

- [34] Stacker SA, Caesar C et al., VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics, *Nat Med* 2001, 7(2):186-91.
- [35] Steven Maltby et al., Mast cells in tumor growth: Angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009 Aug;1796(1):19-26.
- [36] T.J. Poole and B.R. Zetter, Stimulation of rat peritoneal mast cell migration by tumor-derived peptides, *Cancer Res.* 43 (1983), pp. 5857–5861.
- [37] T. Karpanen, M. Egeblad et al., Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth, *Cancer Res* 61 (2001), pp. 1786–1790.
- [38] V. Joukov, T. Sorsa et al., Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C, *EMBO J* 16 (1997), pp. 3898–3911.
- [39] W. Zhang et al., Modulation of tumor angiogenesis by stem cell factor, *Cancer Res.* 60 (2000), pp. 6757–6762.

## **DINAMICA EXPRESIEI FACTORULUI DE CREȘTERE AL ENDOTELIULUI VASCULAR-C ÎN LEZIUNILE PRENEOPLAZICE ȘI NEOPLAZICE DE CERVIX UTERIN**

**Vitalie Mazuru**

Catedra Histologie, Citologie și Embriologie USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### *Dynamics of the Vascular Endothelial Growth Factor C expression during the preneoplastic and neoplastic lesions of the uterine cervix*

The spreading throughout the body of neoplastic cells, using different ways, is a characteristic hallmark for malignant tumors. The main importance of the lymphovascular route for metastasizing is well known for a long period of time. Discovering of the lymphatic vessels markers allowed scientists to understand more detailed the mechanisms of this phenomenon. It has been well established that VEGF-C (vascular endothelial growth factor-C) can induce the proliferation of lymphatic endothelial cells. *The aim:* to study the features of the VEGF-C expression during the progression of the uterine cervix neoplasia. *Material and methods:* the study was performed on 22 cases of squamous metaplasia, CIN I – 14; CIN II – 12; CIN III – 6; microcarcinoma – 15; invasive carcinoma – 32 cases. PT-Link LSAB+ immunohistochemical method was performed using anti VEGF-C (clone SC9047, Santa Cruz, USA, dilution 1:100) as a primary antibody. *Results:* the less numerous cases of positive reaction for VEGF-C were found in squamous metaplasia (27.28%). The numbers of positive anti VEGF-C cases increasing were dependent of stage of cervical lesion. In the invasive carcinoma stage all cases were positive for VEGF-C. The intensity of the VEGF-C expression was heterogeneous, but in the area of the invasive edge was strong in 100% cases. *Conclusions:* the intensity of the VEGF-C expression correlates with the stage of uterine cervix neoplasia progression. Vascular invasion is strongly associated to intensive expression of VEGF-C.

### **Rezumat**

Răspândirea la distanță, prin diverse căi, a celulelor neoplazice este o trăsătură caracteristică tumorilor maligne. Importanța rutei limfovaskulare în cadrul metastazării era cunoscută demult, însă odată cu depistarea markerilor imunohistochimici a fost posibilă studierea mai detaliată a fenomenului în cauză. Este bine cunoscut faptul că VEGF-C (factorul de creștere al endoteliului vascular-C) este mitogenul de bază pentru celula endotelială limfatică. *Scopul:* evidențierea particularităților de expresie a VEGF-C în cadrul progresiei neoplaziei de cervix uterin. *Material și metodă:* în studiu au fost incluse 22 cazuri metaplazie scuamoasă, CIN I – 14; CIN II – 12; CIN III – 6; carcinom microinvaziv – 15; carcinom invaziv – 32 cazuri. Studiul imunohistochimic a fost făcut prin metoda LSAB+, utilizând în calitate de anticorp

primar antiVEGF-C (clona SC9047, Santa Cruz, USA, diluția 1:100). *Rezultate*: cele mai puține cazuri de reacție pozitivă au fost atestate în metaplazia scuamoasă (27.28%), cu o creștere treptată, dependentă de gradul neoplaziei. În stadiul de carcinom invaziv toate cazurile au fost pozitive, cu o intensitate heterogenă de expresie a markerului. La frontul de invazie expresia a fost pronunțată în 100% cazuri. *Concluzii*: intensitatea expresiei VEGF-C corelează cu gradul progresiei neoplaziei colului uterin. Invazia vasculară este puternic asociată cu expresia intensă a VEGF-C.

