

А.В. Дудников^{1,2}, В.Ф. Байтингер^{1,3}, О.С. Курочкина¹

РАЗВИТИЕ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ЕСТЕСТВЕННО-ИСТОРИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ. ЧАСТЬ 1

¹ АНО «НИИ микрохирургии», г. Томск² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск³ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, КрасноярскA.V. Dudnikov^{1,2}, V.F. Baytinger^{1,3}, O.S. Kurochkina¹

DEVELOPMENT OF THE LYMPHATIC SYSTEM IN NATURALLY-HISTORICAL ASPECT. PART 1

¹ Institute of Microsurgery, Tomsk, Russian Federation² Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation³ V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

С точки зрения филогенеза, появление лимфатической системы было логичным: эволюционный скачок в размерах и объемах животных сопровождался усложнением и появлением более эффективной сердечно-сосудистой системы, жизненно необходимой для питания возросшего количества тканей и органов. Под повышением эффективности сердечно-сосудистой системы в первую очередь подразумевается увеличение ударных объемов сердца и показателей систолического давления: без мощного мышечного органа была бы невозможна эффективная и достаточная перфузия тканей. По теории Старлинга (о водном обмене в микроциркуляторном русле), количество «утекшей» жидкости на уровне артериол выше, чем реабсорбированной на уровне венул (что, также объясняется возросшим в ходе эволюции соотношением ударных объемов сердца и размеров организма). Здесь и становится понятной основная функция лимфатической системы, заключающаяся в возврате воды из межклеточного пространства, на реабсорбцию которых не приспособлена сердечно-сосудистая система. Следует отметить, что выведение продуктов обмена тканей с помощью лимфатической системы выходит на второй план после восстановления равновесия жидкости в организме: как известно, наибольшее значение в утилизации продуктов обмена белков, углеводов и жиров выполняют другие органы и системы, такие как легкие, печень, почки. По причине невозможности эффективной реабсорбции жидкости на уровне венул и необходимости поддержания гомеостаза сердечно-сосудистой системы лимфатическая система является дериватом венозной – эволюционно возникла потребность в появлении «дренажной» системы, чьи корни начинались бы в межклеточном пространстве, и ток жидкости имел бы направление, схожее с венозным (в сторону правого предсердия).

С точки зрения онтогенеза, в настоящее время, благодаря современным генетическим и иммунологическим методикам, а также возможности проводить live-исследования на биологических моделях *in vivo*, окончательно утвердилась смешанная модель происхождения лимфатической системы (из эндотелиальных клеток кардинальной вены и других ангиобластов мезенхимы с отличительным набором маркеров, из пока неустановленных источников). Это обстоятельство свидетельствует о гораздо большей сложности устройства лимфатической системы, чем считалось ранее.

Ключевые слова: лимфатическая система, лимфатические сосуды, лимфатические эндотелиальные клетки, нокаут гена, нокадаун гена, первичная лимфедема, эмбриология, анатомия, лимфология, лимфовенулярные анастомозы.

From the point of view of phylogenesis, the appearance of the lymphatic system was logical: the evolutionary leap in the sizes and volumes of animals was accompanied by complication and the emergence of a more effective cardiovascular system, vital for feeding an increased number of tissues and organs. By increasing the efficiency of the cardiovascular system, in the first place, it is meant to increase the cardiac output and the level of systolic pressure: without effective muscular organ the sufficient perfusion of tissues would be impossible. According to Starling's theory (on water metabolism in the microcirculatory bed), the amount of "leaked" fluid at the level of arterioles is higher than reabsorbed at the level of venules (which again is explained by the increased ratio of cardiac output and body size). Here is the point why the lymphatic system appear – the function of it consists in the return of water from the intercellular space, the reabsorption of which is not adapted to the cardiovascular system. It should be noted that the removal of tissue metabolism products with the help of the lymphatic system comes to the fore after restoring the equilibrium of the liquid in the body. As is known, other organs and systems such as the lungs, liver,

kidneys are of greatest importance in the utilization of protein, carbohydrate and fat metabolism products etc. For the above-described reason (the impossibility of an effective reabsorption of the liquid at the level of venules and the need to maintain the homeostasis of the cardiovascular system), the lymphatic system is a venous derivative. Evidently, there was a need for the emergence of a "drainage" system, whose roots would begin in the intercellular space and the fluid flow would have direction, similar to the venous (toward the right atrium).

From the point of view of ontogenesis, thanks to modern genetic, immunological techniques, and the possibility of conducting live studies on biological models *in vivo*, a mixed model of the origin of the lymphatic system has been finally established (from the endothelial cells of the cardinal vein and other mesenchymal angioblasts with a distinctive set of markers, from yet unidentified sources). This indicates a much greater complexity of the lymphatic system than previously thought.

Key words: *lymphatic system, lymphatic vessels, lymphatic endothelial cells, gene knockout, gene knockdown, primary lymphedema, embryology, anatomy, lymphology, lymphovenular anastomoses.*

УДК 611.42:612.42]-043.86
doi 10.17223/1814147/66/08

ВВЕДЕНИЕ

Знания о развитии лимфатической системы, в том числе о молекулярных механизмах, лежащих в основе ее формации и морфогенеза, а также о причинах появления в процессе фило- и онтогенеза чрезвычайно необходимы для понимания происхождения различных врожденных заболеваний лимфатической системы, например синдрома дистихиаза-лимфедемы или болезни Nonpe-Milroy. В статье представлены современные данные о развитии лимфатической системы в естественно-историческом аспекте, т.е. с точки зрения фило- и онтогенеза у животных и человека.

