) και δεν περιβάλλονται από πε-

ρικήτατα. Θέσεις στενής σύνδεσης κυττάρου με κύτταρο και δέσεις προσκόλλησης δεν αναγνωρίζονται συχνά στα λεμφικά τριχοειδή. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά των λεμφικών τριχοειδών είναι η άμεση σχέση τους με τις παρακείμενες διάμεσες περιοχές^{6,7}. Αυτή η σύνδεση των ενδοθηλιακών κυττάρων με το γύρω ιστό γίνεται με λεπτές ελαστικές ίνες που αγγίζουν την αλβουμινική επιφάνεια των κυττάρων και εκτείνονται βαθιά μέσα στο συνδετικό ιστό. Τέλος, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφικών τριχοειδών χαρακτηρίζονται από πολλαπλά έγκλειστα και κυτταροπλασματικά κενοτόπια, τόσο στην αυλική όσο και στην αλβουμινική επιφάνεια, στοιχεία που εμπλέκονται στη διενδοθηλιακή μεταφορά των μορίων μέσα στον αυλό του τριχοειδούς⁸⁻¹⁰. Τα ενδοθηλιακά αυτά κύτταρα είναι ανοσοδοδικά στον παράγοντα von Willebrand και στο CD31 (platelet/endothelial cell adhesion molecule1), δείκτες που δεν είναι ειδικοί για τα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφαγγείων, καθώς ανιχνεύονται και στο ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων. Μόρια ειδικά για την ταυτοποίηση του λεμφαγγειακού ενδοθηλίου είναι ο υποδοχέας VEGFR-3 (FLT-4), η ποδοπλανίνη, το Prox-1, το LYVE-1 και το M2A (D2-40), για τα οποία θα ακολουθήσει εκτενέστερη αναφορά και περιγραφή στο κεφάλαιο “λεμφικό σύστημα και καρκίνος”.

Αντίθετα με τα λεμφικά τριχοειδή, τα αδροιστικά αγγεία διαθέτουν λείες μυϊκές ίνες στο τοίχωμά τους, καθώς και μονόδρομης κατεύθυνσης βαλβίδες, διακρίνονται δε σε προσαγωγά και απαγωγά^{2,11}. Ο τελικός κλάδος του λεμφικού συστήματος είναι ο θωρακικός πόρος, που εισέρχεται στη θωρακική κοιλότητα μέσω του αορτικού τρήματος του διαφράγματος και καταλήγει στη σύζευξη της αριστερής σφαγίτιδας με την υποκλείδια φλέβα.

Η πυκνότητα του λεμφαγγειακού δικτύου δεν ακολουθεί πάντα την προσφορά αίματος στους ιστούς. Έτσι, δεν υπάρχουν καθόλου λεμφαγγεία στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Στα όργανα με λοβιακή δομή, όπως το ήπαρ και ο μαστός, τα λεμφικά τριχοειδή αναγνωρίζονται στην περιφέρεια των λοβίων, όχι όμως μέσα σ' αυτά. Στους σκελετικούς μύες περιορίζονται στις περιτονίες αυτών, ενώ η κόρη του ματιού και ο χόνδρος δεν έχουν ούτε αγγεία ούτε λεμφαγγεία. Αντίθετα, άφθονα λεμφαγγεία περικλείονται στο δέρμα, στους πνεύμονες και στο γαστρεντερικό σωλήνα¹².

3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΛΕΜΦΟΥ - ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΗΣ ΛΕΜΦΟΥ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΛΕΜΦΑΓΓΕΙΩΝ

Οι δυνάμεις που οδηγούν στο σχηματισμό της λέμφου δρουν τοπικά και είναι η πίεση του διάμεσου υγρού και η τάση της εξωκυττάριας ουσίας. Αυτές επηρεάζονται από την κίνηση των μυών και τη μάλαξη καθώς επίσης και από ελαφρές τάσεις που σχετίζονται με τις ταλαντώσεις της αρτηριακής πίεσης. Από την άλλη πλευρά, οι δυνάμεις που οδηγούν στην προώθηση της λέμφου μέσα στα λεμφαγγεία περιλαμβάνουν τις συστηματικές δυνάμεις που προκαλούνται με την αναπνοή^{13,14}, την πίεση του αίματος¹⁵, την άσκηση¹⁶ και τη μάλαξη¹⁷.

4. ΛΕΜΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Το παραπάνω περιγραφέν λεμφικό σύστημα είναι αυτό που κατά κύριο λόγο εξυπηρετεί τη διαδικασία της μετάστασης των περισσότερων κακοήδων όγκων στους επιχώριους λεμφαδένες. Ενώ πολύ συχνά στην περιφέρεια των κακοήδων όγκων είχαν παρατηρηθεί λεμφαγγεία περικλείοντα αδροισείς νεοπλασματικών κυττάρων (νεοπλασματικά έμβολα), για πολλά χρόνια, και κυρίως λόγω των αποτελεσμάτων πειραματικών μελετών είχε γίνει γενικά αποδεκτό, ότι μέσα στον ίδιο τον όγκο δεν υπάρχουν λεμφαγγεία¹⁸⁻²². Βέβαια, ανάλογα είναι και τα αποτελέσματα πολύ πιο πρόσφατων μελετών, που αφορούν το κακόηδες μελάνωμα²³, το καρκίνωμα του μαστού²⁴⁻²⁶, το παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα²⁷ και το καρκίνωμα του προστάτη²⁸. Από την άλλη πλευρά, στις αρχές του προηγούμενου αιώνα, κάποιες μελέτες αναφέρονται στην ενδοογκική παρουσία λεμφαγγείων σε διάφορους τύπους καρκίνου^{29,30}, στη συνέχεια όμως αυτά θεωρήθηκαν σαν προϋπάρχοντα στην περιοχή λεμφαγγεία, που έχουν διηθηθεί από τον όγκο. Έτσι, ενώ η σημασία των προϋπαρχόντων στην περιφέρεια του όγκου λεμφαγγείων, για τη διασπορά των νεοπλασματικών κυττάρων, είχε γίνει πλήρως αποδεκτή, σημαντικά ερωτήματα όπως τα παρακάτω^{21,31}, παρέμειναν αναπάντητα:

α) Ο *de novo* σχηματισμός λεμφικών τριχοειδών (λεμφαγγειογένεση) και/ή διάταση και μεγέθυνση των λεμφαγγείων αυξάνουν την πιθανότητα της λεμφαγγειακής διασποράς του όγκου, η οποία θα έπρεπε αποκλειστικά να συμβαίνει μέσω των προϋπαρχόντων

- αγγείων;
- β) Ποιοι είναι οι μοριακοί μηχανισμοί της λεμφαγγειογένεσης και της μεγέθυνσης των λεμφαγγείων;
- γ) Η διαδικασία της εισόδου των κυττάρων του όγκου μέσα στα λεμφαγγεία είναι ανάλογη με αυτή που συμβαίνει στο αιμοφόρο αγγειακό σύστημα;
- δ) Η αναστολή της λεμφαγγειογένεσης είναι μια ρεαλιστική θεραπευτική στρατηγική για την αναχαίτιση της διασποράς των κυττάρων του όγκου και το σχηματισμό μεταστατικής εστίας;

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, λόγω της αποτυχίας ανάδειξης παρουσίας λειτουργικών λεμφαγγείων μέσα στους όγκους^{21-28,32}, θεωρήθηκε ότι η λεμφαγγειογένεση δε φαίνεται να παίζει κάποιο σημαντικό ρόλο στη μετάσταση του νεοπλασματος²². Από την άλλη πλευρά, υπήρχε η άποψη ότι η παρουσία ενός λεμφαγγειακού δικτύου μέσα στον όγκο, έστω και μη πλήρως λειτουργικού, μπορεί να διευκολύνει τη μετάσταση του όγκου δίνοντας περισσότερες ευκαιρίες στα κύτταρα να απομακρυνθούν από την αρχική τους θέση. Η παραπάνω άποψη ενισχύθηκε, ιδιαίτερα, από τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών, που πραγματοποιήθηκαν από το 2000 μέχρι σήμερα, και οι οποίες υποστηρίζουν σαφώς την παρουσία ενδοογκικής λεμφαγγειογένεσης. Οι μελέτες αυτές αφορούν καρκινώματα όπως του τραχήλου της μήτρας³³ και των ωοθηκών³⁴ (αν και δε φαίνεται στις εν λόγω περιπτώσεις η ενδοογκική λεμφαγγειογένεση να σχετίζεται με την πρόοδο της νόσου και τη λεμφαγγειακή διασπορά), της κεφαλής και τραχήλου³⁵⁻³⁸, καθώς και κακοήδη μελανώματα³⁹⁻⁴³ και λεμφώματα⁴⁴. Τα τελευταία δεδομένα επιτεύχθηκαν γιατί έγινε δυνατή η ταυτοποίηση μοριακών δεικτών ικανών να διακρίνουν αξιόπιστα τα λεμφαγγεία από τα αιμοφόρα αγγεία.

Στους δείκτες αυτούς περιλαμβάνονται: 1) Ο υποδοχέας των αυξητικών παραγόντων των ενδοθηλίων των αγγείων VEGF-C και VEGF-D, που φέρει το όνομα VEGFR-3 (FLT-4) και εκφράζεται στα λεμφαγγεία των φυσιολογικών ιστών των ενηλίκων⁴⁵. Βέβαια, έχει βρεθεί ότι εκφράζεται και στο ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων κατά την εμβρυϊκή ζωή⁴⁶. Το γεγονός ότι ανιχνεύθηκε και σε ενδοθήλια αιμοφόρων αγγείων ενηλίκων⁴⁷, καθιστά τη χρήση του για τη μελέτη της λεμφαγγειογένεσης στους όγκους, αμφισβητήσιμη. 2) Η ποδοπλανίνη, μια 43 KDa

