

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ**

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ο ρόλος των λεμφικών βαλβίδων στην παθοφυσιολογία του
λεμφοιδήματος**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ

Αινείας Βόγκος

Ειδικευόμενος Χειρουργός, Α' Χειρουργική Κλινική 251 Γ.Ν.Αεροπορίας

ΑΘΗΝΑ 2021

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΛΕΜΦΙΚΩΝ ΒΑΛΒΙΔΩΝ ΣΤΗΝ
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΛΕΜΦΟΙΔΗΜΑΤΟΣ**

ΑΙΝΕΙΑΣ ΒΟΓΚΟΣ

A.M. 20191253

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Θεόδωρος Τρουπής, Καθηγητής Ανατομίας (επιβλέπων)

Βασίλειος Πρωτογέρου, Αναπληρωτής Καθηγητής Ανατομίας

Δημοσθένης Χρυσικός, Επιστημονικός Συνεργάτης Ανατομίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
Περιεχόμενα	3
Πρόλογος	4
Γενικό Μέρος	7
Εισαγωγή	7
Εμβρυολογία	8
Ανατομία και Χειρουργική Ανατομία	10
Λεμφοίδημα	15
Ειδικό Μέρος	25
Υλικά και Μέθοδος	25
Αποτελέσματα	26
Συζήτηση-Συμπεράσματα	50
Μελλοντικές Προοπτικές	51
Πίνακες	54
Βιβλιογραφία	56

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Από την παρούσα εργασία προέκυψε η δημοσίευση:

The Role Of Lymph Valves In The Pathophysiology Of Lymphedema:
Embryology And Surgical Anatomy

(υπό δημοσίευση στο περιοδικό *Lymphology*, συμμετοχή και βράβευση στο
Παγκόσμιο Λεμφολογικό Συνέδριο στην Αθήνα, Σεπ 2021)

ABSTRACT

THE ROLE OF LYMPH VALVES IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF LYMPHEDEMA:
EMBRYOLOGY AND SURGICAL ANATOMY

Authors: Vogkos A, Chrysikos D, Samolis A, Protogerou V, Troupis T.

Department of Anatomy, School of Medicine, Faculty of Health Sciences, National and
Kapodistrian University of Athens, Greece.

Objective. Many aspects in the pathophysiology of lymphedema remain enigmatic to this day. A better understanding of the disease could aid in the development of novel therapeutic approaches for patients. This review article focuses on the role of lymphatic valves in the pathogenesis and pathophysiology of lymphedema, taking into account the exact molecular mechanisms that take place with the deletion of certain genes and transcription factors, as most of them have partially been elucidated during the last years. *Material-Method.* Our search strategy was conducted in the Medline bibliographical database and yielded 20 articles as a final result. *Results.* Many genes and molecules have been studied in recent years as to their affiliation to lymphedema formation, in both mouse model studies and human cell cultures. One of the most recently studied groups of such molecules is the connexin family of gap-junction proteins, leading to controversial results. *Conclusion* The article offers a summary of the methods used in experimental models of both knockout mice and human cell cultures, and includes specific directions for future research in the field of lymphology.

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ τη σύντροφό μου, Τζίνα, για την ατελείωτη συμπαράσταση και υπομονή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Υπόβαθρο. Πολλές πτυχές στην παθοφυσιολογία του λεμφοιδήματος παραμένουν αινιγματικές μέχρι σήμερα. Η καλύτερη κατανόηση της νόσου θα μπορούσε να βοηθήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τους ασθενείς. *Σκοπός.* Αυτή η βιβλιογραφική ανασκόπηση επικεντρώνεται στο ρόλο των λεμφικών βαλβίδων στην παθογένεση και την παθοφυσιολογία του λεμφοιδήματος, λαμβάνοντας υπόψη τους ακριβείς μοριακούς μηχανισμούς που λαμβάνουν χώρα με τη διαγραφή ορισμένων γονιδίων και παραγόντων μεταγραφής, καθώς οι περισσότεροι από αυτούς έχουν μερικώς διευκρινιστεί τα τελευταία χρόνια. *Υλικό και μέθοδοι.* Η στρατηγική αναζήτησης διεξήχθη στη βιβλιογραφική βάση δεδομένων Medline και απέδωσε 20 άρθρα ως τελικό αποτέλεσμα. *Αποτελέσματα.* Πολλά γονίδια και μόρια έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια ως προς τη σχέση τους με το σχηματισμό του λεμφοιδήματος, τόσο σε μελέτες μοντέλων ποντικών όσο και σε καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων. Μία από τις πιο πρόσφατα μελετημένες ομάδες τέτοιων μορίων είναι η οικογένεια συνδετικών πρωτεϊνών των κυτταρικών διακένων-κοννεξίνες, οδηγώντας σε αμφιλεγόμενα αποτελέσματα. *Συμπέρασμα.* Το άρθρο προσφέρει μια σύνοψη των μεθόδων που χρησιμοποιούνται σε πειραματικά μοντέλα τόσο ποντικών όσο και καλλιεργείων ανθρώπινων κυττάρων και περιλαμβάνει συγκεκριμένες κατευθύνσεις για μελλοντική έρευνα στον τομέα της λεμφολογίας.

Λέξεις κλειδιά: λεμφοίδημα, παθοφυσιολογία, βαλβίδες

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ

Background. Many aspects in the pathophysiology of lymphedema remain enigmatic to this day. A better understanding of the disease could aid in the development of novel therapeutic approaches for patients. *Aim.* This review focuses on the role of lymphatic valves in the pathogenesis and pathophysiology of lymphedema, taking into account the exact molecular mechanisms that take place with the deletion of

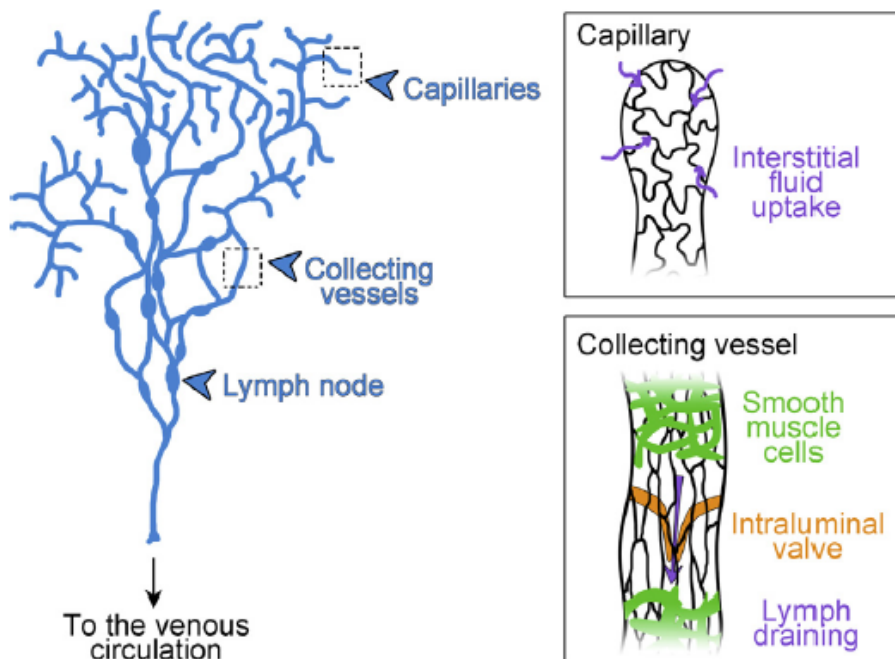
certain genes and transcription factors, as most of them have partially been elucidated during the last years. *Material and Methods.* The search strategy was conducted in the Medline bibliographical database and yielded 20 articles as a final result. *Results.* Many genes and molecules have been studied in recent years as to their affiliation to lymphedema formation, in both mouse model studies and human cell cultures. One of the most recently studied groups of such molecules is the connexin family of gap-junction proteins, leading to controversial results. *Conclusion.* The review offers a summary of the methods used in experimental models of both knockout mice and human cell cultures, and includes specific directions for future research in the field of lymphology.

Keywords: lymphedema;pathophysiology;valves

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το λεμφικό σύστημα αποτελείται από λεμφαδένες, τον σπλήνα, τον θύμο αδέν, τον μυελό των οστών, τον λεμφικό ιστό του πεπτικού συστήματος και τα λεμφικά αγγεία [1]. Παράγει κυρίως κύτταρα του ανοσιακού συστήματος, συλλέγει και μεταφέρει την περίσσεια διάμεσου υγρού και μακρομορίων από περιφερειακούς ιστούς, φιλτράρει το λεμφικό υγρό και απομακρύνει ξένα υλικά. Ξεκινά ως τυφλά λεμφικά τριχοειδή στους περιφερικούς ιστούς, συνεχίζοντας ως τα μεγαλύτερα συλλεκτικά λεμφικά αγγεία, συνδεόμενα με αλυσίδες λεμφαδένων.



Ανατομία του λεμφικού αγγειακού συστήματος. Η λέμφος αθροίζεται σε λεμφικά τριχοειδή τα οποία στερούνται βασικής μεμβράνης και έχουν ασυνεχείς κυτταρικές

συνδέσεις. Έπειτα, η λέμφος προωθείται προς τα συλλογά λεμφαγγεία, τα οποία διαθέτουν βασική μεμβράνη, περιβάλλονται από λεία μυϊκά κύτταρα και διαθέτουν ενδαυλικές βαλβίδες οι οποίες εγγυώνται τη μονόδρομη ροή της λέμφου. Μετά το φιλτράρισμά της μέσω των λεμφαδένων του λεμφικού συστήματος η λέμφος επιστρέφει στην αιματική κυκλοφορία στις φλεβώδεις γωνίες όπου τα μεγάλα λεμφικά στελέχη παροχετεύονται στη φλεβική κυκλοφορία.

Οι λεμφαδένες χρησιμεύουν ως ανοσολογικοί σταθμοί προστασίας του σώματος, προστατεύοντας από ξένα αντιγόνα. Όταν ένα μικρόβιο εισέρχεται στο σώμα, φαγοκυτταρώνεται από δενδριτικά κύτταρα και μακροφάγα, τα οποία στη συνέχεια μετακινούνται στον τοπικό λεμφαδένα μέσω ενός λεμφικού αγγείου για να παρουσιάσουν το αντιγόνο στα T-κύτταρα και τα B-κύτταρα του λεμφαδένα. Αυτή είναι η αρχή της προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης έναντι επιβλαβών αντιγόνων.

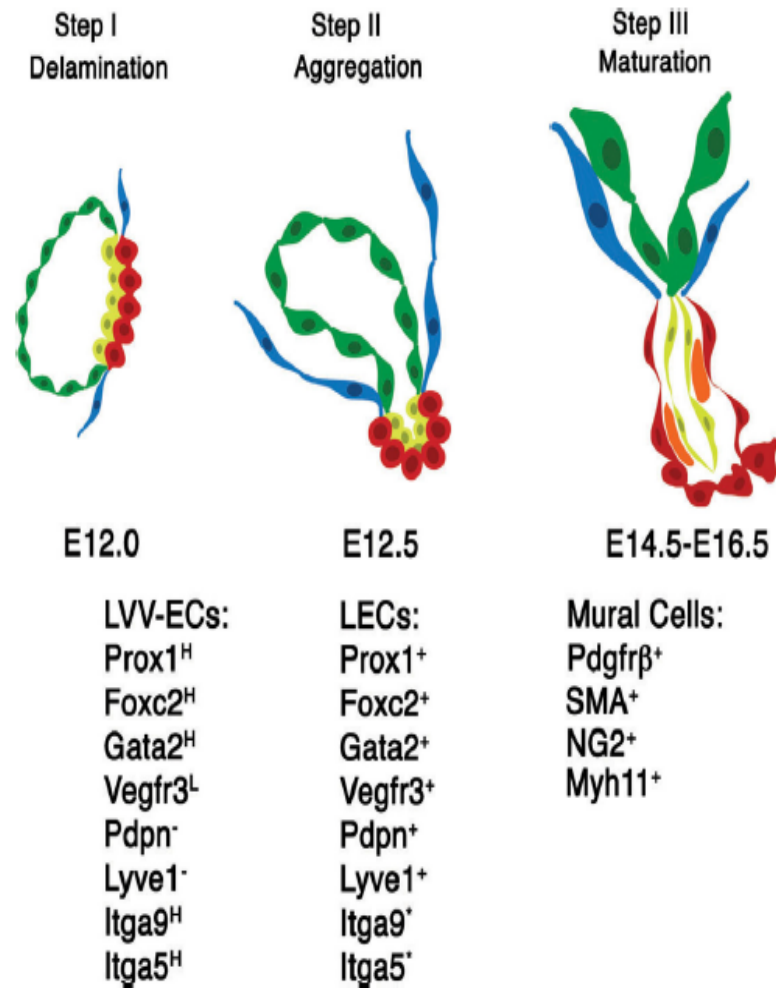
Ωστόσο, αυτή η οδός εκμεταλλεύεται επανειλημμένα, είτε από επιβλαβή βακτηρίδια, τα οποία κινούνται στο σώμα μέσω δικτύων λεμφικών αγγείων, είτε από καρκινικά κύτταρα που μεθίστανται μέσω της λεμφικής οδού.

-Εμβρυολογία

Οι πρώτες λεμφικές δομές που ονομάζονται λεμφικοί σάκοι, εμφανίζονται στο έμβρυο ηλικίας 6 έως 7 εβδομάδων, όταν το καρδιαγγειακό σύστημα είναι ήδη πλήρες και λειτουργικό [1] [2]. Η πρώτη δομή του αναπτυσσόμενου λεμφικού συστήματος είναι ο σφαγιτιδικός λεμφικός σάκος, που βρίσκεται κοντά στο σφαγιτιδικό τμήμα των καρδιακών φλεβών, ως εκ τούτου έχει προταθεί πως το λεμφικό σύστημα βλασταίνει από τις φλέβες «φυγοκεντρικά». Μια άλλη θεωρία υποδηλώνει ότι τα λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα προέρχονται από μεσεγχυματικά κύτταρα που συγχωνεύονται μαζί κεντρικά. Ορισμένες πειραματικές μελέτες υποστηρίζουν μια διπλή προέλευση του λεμφικού αγγειακού συστήματος.

Πολλοί μεταγραφικοί και αυξητικοί παράγοντες έχει βρεθεί ότι είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξη των λεμφικών ενδοθηλιακών κυττάρων και τη ρύθμιση της λεμφαγγειογένεσης. Ο μεταγραφικός παράγοντας Prox1 είναι σημαντικός τόσο για την αρχική δημιουργία όσο και για τη συντήρηση των λεμφικών αγγείων. Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας C, ο VEGF-C, προκαλεί περαιτέρω

ανάπτυξη των αρχικά διαφοροποιημένων πρόιμων λεμφικών αγγείων, οδηγώντας σε λεμφαγγειογένεση.