### **Actualitatea problemei**

Vasele limfactice reprezintă o rută foarte importantă în diseminarea la distanță a celulelor tumorale. Prima destinație, în cadrul acestei diseminări, sunt nodulii limfatici regionali, afectarea cărora constituie un moment foarte important în evoluția ulterioară a bolii, cât și în managementul terapeutic al acesteia. Majoritatea deceselor cauzate de neoplaziile maligne survin în urma metastazării tumorale. Calea limfovaculară de metastazare este primară pentru multe cancere solide umane, inclusiv cel cervical[10]. Cu toate că se cunoaște demult importanța sistemului limfatic în răspândirea tumorală[24,26], mecanismele prin care se produce acest fenomen au început să fie studiate intens odată cu descoperirea markerilor specifici pentru celula endotelială limfatică, adică din prima jumătate a anilor '90 ai secolului trecut[2,6,9,13,30,32]. Unul din acești markeri a fost receptorul tirozin-kinazic flt4, denumit ulterior VEGF-R3. A fost demonstrat rolul său major în limfangiogeneza embrionară. Liganzi pentru acest receptor sunt două glicoproteine din familia factorilor de creștere ai endoteliului vascular, și anume din clasa C și D. Din această grupă mai fac parte factorul A, B și factorul de creștere placentar (PIGF). VEGF-C este produs sub formă de pre-pro-peptid, care este scindat de către plasmina membranară a endoteliocitelor. Afinitate pentru VEGF-R3 au toate formele sale, doar că intensitatea transducerii semnalului crește pe măsură ce ligandul este mai puternic procesat. Activitatea cea mai intensă are loc la clivarea capetelor C-terminal și N-terminal. S-a demonstrat că VEGF-C este un mitogen foarte puternic pentru endoteliul limfatic, condiționând formarea, prin înmugurire, a limfaticelor noi din cele preexistente. În starea de propeptid VEGF-C are afinitate și pentru VEGF-R2. Acest lucru explică inducerea angiogenezei de către VEGF-C [5].

E bine cunoscută abilitatea celulelor tumorale de a produce VEGF-C. Această capacitate a fost studiată intens în ultimele decenii și demonstrează implicarea activă a tumorii în formarea unei rețele limfactice proprii. Subiectul prezintă un interes deosebit prin faptul că odată cu creșterea suprafeței de drenaj limfatic, crește și posibilitatea migrării la distanță a celulelor tumorale pe această cale. S-au făcut numeroase studii experimentale și clinico-morfologice care au demonstrat o corelație strânsă între intensitatea expresiei VEGF-C de către masa tumorală și densitatea microvasculară limfatică, invazia vasculară, statutul limfonodal regional, pronosticul nefavorabil [7,10,21,29]. În pofida acestor rezultate nu este clar dacă tumoarea utilizează limfaticele nou-formate, sau pentru metastazare sunt suficiente vasele limfactice preexistente[22,33]. De asemenea sunt controversate datele despre funcționalitatea limfaticelor intratumorale. Majoritatea studiilor arată incapacitatea VL intratumorale de a susține traficul celulelor neoplasice [4,18,19], dar există tumori în care acestor VL li se atribuie rolul primordial în metastazarea limfovaculară[3,16,11]. Dacă vis-a-vis de topografia și originea VL implicate în metastazare se duc discuții aprinse, este certă importanța VEGF-C în limfangiogeneza (LAG)[15,23].

### **Scopul lucrării**

Aprecierea particularităților expresiei VEGF-C la diferite etape ale progresiei neoplaziei de col uterin.