γλυκοπρωτεΐνη, η οποία αρχικά ανιχνεύθηκε στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων των σπειραμάτων (των ποδοκυττάρων) των αρουραίων και είναι ταυτόσημη με τη γλυκοπρωτεΐνη που παρατηρείται στα λεμφικά τριχοειδή^{48,49}. Εκτός όμως από το ενδοθήλιο των λεμφαγγείων, εκφράζεται επίσης σε καλοήθεις αγγειακούς όγκους, σε αγγειοσαρκώματα καθώς και σε μη ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως οι οστεοβλάστες, τα ποδοκύτταρα και τα κυβελιδικά κύτταρα τύπου I του πνεύμονα^{50,51}. 3) Το Prox-1, το οποίο είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, που εμπλέκεται στην αύξηση και τη μεγέθυνση των λεμφαγγείων κατά την ανάπτυξη και διατηρείται και στο λεμφαγγειακό ενδοθήλιο των ενηλίκων^{52,53}. Έκφραση του Prox-1 έχει παρατηρηθεί επίσης σε μη ενδοθηλιακά κύτταρα του φακού, της καρδιάς, του ήπατος, του παγκρέατος και του νευρικού συστήματος⁵¹. 4) Το LYVE-1, που είναι ένα CD44 ανάλογο και αποτελεί τον κύριο υποδοχέα της υαλουρονάνης (μιας γλυκοσαμινογλυκάνης του εξωκυττάρου χώρου/του λεμφικού υγρού). Ανιχνεύεται στα λεμφαγγεία των φυσιολογικών ιστών⁵⁴ καθώς επίσης στις φλέβες κατά την εμβρυϊκή ζωή, στα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών του ήπατος και του σπλήνα, στη συγκυτιοτροφοβλάστη του πλακούντα και στα μακροφάγα^{51,55}, και 5) Το D2-40, ένα IgG-2a μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο αρχικά αναπτύχθηκε έναντι ενός ογκοεμβρυϊκού ορμικού αντιγόνου και το οποίο εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφαγγείων⁵⁶. Πρόσφατα αναφέρεται ότι το αντίσωμα αποτελεί έναν ειδικό δείκτη για τα λεμφαγγεία των ενηλίκων⁵⁷.

5. ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΛΕΜΦΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΕΜΦΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΗΣ

Ο VEGF-C είναι ένα κύριο μέλος της οικογένειας των αυξητικών παραγόντων του ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF)^{58,59}, οι οποίοι είναι γλυκοπρωτεΐνες, που ρυθμίζουν την αγγειογένεση, την αιμοποίηση, τη λεμφαγγειογένεση και την αγγειακή διαπερατότητα και εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διαδικασίες⁶⁰. Η οικογένεια των VEGF αποτελείται από τους VEGF-A, -B, -C, -D και -E (Orf virus VEGFs). Από τους τρεις ταυτοποιημένους μέχρι σήμερα υποδοχείς τυ-

ροσινικής κινάσης των αυξητικών παραγόντων του ενδοθηλίου των αγγείων, τους VEGFR-1, -2 και -3, ο VEGFR-1 δεσμεύει τους VEGF-A και -B, ο VEGFR-2 δεσμεύει τους VEGF-A, -C, -D και -E και ο VEGFR-3 δεσμεύει τους VEGF-C και -D³¹. Ο VEGFR-3, όπως ήδη έχει αναφερθεί, εκφράζεται ευρέως στο πρώιμο εμβρυϊκό αγγειακό σύστημα, αλλά περιορίζεται στο ενδοθήλιο των λεμφαγγείων στα όψιμα στάδια ανάπτυξης και στη μετεμβρυϊκή ζωή^{45,46}.

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ειδικές επιδράσεις του VEGF-C στη λεμφαγγειογένεση εξαρτώνται κυρίως από την πρωτεολυτική του δραστηριότητα. Η ώριμη μορφή του ανθρώπινου VEGF-C δρα ερεθιστικά και στον VEGFR-2 και στον VEGFR-3, ενεργοποιώντας έτσι και την αγγειογένεση και τη λεμφαγγειογένεση, ενώ η εν μέρει εξελιγμένη μορφή αυτού εκλεκτικά δεσμεύει και ενεργοποιεί τον VEGFR-3 και κατ' επέκταση τη λεμφαγγειογένεση^{58,61}.

Στους ενήλικες, ο VEGF-C εκφράζεται στην καρδιά, το λεπτό έντερο, τον πλακούντα, την ωοθήκη και το θυρεοειδή αδένα. Φαίνεται ότι λειτουργεί ερεθιστικά για τις μιτώσεις και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, αυξάνει δε και τη διαπερατότητα των αγγείων. Ο VEGF-D είναι κατά 48% ίδιος, δομικά, με τον VEGF-C. Εκφράζεται σε πολλούς ιστούς ενηλίκων, όπως το ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων, την καρδιά, το σκελετικό μυ, τον πνεύμονα, το λεπτό και το παχύ έντερο. Επίσης είναι μιτογόνο για τα ενδοθηλιακά κύτταρα⁶².