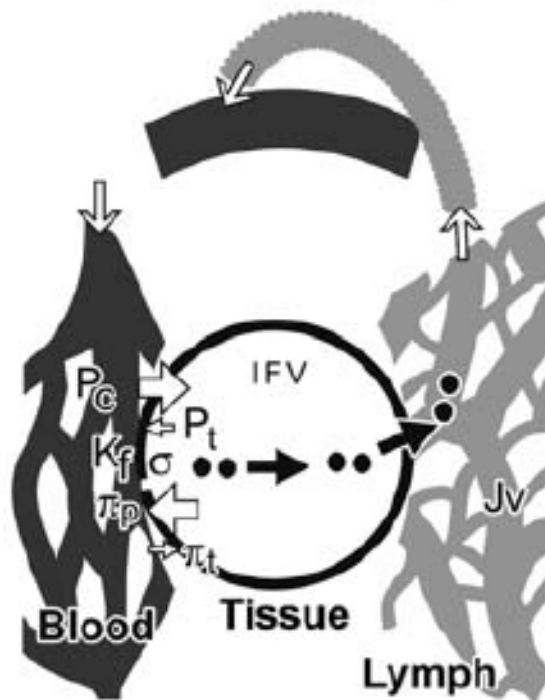
Βήμα 1^ο αυλοποίηση, Βήμα 2^ο συνάθροιση, Βήμα 3^ο ωρίμανση

Σύνοψη των μορφολογικών, κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών που ελέγχουν τη μορφογένεση των λεμφικών βαλβίδων. Η μορφογένεση αυτή γίνεται σε διαδοχικά στάδια. 1. Αρχικά, τα λεμφικά ενδοθηλιακά αγγεία διαφοροποιούνται από τα φλεβικά. 2. Έπειτα προσαρτώνται στη φλέβα. 3. Στη συνέχεια τοιχωματικά κύτταρα επιστρατεύονται μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων του λεμφαγγείου και των ενδοθηλιακών κυττάρων των βαλβίδων.

-Ανατομία και Χειρουργική Ανατομία

Το λεμφικό αγγειακό σύστημα αποτελείται από ένα διακλαδισμένο δίκτυο τριχοειδών αγγείων και συλλεκτικών λεμφικών αγγείων, που ανευρίσκονται στα περισσότερα όργανα [3]. Τα αρχικά λεμφικά τριχοειδή είναι τυφλά. Αυτά παροχετεύουν σε λεμφαγγεία προ-συλλεκτικά και συλλεκτικά, τα οποία με τη σειρά τους παροχετεύουν στον μείζωνα θωρακικό πόρο ή τον δεξιό λεμφικό κορμό (επικουρικός θωρακικός πόρος). Τελικά η λέμφος επιστρέφει στην κυκλοφορία του αίματος μέσω των συνδέσεων των δύο συστημάτων στην φλεβώδη γωνία, με ρυθμό περίπου τρία λίτρα την ημέρα.

Normal Lymph Formation = Lymph Absorption

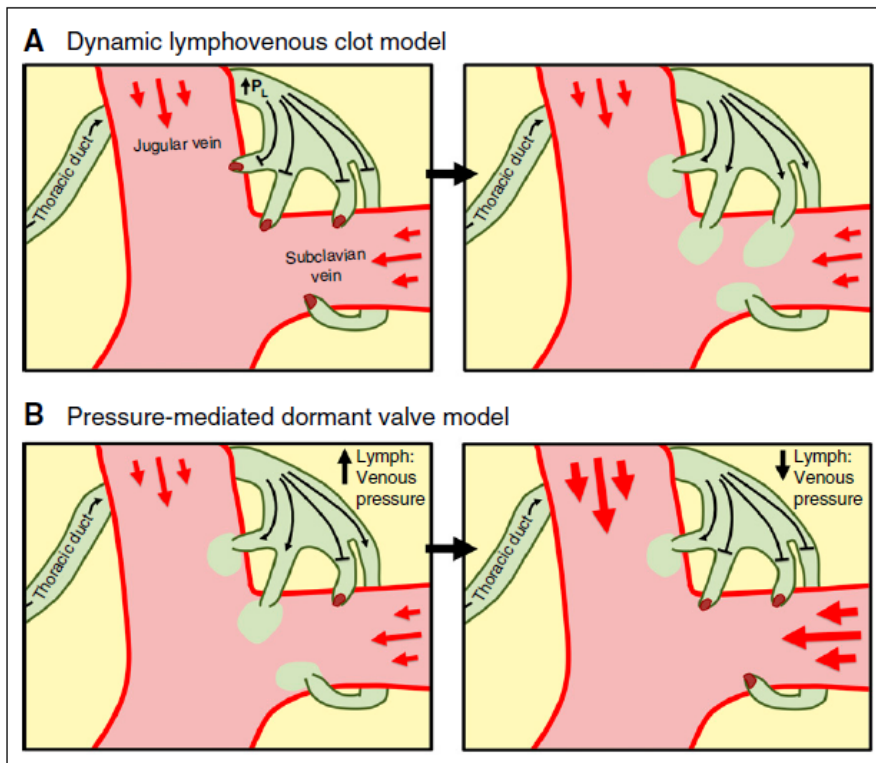


$$K_f[(P_c - P_t) - \sigma(\pi_p - \pi_t)] = J_v$$

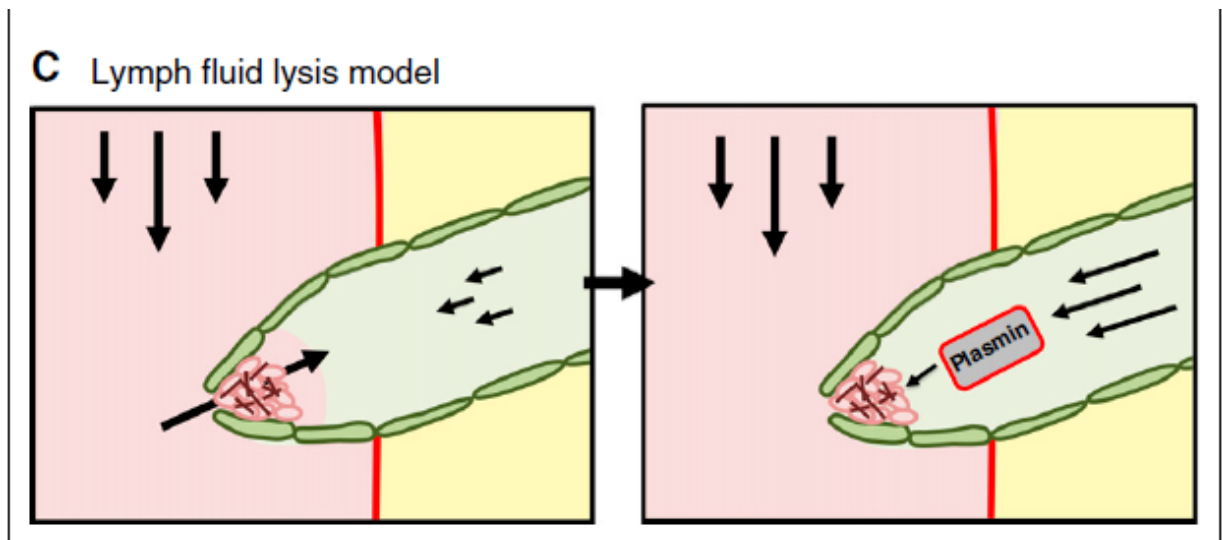
Σχηματικό διάγραμμα των πρωτογενών παραγόντων που ρυθμίζουν τη ροή του διαμεσοκυττάριου υγρού (δημιουργία λέμφου) και της σημαντικότητας της λεμφικής ροής (απορρόφηση λέμφου) στη διατήρηση σταθερού όγκου διαμεσοκυττάριου υγρού,

και άρα ισορροπίας μεταξύ εξωκυττάριου υγρού και αίματος. Υπό φυσιολογικές συνθήκες η παραγωγή και η απορρόφηση της λέμφου βρίσκονται σε ισορροπία. Σε καταστάσεις οιδήματος ή συλλογής η παραγωγή λέμφου υπερτερεί, είτε λόγω αυξημένης παραγωγής, είτε λόγω μειωμένης απορρόφησης (κλασσικό λεμφοίδημα). Και οι δύο παθολογικοί μηχανισμοί μπορεί να είναι ενεργοί στον καρκίνο. Η θεραπεία αποσκοπεί στην αποκατάσταση αυτής της ισορροπίας.

Τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν επίσης ενεργό ρόλο στην κυκλοφορία της λέμφου μέσω ενός πρόσφατα μελετημένου μηχανισμού [4]. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται αλληλεπιδρώντας με λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα στη λεμφο-φλεβική ένωση, τη θέση όπου το λεμφικό σύστημα αποστραγγίζεται στο αγγειακό σύστημα του αίματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός βύσματος αιμοπεταλίων που, μαζί με τη λεμφο-φλεβική βαλβίδα, εμποδίζει το αίμα να εισέλθει στη λεμφική κυκλοφορία. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως «λεμφο-φλεβική αιμόσταση» (lymphovenous hemostasis) και προκαλείται από την ενεργοποίηση των υποδοχέων CLEC-2 των αιμοπεταλίων από τον διαμεμβρανικό συνδετικό παράγοντα ποδοπλανίνη που εκφράζεται από τα λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Το φαινόμενο απαιτείται για την κανονική ροή της λέμφου. Τα ποντίκια με ανεπάρκεια λεμφο-φλεβικής αιμόστασης παρουσιάζουν λεμφοίδημα και μερικές φορές χυλοθώρακα, φαινότυπους ενδεικτικούς λεμφικής ανεπάρκειας. Παραδόξως, η απώλεια της λεμφικής ροής σε αυτούς τους ποντικούς προκαλεί ελαττώματα στην ωρίμανση των συλλεκτικών λεμφικών αγγείων και στο σχηματισμό των λεμφικών βαλβίδων, αποδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο της λεμφικής ροής στην επαγωγή ενδοθηλιακών κυτταρικών σηματοδοτήσεων κατά την ανάπτυξη των λεμφαγγείων.



Μοντέλο της δυναμικής μεταξύ λεμφικής και φλεβικής ροής. (Α) Λεμφοφλεβικός θρόμβος μπλοκάρει την παλίνδρομη αιματική ροή και αυξάνει τη λεμφική πίεση έως ότου ο θρόμβος λυθεί και μια ποσότητα φόρτισης λέμφου διέλθει στην αιματική κυκλοφορία. (Β) Λεμφοφλεβικός θρόμβος σε πολλαπλές λεμφοφλεβικές εκβολές αναστέλλει την παλίνδρομη και την ορθόδρομη ροή λέμφου, επιτρέπει όμως τη ροή διαμέσου των υπολοίπων ανοιχτών εκβολών. (Γ) Η δημιουργία λεμφοβλεβικού θρόμβου συντελείται όταν η εκβολή βρίσκεται σε περιβάλλον αίματος, ο θρόμβος λύεται όταν έρχεται σε επαφή με λέμφο η οποία προάγει την ινωδόλυση και την ορθόδρομη πορεία της λέμφου.



Μοντέλο της λεμφικής λύσης του θρόμβου.

Ιστολογικά, τα λεμφικά τριχοειδή έχουν ασυνεχή βασική μεμβράνη και δεν έχουν περικύτταρα. Τα συλλεκτικά λεμφαγγεία από την άλλη πλευρά καλύπτονται από συνεχή βασική μεμβράνη και λεία μυϊκά κύτταρα. Αυτά τα αγγεία διαθέτουν επίσης ενδοαυλικές βαλβίδες. Αυτές οι λεμφικές βαλβίδες αποτελούνται από δύο ημισελήνοειδή φύλλα που καλύπτονται από εξειδικευμένο επιθήλιο και είναι απαραίτητα για την μονοκατευθυντική ροή της λέμφου. Όταν εφαρμόζεται υψηλή πίεση προς τα πάνω οι λεμφικές βαλβίδες ανοίγουν και επιτρέπουν στη λέμφο να προωθείται προς τα εμπρός, αλλά όταν η λέμφο ρέει προς τα πίσω, τα δύο φύλλα ωθούνται στην κλειστή θέση κλείνοντας τη βαλβίδα και δεν επιτρέπουν την παλίνδρομη ροή της λέμφου. Η προώθηση της λέμφου επομένως ρυθμίζεται από ρυθμικές δυνάμεις συμπίεσης των λεμφικών αγγείων από τους γύρω ιστούς και τις ενδογενείς δυνάμεις τύπου αντλίας που δημιουργούνται από τις συστολές των λείων μυϊκών κυττάρων των λεμφαγγείων.

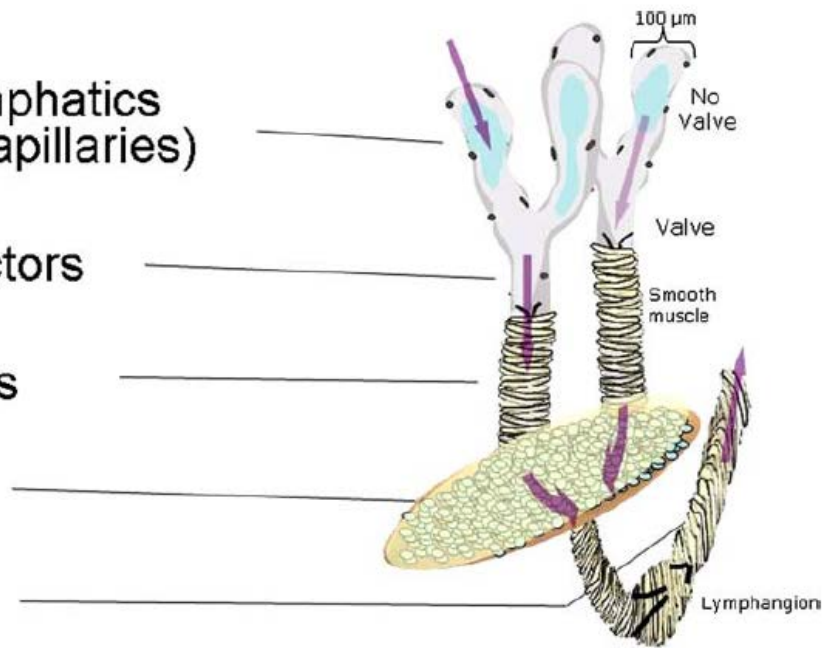
- Initial lymphatics (lymph capillaries)

- Precollectors

- Collectors

- Node

- Trunks



Αρχικά λεμφικά αγγεία (λεμφικά τριχοειδή)

απουσία βαλβίδων

Προ-συλλογή λεμφαγγεία

βαλβίδες

Συλλογή λεμφαγγεία

λεία μυϊκά κύτταρα

Λεμφαδένας

Μεγάλα λεμφικά στελέχη

Οι λεμφαδένες είναι δομημένοι σε θυλάκια που περιέχουν Β και Τ λεμφοκύτταρα. Ο λεμφαδένας υποδέχεται αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, όπως τα δενδριτικά κύτταρα, από περιφερειακούς ιστούς από το προσαγωγό λεμφαγγείο και εξάγει μέσω του απαγωγού λεμφαγγείου παράγοντες χυμικής απόκρισης του ανοσοποιητικού καθώς και δρόντα-εκτελεστικά κύτταρα του ανοσιακού συστήματος στην κυκλοφορία του αίματος.

Τέλος, τα λεμφικά αγγεία είναι σημαντικά στον μεταβολισμό των λιπιδίων, καθώς τα λεμφικά τριχοειδή στις λάχνες του λεπτού εντέρου προσλαμβάνουν τα λιπίδια της διατροφής με τη μορφή χυλομικρών και επίσης τις λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D, Ε και Κ και τα μεταφέρουν σε την κυκλοφορία του αίματος μέσω του μείζονος θωρακικού πόρου.