Лимфатическая система человека представляет собой сеть сосудов (начинающихся слепо из межклеточных пространств), идущих параллельно с кровеносной системой, и состоит из инициальных лимфатических капилляров, собирательных сосудов или коллекторов, а также из лимфатических узлов и лимфоидных органов [1]. Инициальные лимфатические капилляры («корни лимфатической системы») – открытые и начинаются в межклеточных пространствах, они помогают поддерживать тканевой гомеостаз и выполняют абсорптивную функцию [1, 2]. Собирательные сосуды, или коллекторы, выполняют транспортную функцию для лимфы, образующейся в инициальных сосудах: у человека без лимфатической системы ежедневно во внесосудистых компартментах задерживалось бы до 12 л жидкости, богатой белками [1]. Также важно отметить роль коллекторов в создании «внутренних сил», обеспечивающих продвижение лимфы против градиента гидростатического давления.

На активный транспорт лимфы приходится две трети всей работы лимфатической системы по ее продвижению, оставшаяся треть работы выполняется пассивно с помощью «внешних сил», в основном мышечной помпы [3]. Механизмы продвижения лимфы по коллекторам лимфатической системы в кровяное русло пред-

ставляют собой малоизученную сферу современной лимфологии, однако доказана важная роль в этом механизме таких факторов, как преднагрузка (конечно-диастолическое давление в лимфангионе; аналогия закона Франка-Старлинга в сердечно-сосудистой системе) [1, 4, 5], постнагрузка (выходное давление в области выхода из лимфангиона) [1, 6], частота и сила сокращений лимфангионов [1, 7], нейрогенное влияние вегетативной нервной системы на моторику лимфатических сосудов [8] и обеспечение синхронности их сократительной активности [9].

Лимфатические узлы и лимфоидные органы выполняют иммунную функцию через накопление и презентацию антигенов иммунокомпетентным клеткам [1]. Имеются некоторые доказательства влияния гладкой мускулатуры капсулы лимфатических узлов на продвижение лимфы против градиента гидростатического давления в лимфатическом русле [10] (рис. 1).

Лимфатическая система выполняет следующие функции [10]:

- 1) возвращение компонентов плазмы (в основном, альбуминов) в систему циркуляции крови;
- 2) транспорт воды, нутриентов (хиломикронов) и электролитов из желудочно-кишечного тракта;
- 3) транспорт биологически активных агентов, таких как гормоны (кортизол, инсулин, тироксин, ренин, щелочная фосфатаза) и ферменты;
- 4) элиминация макромолекул из внесосудистых компартментов (гиалуроновая кислота, бактерии, коллоиды для идентификации сторожевых лимфоузлов и др.);
- 5) накопление и презентация антигенов в лимфатических узлах иммунокомпетентным клеткам (лимфоцитам) через систему хемокинов и других сигнальных молекул;
- 6) секреция вазоактивных веществ (NO, простагландины) лимфатическими эндотелиальными клетками.

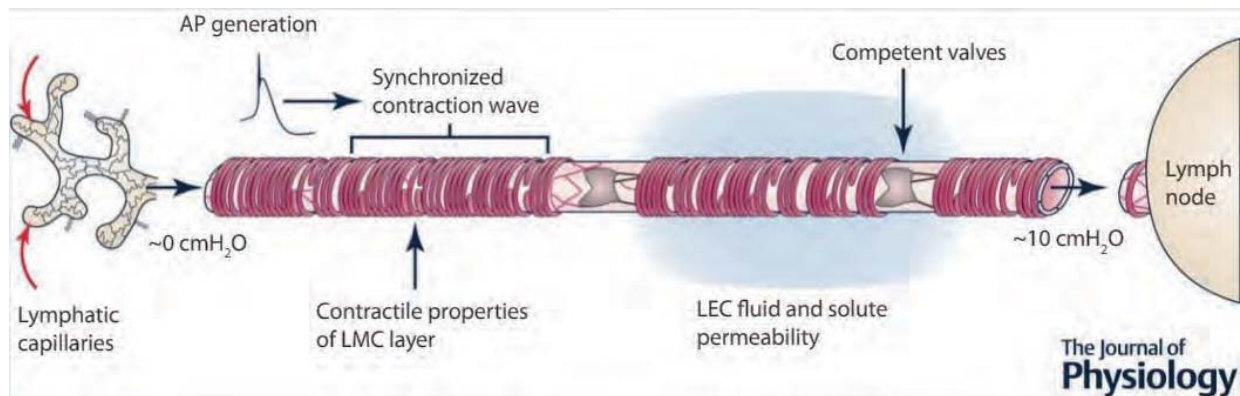


Рис. 1. Схема механизмов, создающих силу движения лимфы против градиента гидростатического давления

Таким образом, лимфатическая система представляет собой частично обособленную систему, выполняющую важную для организма функцию сохранения «экологии внутренней среды».

В настоящее время формация и морфогенез лимфатической системы изучается на нескольких биологических моделях. Возникновение ее зачатков, а также влияние регуляторных генов исследуется на эмбрионах Шпорцевых лягушек (*Xenopus*) [11]. Кроме того, большое количество исследований проводится на рыбках рода Данио (*Zebrafish*), поскольку они имеют хорошо выраженную лимфатическую систему со всеми морфологическими, молекулярными и функциональными особенностями, напоминающими таковые у других позвоночных [12, 13]. Лимфатическая система *Zebrafish* экспрессирует известные маркеры, определяющие развитие эндотелиальных клеток по «лимфатическому» пути, а также наборы генов, необходимых для лимфангиогенеза. Важным недавним открытием стала способность *Zebrafish* накапливать и транспортировать по своей лимфатической системе подкожно введенные красители (как и у других позвоночных [11, 14]), что позволило проводить генетические исследования, наблюдая за сосудистым руслом *Zebrafish in vivo*. Другой великолепной экспериментальной моделью формации и морфогенеза лимфатической системы являются мыши.

ПРЕНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Процесс закладки и развития лимфатической системы у мышей и *Zebrafish* во многом схож, несмотря на разные эволюционные уровни. У мышей первые стадии развития сосудистой системы начинаются с параллельно идущего спрутинга (от англ. *sprout* – распространяться) сосудов от дорзальной аорты (*dorsal aorta*) и кардинальной вены (*cardinal vein*) на стадии E8 (эмбриональные стадии по *Carnegie*) (рис. 2) [15].

У *Zebrafish* этот процесс немного разделен во времени, с началом спрутинга артериальных эндотелиальных клеток из дорзальной аорты на стадии 20 hpf (*hours post fertilization*, часов после фертилизации) и спрутинга венозных эндотелиальных клеток на стадии 30 hpf [16].

Ранний период развития лимфатической системы может быть разделен на два этапа: 1-й – спецификация клеток для дальнейшего их развития по лимфатическому пути, 2-й – спрутинг предшественников лимфатических эндотелиальных клеток (*lymphatic endothelial cells*, LECs) для формирования лимфатических мешков. Последние литературные данные подтверждают, что и у мышей, и у *Zebrafish* оба этих процесса происходят в одну и ту же стадию пренатального онтогенеза – в стадию E9.5 по *Carnegie* у мышей и около 24–36 hpf – у *Zebrafish*. В этот период впервые появляются Prox1-позитивные клетки на разных участках кардинальной вены и знаменуют начало спецификации LEC [17–19].

У мышей межсегментарные (интерсомитные) вены представляют собой дополнительный источник лимфатических эндотелиальных клеток [20].

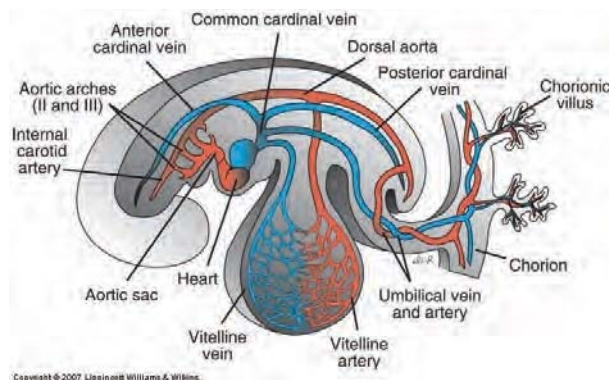


Рис. 2. Схема сосудистой системы эмбриона. Common cardinal vein – общая кардинальная вена; Interior cardinal vein – передняя кардинальная вена; posterior cardinal vein – задняя кардинальная вена; Dorsal aorta – дорзальная аорта

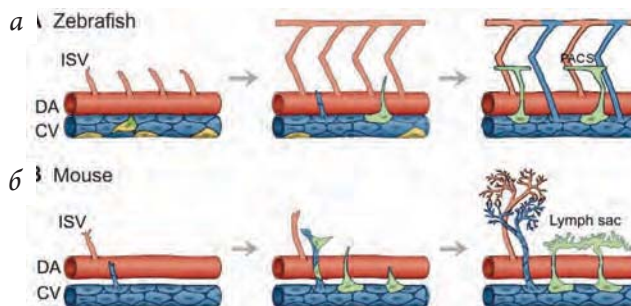


Рис. 3. Схематическая модель раннего онтогенеза лимфатической системы у рыбок Данио (а) и мышей (б) [2]. В обоих случаях кардинальная вена (CV) является источником клеток, которые в дальнейшем будут специализироваться как клетки лимфатического русла (зеленый цвет). Далее они преобразуются в парахордальные клетки в случаях *Zebrafish* либо в лимфатические мешки у мышей. В случае последних, лимфатические эндотелиальные клетки (LECs) также могут происходить из межсегментарных сосудов (б, изображение посередине). В случае *Zebrafish* предшественники LEC происходят из субполяции специализированных ангиобластов (желтый цвет) в области задней кардинальной вены (PCV)

Следуя по пути спецификации в лимфатические эндотелиальные клетки, Prox1-позитивные LEC отпочковываются от кардинальной вены для формирования примитивных лимфатических мешков. Таким же образом, т.е. примерно на стадии 36 hpf, у *Zebrafish* лимфатические предшественники отпочковываются от кардинальной вены в сторону горизонтальной мышечной перегородки для образования парахордальных клеток (*parachordal cells*, PACs), являющихся цепочкой поверхностно расположенных продолговатых клеток, рассматриваемых в настоящее время как эквиваленты первичных лимфатических мешков у млекопитающих [12, 16, 17] (рис. 3).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ЛЕЖАЩИЕ В ОСНОВЕ ПРОЦЕССОВ ЗАКЛАДКИ И РАЗВИТИЯ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Несмотря на важность первичных артерий и вен как первоначальных источников для фор-

мирования лимфатической системы, им посвящено относительно небольшое количество исследований. Причина тому – большая техническая сложность наблюдать их *in vivo*. Тем не менее, обнаружение транскрипционных факторов и маркеров, относящихся к эндотелию лимфатических сосудов, позволило значительно продвинуться в сфере изучения процессов происхождения лимфатической системы.

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ СПЕЦИФИКАЦИИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Процесс специализации лимфатических клеток требует четкой пространственно-временной координации экспрессии тех или иных генов (рис. 4).