Η έκφραση κυρίως του VEGF-C αλλά και του VEGF-D από τους ανθρώπινους όγκους και η συσχέτιση αυτής με την παρουσία μετάστασης στους επιχώριους λεμφαδένες έχει αναφερθεί σε αρκετές μελέτες που αφορούν το μαστό⁶³⁻⁶⁵, το παχύ έντερο^{66,67}, τον πνεύμονα^{68,69}, τον προστάτη⁷⁰, το θυρεοειδή αδένα⁷¹, το στομάχι⁷², τον οισοφάγο⁷³, τις ωοθήκες⁷⁴, το ενδομήτριο⁷⁵, τον τράχηλο της μήτρας^{76,77} και όγκους όπως τα πλακώδη καρκινώματα^{37,78}, τα μεσοθηλιώματα^{79,80}, τα νευροβλαστώματα⁸¹, τα σαρκώματα και τα μελανώματα⁷⁸. Αυξημένη έκφραση του VEGFR-3 έχει παρατηρηθεί στο ενδοθήλιο λεμφαγγείων εντοπιζόμενων δίπλα σε καρκινικά κύτταρα και σε λεμφαδένες που περιέκλειαν καρκινωματώδεις μεταστάσεις⁸².

Επιπρόσθετα των παραπάνω, έχει αποδειχθεί, ότι η υπερέκφραση του VEGF-C σε γενετικά ανοσοφθορίζοντα ανθρώπινα κύτταρα καρκινώματος μαστού που μεταμοσχεύθηκαν σε

nude (χωρίς δύμο) ποντίκια είχε σαν αποτέλεσμα τη μεγέθυνση των λεμφαγγείων γύρω από τον όγκο και την εκλεκτικά αυξημένη ενδοογκική λεμφαγγειογένεση, χωρίς άλλη εμφανή επίδραση στην αγγειογένεση του όγκου. Η αυξημένη ενδοογκική πυκνότητα των λεμφαγγείων σχετιζόταν με σημαντικά αυξημένη συχνότητα μεταστάσεων στους επιχώριους λεμφαδένες καθώς και με αυξημένη συχνότητα πνευμονικών μεταστάσεων^{61,83}.

Η λεμφαγγειογένεση που προκαλείται από τον VEGF-C φαίνεται να προάγει τις μεταστάσεις στους λεμφαδένες και σε ένα μοντέλο παγκρεατικού καρκίνου σε πειραματόζωα⁸³. Επίσης, άλλη μελέτη υποστηρίζει το σημαντικό ρόλο του VEGF-D στη λεμφαγγειογένεση και τη μετάσταση, σε ποντίκια⁸⁴.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να επισημάνουμε, ότι πραγματικές αποδείξεις παρουσίας ενδοογκικής λεμφαγγειογένεσης με τη χρήση μοριακών δεικτών των λεμφικών αγγείων, έχουμε μόνο σε πειραματικά μοντέλα όγκων. Η παρουσία ενδοογκικής λεμφαγγειογένεσης σε διάφορους όγκους του ανθρώπου αποτελεί ένα σημείο ασυμφωνίας των μελετών, όπως έχει ήδη αναφερθεί, στοιχείο που πιθανώς να αντανακλά και σε πραγματική διαφορά της βιολογίας των νεοπλασμάτων. Πάντως, φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια της λεμφαγγειογένεσης, τα λεμφικά τριχοειδή "βλαστώνουν" σαν προεκτάσεις προϋπαρχόντων λεμφαγγείων. Σε κάθε περίπτωση, η αύξηση της πυκνότητας των λεμφαγγείων, καθώς και η παρουσία ενδοογκικών λεμφαγγείων θα πρέπει να θεωρείται σαν στοιχείο, που αυξάνει τις πιθανότητες των κυττάρων του όγκου να αφήσουν την πρωταρχική τους θέση, παρά σαν στοιχείο απαραίτητο για τη μετάσταση. Είναι επίσης πιθανό, ότι η ενεργοποίηση των λεμφικών αγγείων από τους VEGF-C και VEGF-D ή άλλους σχετικούς αυξητικούς παράγοντες να προκαλεί μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων του όγκου και των ενδοθηλιακών κυττάρων των λεμφαγγείων, διευκολύνοντας έτσι την είσοδο των κυττάρων του όγκου μέσα στα λεμφαγγεία. Τέλος, η ίδια η φυσιολογία του λεμφικού συστήματος υπερέχει του αγγειακού όσον αφορά στη δυνατότητα μεταφοράς του καρκινικού κυττάρου μέσω αυτού⁸⁵. Αν και η αύξηση της πυκνότητας των λεμφαγγείων έχει συσχετισθεί με πιο μεταστατικό φαινότυπο των νεοπλασμάτων, απαιτούνται νέες μελέτες για να αποδειχθεί αν τα ενδοογκικά λεμφαγγεία περιορί-

ζονται μόνο σε κάποια είδη νεοπλασμάτων και αν η παρουσία τους έχει πραγματικά προγνωστική σημασία⁸⁶.

6. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι πολλοί ερευνητές δεώρησαν ότι “ένα εντελώς αναπάντητο ερώτημα είναι αυτό της ανάπτυξης των λεμφαγγείων στους όγκους και η σχέση τους με το σχηματισμό λεμφογενών μεταστάσεων”^{31,85,87,88}. Από την άλλη πλευρά, δεν μπορούμε να αμφισβητήσουμε ότι τα αποτελέσματα των πειραματικών αλλά και των πιο πρόσφατων μελετών, που αφορούν νεοπλάσματα του ανθρώπου, φαίνεται να αποτελούν τη βάση προς την κατεύθυνση νέων στρατηγικών τόσο για την πρόληψη λεμφαδικών μεταστάσεων κατά τα αρχικά στάδια της νόσου, όσο και για την πρόληψη εκτενέστερης λεμφαγγειακής διασποράς, σε περίπτωση παρουσίας μικρομετάστασης στα λεμφαγγεία ή στους λεμφαδένες. Βέβαια, είναι σαφές ότι η στόχευση παραγόντων όπως οι VEGF-C, VEGF-D και VEGFR-3 ή άλλων πιδανών παραγόντων που ρυθμίζουν τη λεμφαγγειογένεση απαιτεί, προς το παρόν, εκτενέστερες μελέτες ταυτοποίησης διαφορών μεταξύ των φυσιολογικών λεμφαγγείων και των λεμφαγγείων γύρω από τον όγκο, που αναπτύχθηκαν με λεμφαγγειογένεση⁸⁶.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Swartz MA, Skobe M. Lymphatic function, lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Micr Res and Tech* 55:92-99, 2001.
- Aukland K, Reed RK. Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. *Physiol Rev* 73:1-78, 1993.
- Casley-Smith JR, Florey HW. The structure of normal small lymphatics. *Q J Exp Physiol* 46:101, 1961.
- Daroczy J. The dermal lymphatic capillaries. Berlin, Heidelberg: Springer – Verlag, 1988.
- Leak LV. Electron microscopic observations on lymphatic capillaries and the structural components of the connective tissue – lymph interface. *Microvasc Res* 2:361-391, 1970.
- Gerli R, Ibba L, Fruschelli C. Ultrastructural cytochemistry of anchoring filaments of human lymphatic capillaries and their relation to elastic fibers. *Lymphology* 24:105-112, 1991.
- Pullinger BD, Florey HW. Some observations on the structure and functions of lymphatics: their behaviour in local edema. *Br J Exp Pathol* 16:49, 1935.
- Cornford ME, Oldendorf WH. Terminal endothelial cells of lymph capillaries as active transport structures involved in the formation of lymph in rat skin. *Lymphology* 26:67-78, 1993.
- Leak LV. The structure of lymphatic capillaries in lymph formation. *Fed Proc* 35:1863-1871, 1976.
- Marchetti C, Poggi P, Piacentini C, Calligaro A. Scanning and transmission electron microscopy of rabbit heart lymphatic capillaries. *Lymphology* 24:26-31, 1991.
- Schmid-Schönbein GW. Microlymphatics and lymph flow. *Physiol Rev* 70:987-1028, 1990.
- Yoffey JM, Courtice FC. Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex. Academic Press, London, 1970.
- Negrini D, Ballard ST, Benoit JN. Contribution of lymphatic myogenic activity and respiratory movements to pleural lymph flow. *J Appl Physiol* 76:2267-2274, 1994.
- Swartz MA, Berk DA, Jain RK. Transport in lymphatic capillaries. I. Macroscopic measurement using residence time distribution analysis. *Am J Physiol* 270:324-329, 1996.
- Parsons RJ, McMaster PD. The effect of the pulse upon the formation and flow of lymph. *J Exp Med* 68:353-376, 1938.
- Olszewski WL, Engeset A, Jaeger M, Sokolowski J, Theodorsen L. Flow and composition of leg lymph in normal men during venous stasis, muscular activity and local hyperthermia. *Acta Physiol Scand* 99:149-155, 1977.
- Ikomi F, Schmid-Schönbein GW. Lymph pump mechanics in the rabbit hind leg. *Am J Physiol* 271:173-183, 1996.
- Lee FC, Tilghmanm RC. Lymph vessels in rabbit carcinoma, with a note on the normal lymph vessel structure of the testis. *Arch Surg* 26:602-616, 1933.
- Gilchrist RK. Surgical management of advanced cancer of the breast. *Arch Surg* 61:913-929, 1950.
- Tanigawa N, Kanazawa T, Satomura K, Hikasa Y, Hashida M, Muranishi S, Sezaki H. Experimental study on lymphatic vascular changes in the development of cancer. *Lymphology* 14:149-154, 1981.
- Leu AJ, Berk DA, Lymboussaki A, Alitalo K, Jain RK. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation. *Cancer Res* 60:4324-4327, 2000.
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407:249-257, 2000.
- de Waal RM, van Altena MC, Erhard H, Weidle UH, Nooijen PT, Ruiter DJ. Lack of lymphangiogenesis in human primary cutaneous melanoma. Consequences for the mechanism