-Λεμφοίδημα

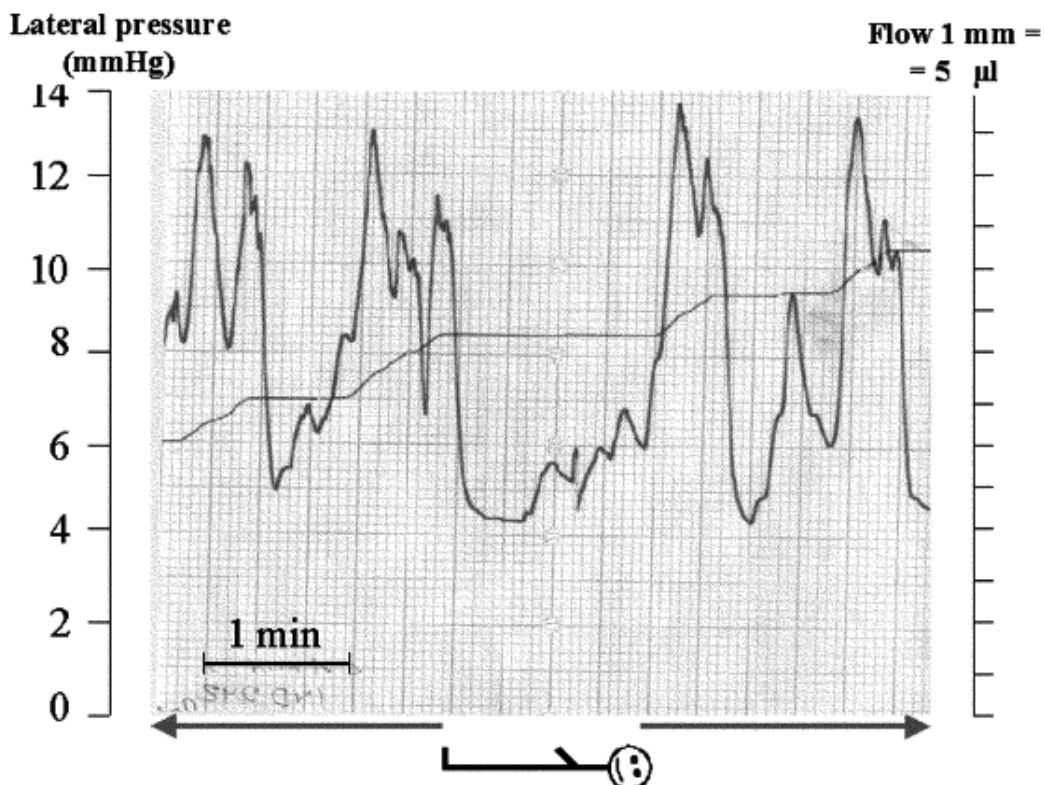
Η δυσλειτουργία του λεμφικού συστήματος θα οδηγήσει στο χρόνια λεμφοίδημα, χαρακτηριζόμενο από διόγκωση της πάσχουσας περιοχής, η οποία συνήθως είναι τα κάτω άκρα[1].



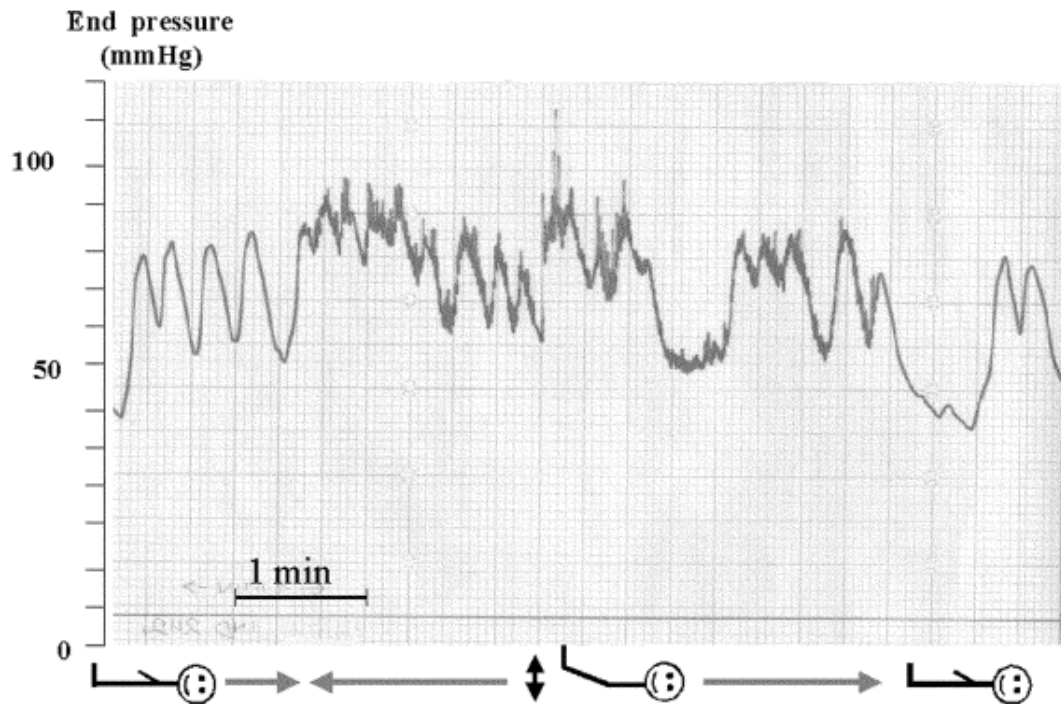
Καθώς η κατάσταση εξελίσσεται δημιουργείται ίνωση στο άκρο και, στα τελικά στάδια, γίνεται πλήρης αντικατάσταση των φυσιολογικών ιστών του άκρου από

ινώδη και λιπώδη ιστό. Αυτή η κατάσταση αφήνει τον ασθενή ευάλωτο σε λοιμώξεις μαλακών μορίων όπως το ερυσίπελας, καθώς το εξαγγειούμενο πλούσιο σε πρωτεΐνη υγρό επιτρέπει τη μικροβιακή ανάπτυξη ,ενώ επίσης η ανοσιακή απόκριση του οργανισμού είναι μειωμένη. Πολλοί ασθενείς αναπτύσσουν επίσης χρόνια νευροπαθητικό πόνο. Ο μηχανισμός σε αυτό το στάδιο είναι η υπερφόρτωση των ελαττωματικών λεμφικών αγγείων με περίσσεια της συνεχώς παραγόμενης λέμφου που προκαλεί διαστολή των αγγείων με επακόλουθη ανεπάρκεια των μίας κατεύθυνσης βαλβίδων. Στη συνέχεια παρατηρείται ανάδρομη ροή [5] όταν ασκείται εξωτερική πίεση σε εγγύς ιστούς. Τα διατεταμένα λεμφικά αγγεία συστέλλονται με συνεχή τρόπο, ωστόσο οι πιέσεις που δημιουργούνται είναι ανεπαρκείς για την προώθηση της λέμφου.

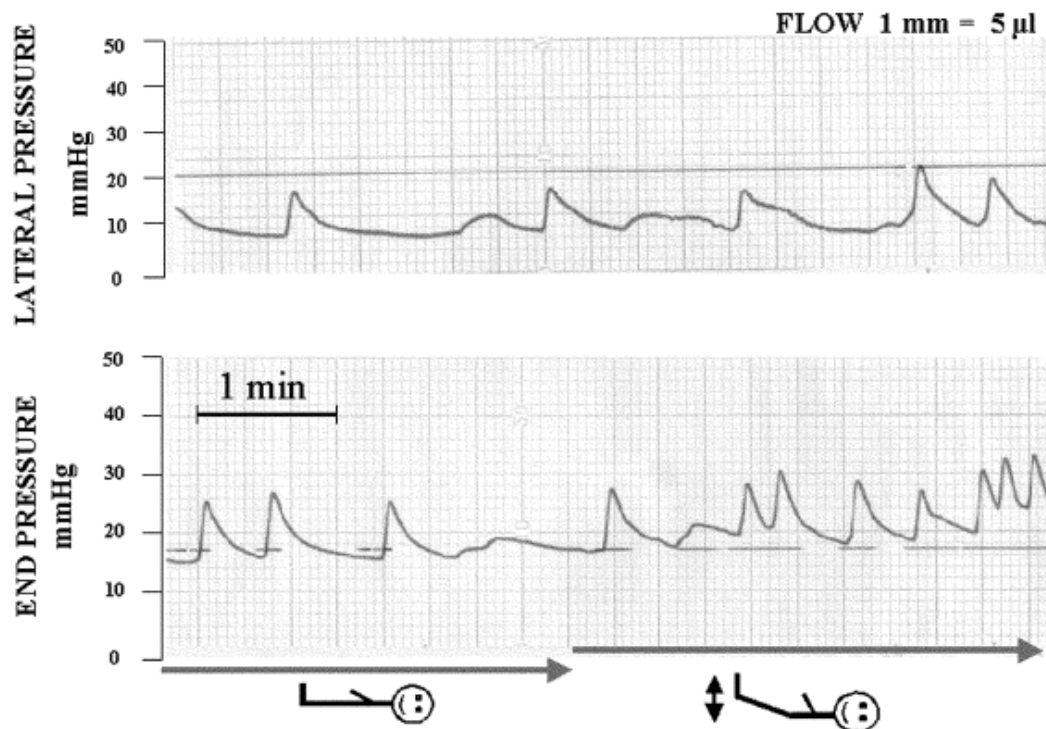
Καταγραφή των ενδαυλικών πιέσεων των λεμφαγγείων σε άρρενα ασθενή με λεμφοίδημα. Ο ασθενής είναι σε ύπτια θέση. Ροή λέμφου (ανοδική κυματομορφή) υπάρχει μόνον κατά τη σύσπαση του λεμφαγγείου.



Καταγραφή της ενδαυλικής πίεσης σε λεμφαγγείο που έχει αποφραχθεί εξωτερικά. Η διαστολική πίεση έφτασε τα 70mmHg ενώ η συστολική τα 100 mmHg. Οι συσπάσεις των μυών του κάτω άκρου δεν αυξάνουν σημαντικά την πίεση, διότι υπό φυσιολογικές συνθήκες η πίεση των μυικών συσπάσεων δε μεταδίδεται στο χαλαρό συνδετικό ιστό που περιβάλλει τα λεφικά στελέχη.



Ενδαυλικές λεμφικές πιέσεις σε αποφρακτικό λεμφοίδημα σταδίου III. Παρόλο που το κεντρικό τμήμα του λεμφαγγείου αποφράχθηκε (κάτω), η πίεση δεν ανήλθε σε φυσιολογικά επίπεδα, μα παρέμεινε στα 20 mmHg. Με ελεύθερη ροή η πίεση κατά τη συστολική φάση (πάνω) έφτασε τα 15 mmHg μόνο, ανεπαρκής για την προώθηση λέμφου. Η καταστροφή μυικών ινών στο τοίχωμα του λεμφαγγείου υποτίθεται πως αφαιρεί την ικανότητα αποδοτικών πιέσεων κατά τη σύσπαση.



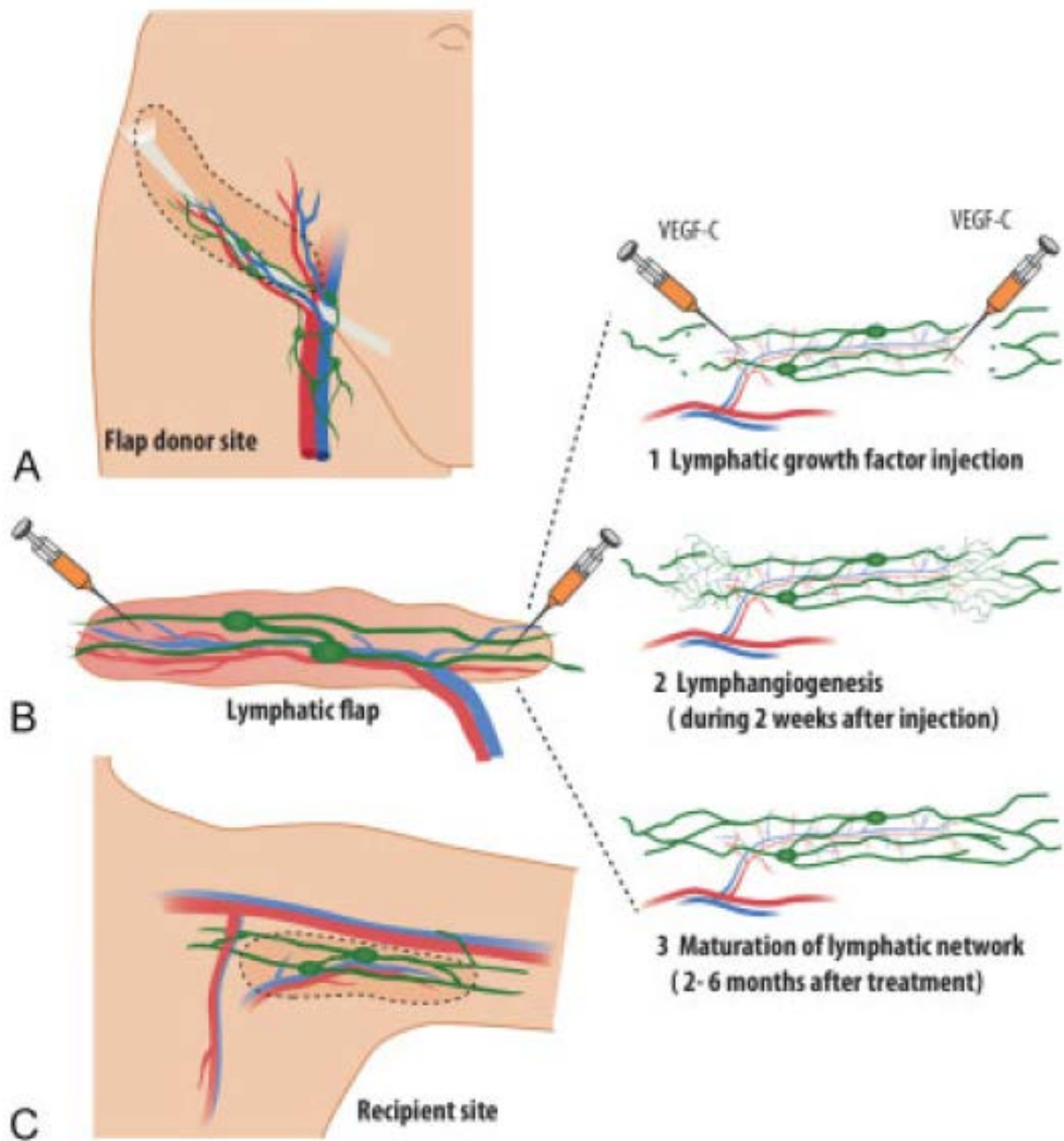
ΠΙΝΑΚΑΣ Διαφορές στη λεμφική πίεση και ροή σε υγιείς και ασθενείς με λεμφοίδημα

	<i>Υγιής</i>	<i>Λεμφοίδημα</i>
<i>Αυθόρμητες Συσπάσεις</i>	<i>Παρούσες</i>	<i>Ανόμαλες, χαμηλού εύρους</i>
<i>Παράγοντας υδροστατικής πίεσης</i>	<i>Απόν</i>	<i>Παρόν</i>
<i>Λεμφικός σφυγμός</i>	<i>6/λεπτό σε ανάπαυση εως 18/λεπτό στο περπάτημα</i>	<i>Απόν, ανεπαρκής για προώθηση λέμφου</i>
<i>Τελικές πιέσεις κατά τη βάδιση</i>	<i>περίπου 40mmHg</i>	<i>έως 200-300mmHg</i>
<i>Ικανότητα των μυικών συσπάσεων</i>	<i>Απούσα</i>	<i>Παρούσα</i>
<i>Των κάτω άκρων να προωθήσουν</i>		
<i>Τη λέμφο</i>		
<i>Ικανότητα της ελαστικής επέδσης</i>	<i>Απούσα</i>	<i>Παρούσα</i>
<i>Να βελτιώσει τη λεμφική ροή</i>		

Το λεμφοίδημα μπορεί να είναι το τελικό αποτέλεσμα της βλάβης στο λεμφικό δίκτυο λόγω λοίμωξης, τραύματος, χειρουργικής επέμβασης ή ακτινοθεραπείας για καρκίνο. Υπάρχουν επίσης σπάνιες μορφές κληρονομικού λεμφοιδήματος, που προκαλούνται από δομικά ελαττώματα στο λεμφικό αγγειακό σύστημα. Μια κύρια αιτία μολυσματικού λεμφοιδήματος είναι η φιλαρίαση. Εκτιμάται ότι μεταξύ 10 και 30% των ασθενών με καρκίνο του μαστού θα αναπτύξουν λεμφοίδημα μετά από μασχαλιαίο λεμφαδενικό καθαρισμό.