### **Material și metode**

Au fost supuse studiului speciemenle obținute prin biopsii țintite și conizație de la pacientele cu leziuni macroscopic decelabile ale cervixului uterin. Materialul biologic a fost fixat

în soluție de formol tamponat. După spălarea în apă de robinet, dehidratarea în soluții cu concentrații crescânde de alcool și clarefierea în soluție de xilen, speciamele au fost incluzionate în parafină. Secțiunile, cu grosimea de 3mm, au fost făcute la microtomul de tip „sliding” (ERMA, Japan). Diagnosticul histopatologic și gradarea leziunilor au fost efectuate prin colorarea cu hematoxină și eozină. Au fost identificate următoarele tipuri de leziuni: metaplazie scuamoasă (n=22), CIN I (n=14), CIN II (n=12), CIN III (n=6), carcinom microinvaziv (n=15) și carcinom invaziv (n=32). Gradarea leziunilor s-a făcut în conformitate cu sistemul clinic de clasificare (FIGO)[20].

Am efectuat imunocolorarea secțiunilor, utilizând anticorpii monoclonali anti VEGF-C clona SC9047 (Santa Cruz, USA), diluția 1:100. Pentru evidențierea mai bună a epitopilor pentru VEGF-C s-a făcut demascare antigenică în cuptorul cu microunde la temperatura 99°C timp de 20 minute, utilizând soluție Target Retrieval pH6 (DakoCytomation). După răcirea soluției de demascare s-a făcut inhibarea peroxidazei endogene în soluție H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% timp de 5 minute. Spălarea speciamelelor s-a făcut cu soluție PBS pH7.2, iar mai apoi s-a aplicat anticorpii primar cu perioada incubăției de 20 minute. Ulterior secțiunile au fost tratate cu anticorpii secundar și terțiar în conformitate cu tehnica PT-Link avidin-biotin (LSAB+). Vizualizarea antigenului examinat s-a făcut cu ajutorul 3,3'-diaminobenzidin (DAB) în calitate de cromogen. Drept control pozitiv intern au servit macrofagele și miocitele arterelor musculare. Contracolorarea nucleară a fost realizată cu hematoxină Lille modificată (timpul de expunere 3 minute). Preparatele au fost montate în soluție alcoolică, utilizând în calitate de mediu permanent de montare balsamul de Canada. Procedura de imunocolorare a fost efectuată cu ajutorul DakoCytomation Autostainer. Au fost selectate pentru studiu doar acele preparate la care cel puțin 5% din masa epitelială a manifestat imunoreacție pozitivă anti VEGF-C.

Pentru descrierea intensității expresiei VEGF-C a fost utilizată o scară cu patru grade (de la 0 până la 4), unde 0 reprezintă absența imunoreacției; 1 – reacție slabă; 2 – reacție medie; 3 – reacție pronunțată.

### Rezultate

În metaplazia scuamoasă VEGF-C a fost expresat în 6 cazuri dintre care în 4 intensitatea a fost ușoară, iar în altele 2 medie. Paternul de expresie a fost unul citoplasmatic. Localizarea semnalului imun în toate cele 6 cazuri a fost la nivelul treimeii superioare a epitelului scuamos exocervical. În CIN I reacție pozitivă a fost semnalată în 6 cazuri, CIN II – 9 cazuri, CIN III- 5 cazuri. În leziunile ușoare era expresat preponderent în treimea bazală a grosimii epitelului scuamos. Odată cu avansarea severității leziunii intraepiteliale creștea și numărul straturilor epiteliale pozitive la VEGF-C, cât și intensitatea expresiei lui. Toate cazurile de microcarcinom au fost pozitive, intensitatea expresiei variind între 1 (n=2) și 3 (n=4), cele mai multe (n=9) având o expresie de intensitate medie. Lipsa expresiei VEGF-C nu a fost depistată nici într-un caz de carcinom invaziv. Intensitate slabă a expresiei a fost într-un singur caz, medie (n=10) și pronunțată (n=21). În toate cazurile de carcinom invaziv, celulele tumorale din frontul de invazie au avut o expresie puternică, chiar dacă în centrul masei tumorale intensitatea nu era de grad 3. În toate cazurile supuse studiului respectiv au fost depistate elemente celulare stromale pozitive la VEGF-C, densitatea cărora a crescut treptat, odată cu avansarea leziunii cervicale.