С помощью исследований, обеспечивающих нокаут (knockout, KO) и нокдаун (knockdown, KD) определенных генов у мышей и *Zebrafish*, были выявлены некоторые ключевые транс-

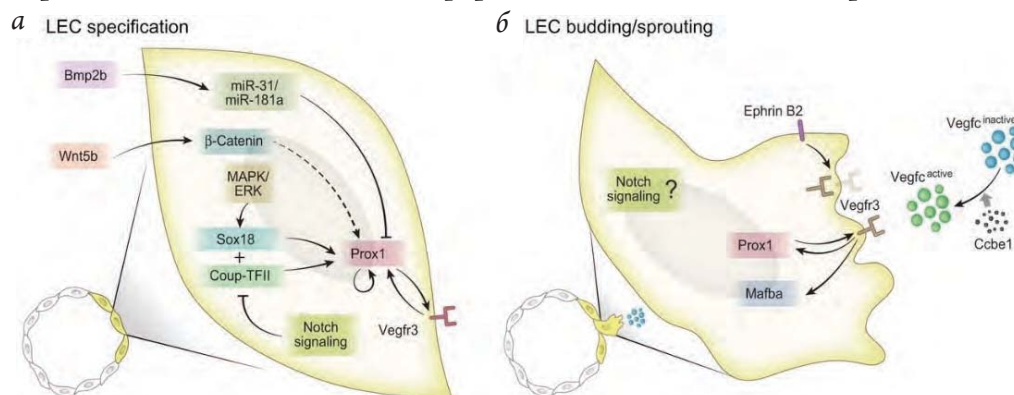


Рис. 4. Сигнальные пути и молекулярные механизмы контроля лимфатической спецификации и спрутинга лимфатических сосудов [2]. Prox1 – ключевой транскрипционный фактор в эмбриологии лимфатической системы (а). Его экспрессия регулируется транскрипционными факторами Sox18 и Coup-TFII, а также косвенно – Wnt5b или Bmp2b. Сигнальный путь Notch – негативный регулятор спецификации LEC. В дальнейшем, после спецификации LEC, эти лимфатические эндотелиальные клетки мигрируют в соответствии с Vegfc и в зависимости от уровня Vegfr3 (б). Роль Notch сигнального пути остается неясной

крипционные факторы, которые определяют «судьбу» клеток для их спецификации по пути LEC.

Prox1 (*prospero-related homeobox gene 1*) – первый обнаруженный ген, непосредственно влияющий на спецификацию LEC и определяющий ее правильное развитие. У *Prox1*-нокаутированных мышей определялось недостаточное количество лимфатических мешков и лимфатических сосудов [19]. Такие мыши умирали вскоре после рождения из-за множественных дефектов развития. В исследованиях, в которых нокаут гена осуществлялся только в эндотелиальных клетках, также наблюдались дефекты развития лимфатической системы и высокая постнатальная смертность [21]. В свою очередь, гиперэкспрессия гена *Prox1* проявлялась в достаточном уровне специализации LEC как *in vitro* [22], так и *in vivo* [23]. В мышинных эмбрионах экспрессия *Prox1* проявляется в виде ограниченной популяции эндотелиальных клеток в области кардинальной вены на стадии E9.5 [19, 24]. Хотя большинство *Prox1*-позитивных эндотелиальных клеток отпочковывается от кардинальной вены для того, чтобы дать рост примитивным лимфатическим мешкам, небольшая их популяция остается в кардинальной вене для формирования лимфовенозных клапанов [25].

У *Zebrafish* экспрессия *Prox1a* – одного из ортологов (генов, имеющих общего предка и выполняющих схожую функцию) гена *Prox1* у млекопитающих – обнаруживается в передней кардинальной вене на стадии 22–24 hpf [18] и в более дорзальных позициях на стадии около 30 hpf [17]. *Prox1a* – позитивные клетки в дальнейшем делятся и отпочковываются для формирования паракордальных клеток (PACs), будущих строительных блоков лимфатической системы рыб [12, 26, 27]. Нокдаун гена *Prox1a* (с использованием ATG антисмысловых морфолино-олигонуклеотидов) приводит к снижению количества паракордальных клеток и дефектам грудного протока [12]. Эмбрионы *Zebrafish* также экспрессируют *Prox1b* – еще один ортолог гена *Prox1* млекопитающих, однако его роль остается спорной. Некоторые исследователи утверждают, что этот ген наблюдается в матричной РНК эндотелиальных клеток задней кардинальной вены на стадии около 48 hpf и ответственен за венозный спрутинг [28].

Вдобавок к гену *Prox1*, еще до его появления на стадии E9.5, в дорзолатеральной субпопуляции эндотелиальных клеток в передней кардинальной вене обнаруживается транскрипционный фактор *Sox18* [29]. Ген *Sox18* индуцирует экспрессию *Prox1* в этой же субпопуляции

венозных эндотелиальных клеток [30, 31]. Потеря этого гена у некоторых линий мышей приводит к тотальному отеку подкожно-жировой клетчатки, что подчеркивает его роль в формировании лимфатической системы [29]. У *Zebrafish* ген *Sox18* можно обнаружить на всем протяжении кардинальной вены, а также в дорзальной аорте [32, 33].

Дополнительный транскрипционный фактор, необходимый для лимфатической спецификации эндотелиальных клеток – *COUP transcription factor 2* (*COUP-TFII*), также известный как *Nr2f2*. *COUP-TFII*, который впервые экспрессируется в кардинальной вене мышинных эмбрионов на стадии E8.5; показал свою способность индуцировать развитие клеток по «венозному» пути, ингибируя путь «артериальный» [34]. Ролью этого гена является поддержание экспрессии *Prox1* на самых ранних стадиях спецификации и дифференциации LEC [25, 35].

ВНЕШНИЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ СПЕЦИФИКАЦИЮ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПО ЛИМФАТИЧЕСКОМУ ПУТИ

В то время как внутренний каскад реакций (транскрипционный контроль), определяющий спецификацию субпопуляции эндотелиальных клеток кардинальной вены по пути LEC, достаточно хорошо изучен, информации об экзогенных влияниях на этот процесс довольно мало. К настоящему времени в нескольких исследованиях доказано экзогенное влияние на этот процесс костного морфогенного протеина (bone morphogenic protein, BMP), сигнальных путей Wnt, Notch и васкулярного эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) (см. рис. 3).