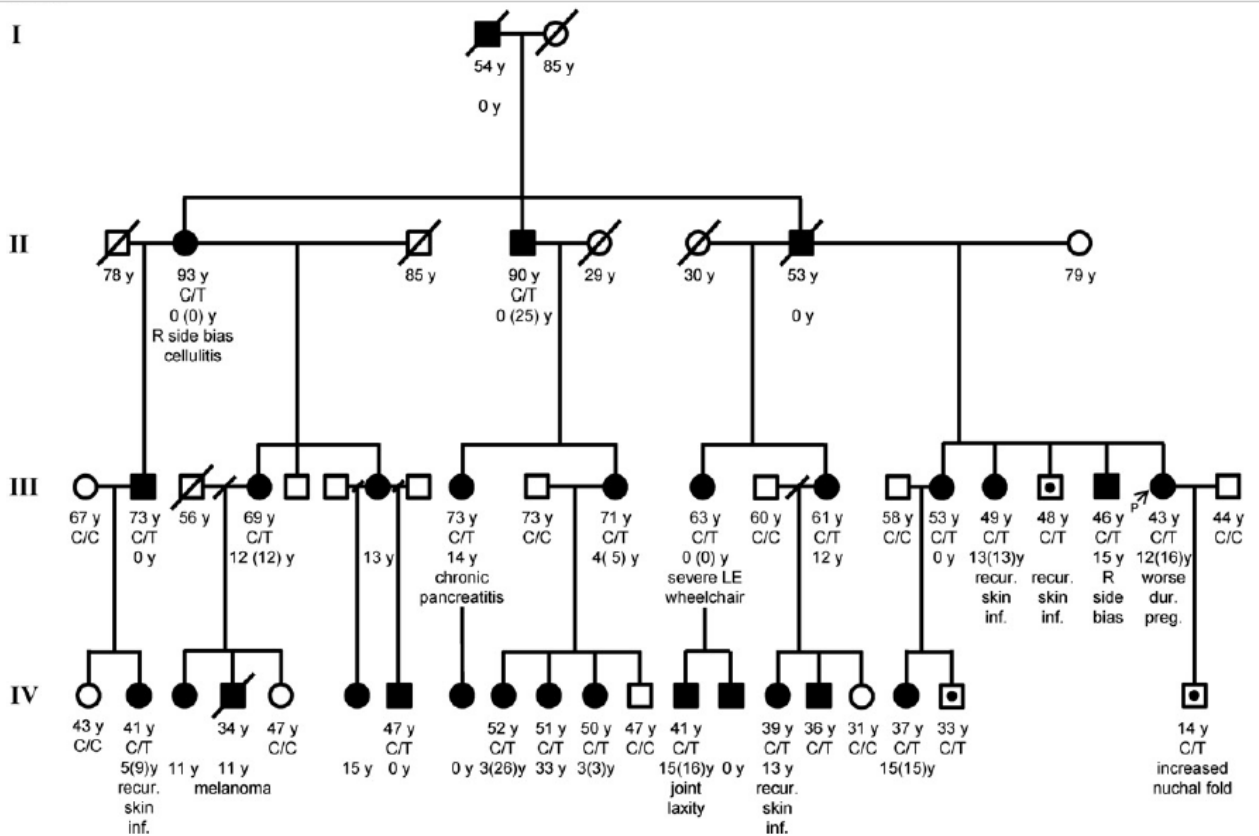
Ένας άλλος μηχανισμός που περιγράφεται για την έναρξη του λεμφοιδήματος είναι ως επακόλουθο της φλεβικής θρόμβωσης. Μια λεμφοσπινθηρογραφική μελέτη σε ασθενείς με εν τω βάθει φλεβική απόφραξη μηριαίας έδειξε ότι η υποφασική λεμφική μεταφορά μειώθηκε ομοιόμορφα λόγω της ανεπάρκειας της λεμφικής βαλβίδας (μετα-θρομβωτικό σύνδρομο). Ο μηχανισμός είναι [6] ότι η αυξημένη φλεβική πίεση οδηγεί σε μεταβολές στην ανιούσα κυκλοφορία, ειδικά στα φλεβικά τριχοειδή αγγεία. Αυτή η αύξηση της ενδοαυλικής πίεσης μειώνει την απορρόφηση υγρών. Το επακόλουθο οίδημα μπορεί να απορροφηθεί όσο το λεμφικό δίκτυο μπορεί να αντέξει τον επιπλέον φόρτο εργασίας. Μετά από αυτό το σημείο, αναπτύσσεται μετα-θρομβωτικό λεμφοίδημα.

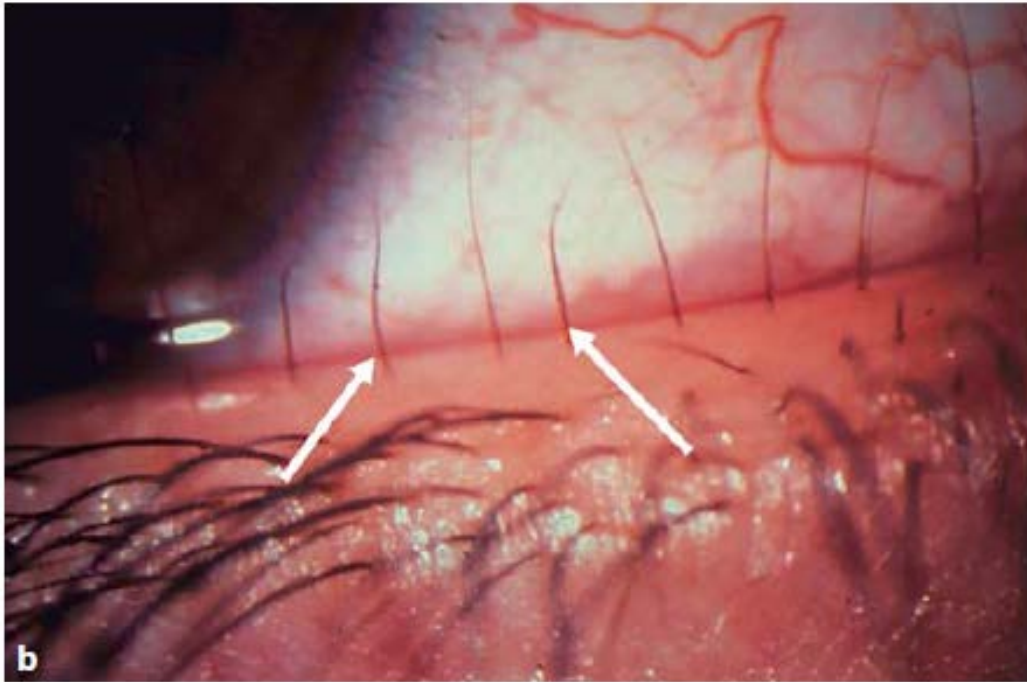
Επί του παρόντος, η θεραπεία για το λεμφοίδημα βασίζεται σε ενδύματα συμπίεσης και φυσιοθεραπεία, όπως το μασάζ της περιοχής. Χρησιμοποιούνται επίσης χειρουργικές μέθοδοι, όπως η λιποαναρρόφηση, η μεταφορά λεμφαδένων και οι λεμφο-φλεβικές ή λεμφο-λεμφικές παρακάμψεις.



Μελλοντική προοπτική στην αποκατάσταση της λεμφαγγειακής ανατομίας της μασχάλης μετά από μασχαλιαίο λεμφαδενικό καθαρισμό και ογκολογική θεραπεία. (Α) Λεμφικός ιστός λαμβάνεται ως αυτο-μόσχευμα από τη βουβωνική περιοχή. (Β) Ιοί-φορείς που φέρουν τον ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα VEGF-C ενίονται στα άπω άκρα του μόσχευματος, επάγοντας τη λεμφαγγειογένεση και περαιτέρω ωρίμανση του λεμφαγγειακού δικτύου. (Γ) Το επεξεργασμένο μόσχευμα εμφυτεύεται στη μασχαλιαία κοιλότητα, αντικαθιστώντας τον ουλώδη ιστό της περιοχής.

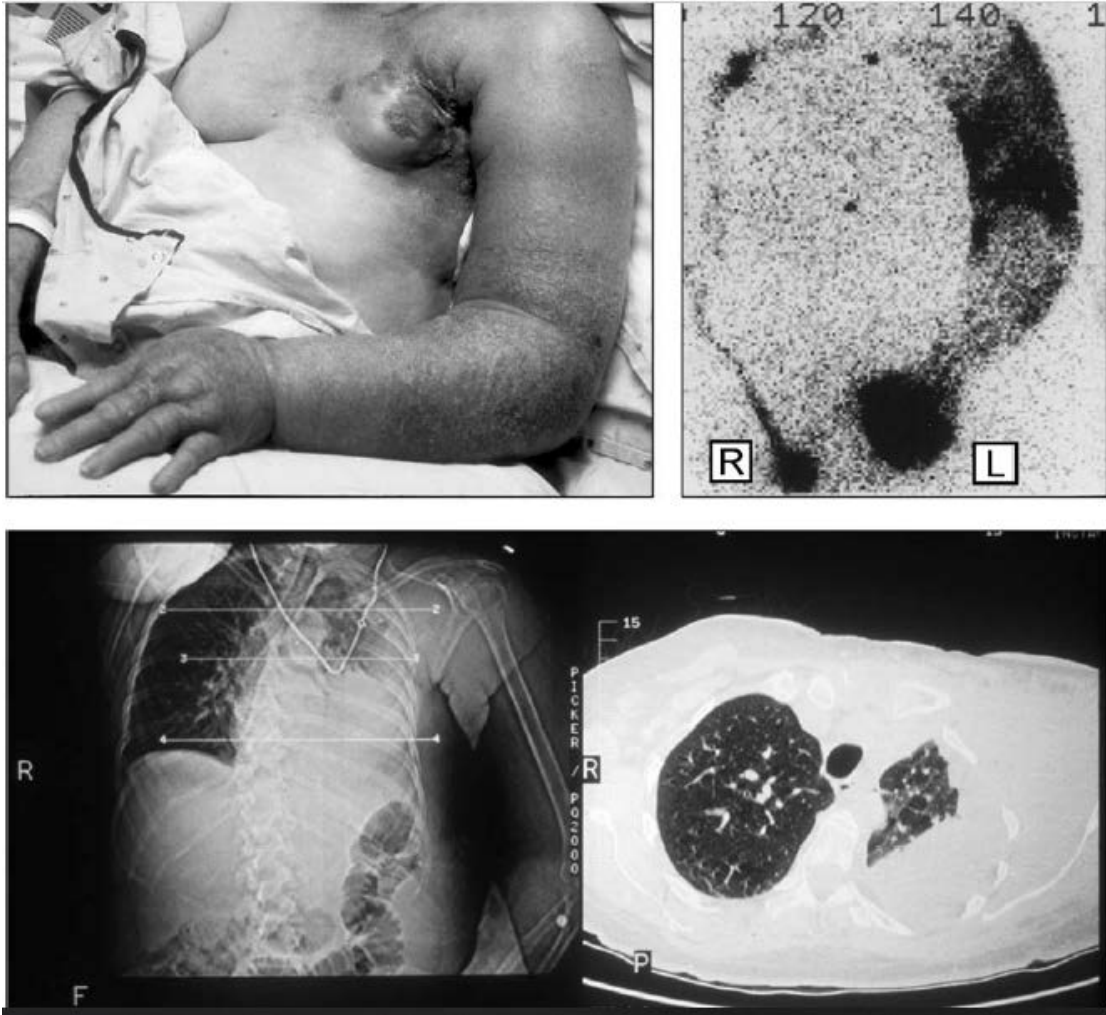
Το πρωτογενές λεμφοίδημα ταξινομείται σε [7] συγγενές λεμφοίδημα, λεμφοίδημα praecox (πρώιμο) και λεμφοίδημα tarda (καθυστερημένης έναρξης). Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται μερικές διακρίσιμες κληρονομικές οντότητες όπως το σύνδρομο λεμφοιδήματος-διστιχίασης, που προκαλείται από μια μετάλλαξη στον παράγοντα μεταγραφής FOXC2, το σύνδρομο CM-AVM (τριχοειδής δυσπλασία / αρτηριοφλεβική δυσπλασία), που προκαλείται από ανεπάρκεια του RASA1 και το οφθαλμο-οδοντο-δακτυλικό σύνδρομο (occulodentodigital syndrome), που προκαλείται από διάφορες μεταλλάξεις στο GJA1 (που κωδικοποιεί την κοννεξίνη Cx43). Επιπλέον, πολλές συγγενείς λεμφικές διαταραχές έχουν συνδεθεί με γονιδιακές μεταλλάξεις, όπως η νόσος του Milroy (VEGFR3), το σύνδρομο λεμφοιδήματος - διστιχίασης (FOXC2), η υποτρίχωση - λεμφοίδημα - τηλαγγειεκτασία (SOX18), ο συγγενής χυλοθώρακας (ITGA9) και η γενικευμένη λεμφική δυσπλασία (CCBE1).





Κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου λεμφοιδήματος-διστιχίασης. α) Αμφοτερόπλευρο λεμφοίδημα των κάτω άκρων. β) Διστιχίαση (δύο σειρές βλεφαρίδων). Η επιπλέον σειρά βλεφαρίδων στο πίσθιο όριο του βλεφάρου επισημαίνεται με βέλη.

Το δευτερογενές ή επίκτητο λεμφοίδημα είναι το αποτέλεσμα της εξάλειψης προηγουμένως ανέπαφων λεμφικών καναλιών. Η πιο συνηθισμένη αιτία είναι ιατρογενής, λόγω είτε χειρουργικού ή ακτινοβολικού τραύματος σε παρεμβάσεις για καρκίνο, κυρίως καρκίνου του μαστού, κακοήθους μελανώματος, γυναικολογικής κακοήθειας, ουρολογικής κακοήθειας και σαρκώματος μαλακών μορίων. Το ιατρογενές λεμφοίδημα έχει επίσης περιγραφεί στα πλαίσια της θεραπείας της περιφερικής αποφρακτικής αρτηριοπάθειας, της κίρσεκτομής ή της χρήσης μοσχεύματος σαφηνούς φλέβας για αορτο-στεφανιαία παράκαμψη, χειρουργικών επεμβάσεων του πέους, εισαγωγής ενδορραχιαίας αντλίας και χορήγησης serolimus. Η επαναλαμβανόμενη λεμφαγγειίτιδα μπορεί να οδηγήσει σε λεμφοίδημα λόγω θρόμβωσης και ίνωσης των λεμφικών αγγείων. Η λεμφική φιλαρίαση είναι μια ενδημική λοίμωξη από νηματώδη σκώληκα στην Ασία, την Αφρική και την Αμερική, η οποία προκαλεί χρόνια λεμφοίδημα λόγω επαναλαμβανόμενης λεμφαγγειίτιδας.