Tabelul 1

#### Distribuția rezultatelor în funcție de stadiul progresiei neoplaziei cervicale

Gradul neoplaziei	Scorul intensității expresiei VEGF-C			
	0	1	2	3
Metaplaziei scuamoasă n=22	16 (72.72%)	4 (18.18%)	2 (9.09%)	0
CIN I n=14	8 (57.14%)	3 (21.43%)	3 (21.43%)	0
CIN II n=12	3 (25%)	3 (25%)	5 (41.66%)	1 (8.33%)
CIN III n=6	1 (16.66%)	1 (16.66%)	3 (50%)	1 (16.66%)
Microcarcinom n=15	0	2 (13.33%)	9 (60%)	4 (26.67%)
Carcinom invaziv n=32	0	1 (3.13%)	10 (31.25%)	21 (65.63%)

În nouă cazuri de carcinom invaziv a fost stabilită invazia vasculară. Embolii intravasculare au avut o expresie slabă (n=4) și medie (n=5).

## Discuții

Tumorile maligne pot afecta metastatic nodulii limfatici regionali, invadând limfaticile intratumorale, limfaticile preexistente aflate la marginea tumorii în creștere, cât și prin cele formate *de novo* limfangiogenezei tumoral-induse[25]. Subtilitățile mecanismului de invazie a vaselor limfaticice de către celulele neoplazice rămân încă în mare parte neelucidate, dar se pare că poartă un caracter individual, caracteristic pentru fiecare tip de neoplazie în parte. Studiile recente au demonstrat implicarea activă a celulelor neoplazice în răspândirea sa, pe cale limfogenă, prin intensificarea formării capilarelor limfaticice (*fenomenul este cunoscut sub denumirea de limfangiogeneză tumorală*). La moment este cert demonstrat rolul VEGF-C în inducerea proliferării celulelor endoteliale limfaticice, supraviețuirii și aranjării lor direcționate în cordoane ce amintesc viitoare structuri vasculare[15,34]. Au fost publicate numeroase lucrări bazate pe studii morfoclinice care atestă prezența fenomenului de înmugurire a celulelor endoteliale limfaticice în marea majoritate a neoplaziilor maligne solide umane [15,25], tumorile în care limfangiogeneza este absentă fiind foarte rare [14]. Însă, în pofida acestui fapt, încă nu este clară valoarea clinică a acestor limfaticice de neoformație, sunt ele o rută potentă pentru răspândirea celulelor neoplazice sau nu?

Cu toate că în ultima decadă s-a făcut un salt enorm în vederea înțelegerii mecanismelor limfangiogenice, originea limfaticelor prin care celulele maligne metastazează rămâne o întrebare la care răspunsul e departe de a fi găsit. Rezultatele pe seama acestei întrebări sunt destul de contradictorii. Numeroși autori descriu, în cadrul diferitor tumori, limfaticice proliferante (*ceea ce înseamnă de neoformație*) invadate de tumoare, fapt ce indică rolul VEGF-C în edificarea unei rețele limfovaskulare suplimentare, implicate în metastazare [21]. Însă există un alt grup de cercetători, nu mai puțin numeros decât precedentul, care susțin ipoteza conform căreia în metastazare sunt implicate doar limfaticice preexistente localizate peritumoral, în zona contactului dintre stromă și aria de invazie a neoplaziei[22,31]. Conform lor rolul VEGF-C constă în facilitarea invaziei vaselor limfaticice de către tumoare [1,12]. În favoarea acestei idei, ei aduc particularitățile de localizare a zonelor cu cea mai intensă expresie pentru VEGF-C, și anume ariile fronturilor de invazie. Rezultatele studiului respectiv vin să susțină ipoteza dată. În toate cele 9 cazuri cu invazie vasculară depistată expresia VEGF-C la frontul invaziv a fost intensă.