Как и для многих других процессов спецификации в период эмбриогенеза [36, 37], BMP и Wnt вовлечены в процессы спецификации лимфатической. Члены семейства белков BMP в экспериментах *in vivo* показали себя как репрессоры формирования лимфатической системы [38–40]. У *Zebrafish* повышение регуляции белком *Bmp2b* на стадии 25–26 hpf индуцирует эктопический венозный спрутинг, в то время как искусственная экспрессия *Noggin3*, естественного эндогенного ингибитора BMP сигнального пути, приводила в конечном итоге к нарушению формирования каудального венозного сплетения [41]. Также интересными являются последние открытия, указывающие на индукцию белком *Bmp2b* венозной дифференциации через активацию вышеуказанного пути B-catenin/Coup-TFII [42].

Вдобавок к своей роли мощного индуктора спецификации клеток по «венозному» пути, *Bmp2b* оказывает негативную модуляцию на спецификацию по «лимфатическому» пути у *Zebrafish* путем ингибирования экспрессии *Prox1a* [38]. В свою очередь, гиперрегуляция *Bmp2b* у *Zebrafish* приводит к снижению экспрессии *Prox1a* в определенных субпопуляциях эндотелиальных клеток, что свидетельствует, по нашему мнению, об очевидно негативном влиянии *Bmp2b* на спецификацию ЛЕС. Несмотря на то, что эти данные были получены учеными на более поздних стадиях развития *Zebrafish*, позднее чем общепринятые рамки спецификации ЛЕС (22-36 hpf) [17, 18], они могут свидетельствовать только о более негативном влиянии *Bmp2b* на поддержание спецификации ЛЕС и, в меньшей степени, – на индукцию этой спецификации.

Вместе с тем, в ряде исследований, в противовес вышеописанной модели у *Zebrafish*, семейству белков BMP отводят совершенно противоположную роль [43]. Используя методику нокадауна гена, приводящую к снижению регуляции белков *Bmp2a*, *Bmp2b*, *Bmp1aa*, *Bmp1ab* и *Smad5* – естественного медиатора BMP-сигнального пути, – исследователи обнаружили грубые дефекты лимфатической системы (агенезия различных участков), природу которых объяснить пока не представляется возможным.

Роль BMP-сигнального пути была также проанализирована у мышей, в результате чего было определена негативная роль *Bmp9* (фенотип, аналогичный *Bmp2b* у *Zebrafish*) на развитие лимфатической системы [39, 40]. Нокаут гена *Bmp9* приводил к расширению дермальных лимфатических сосудов на стадии развития E15.5, вызванному избыточной повышенной пролиферацией ЛЕС [40]. К тому же у новорожденных мышей с нокаутированным геном *Bmp9* наблюдалось повышение числа ЛЕС в брыжейке кишечника, приводящее к увеличению в размерах коллекторных лимфатических сосудов [39].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ВЕНОЗНЫЙ СПРУТИНГ И КЛЕТОЧНУЮ МИГРАЦИЮ

За спецификацией ЛЕС всегда следует их миграция в соответствие с градиентом белка *Vegfc* [44]. Соответственно, у мышей и *Zebrafish* с дефицитом белка *Vegfc* часто наблюдаются гипоплазия лимфатических сосудов и лимфедема [12, 13, 44–46]. *Vegfr3* (также известный, как *Flt4*) [47] – основной рецептор для *Vegfc*, и его активация обеспечивает пролиферацию

ЛЕС, их миграцию и выживание [48]. Во время процесса всего эмбрионального развития *Vegfr3* экспрессируется артериальными, венозными и лимфатическими эндотелиальными клетками как у мышей [47, 49], так и у *Zebrafish* [50–52], что крайне важно для ремоделирования всей сосудистой системы [53].

Мыши, у которых наблюдается дефицит функционального *Vegfr3*, умирают на стадии E10,5 эмбрионального развития, еще до появления первых лимфатических сосудов [53], в то время как гетерозиготы по гену *Vegfr3* выживают, но страдают от грубых дефектов развития лимфатической системы (агенезия участков) [54]. У *Zebrafish* мутации в гене *Vegfr3* приводят к изолированным дефектам лимфатической системы, без влияния на спрутинг артерий и вен [55]. Последние исследования также подтверждают наличие ранее предположенной положительной обратной связи между уровнем *Vegfr3* и *Prox1* [56]. Согласно этим данным, *Vegfc*-сигнальный путь оказывает влияние на количество предшественников ЛЕС в задней кардинальной вене у эмбрионов *Zebrafish* [17].

Вдобавок к уже определенной роли *Vegfc* в процессе спрутинга ЛЕС, этот сигнальный путь оказывает влияние на уровень *Maiba* – транскрипционного фактора, участвующего в развитии лимфатической системы у *Zebrafish* [57]. Кроме того, указывается на влияние *Maiba* на миграцию ЛЕС и их дальнейший спрутинг из задней кардинальной вены [57]. *Maiba* также важен в спрутинге ЛЕС у мышей [58].

Активность *Vegfc* регулируется белком *Csbe1* (collagen and calcium binding EGF domains 1), необходимым для правильного развития лимфатической системы, как у *Zebrafish* [26], так и у мышей [59]. Мутации белка *CSBE1* у людей приводили к первичной генерализованной дисплазии лимфатических сосудов [60], что подчеркивает эволюционную связь между разными видами позвоночных в развитии лимфатической системы. У мышей *Csbe1* модулирует активность *Vegfc* через связь *Csbe1* с экстрацеллюлярным матриксом (Extracellular matrix, ECM) [59]. ECM-связанный *Csbe1* усиливает процессинг *Vegfc*, трансформируя его с длинноцепочного *Vegfc* в другую, крайне активную форму.