73χρονη ασθενής με μη θεραπευθέν τοπικά επιθετικό καρκίνωμα του μαστού κατά μία τετραετία, με επέκταση στη σύστοιχη μασχάλη και πνεύμονα, εμφάνισε προχωρημένο ανθεκτικό λεμφοίδημα του άνω άκρου και ώμου (πάνω αριστερά). Λεμφοσπινθηρογράφημα (πάνω δεξιά) αναδεικνύει μεγάλο βαθμού λεμφαγγειακή απόφραξη του αριστερού άνω άκρου (L) με εκτεταμένη δερματική λεμφική παλινδρόμηση, σε σχέση με το δεξιό άνω άκρο (R), το οποίο έχει βατά λεμφικά στελέχη και διάφορους εκσεσημασμένους υποκλείδιους λεμφαδένες. Σημειώνεται η άμεση επέκταση του όγκου μέσω του θωρακικού τοιχώματος στο αριστερό πνευμονικό παρέγχυμα, με μικρό υδροθώρακα στην απλή ακτινογραφία θώρακος (κάτω αριστερά) και στην αξονική τομογραφία (κάτω δεξιά). Η ασθενής αρνήθηκε τη συμβατική ιατρική θεραπεία και ελάμβανε μόνον φυτικά βότανα και χονδρικό ιστό καρχαρία. Παρολαυτά δεν είχε καχεξία ούτε απώλεια βάρους, δεν είχε σημεία μεταστατικής νόσου και τελικά κατέληξε από προοδευτική αναπνευστική ανεπάρκεια. Η κλινική πορεία αυτής της ασθενούς θέτει ερωτήματα ως προς την καλοήγη φυσική πορεία της άμεσης τοπικής επέκτασης του καρκινώματος, του παραμελημένου ως προς το συμβατικώς θεραπευθέν καρκίνωμα του μαστού, τους παράγοντες που εμπλέκονται στη λεμφαγγειακή διασπορά, το ρόλο των τοπικών λεμφαδένων στη δημιουργία

γενικευμένης καρκινώματωσης, τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της καχεξίας και της απώλειας σωματικού βάρους, της κοινωνικής και ατομικής αποδοχής καθώς και της επιστημονικής αποδοχής των εναλλακτικών θεραπειών του καρκίνου, και τέλος ως προς το γιατί και πώς ακριβώς πεθαίνουν οι ασθενείς με καρκίνο.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ο ρόλος των λεμφικών βαλβίδων στην παθοφυσιολογία του λεμφοιδήματος: εμβρυολογία και χειρουργική ανατομία

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το πρωτόκολλο αυτής της βιβλιογραφικής ανασκόπησης έχει υποβληθεί στο Συμβούλιο Ανασκόπησης του Τμήματος Ανατομίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών της Ελλάδα και είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος. Τα επιλέξιμα άρθρα εντοπίστηκαν με αναζήτηση της βιβλιογραφικής βάσης δεδομένων Medline για την περίοδο από τον Ιούλιο του 1994, έως και σήμερα. Η στρατηγική αναζήτησης περιελάμβανε τις ακόλουθες λέξεις-κλειδιά: («λεμφοίδημα» ΚΑΙ «παθοφυσιολογία» ΚΑΙ «βαλβίδες»). Εφαρμόστηκαν περιορισμοί στη γλώσσα (μόνο άρθρα στα Αγγλικά, Γαλλικά και Γερμανικά θεωρήθηκαν επιλέξιμα). Έγινε αναζήτηση στη βιβλιογραφία και εξαγωγή δεδομένων από κάθε επιλέξιμη μελέτη. Τα κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν επίσης τις μελέτες αναφορών ατομικών περιπτώσεων (case report studies). Η αναζήτηση ανέκτησε 20 άρθρα. Επιπλέον, ελέγχθηκαν όλες οι βιβλιογραφικές αναφορές των άρθρων αυτών με σκοπό την ανεύρεση περεταίρω επιλέξιμων άρθρων για την ανασκόπηση. Οι τίτλοι ενδιαφέροντος εξετάστηκαν περαιτέρω μέσω των περιλήψεών τους (abstracts). Τέλος, οι κατάλογοι βιβλιογραφικών αναφορών των επιλέξιμων μελετών αξιολογήθηκαν με μη αυτόματο τρόπο προκειμένου να εντοπιστούν τυχόν πιθανά σχετικά άρθρα.

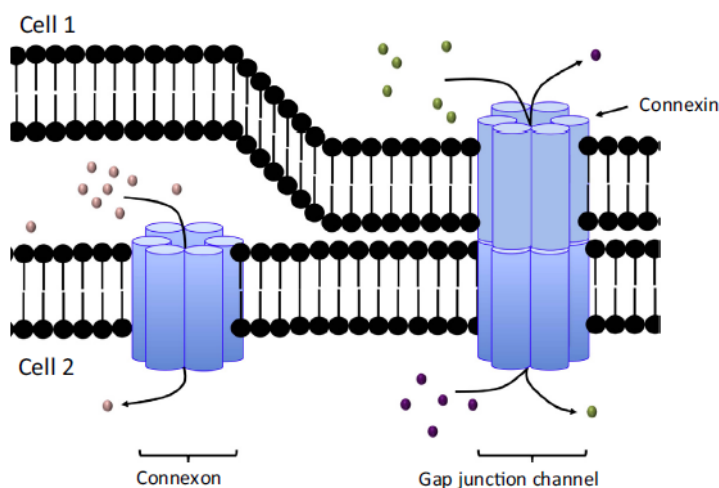
Ως αποτέλεσμα, άλλα 13 άρθρα εξήχθησαν από τα πρώτα 20 άρθρα. Από τα άρθρα που μελετήθηκαν, 12 ήταν πειραματικές μελέτες σε μοντέλα ποντικών, 3 ήταν πειραματικές μελέτες σε ασθενείς με λεμφοίδημα και 5 ήταν άρθρα ανασκοπήσεων (διαφορετικού αντικειμένου από αυτό της τρέχουσας εργασίας).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

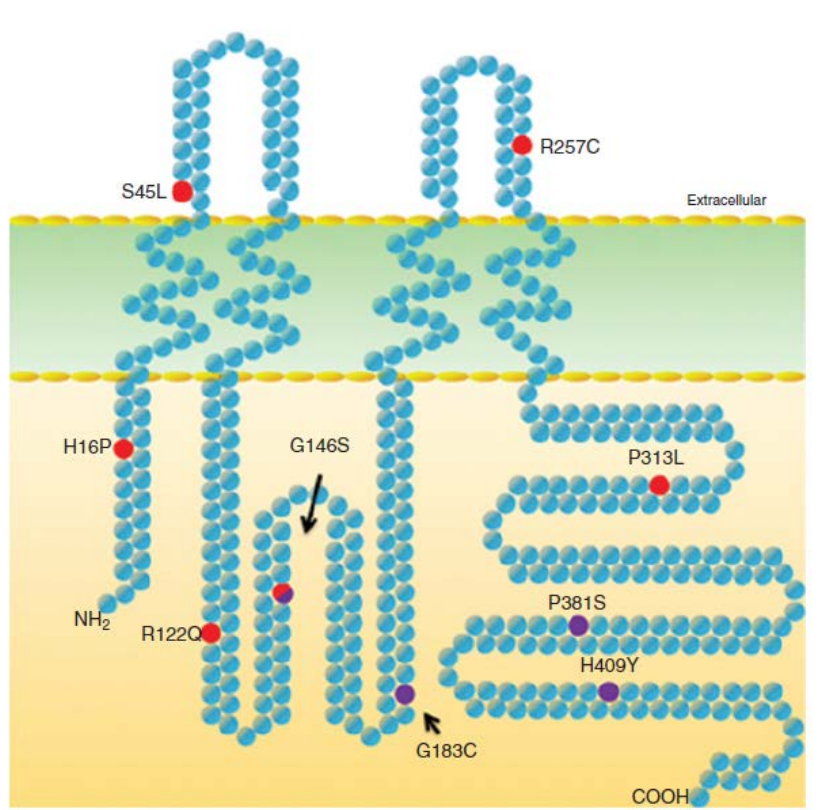
-Οι Λεμφικές Βαλβίδες και ο Ρόλος τους στην Παθοφυσιολογία του Λεμφοιδήματος

Πολλοί παράγοντες ρυθμίζουν το σχηματισμό των λεμφικών βαλβίδων κατά την εμβρυογένεση. Η τρέχουσα βιβλιογραφία έχει δώσει έμφαση στις πρωτεΐνες που γεφυρώνουν το διακυτταρικό χάσμα (gap junction proteins), τις λεγόμενες κοννεξίνες.

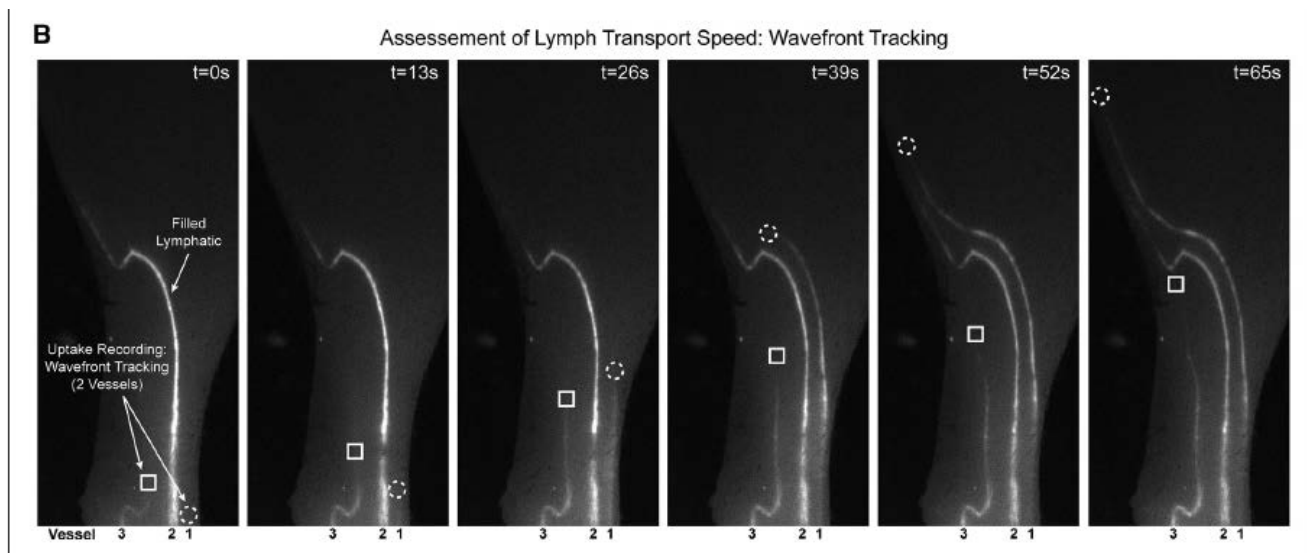
Σχηματική απεικόνιση των κοννεξινών και των διακυτταρικών διαύλων. Οι κοννεξίνες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που εισέρχονται στη μεμβράνη σαν εξαμερή. Αυτά τα εξαμερή μπορούν να λειτουργήσουν ως ημιδιαπερατοί διάυλοι, ή κοννεξόνια, επιτρέποντας τη διάβαση μικρών μορίων από το κύτταρο προς τον μεσοκυττάριο χώρο και το αντίθετο. Εναλλακτικά, ένα κοννεξόνιο μπορεί να συνδεθεί με ένα κοννεξόνιο που εκφράζεται από το γειτονικό κύτταρο σχηματίζοντας έναν σύνδεσμο-διάυλο του μεσοκυττάριου χάσματος. Οι διάυλοι αυτοί επιτρέπουν την άμεση ανταλλαγή ενδοκυττάριων μικρών μορίων.



Σχηματική απεικόνιση της πρωτεΐνης της κοννεξίνης 47 στην οποία αναγνωρίζονται οι μεταλλάξεις που συνοδεύουν το δευτερογενές λεμφοίδημα (μπλε), κοίνες μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς λεμφοιδήματος (μπλε/κόκκινο), και του πρωτογενούς λεμφοιδήματος (κόκκινο). Οι θέσεις όπου απεικονίζονται είναι αντιπροσωπευτικές.



Μελέτες σε μοντέλα ποντικών [8] έδειξαν ότι μια ανεπάρκεια στην Cx45 (κοννεξίνη 45) είχε ως αποτέλεσμα μεγάλη αναστολή στη μεταφορά της λέμφου *in vivo*, αλλά μόνο υπό επιβαλλόμενο βαρυντικό φορτίο.



In vivo απαγωγή λέμφου σε ιγνυακά λεμφαγγεία ποντικών με εξάλειψη του γονιδίου που κωδικοποιεί την Cx 45 συγκεκριμένα στα λεία μυϊκά κύτταρα. Α. Αρχική έγχυση φθορίζουσας ουσίας. Β. Αξιολόγηση της λεμφαγγειακής απαγωγής σε τρία διαφορετικά λεμφαγγεία (1,2,3). Γ. Δεν ανευρέθησαν διαφορές στη μεταφορά της λέμφου μεταξύ των