Limfangiogeneza tumorală are loc în toate tipurile de tumori, chiar dacă rolul funcțional al acestor limfaticice nu este încă clar stabilit. Momentul în care neoplazia începe activ recrutarea vaselor limfaticice noi poartă denumirea de „lymphangiogenic switch”[17,25]. Conform datelor literaturii, momentul acestui switch coincide cu stadiile de leziune preneoplazică, lucru valabil și în cazul neoplaziei cervicale [10,27]. Vorbind în termeni morfopatogenetici, am putea caracteriza switch-ul prin: i) intensificarea marcată a producerii, de către tumoare și a corespondenților stromei, a factorilor mitogeni pentru celula endotelială limfatică (VEGF-C și VEGF-D); ii) creșterea densității microvasculare limfaticice; iii) creșterea ponderii limfaticelor proliferante (de neoformație). Fiecare din momentele morfopatogenetice are câte un respondent imunohistochimic: i) intensificarea expresiei VEGF-C și VEGF-D; ii) creșterea densității vasculare D2-40 pozitive; iii) creșterea numărului limfaticelor cu celule endoteliale Ki-67 pozitive. Cel mai frecvent debutul switch-ului limfangiogenic este asociat cu stadiul de CIN III [10]. În acest studiu a fost abordat doar un singur aspect care caracterizează switch-ul – expresia mitogenului pentru celulele endoteliale limfaticice. Oricum, numai pe baza acestui aspect, poate fi dedus debutul switch-ului. În cazul nostru am studiat nu intensitatea expresiei VEGF-C, dar momentul apariției expresiei acestui factor. Drept punct de reper a servit numărul cazurilor negative pentru VEGF-C în cadrul fiecărui stadiu. Momentul de interes major a fost reprezentat de către stadiul, în cadrul căruia numărul cazurilor negative pentru VEGF-C a scăzut dramatic. În studiul nostru acest stadiu a fost reprezentat de către CIN II. Diferența procentuală a

numărului cazurilor negative, în acest stadiu comparativ cu stadiul precedent (CIN I), este cea mai mare, depășind valoarea de 32%. Din aceste date se poate deduce o creștere bruscă a numărului de cazuri pozitive pentru VEGF-C la stadiul de CIN II. Deoarece creșterea densității limfatice microvasculare este dependentă și secundară producției de substanță mitogenă pentru celula endotelială limfatică logic ar fi ca sinteza de VEGF-C să înceapă cu o etapă înainte de stabilirea completă a switch-ului limfangiogen. În studiul respectiv, chiar dacă indirect (prin intermediul unui singur marker), am stabilit că fenomenul de „lymphangiogenic switch” în neoplazia scuamocelulară a cervixului uterin apare în stadiul de CIN III, rezultat care nu contravine cu datele din literatura de specialitate.

Dacă rolul funcțional al vaselor limfatice apărute sub influența VEGF-C derivat din tumoare, în metastazarea celulelor neoplazice naște multe discuții de ordin teoretico-academic, un lucru pare a fi cert pentru toți, și anume corelația între expresia VEGF-C și statutul limfonodal regional. Este bine demonstrat că VEGF-C determină invazia vaselor limfatice și afectarea bazinului limfonodal primar [28]. Din această cauză unii autori propun pentru expresia intensă a VEGF-C, în cadrul progresiei tumorale, rolul de factor predictiv independent [8]. În baza studiului dat nu este posibil de a afirma sau a infirma rolul de factor independent de pronostic pentru expresia VEGF-C, deoarece nu am studiat statutul limfonodal regional, dar cert rămâne faptul că în toate cazurile de invazie vasculară depistate nivelul expresiei factorului dat a fost unul de intensitate înrăutățită.

### **Concluzie**

În baza studiului efectuat am ajuns la concluzia că în cadrul neoplaziei scuamocelulare a colului uterin momentul debutului în producția de VEGF-C coincide cu stadiul de CIN II, fiind un „teren de pregătire” pentru apariția switch-ului limfangiogenic – fenomen caracteristic stadiului de CIN III. Intensitatea expresiei VEGF-C corelează cu progresia neoplaziei cervicale. Am determinat o corelație directă între nivelul intensității și localizării expresiei VEGF-C și invazia vasculară. În 100% cazuri de invazie vasculară expresia VEGF-C a fost intensă și la frontul de invazie.