- of lymphatic dissemination. *Am J Pathol* 150:1951-1957, 1997.
24. Williams CS, Leek RD, Robson AM, Banerji S, Prevo R, Harris AL, Jackson DG. Absence of lymphangiogenesis and intratumoral lymph vessels in human metastatic breast cancer. *J Pathol* 200:195-206, 2003.
 25. Vleugel MM, Bos R, van der Groep P, Greijder AE, Shvarts A, Stel HV, van der Wall E, van Diest PJ. Lack of lymphangiogenesis during breast carcinogenesis. *J Clin Pathol* 57:746-751, 2004.
 26. Agarwal B, Saxena R, Morimiya A, Mehrotra S, Badve S. Lymphangiogenesis does not occur in breast cancer. *Am J Surg Pathol* 29(11):1449-1455, 2005.
 27. Sipos B, Kojima M, Tiemann K, Klapper W, Kruse M-L, Kalthoff H, Schniewind B, Tepel J, Weich H, Kerjaschki D, Klöppel G. Lymphatic spread of ductal pancreatic adenocarcinoma is independent of lymphangiogenesis. *J Pathol* 207:301-312, 2005.
 28. Trojan L, Michel MS, Rensch F, Jackson DG, Alken P, Grobholz R. Lymph and blood vessel architecture in benign and malignant prostatic tissue: lack of lymphangiogenesis in prostate carcinoma assessed with novel lymphatic marker lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor (LYVE-1). *J Urol* 172:103-107, 2004.
 29. Evans HM. On the occurrence of newly-formed lymphatic vessels in malignant growths. *Johns Hopkins Med J* 19:232, 1908.
 30. Reichert FL. The regeneration of the lymphatics. *Arch Surg* 13:871-881, 1926.
 31. Pepper MS. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. Myth or reality? *Clin Cancer Res* 7:462-468, 2001.
 32. Jain RK. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res* 47:3039-3051, 1987.
 33. Birner P, Schindl M, Obermair A, Breitenecker G, Kowalski H, Oberhuber G. Lymphatic microvessel density as a novel prognostic factor in early-stage invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 95:29-33, 2001.
 34. Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Kowalski H, Oberhuber G. Lymphatic microvessel density in epithelial ovarian cancer: Its impact on prognosis. *Anti-cancer Res* 20:2981-2985, 2000.
 35. Beasley NJP, Prevo R, Banerji S, Leek RD, Moore J, van Trappen P, Cox G, Harris AL, Jackson D. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res* 62:1315-1320, 2002.
 36. Maula SM, Luukka M, Grenman R, Jackson D, Jalkanen S, Ristamaki R. Intratumoral lymphatics are essential for the metastatic spread and prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Cancer Res* 63:1920-1926, 2003.
 37. Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor lymphangiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma: a morphometric study with clinical correlations. *Cancer* 101:973-978, 2004.
 38. Kyzas PA, Geleff S, Batistatou A, Agnantis NJ, Stefanou D. Evidence for lymphangiogenesis and its prognostic implications in head and neck squamous cell carcinoma. *J Pathol* 206:170-177, 2005.
 39. Straume O, Jackson DG, Akslen LA. Independent prognostic impact of lymphatic vessel density and presence of low-grade lymphangiogenesis in cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res* 9:250-256, 2003.
 40. Giordadze TA, Zhang PJ, Pasha T, Coogan PS, Acs G, Elder DE, Xu X. Lymphatic vessel density is significantly increased in melanoma. *J Cutan Pathol* 31(10):672-677, 2004.
 41. Shields JD, Borsetti M, Rigby H, Harper SJ, Mortimer PS, Levick JR, Orlando A, Bates DO. Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma. *Br J Cancer* 90:693-700, 2004.
 42. Dadras SS, Lange-Asschenfeldt B, Velasco P, Nguyen L, Vora A, Muzikansky A, Jahnke K, Hauschild A, Hirakawa S, Mihm MC, Detmar M. Tumor lymphangiogenesis predicts melanoma metastasis to sentinel lymph nodes. *Mod Pathol* 18:1232-1242, 2005.
 43. Sahni D, Robson A, Orchard G, Szydlo R, Evans AV, Russell-Jones R. The use of LYVE-1 antibody for detecting lymphatic involvement in patients with malignant melanoma of known sentinel node status. *J Clin Pathol* 58(7):715-721, 2005.
 44. Kadowaki I, Ichinohasama R, Harigae H, Ishizawa K, Okitsu Y, Kameoka J, Sasaki T. Accelerated lymphangiogenesis in malignant lymphoma: possible role of VEGF-A and VEGF-C. *Br J Haematol* 130:869-877, 2005.
 45. Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res* 60:203-212, 2000.
 46. Lymboussaki A, Olofsson B, Eriksson U, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C show overlapping binding sites in embryonic endothelia and distinct sites in differentiated adult endothelia. *Circ Res* 85:992-999, 1999.
 47. Partanen TA, Arola J, Saaristo A, Jussila L, Ora A, Miettinen M, Stacker SA, Achen MG, Alitalo K. VEGF-C and VEGF-D expression in neuroendocrine cells and their receptor, VEGFR-3, in fenestrated blood vessels in human tissues. *FASEB J* 2087-2096, 2000.
 48. Breiteneder-Geleff S, Matsui K, Soleiman A, Meraner P, Poczewski H, Kalt R, Schaffner G, Kerjaschki D. Podoplanin, novel 43-kd mem-