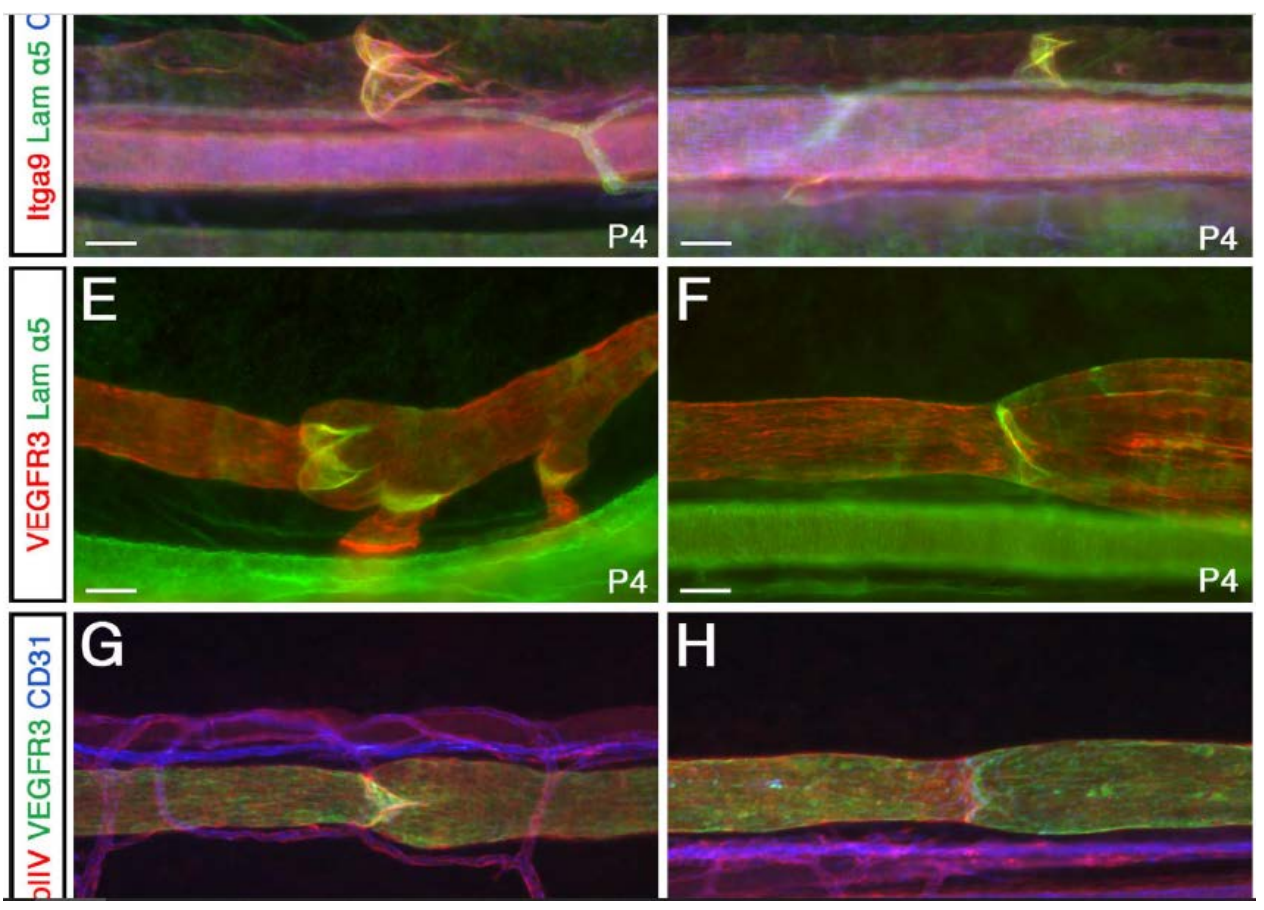
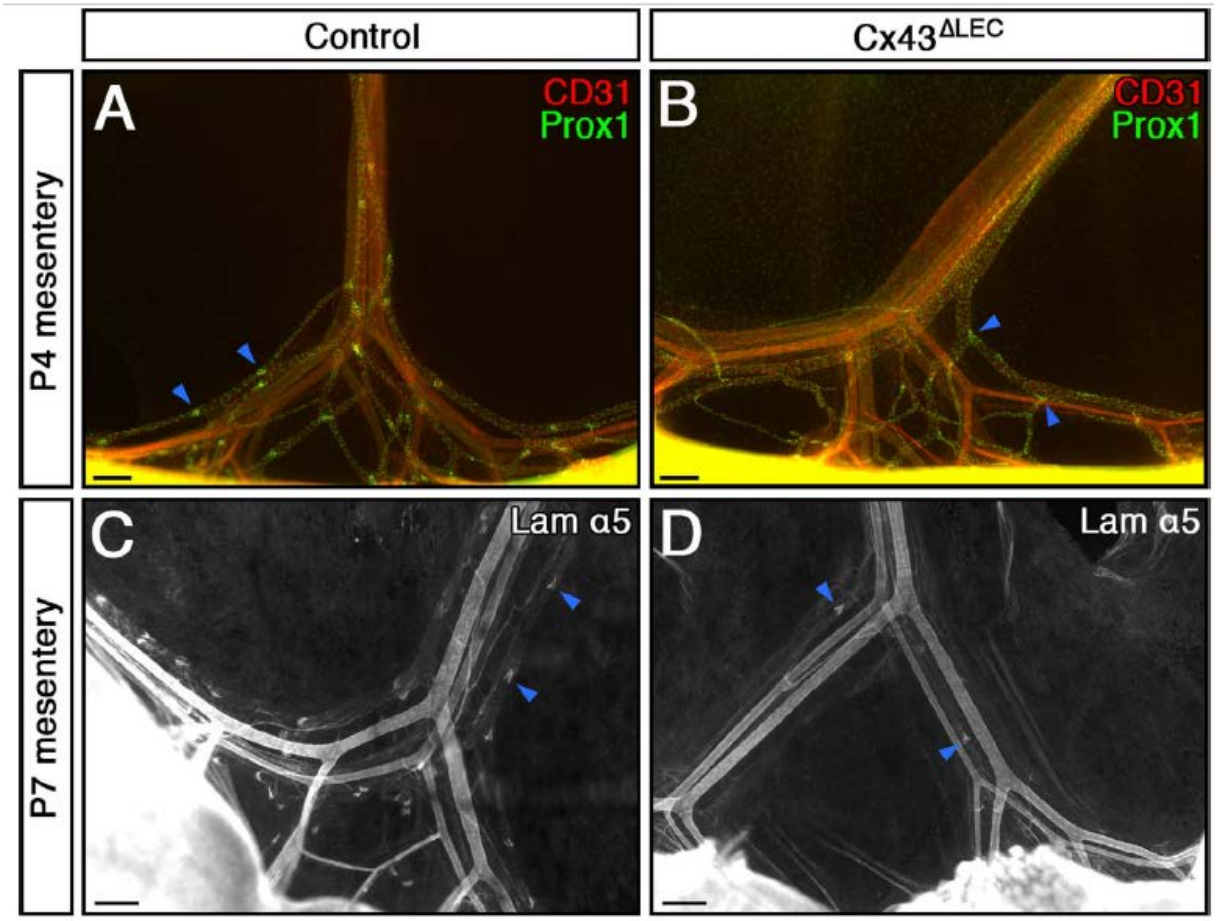
φυσιολογικών ποντικών και αυτών με έλλειψη στην κοννεξίνη 45 στην οριζόντια θέση, υπήρξε όμως στην κάθετη θέση.

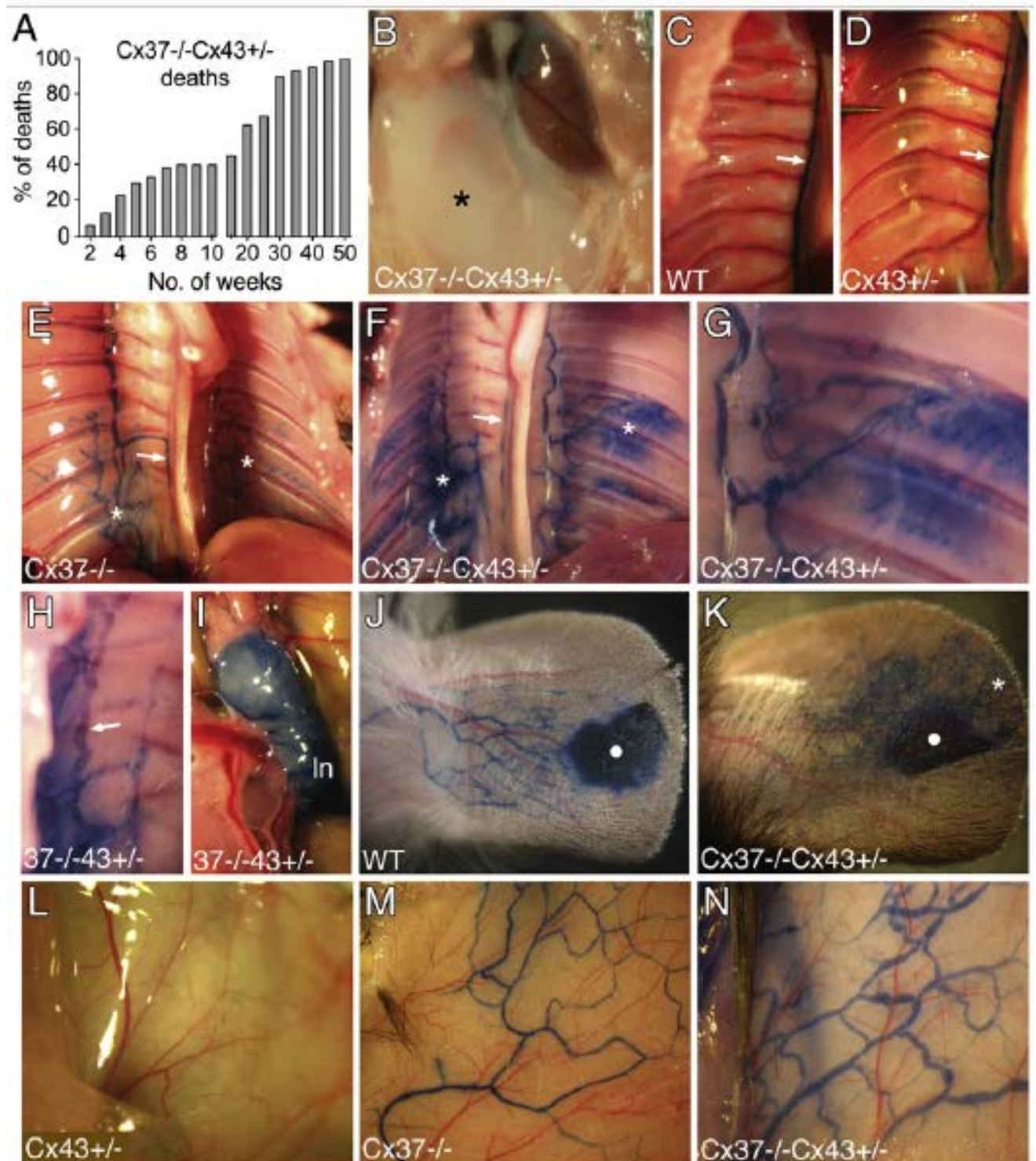
Οι κυριότερες ενδοθηλιακές ισομορφές κοννεξινών -Cx43, Cx47 και Cx37- αποδείχθηκε ότι είναι μη αναγκαίες για τις προωθητικές, συγχρονισμένες συστολές των λεμφικών αγγείων και συνεπώς, το λεμφοίδημα σε ασθενείς με μεταλλάξεις στην Cx47 ή την Cx43 πιστεύεται ότι προκαλείται από μειωμένη μεταφορά λέμφου λόγω μη φυσιολογικής ανάπτυξης των λεμφικών βαλβίδων και/ή τη μειωμένη πυκνότητα των βαλβίδων.

Προηγούμενες μελέτες [9] διαπίστωσαν ότι στοχευμένα επαχθείσες ανεπάρκειες των Cx37 και Cx43, που εκφράστηκαν σε αναπτυσσόμενα και ώριμα λεμφικά αγγεία, μόνη της η καθεμιά ή σε συνδυασμό, οδηγούν σε ελαττωματικό σχηματισμό βαλβίδων στα συλλεκτικά λεμφικά αγγεία, λεμφοίδημα και χυλοθώρακα σε μελέτες με μοντέλα ποντικών. Ποντίκια με ανεπάρκεια σε αυτές τις κοννεξίνες δεν είχαν βαλβίδες εξ ολοκλήρου στα συλλεκτικά λεμφαγγεία ή είχαν μειωμένο αριθμό βαλβίδων. Διπλά ανεπαρκή Cx37 - / - Cx43 - / - ποντίκια ανέπτυξαν σοβαρό λεμφοίδημα και εμφάνισαν αιματηρά λεμφαγγεία, πολλά εκ των οποίων πέθαναν ενδομητρίως.

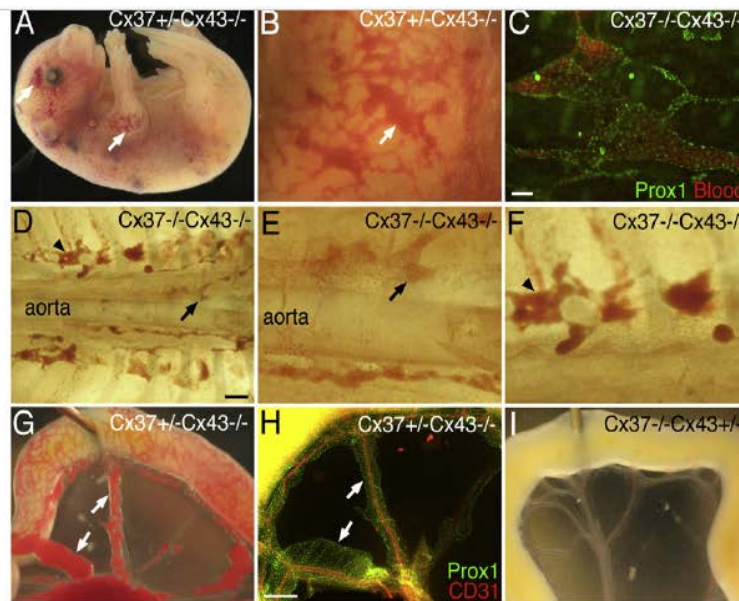
Μάρτυρας

Εξάλλειψη Cx43





Τα ποντίκια που στερούνται των κοννεξινών 37 και 43 εμφανίζουν παλίνδρομη λεμφική ροή και συχνά πεθαίνουν πρόωρα λόγω χυλοθώρακα. (Α) Ποσοστά θανάτων ως προς την ηλικία. (Β) Γαλακτώδης λεμφική συλλογή γύρω από τη νκαδριά και τους πνεύμονες. (Γ-Ν) Λεμφαγγειογραφία. Ανάστροφη λεμφική ροή στα μεσοπλεύρια λεμφαγγεία. Κάποτε και αίμα στα ίδια λεμφαγγεία..



Λεμφαγγεία πλήρη αίματος σε ποντίκια με εξάλειψη των *Cx37* και *Cx43*. (A) Αιματική χροιά στα επιπολής δερματικά λεμφαγγεία. (B) σε μεγαλύτερη μεγέθυνση (Γ) Ανοσοϊστοχημεία που αποδεικνύει τη λεμφαγγειακή προέλευση των εν λόγω αγγείων. (Δ) Αίμα στο μείζονα θωρακικό πόρο και στα μεσοπλεύρια λεμφαγγεία. (E, F) σε μεγαλύτερη μεγέθυνση. (G) Πλήρη αίματος μεσεντέρια λεμφαγγεία καθώς και επιπολής εντερικά λεμφαγγεία. (H) Ανοσοϊστοχημεία που αποδεικνύει τη λεμφαγγειακή προέλευση των εν λόγω αγγείων. (I) Ποντικός με έλλειψη μόνο στην *Cx 37* αλλά όχι στην *Cx43* δεν εμφανίζει αίμα στα μεσεντέρια λεμφαγγεία του..

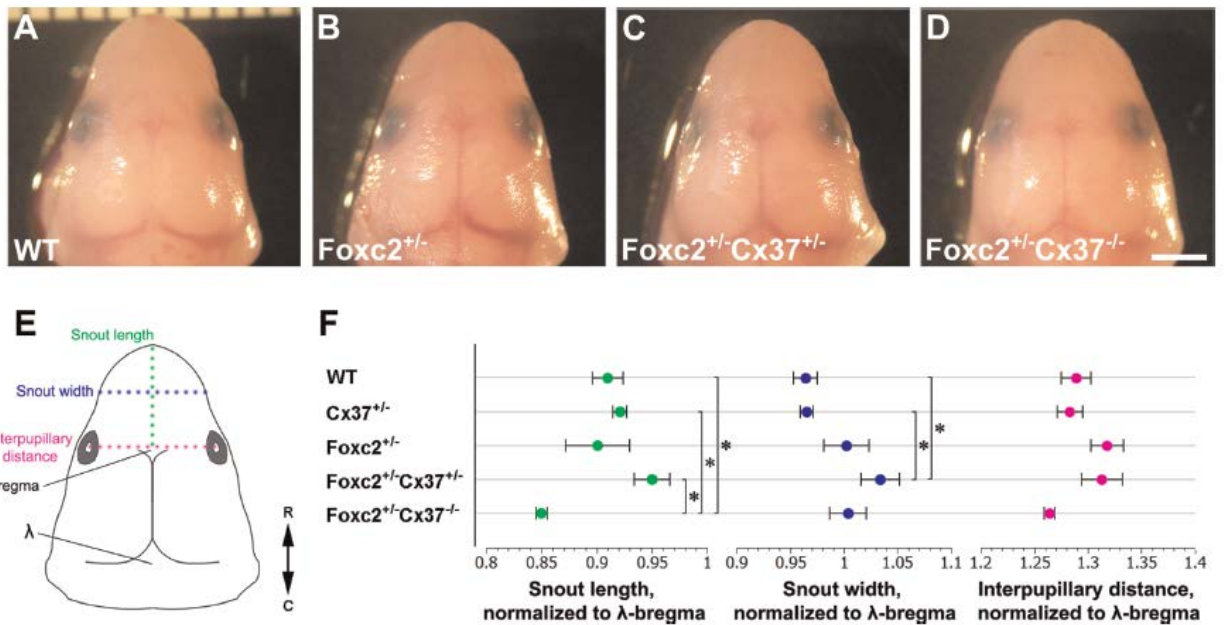
Η έκφραση της *Cx37* στην ανάπτυξη των λεμφικών αγγείων αποδείχθηκε ότι εξαρτάται από την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα *FOXC2*, υποδηλώνοντας ότι η *Cx37* μπορεί να είναι στόχος της ρύθμισης του *FOXC2* κατά την ανάπτυξη. Μια άλλη μελέτη [10] έδειξε ότι ο συνδυασμός εξαλείψεων γονιδίων των *FOXC2* και *κοννεξίνης 37* σε ποντίκια οδηγεί σε σοβαρά ελαττώματα της λεμφαγγειακής ανάπτυξης και περεταίρω διαμόρφωσης-ιστολογικής εξειδίκευσης, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται λεμφοίδημα ενδομητρίως, κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες, σοβαρή διαστολή του αυλού στα εντερικά λεμφικά αγγεία, ανώμαλη ανάπτυξη των γαλακτοφόρων αδένων, απουσία λεμφικών βαλβίδων και συνήθως να προκαλείται θάνατος περιγεννητικά, αποτελέσματα τα οποία δεν παρατηρούνται σε ποντίκια με μία μόνο από τις δύο μεταλλάξεις, είτε στον *FOXC2* είτε στην *Cx37*. Επομένως, ο

FOXC2 και η Cx37 φαίνεται να είναι στοιχεία μιας κοινής μοριακής οδού που κατευθύνει τη λεμφαγγειογένεση.