### **Bibliografie**

1. Aishima S., Nishihara Y., Iguchi T., Taguchi K., Taketomi A., Maehara Y., Tsuneyoshi M. Lymphatic spread is related to VEGF-C expression and D2-40 positive myofibroblasts in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Modern Pathology*, 21, 256-264, (2008).
2. Banerji S., Ni J., Wang S.X., Clasper S. LYVE-1, a new homologue of CD44 glycoprotein, is a lymph specific receptor for the hyaluronan. *J. Cell. Biol.* 144, 789-801, (1999).
3. Beasley N.J., Prevo R., Banerji S., Leek R.D., Moore J., van Trappen P., Cox G., Harris A.L., Jackson D.G. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res.*, 62, 1315-1320, (2002).
4. Bono P., Vasenius V., Lundin J., Jackson D.G., Joensuu H. High peritumoral LYVE-1 positive lymphatic vessel numbers are associated with axillary lymph node metastases and poor outcome in early breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 10, 7144-7149, (2004).
5. Bradley K. McColl, Megan E. Baldwin, Sally Roufail, Craig Freeman, Robert L. Moritz, Richard J. Simpson, Kari Alitalo, Steven A. Stacker, and Marc G. Achen. Plasmin Activates the lymphangiogenic growth factors VEGF-C and VEGF-D. *The Journal of Experimental Medicine*. 0022-1007. Temporary pagination 1-6, (2003).
6. Breiteneder-Gellef S., Soleiman A., Kowalski H., Horvat R., Amman G., Kriehuber 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).
7. Choi W.W., Lewis M.M., Lawson D. Angiogenic and lymphangiogenic microvessel density in breast carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and VEGF-family gene expression. *Mod. Pathol.*, 18, 143-152, (2005).

8. Margaritescu C., Simionescu C., Stinga Al., Pirici D., Stepan A., Stinga A. Expression of vascular endothelial growth factor-C and Vascular endothelial growth factor receptor-3 in oral squamous cell carcinoma. Al IX-lea simpozion național cu participare internațională de morfologie microscopică. P.45-46, Craiova, România, 26-29 mai 2010.
9. Dumont D.J., Jussila L., Taipale J., Lymboussaki A., Mustonen T. Cardiovascular failure in mouse embryos deficient in VEGF receptor-3. *Science* 282, 946-949, (1998).
10. Gombos Z., Xu X., Chu C.S., Jang P.J., Acs G. Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin. Cancer Res.*, 11, 23, 8364-8371, (2005).
11. Hall F.T., Freeman J.L., Asa S.L., Jackson D.G., Beasley N.J. Intratumoral lymphatics and lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 129, 716-719, (2003).
12. Hoshida T., Isaka N., Hagendoorn J., di Tomaso E., Chen Y.L., Pytowski B., Fukumura D., Padera T.P., Jain R.K. Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications. *Cancer Res.*, 66, 8065-8075, (2006).
13. Jackson D.G., Prevo R., Clasper S., Banerji S. LYVE-1, the lymphatic system and tumor lymphangiogenesis. *Trends Immunol.* 22, 317-321 (2001).
14. Leu A.J., Berk D.A., Lymboussaki A., Alitalo K., Jain R.K. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation. *Cancer Res.*, 60, 4324-4327, (2000).
15. Mandriota S.J., Jussila L., Jeltsch M., Compagni A., Baetens D., Prevo R., Banerji S., Huarte J., Montesano R., Jackson D.G., Orci L., Alitalo K., Christofori G., Pepper M.S. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *Embo J.*, 20, 672-682, (2001).
16. Maula S.M., 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).
17. Oliver G. Lymphatic vasculature development. *Nature Rev. Immunol.*, 4, 35-45, (2004).
18. Padera T.P., Kadambi A., di Tomaso E. Lymphatic metastasis in the absence of function intratumor lymphatics. *Science*, 296, 1883-1886, (2002).
19. Padera T.P., Stoll B.R., Tooredman J.B., Capen D., di Tomaso E., Jain R.K. Pathology: Cancer cells compress intratumour vessels. *Nature*, 427, 695, (2004).
20. Pecorelli S., Benedet J.L., Creasman W.T., Shepherd J.H. FIGO staging of gynecologic cancer. 1994-1997 FIGO Committee on Gynecologic Oncology. International Federation of Gynecology and Obstetrics. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 65, 243-249, (1999).
21. Renyi-Vamos F., Tovari J., Filinger J. Lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis, prognosis, and angiogenic in human non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 10, 6919-6928, (2004).
22. Sipos B., Kojima M., Tiemann K. Lymphatic spread of ductal pancreatic adenocarcinoma is independent of lymphangiogenesis. *J. Pathol.*, 2007, 301-312, (2005).
23. Skobe M., Hawighorst T., Jackson D.G., 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).
24. Sleeman J.P. The lymph node as a bridgehead in the metastatic dissemination of tumors. *Recent Results Cancer Res.*, 157, 55-81, (2000).
25. Stacker S.A., Achen M.G., Jussila L., Baldwin M.E., Alitalo K. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Nat. Rev. Cancer*, 2, 573-583, (2002).
26. Swartz M.A., Skobe M. Lymphatic function, lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Micros. Res. and Techn.*, 55, 92-99, (2001).