- brane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in puromycin nephrosis. *Am J Pathol* 151:1141-1152, 1997.
49. Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, Horvat R, Amann G, Kreihuber E, Diem K, Weninger W, Tschachler E, Alitalo K, Kerjaschki D. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am J Pathol* 154:385-394, 1999.
 50. Weninger W, Partanen TA, Breiteneder-Geleff S, Mayer C, Kowalski H, Mildner M, Pammer J, Struzl M, Kerjaschki D, Alitalo K, Tschachler E. Expression of vascular endothelial growth factor receptor-3 and podoplanin suggests a lymphatic endothelial cell origin of Kaposi's sarcoma tumor cells. *Lab Invest* 79:243-251, 1999.
 51. Stacker SA, Achen MG, Jussila L, Baldwin ME, Alitalo K. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Nat Rev Cancer* 2:573-583, 2002.
 52. Wigle JT, Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell* 98:769-778, 1999.
 53. Wigle JT, Harvey N, Detmar M, Lagutina I, Grosveld G, Gunn MD, Jackson DG, Oliver G. An essential role for Prox1 in the induction of the lymphatic endothelial cell phenotype. *EMBO J* 21:1505-1513, 2002.
 54. Banerji S, Ni J, Wang SX, Clasper S, Su J, Tammi R, Jones M, Jackson DG. LYVE-1, a new homologue of the CD44 glycoprotein, is a lymph-specific receptor for hyaluronan. *J Cell Biol* 144:789-801, 1999.
 55. Mouta Carreira C, Nasser SM, di Tomaso E, Padera TP, Boucher Y, Tomarev SI, Jain RK. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Res* 61:8079-8084, 2001.
 56. Kahn HJ, Marks A. A new monoclonal antibody, D2-40, for detection of lymphatic invasion in primary tumors. *Lab Invest* 82:1255-1257, 2002.
 57. Schacht V, Dadras SS, Johnson LA, Jackson DG, Hong Y and Detmar D. Up-regulation of the lymphatic marker podoplanin, a mutant-type transmembrane glycoprotein, in human squamous cell carcinomas and germ cell tumors. *Am J Pathol* 166:913-921, 2005.
 58. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 15:290-298, 1996.
 59. Lee J, Gray A Yuan J, Luoh SM, Avraham H, Wood WI. Vascular endothelial growth factor-related protein: a ligand and specific activator of the tyrosine kinase receptor Flt4. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:1988-1992, 1996.
 60. Witzentbichler B, Asahara T, Murohara T, Silver M, Spyridopoulos I, Magner M, Principe N, Kearney M, Hu JS, Isner JM. Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C/VEGF-2) promotes angiogenesis in the setting of tissue ischemia. *Am J Pathol* 153:381-394, 1998.
 61. Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, Prevo R, Janes L, Velasco P, Riccardi L, Alitalo K, Claffey K, Detmar M. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med* 7:192-198, 2001.
 62. Al-Rawi MAA, Mansel RE, Jiang WG. Molecular and cellular mechanisms of lymphangiogenesis. *EJSO* 31:117-121, 2005.
 63. Kurebayashi J, Otsuki T, Kunisue H, Mikami Y, Tanaka K, Yamamoto S, Sonoo H. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) family members in breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 90:977-981, 1999.
 64. Kinoshita J, Kitamura K, Kabashima A, Saeki H, Tanaka S, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in breast cancer. *Breast Cancer Res and Treat* 66:159-164, 2004.
 65. Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yang Q, Imabum S, Nakahara M, Nakao K, Nakamura M, Mori I, Kakudo K. Flt-4-positive vessel density correlates with vascular endothelial growth factor-d expression, nodal status, and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 9:5313-5317, 2003.
 66. Akagi K, Ikeda Y, Miyazaki M, Abe T, Kinoshita J, Maehara Y, Sugimachi K. Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) expression in human colorectal cancer tissues. *Br J Cancer* 83:887-891, 2000.
 67. Onogawa S, Kitadai Y, Tanaka S, Kuwai T, Kimura S, Chayama K. Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci* 95:32-29, 2004.
 68. Niki T, Iba S, Tokunou M, Yamada T, Matsuno Y, Hirohashi S. Expression of vascular endothelial growth factors A, B, C, and D and their relationships to lymph node status in lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 6:2431-2439, 2000.
 69. Arinaga m, Noguchi T, Takeno S, Chujo M, Miura T and Uchida Y. Clinical significance of vascular endothelial growth factor C and vascular endothelial growth factor receptor 3 in patients with non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 97:457-464, 2003.
 70. Tsurusaki T, Kanda S, Sakai H, Kanetake H, Saito Y, Alitalo K, Koji T. Vascular endothelial growth factor-C expression in human prostatic carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. *Br J Cancer* 80:309-313, 1999.
 71. Shushanov S, Brostein M, Adelaide J Jussila