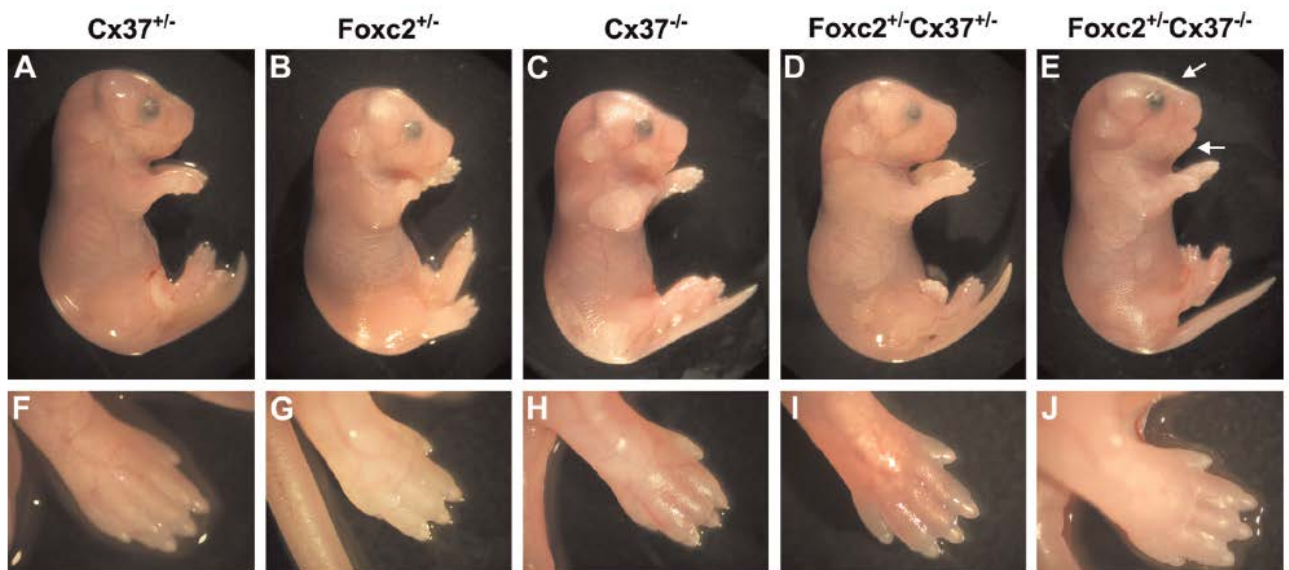
Κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες σε ποντίκια με γενετική εξάλειψη σηματοδοτικών μορίων.

A. άγριου τύπου (μάρτυρας) B. *Foxc2*^{+/-} Γ. *Foxc2*^{+/-}*Cx37*^{+/-} Δ. *Foxc2*^{+/-} *Cx37*^{-/-}

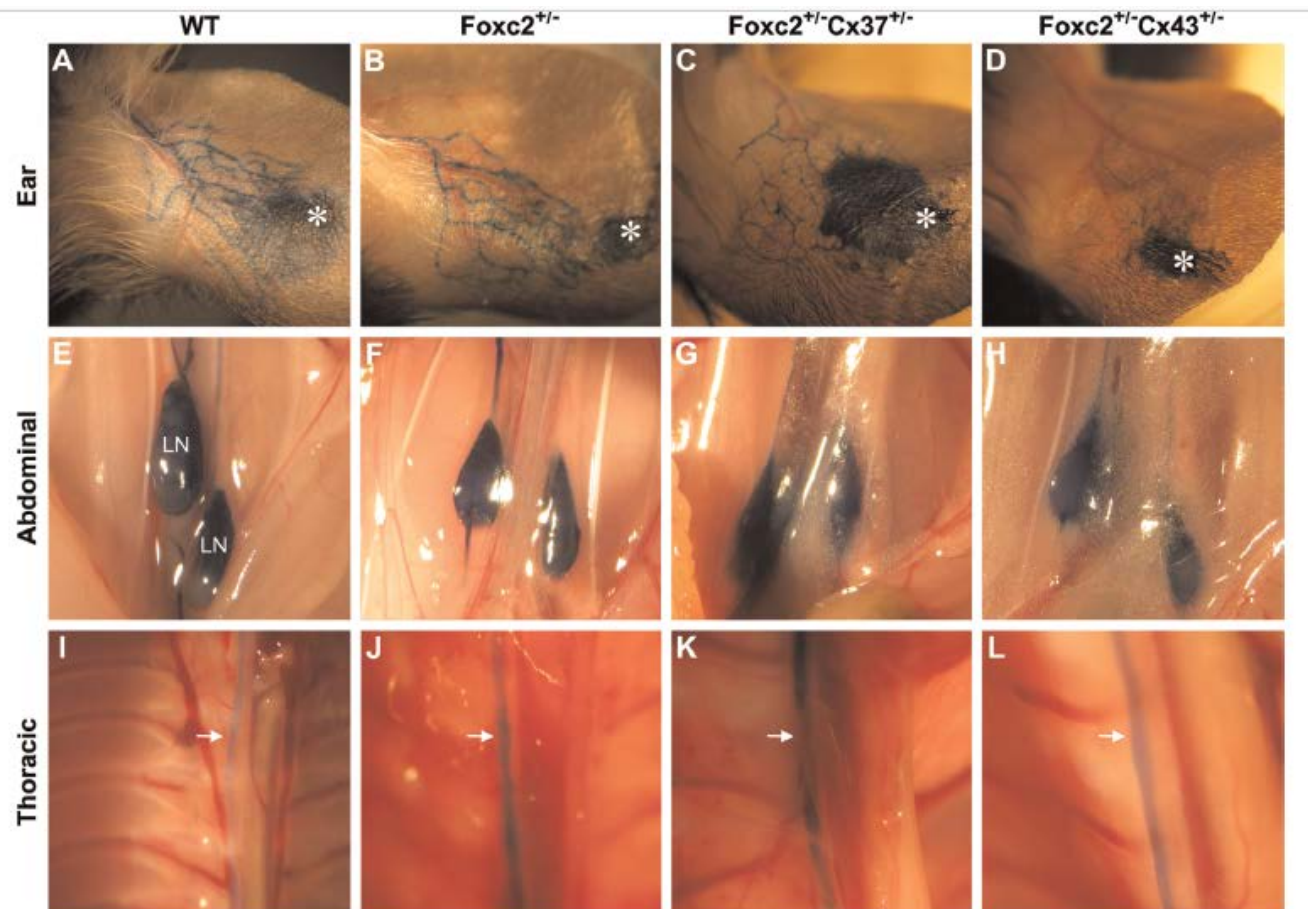
Το μήκος των ρυγχών είναι κοντότερο σε έλλειψη αυτών των παραγόντων.

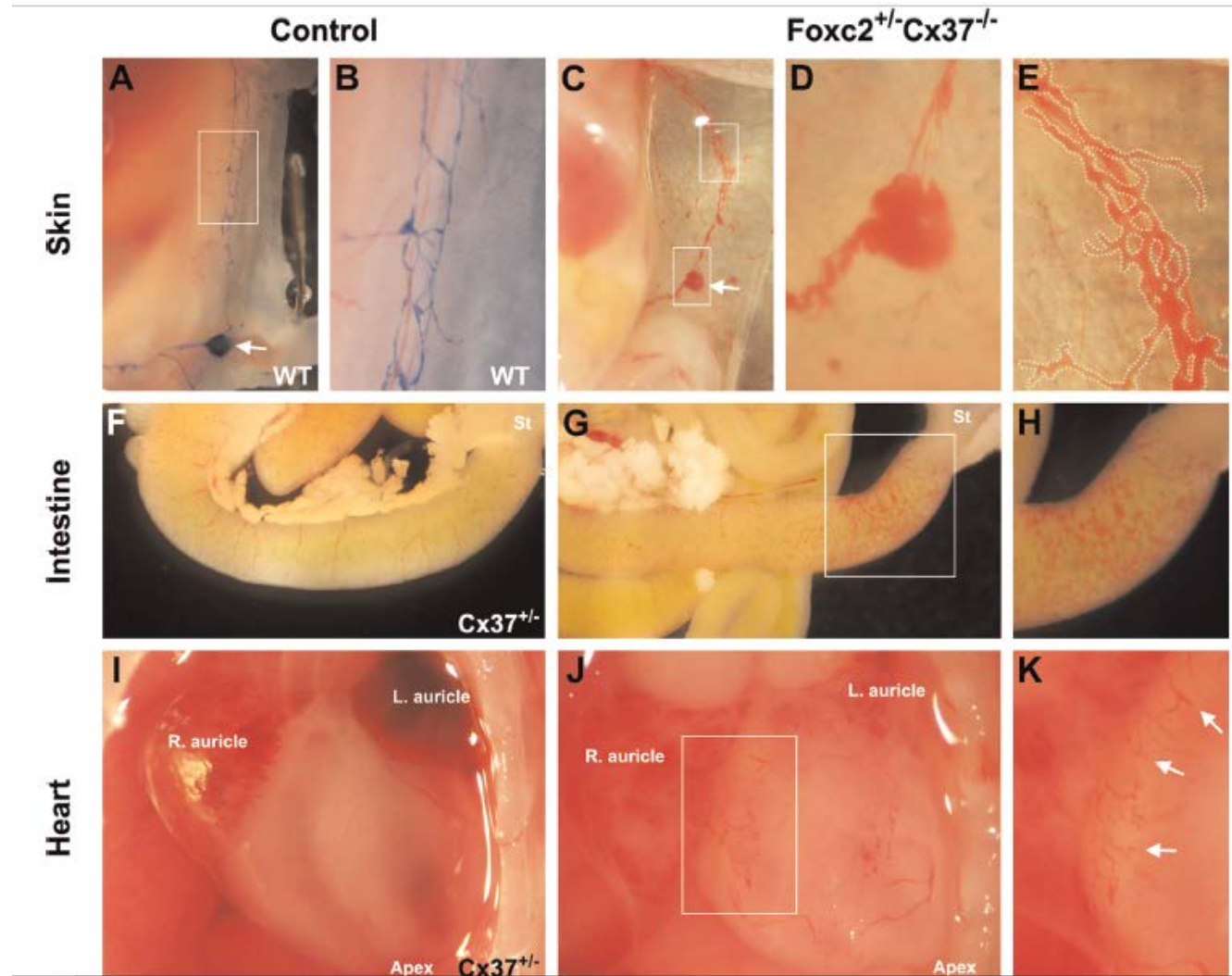


Τα *Foxc2*^{+/-}*Cx37*^{+/-} έμβρυα παρουσιάζουν μέτριο γενικευμένο οίδημα, επιπέδωση της βάσης της ρινός και μικρογναθισμό.



Λεμφαγγειογραφία. Αυτί, κοιλιακή κοιλότητα, θώρακας.





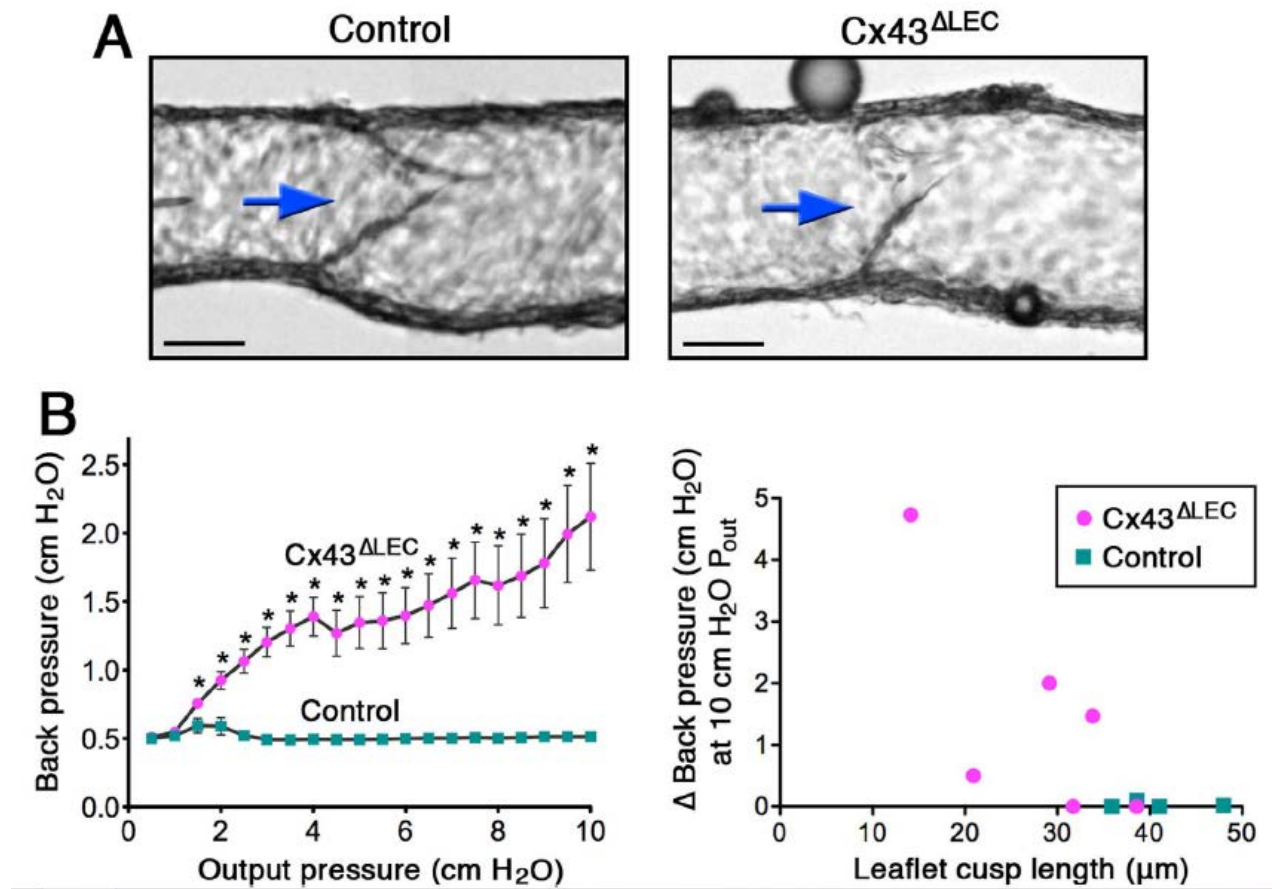
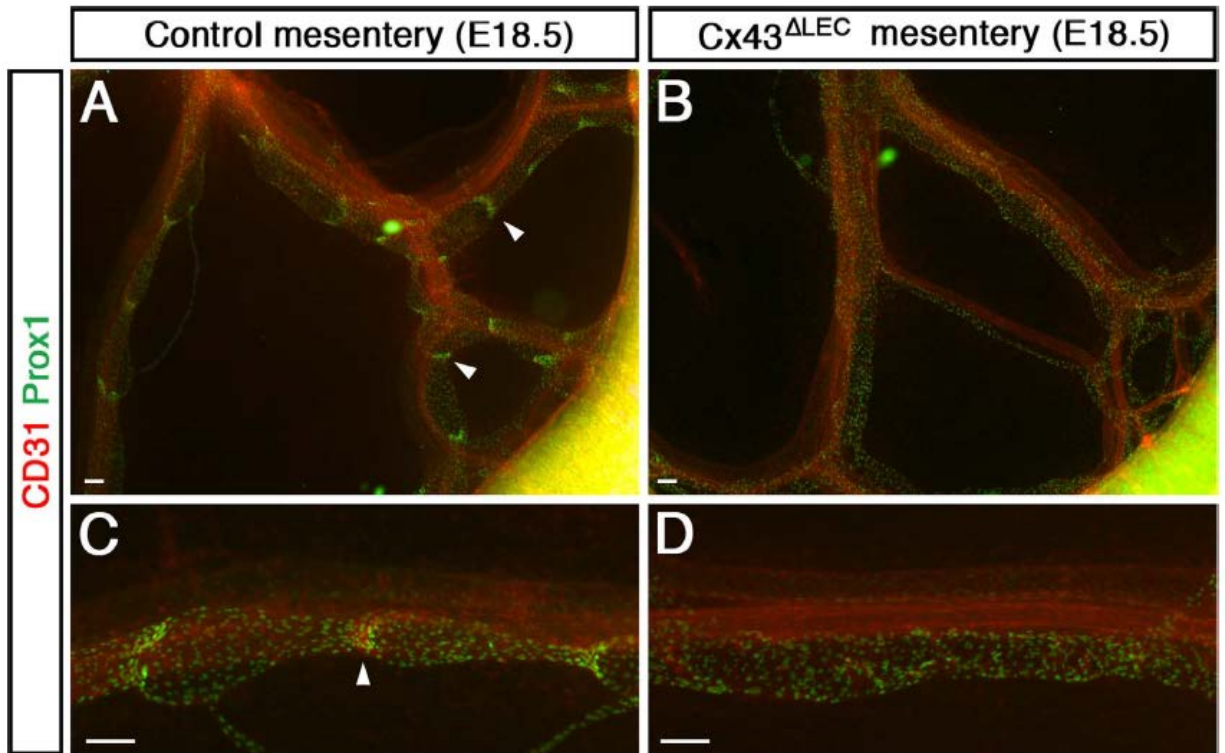
Μίξη αίματος-λέμφου σε δερματικά λεμφαγγεία (C-E), εντερικά (G,H), καρδιά (J,K) σε Foxc2^{+/-}-Cx37^{-/-} ποντίκια..