Значение Notch-сигнального пути в спрутинге ЛЕС также изучалось последние годы. С одной стороны, супрессия Notch-пути его специфическим лигандом Delta-like 4 (*Dll4-fc*) индуцировала спрутинг ЛЕС *in vitro* и *in vivo* [61]. Более того, у Notch1-нокаутированных мышей наблюдался усиленный спрутинг ЛЕС и расширенные лимфатические сосуды [62]. С другой стороны, блокировка Notch1/*Dll4*-пути

с помощью специальных антител в период пост-натального лимфангиогенеза у мышей приводила к снижению плотности лимфатических сосудов [63]. Аналогично, нокдаун Dll4 или его рецепторов Notch1b и Notch6 у *Zebrafish*, а также блокировка этих рецепторов фармакологическими агентами, приводили к снижению числа пара-

хордальных клеток (РАС) – прообраза лимфатической системы у позвоночных [64].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Scallan J. P., Zawieja S.D., Castorena - Gonzalez J.A., Davis M.J. Lymphatic pumping: mechanics, mechanisms and malfunction. *The Journal of Physiology*, 2016, 594(20), 5749–5768.
- Semo J., Nicenboim J., Yaniv K. Development of the lymphatic system: new questions and paradigms. *Development*, 2016, 143(6), 924–935.
- Engeset A., Olszewski W., Jaeger P.M., Sokolowski J., Theodorsen L. Twenty - Four Hour Variation in Flow and Composition of Leg Lymph in Normal Men. *Acta Physiologica*, 1977. 99(2), 140-148.
- Smith R.O. Lymphatic contractility: a possible intrinsic mechanism of lymphatic vessels for the transport of lymph. *Journal of Experimental Medicine*, 1949.90(5), 497–509.
- Gashev A.A., Davis M.J., Delp M.D., Zawieja D.C. Regional variations of contractile activity in isolated rat lymphatics. *Microcirculation*, 2004. 11(6), 477–492.
- Davis M.J., Scallan J.P., Wolpers J.H., Muthuchamy M., Gashev A.A., Zawieja D.C. Intrinsic increase in lymphangion muscle contractility in response to elevated afterload. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2012. 303(7), H795-H808.
- Gashev A.A., Davis M.J., Zawieja D.C. Inhibition of the active lymph pump by flow in rat mesenteric lymphatics and thoracic duct. *The Journal of Physiology*, 2002. 540(3), 1023-1037.
- Zawieja D.C., von der Weid P.Y., Gashev A.A. Microlymphatic biology. 2008. In *Microcirculation*. pp. 125-158.
- Zawieja D.C., Davis K.L., Schuster R., Hinds W.M., Granger H.J. Distribution, propagation, and coordination of contractile activity in lymphatics. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1993. 264(4), H1283-H1291.
- Ikomi F., Kawai Y., Ohhashi T. Recent advance in lymph dynamic analysis in lymphatics and lymph nodes. *Annals of Vascular Diseases*, 2012. 5(3), 258-268.
- Ny A., Koch M., Schneider M., Neven E., Tong R. T., Maity S., Terclavers S. A genetic *Xenopus laevis* tadpole model to study lymphangiogenesis. *Nature Medicine*, 2005. 11(9), 998.
- Yaniv K., Isogai S., Castranova D., Dye L., Hitomi J., Weinstein B. M. Live imaging of lymphatic development in the zebrafish. *Nature Medicine*, 2006. 12(6), 711.
- Küchler A.M., Gjini E., Peterson-Maduro J., Cancilla B., Wolburg H., Schulte-Merker S. Development of the zebrafish lymphatic system requires VEGFC signaling. *Current Biology*, 2006. 16(12), 1244-1248.
- Tilney N.L. Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat. *Journal of Anatomy*, 1971. 109(Pt 3), 369.
- Walls J.R., Coultas L., Rossant J., Henkelman R.M. Three-dimensional analysis of vascular development in the mouse embryo. *PLoS One*, 2008. 3(8), e2853.
- Isogai S., Lawson N. D., Torrealday S., Horiguchi M., & Weinstein B.M. Angiogenic network formation in the developing vertebrate trunk. *Development*, 2003. 130(21), 5281-5290.
- Koltowska K., Lagendijk A.K., Pichol-Thievent C., Fischer J.C., Francois M., Ober E.A., Hogan B.M. Vegfc regulates bipotential precursor division and Prox1 expression to promote lymphatic identity in zebrafish. *Cell Reports*, 2015. 13(9), 1828-1841.
- Nicenboim J., Malkinson G., Lupo T., Asaf L., Sela Y., Mayseless O., Jerafi-Vider A. Lymphatic vessels arise from specialized angioblasts within a venous niche. *Nature*, 2015. 522(7554), 56.
- Wigle J. T., Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell*, 1999. 98(6), 769-778.
- Yang Y., García-Verdugo J.M., Soriano-Navarro M., Srinivasan R.S., Scallan J.P., Singh M.K., Oliver G. Lymphatic endothelial progenitors bud from the cardinal vein and intersomitic vessels in mammalian embryos. *Blood*, 2012. 120(11), 2340-2348.
- Harvey N.L., Srinivasan R.S., Dillard M.E., Johnson N.C., Witte M.H., Boyd K., Oliver G. Lymphatic vascular defects promoted by Prox1 haploinsufficiency cause adult-onset obesity. *Nature Genetics*, 2005. 37(10), 1072.
- Hong Y.K., Harvey N., Noh Y.H., Schacht V., Hirakawa S., Detmar M., Oliver G. Prox1 is a master control gene in the program specifying lymphatic endothelial cell fate. *Developmental Dynamics*, 2002. 225(3), 351-357.