27. Şaptefraţi L. Progresia neoplaziei de cervix uterin şi activarea limfangiogenezei. *Curierul Medical*, 2 (308), 8-10, (2009).
28. Tsurusaki T., Kanda S., Sakai H. Vascular endothelial growth factor-C expression in human prostatic carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. *Br. J. Cancer*, 80, 309-313, (1999).
29. Ueda M., Hung Y.C., Terai Y. Vascular endothelial growth factor-C expression and invasive phenotype in ovarian carcinomas. *Clin. Cancer Res.*, 11, 3225-3232, (2005).
30. Veikkola T., Karkkainen M., Claesson-Welsh L., Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res.*, 60, 203-212, (2000).
31. Vleugel M.M., Bos R., van der Groep P. Lack of lymphangiogenesis during breast carcinogenesis. *J. Clin. Pathol.*, 57, 746-751, (2004).
32. Wigle J.T., Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell* 98, 769-778 (1999).
33. Williams C.S., Leek R.D., Rpbson A.M. Absence of lymphangiogenesis and intratumoral lymph vessels in human metastatic breast cancer. *J. Pathol.*, 200, 195-206, (2003).
34. Wirzenius M., Tammela T., Uutela M., He Y., Odoriso T. Distinct vascular endothelial growth factor signals for lymphatic vessel enlargement and sprouting. *J. Exp. Med.* 204, 1431-40, (2007).

## **FACTORII MOLECULARI AI LIMFANGIOGENEZEI EMBRIONARE**

**Vitalie Mazuru**

Catedra Histologie, Citologie şi Embriologie USMF „Nicolae Testemiţanu”

### **Summary**

#### *Molecular agents of embryonic lymphangiogenesis*

Lymphatic vessels represent a duplication of venous vascular system. Promote the connection between all compartments of lymphatic system and, as a result, make possible the realizing of its specific functions such as: immune function, drainage, maintenance of the intratissular pressure, mechanic cleaning, recirculation of the lymphocytes etc. Are involved in pathogenesis of a wide variety of diseases, among which the main interest is focused on malignant tumors. There were made a lot of efforts in studying of lymphatic vessels both in norm and pathology, during the last decades. Different mechanisms that can inhibit the growth of new lymphatics, initially is studied in experimental models on avian and rodent embryos. That's why is so important, for understanding of new lymphatic vessels formation in different diseases, to know the embryonic lymphangiogenesis. The aim of this article is to highlight the molecular players and the mechanisms which through these players lead to embryonic morphogenesis of lymphatic vessels.

### **Rezumat**

Sistemul vascular limfatic reprezintă o dublare a sistemului vascular venos. Asigură unitatea morfologică între toate compartimentele sistemului limfatic, făcând astfel posibilă realizarea funcţiilor specifice lui: imună, drenare, menţinerea presiunii intratisulare, curăţire mecanică, recircularea limfocitelor etc. Este implicat în patogenia multor afecţiuni dintre care un interes deosebit îl prezintă neoplaziile maligne. În ultimele decenii s-au făcut eforturi susţinute în studierea vaselor limfatice atât în normă, cât şi în patologie. Procesul de studiere al diferitor mecanisme de inhibare a creşterii vaselor limfatice noi se face iniţial în modele experimentale pe embrioni de pasăre sau rozătoare. Din aceste considerente reiese importanţa cunoaşterii limfangiogenezei embrionare pentru înţelegerea formării noilor limfatice în cadrul diferitor patologii. Scopul acestei lucrări este trecerea în revistă a ultimelor date despre factorii moleculari contribuabili la morfogeneza embrionară a limfaticelor.