- L, Tchipsysheva T, Jacquemier J, Stavrovskaya A, Birnbaum D, Karamysheva A. VEGF-C and VEGFR3 expression in human thyroid pathologies. *Int J Cancer* 86:47-52, 2000.
72. Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, Fushida S, Ninomiya I, Bandou E, Taniguchi K, Miwa K, Ohoyama S, Sugiyama K, Sasaki T. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 5:1823-1829, 1999.
 73. Kitadai Y, Amioka T, Haruma K, Tanaka S, Yoshihara M, Sumii K, Matsutani N, Yasui W, Chayama K. Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C in human esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 93:662-666, 2001.
 74. Yokoyama Y, Charnock-Jones DS, Licence D, Yanaihara A, Hastings JM, Holland CM, Emoto M, Umemoto M, Sakamoto T, Sato S, Mizunuma H, Smith SK. Vascular endothelial growth factor -D is an independent prognostic factor in epithelial ovarian carcinoma. *Br J Cancer* 88:237-244, 2003.
 75. Yokoyama Y, Charnock-Jones DS, Licence D, Yanaihara A, Hastings JM, Holland CM, Emoto M, Sakamoto A, Sakamoto T, Maruyama H, Sato S, Mizunuma H, Smith SK. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-D and its receptor, VEGF receptor 3, as a prognostic factor in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res* 9:1361-1369, 2003.
 76. Van Trappen PO, Ryan A, Carroll M, Lecoer C, Goff L, Gyselman VG, Young BD, Lowe DG, Pepper MS, Shepherd JH, Jacobs IJ. A model for co-expression pattern analysis of genes implicated in angiogenesis and tumor cell invasion in cervical cancer. *Br J Cancer* 87:537-544, 2002.
 77. Van Trappen PO, Steele D, Lowe DG, Baithun S, Beasley N, Thiele W, Weich H, Krishnan J, Shepherd JH, Pepper MS, Jackson DG, Sleeman JP, Jacobs IJ. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D and their receptor VEGFR-3 during the different stages of cervical carcinogenesis. *J Pathol* 201:544-554, 2003.
 78. Salven P, Lymboussaki A, Heikkila P, Jaaskela-Saari H, Enholm B, Aase K, von Euler G, Eriksson U, Alitalo K, Joensuu H. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. *Am J Pathol* 153:103-108, 1998.
 79. Ohta Y, Shridhar V, Bright RK, Kalemkerian GP, Du W, Carbone M, Watanabe Y, Pass HI. VEGF and VEGF type C play an important role in angiogenesis and lymphangiogenesis in human malignant mesothelioma tumours. *Br J Cancer* 81:54-61, 1999.
 80. Masood R, Kundra A, Zhu S, Xia G, Scalia P, Smith DL and Gill PS. Malignant mesothelioma growth inhibition by agents that target the VEGF and VEGF-C autocrine loops. *Int J Cancer* 104:603-610, 2003.
 81. Eggert A, Ikegaki N, Kwiatkowski J, Zhao H, Brodeur GM, Himelstein BP. High-level expression of angiogenic factors is associated with advanced tumor stage in human neuroblastomas. *Clin Cancer Res* 6:1900-1908, 2000.
 82. Jussila L, Valtola R, Partanen TA, Salven P, Heikkila P, Matikainen MT, Renkonen R, Kaipainen A, Detmar M, Tschachler E, Alitalo R, Alitalo K. Lymphatic endothelium and Kaposi's sarcoma spindle cells detected by antibodies against the vascular endothelial growth factor receptor-3. *Cancer Res* 58:1599-1604, 1998.
 83. Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, Compagni A, Baetens D, Prevo R, Banerji S, Huarte J, Montesano R, Jackson DG, Orci L, Alitalo K, Christofori G, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO J* 20:672-682, 2001.
 84. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, Thornton GE, Williams RA, Prevo R, Jackson DG, Nishikawa S, Kubo H, Achen MG. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 7:186-191, 2001.
 85. Witte MH, Way DL, Witte CL, Bernas M. Lymphangiogenesis: mechanisms, significance and clinical implications. *EXS* 79:65-112, 1997.
 86. Van Trappen PO and Pepper MS. Lymphangiogenesis in human gynaecological cancers. *Angiogenesis* 7:1-9, 2005.
 87. Wilting J, Neeff H, Christ B. Embryonic lymphangiogenesis. *Cell Tissue Res* 297:1-11, 1999.
 88. Wittekind C. Diagnosis and staging of lymph node metastasis. *Recent Results Cancer Res* 157:20-28, 2000.

Corresponding author:

Aphrodite Nonni, MD,
1st Dept of Pathology, Medical School, University of Athens,
75, Mikras Asias Str., Goudi,
GR-115 27 Athens
Tel: 210 7462166, Fax: 210 7462157,
e-mail: afnonni@med.uoa.gr

Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Αφροδίτη Νόννη, MD,
Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών,
Μικράς Ασίας 75, Γουδί,
115 27 Αθήνα
Τηλ: 210 7462166, Fax: 210 7462157,
e-mail: afnonni@med.uoa.gr