23. Kim H., Nguyen V.P., Petrova T.V., Cruz M., Alitalo K., Dumont D.J. Embryonic vascular endothelial cells are malleable to reprogramming via *Prox1* to a lymphatic gene signature. *BMC Developmental Biology*, 2010. 10(1), 72.
24. Srinivasan R.S., Dillard M.E., Lagutin O.V., Lin F.J., Tsai S., Tsai M.J., Oliver G. Lineage tracing demonstrates the venous origin of the mammalian lymphatic vasculature. *Genes & Development*, 2007. 21(19), 2422-2432.
25. Srinivasan R.S., Oliver G. *Prox1* dosage controls the number of lymphatic endothelial cell progenitors and the formation of the lymphovenous valves. *Genes & Development*, 2011. 25(20), 2187-2197.
26. Hogan B.M., Bos F.L., Bussmann J., Witte M., Chi N. C., Duckers H.J., Schulte-Merker S. *Ccbe1* is required for embryonic lymphangiogenesis and venous sprouting. *Nature Genetics*, 2009. 41(4), 396.
27. Lim A.H., Suli A., Yaniv K., Weinstein B., Li D.Y., Chien C.B. Motoneurons are essential for vascular path-finding. *Development*, 2011. 138(17), 3847-3857.
28. Del Giacco L., Pistocchi A., Ghilardi A. *Prox1b* Activity is essential in zebrafish lymphangiogenesis. *PLoS One*, 2010. 5(10), e13170.
29. François M., Caprini A., Hosking B., Orsenigo F., Wilhelm D., Browne C., Davidson T. *Sox18* induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature*, 2008. 456(7222), 643.
30. Deng Y., Atri D., Eichmann A., Simons M. Endothelial ERK signaling controls lymphatic fate specification. *The Journal of Clinical Investigation*, 2013. 123(3), 1202-1215.
31. Duong T., Koltowska K., Pichol-Thievent C., Le Guen L., Fontaine F., Smith K.A., Koopman P. VEGFD regulates blood vascular development by modulating *SOX18* activity. *Blood*, 2014. 123(7), 1102-1112.
32. Cermenati S., Moleri S., Cimbri S., Corti P., Del Giacco L., Amodeo R., Beltrame M. *Sox18* and *Sox7* play redundant roles in vascular development. *Blood*, 2008. 111(5), 2657-2666.
33. Cermenati S., Moleri S., Neyt C., Bresciani E., Carra S., Grassini D.R., Hogan B.M. *Sox18* Genetically Interacts With *VegfC* to Regulate Lymphangiogenesis in Zebrafish Significance. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2013. 33(6), 1238-1247.
34. You L.R., Lin F.J., Lee C.T., DeMayo F.J., Tsai M.J., Tsai S.Y. Suppression of Notch signalling by the COUP-TFII transcription factor regulates vein identity. *Nature*, 2005. 435(7038), 98.
35. Srinivasan R.S., Geng X., Yang Y., Wang Y., Mukatira S., Studer M., Oliver G. The nuclear hormone receptor Coup-TFII is required for the initiation and early maintenance of *Prox1* expression in lymphatic endothelial cells. *Genes & Development*, 2010. 24(7), 696-707.
36. Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*, 2006. 127(3), 469-480.
37. Wang R.N., Green J., Wang Z., Deng Y., Qiao M., Peabody M., Idowu O. Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling in development and human diseases. *Genes & Diseases*, 2014. 1(1), 87-105.
38. Dunworth W.P., Cardona-Costa J., Bozkulak E.C., Kim J.D., Meadows S., Fischer J.C., Jin S.W. Bone morphogenetic protein 2 signaling negatively modulates lymphatic development in vertebrate embryos Novelty and Significance. *Circulation Research*, 2014. 114(1), 56-66.
39. Levet S., Ciaia D., Merdzhanova G., Mallet C., Zimmers T.A., Lee S.J., Vittet D. Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) controls lymphatic vessel maturation and valve formation. *Blood*, 2013. 122(4), 598-607.
40. Yoshimatsu Y., Lee Y.G., Akatsu Y., Taguchi L., Suzuki H.I., Cunha S.I., Oh S.P. Bone morphogenetic protein-9 inhibits lymphatic vessel formation via activin receptor-like kinase 1 during development and cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013. 110(47), 18940-18945.
41. Wiley D.M., Kim J.D., Hao J., Hong C.C., Bautch V.L., Jin S.W. Distinct signalling pathways regulate sprouting angiogenesis from the dorsal aorta and the axial vein. *Nature Cell Biology*, 2011. 13(6), 686.
42. Kashiwada T., Fukuhara S., Terai K., Tanaka T., Wakayama Y., Ando K., Gemma A. β -catenin-dependent transcription is central to Bmp-mediated formation of venous vessels. *Development*, 2015. 142(3), 497-509.
43. Kim J.D., Kim J. *Alk3/Alk3b* and *Smad5* Mediate BMP signaling during lymphatic development in Zebrafish. *Molecules and cells*, 2014. 37(3), 270.
44. Karkkainen M.J., Haiko P., Sainio K., Partanen J., Taipale J., Petrova T.V., Betsholtz C. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nature Immunology*, 2004. 5(1), 74.
45. eltsch M., Kaipainen A., Joukov V., Meng X., Lakso M., Rauvala H., Alitalo K. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science*, 1997. 276(5317), 1423-1425.
46. Kuk E., Lymboussaki A., Taira S., Kaipainen A., Jeltsch M., Joukov V., Alitalo K. VEGF-C receptor binding and pattern of expression with VEGFR-3 suggests a role in lymphatic vascular development. *Development*, 1996. 122(12), 3829-3837.

47. Kaipainen A., Korhonen J., Mustonen T., Van Hinsbergh V.W., Fang G.H., Dumont D., Alitalo K. Expression of the *fms*-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1995. 92(8), 3566-3570.
48. Mäkinen T., Veikkola T., Mustjoki S., Karpanen T., Catimel B., Nice E. C., Stacker S. A. Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF - C/D receptor VEGFR - 3. *The EMBO Journal*, 2001. 20(17), 4762-4773.
49. Tammela T., Zarkada G., Wallgard E., Murtomäki A., Suchting S., Wirzenius M., Freitas C. Blocking VEGFR-3 suppresses angiogenic sprouting and vascular network formation. *Nature*, 2008. 454(7204), 656.
50. Covassin L.D., Villefranc J.A., Kacergis M.C., Weinstein B.M., Lawson N.D. Distinct genetic interactions between multiple Vegf receptors are required for development of different blood vessel types in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006. 103(17), 6554-6559.
51. Siekmann A.F., Lawson N.D. Notch signalling limits angiogenic cell behaviour in developing zebrafish arteries. *Nature*, 2007. 445(7129), 781.
52. van Impel A., Zhao Z., Hermkens D.M., Roukens M.G., Fischer J.C., Peterson-Maduro J., Schulte-Merker S. Divergence of zebrafish and mouse lymphatic cell fate specification pathways. *Development*, 2014. 141(6), 1228-1238.
53. Dumont D.J., Jussila L., Taipale J., Lymboussaki A., Mustonen T., Pajusola K., Alitalo K. Cardiovascular failure in mouse embryos deficient in VEGF receptor-3. *Science*, 1998. 282(5390), 946-949.
54. Haiko P., Mäkinen T., Keskkitalo S., Taipale J., Karkkainen M.J., Baldwin M.E., Alitalo K. Deletion of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and VEGF-D is not equivalent to VEGF receptor 3 deletion in mouse embryos. *Molecular and Cellular Biology*, 2008. 28(15), 4843-4850.
55. Le Guen L., Karpanen T., Schulte D., Harris N. C., Koltowska K., Roukens G., Schulte-Merker S. Ccbe1 regulates Vegfc-mediated induction of Vegfr3 signaling during embryonic lymphangiogenesis. *Development*, 2014. 141(6), 1239-1249.
56. Srinivasan R.S., Escobedo N., Yang Y., Interiano A., Dillard M.E., Finkelstein D., Oliver G. The Prox1-Vegfr3 feedback loop maintains the identity and the number of lymphatic endothelial cell progenitors. *Genes & Development*, 2014. 28(19), 2175-2187.
57. Koltowska K., Paterson S., Bower N.I., Baillie G. J., Lagendijk A.K., Astin J.W., Simons C. *mafba* is a downstream transcriptional effector of Vegfc signaling essential for embryonic lymphangiogenesis in zebrafish. *Genes & Development*, 2015. 29(15), 1618-1630.
58. Dieterich L.C., Klein S., Mathelier A., Sliwa-Primorac A., Ma Q., Hong Y.K., Kawaji H. DeepCAGE transcriptomics reveal an important role of the transcription factor MAFB in the lymphatic endothelium. *Cell Reports*, 2015. 13(7), 1493-1504.
59. Bos F.L., Caunt M., Peterson-Maduro J., Planas-Paz L., Kowalski J., Karpanen T., van Es J. H. CCBE1 Is Essential for Mammalian Lymphatic Vascular Development and Enhances the Lymphangiogenic Effect of Vascular Endothelial Growth Factor-C In Vivo Novelty and Significance. *Circulation Research*, 2011. 109(5), 486-491.
60. Alders M., Hogan B.M., Gjini E., Salehi F., Al-Gazali L., Hennekam E. A., Prescott T. E. Mutations in CCBE1 cause generalized lymph vessel dysplasia in humans. *Nature genetics*, 2009. 41(12), 1272.
61. Zheng W., Tammela T., Yamamoto M., Anisimov A., Holopainen T., Kaijalainen S., Alitalo K. Notch restricts lymphatic vessel sprouting induced by vascular endothelial growth factor. *Blood*, 2011. 118(4), 1154-1162.
62. Fatima A., Culver A., Culver F., Liu T., Dietz W.H., Thomson B.R., Kume T. Murine Notch1 is required for lymphatic vascular morphogenesis during development. *Developmental Dynamics*, 2014. 243(7), 957-964.
63. Niessen K., Zhang G., Ridgway J. B., Chen H., Kolumam G., Siebel C.W., Yan M. The Notch1-Dll4 signaling pathway regulates mouse postnatal lymphatic development. *Blood*, 2011. 118(7), 1989-1997.
64. Geudens I., Herpers R., Hermans K., Segura I., De Almodovar C. R., Bussmann J., Claes F. Role of delta-like-4/Notch in the formation and wiring of the lymphatic network in zebrafish. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2010. 30(9), 1695-1702.

Поступила в редакцию 17.05.2018

Утверждена к печати 05.09.2018

Авторы:

Дудников Алексей Владимирович – председатель студенческого клуба микрохирургии АНО «НИИ микрохирургии» (г. Томск), врач-ординатор кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Байтингер Владимир Фёдорович – д-р мед. наук, профессор, президент АНО «НИИ микрохирургии» (г. Томск), профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск).

Курочкина Оксана Сергеевна – канд. мед. наук, врач пластический хирург АНО «НИИ микрохирургии» (г. Томск).

Контакты:

Дудников Алексей Владимирович

тел.: 8-923-401-8945

e-mail: ya.alex1994@yandex.ru

Conflict of interest

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this paper.

Source of financing

The study had no sponsorship.

Information about authors:

Dudnikov Alexey V., Institute of Microsurgery, Tomsk, Russian Federation; resident physician, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-7172-1441>

Baytinger Vladimir F., Dr. Med. Sci., Professor, Director of the Institute of Microsurgery, Tomsk, Russian Federation; Professor of Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-5845-588X>

Kurochkina Oksana S., Cand. Med. Sci., plastic surgeon, Institute of Microsurgery, Tomsk, Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-8615-7663>

Corresponding author:

Dudnikov Aleksey V.

Phone: +7-923-401-8945

e-mail: ya.alex1994@yandex.ru