Μια ενδιαφέρουσα πτυχή της επίδρασης των κοννεξινών στην παθοφυσιολογία του λεμφοιδήματος καταδείχθηκε σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων (case-control study) [11] σε γυναίκες ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Μεταλλάξεις στην Cx47 εντοπίστηκαν σε γυναίκες που εμφάνισαν δευτερογενές λεμφοίδημα μετά από θεραπεία καρκίνου του μαστού, αλλά όχι στους μάρτυρες (που δεν εμφάνισαν λεμφοίδημα) με καρκίνο του μαστού ή σε φυσιολογικές γυναίκες χωρίς καρκίνο του μαστού. Αυτές οι παρατηρήσεις επισημαίνουν την άποψη ότι ορισμένες περιπτώσεις δευτερογενούς λεμφοιδήματος εξαρτώνται από μετάλλαξη σε γονίδια που ρυθμίζουν τη λεμφαγγειογένεση και προκαλούν πρωτογενές λεμφοίδημα, όπως αυτές που κωδικοποιούν πρωτεΐνες κυτταρικού διάκενου (gap-junction proteins), πιθανώς από μηχανισμό που προκαλεί εξασθενημένη αγωγή της λέμφου, από τα περιφερικά προς

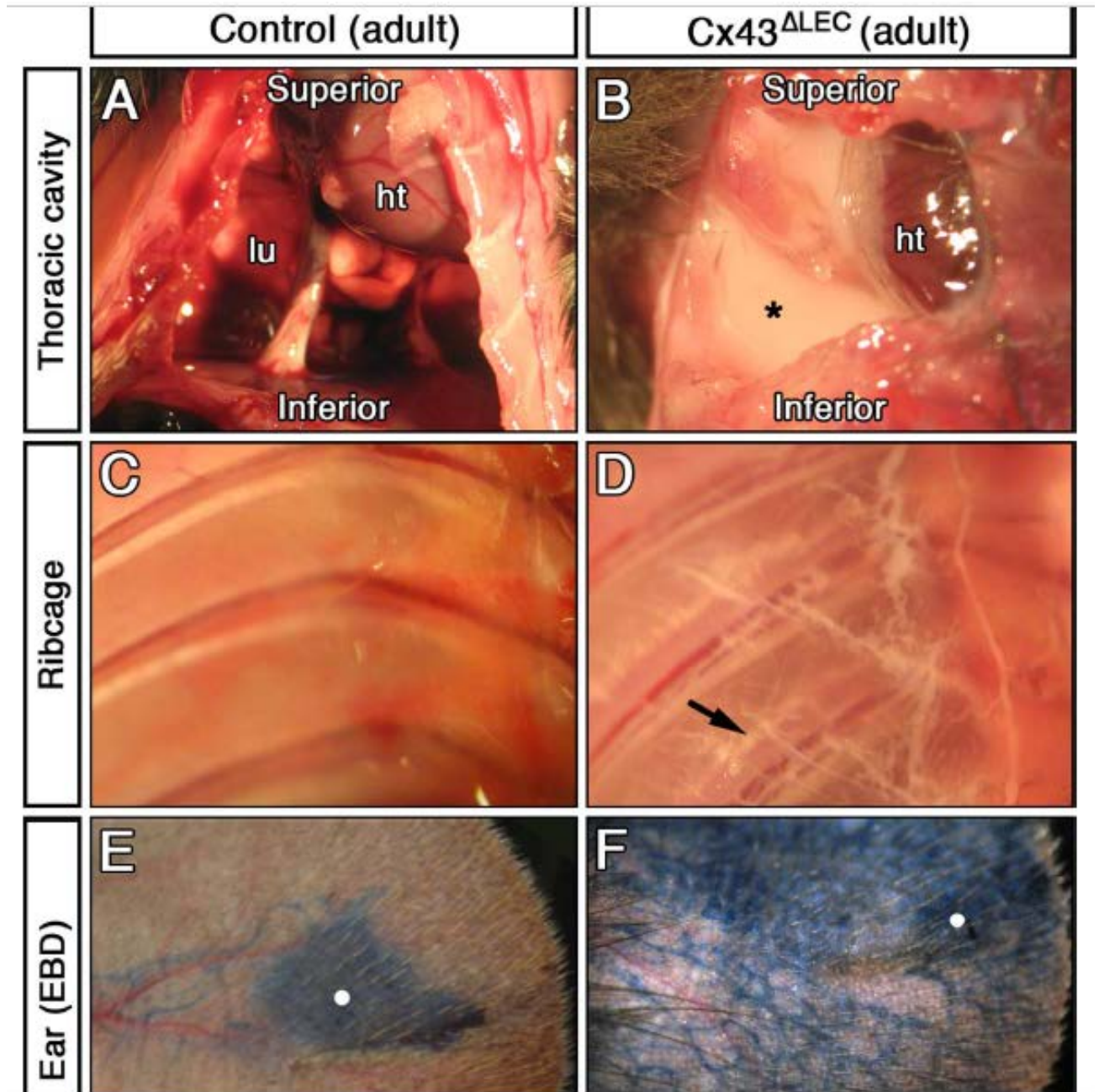
τα πιο κεντρικά λεμφικά αγγεία. Η υπόθεση υποστηρίζεται περαιτέρω από σειρά ποσοτικών λεμφοσκοπήσεων (quantitative lymphoscintigraphy) σε γυναίκες με δευτερογενές λεμφοίδημα λόγω θεραπείας καρκίνου του μαστού, που έδειξαν ανωμαλίες στο μη επηρεασμένο αντίπλευρο φυσιολογικό άνω άκρο. Η γενετική προδιάθεση θα μπορούσε να είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για δευτερογενές λεμφοίδημα, προσφέροντας τη δυνατότητα έγκαιρης ανίχνευσης και παρέμβασης για ομάδες υψηλού κινδύνου και επιτρέποντας τη δυνατότητα αλλαγής της χειρουργικής προσέγγισης ή / και χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας, ακόμη και τη δυνατότητα για άμεση ιατρική θεραπεία του δευτερογενούς λεμφοιδήματος με νέα φάρμακα που θα τροποποιούν τις κοννεξίνες.

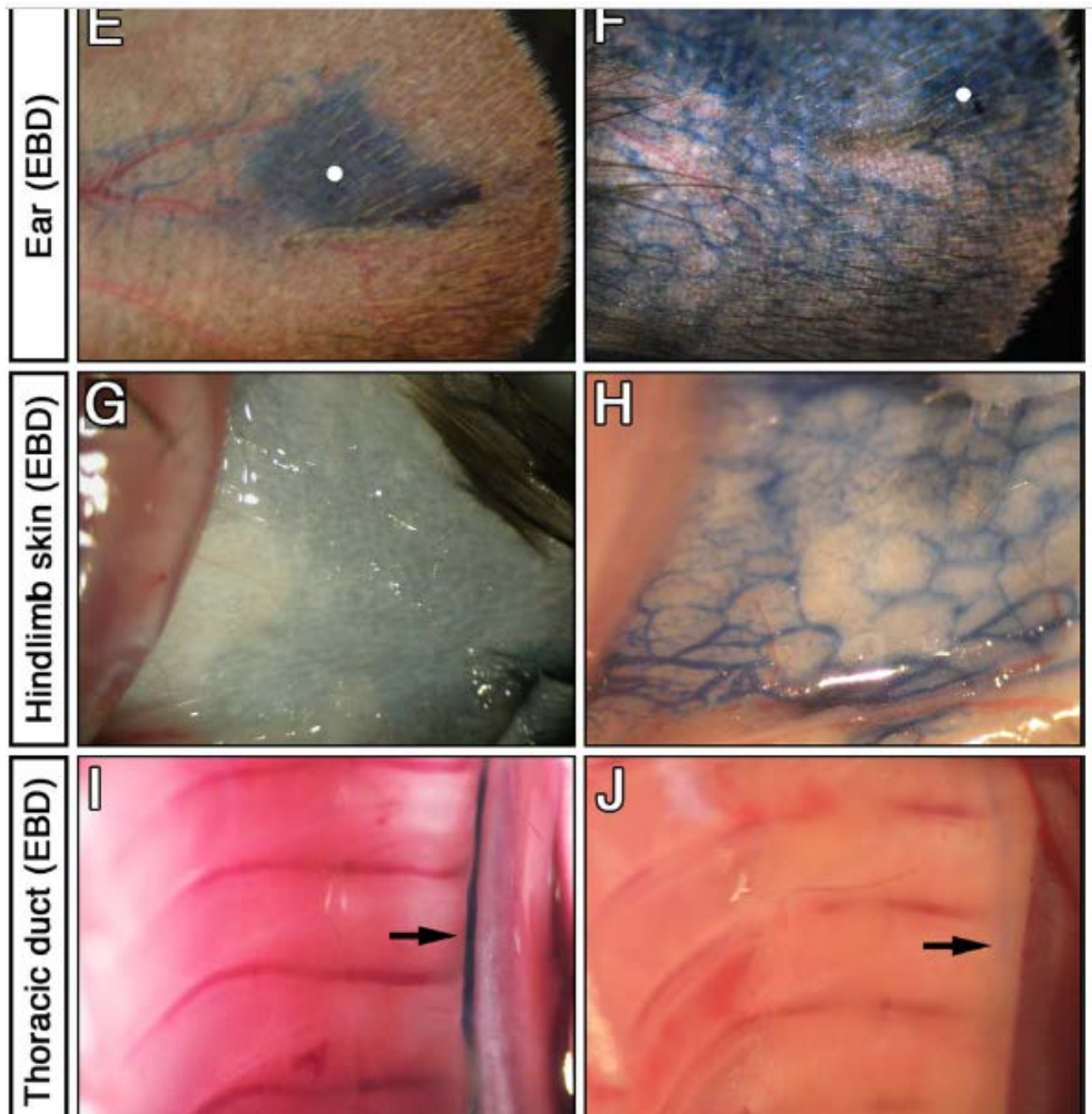
Πρόσφατες μελέτες [12] έδειξαν ότι η ανεπάρκεια της Cx-47 δεν είχε καμία επίδραση στη λεμφική συσταλτικότητα ή στη λεμφική μορφολογία. Ωστόσο, αυτή η κοννεξίνη αποδείχθηκε ότι έχει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των τριγλυκεριδίων του ορού και στην ανάπτυξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας, αυξάνοντας το μέγεθος της πλάκας αλλά μειώνοντας την περιεκτικότητα της πλάκας σε μακροφάγα.

Μια περαιτέρω μελέτη [13] κατέδειξε ότι σε ποντίκια με εξάλειψη του γονιδίου της Connexin43 συγκεκριμένα στα λεμφικά αγγεία υπήρξε ελαττωματική ανάπτυξη των λεμφικών βαλβίδων. Συγκεκριμένα, η απουσία της Cx43 στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφαγγείων προκαλεί καθυστέρηση στην έναρξη της ανάπτυξης της βαλβίδας, αυξημένο αριθμό ανώριμων βαλβίδων με ατελή επιμήκυνση των φύλλων, μειωμένο συνολικό αριθμό βαλβίδων και μεταβολές στην τρισδιάστατη διαμόρφωση των λεμφικών τριχοειδών. Αυτές οι δομικές αλλαγές οδήγησαν σε μη στεγανές βαλβίδες, με τελικό αποτέλεσμα την ανεπαρκή μεταφορά λέμφου και τη λεμφική παλινδρόμηση. Υπήρχε επίσης υψηλή συχνότητα θανατηφόρου χυλοθώρακα. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η έκφραση της Cx43 απαιτείται ειδικά και συγκεκριμένα στα ενδοθηλιακά κύτταρα των λεμφαγγείων για τη φυσιολογική ανάπτυξη των λεμφικών βαλβίδων.



Λειτουργικές ελλείψεις στις λεμφικές βαλβίδες ενηλίκων ποντικών με εξάλειψη Cx43. Εκτελέστηκαν δοκιμασίες παλινδρόμησης λέμφου σε καθετηριασμένα λεμφαγγεία.





Χυλοθώρακας και λεμφαγγειακή δυσλειτουργία σε εξάλειψη Cx43.

Οι μεταλλάξεις στο GJC2, το γονίδιο που κωδικοποιεί την Cx-47, προκαλούν πρωτογενές λεμφοίδημα σε ανθρώπους όπως διαφαίνεται από μελέτες ανάλυσης της αλληλουχίας του γονιδιώματος [14]. Η ανωμαλία φαίνεται να είναι λειτουργική, όχι ανατομική, κατά βάση και θα μπορούσε ενδεχομένως να ωφεληθεί από την τρέχουσα ανάπτυξη φαρμάκων που θα τροποποιούν τις διακυττάρειες συνδέσεις (gap-junction modifying drugs).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο *GJC2* που παρατηρούνται σε οικογενές λεμφοίδημα.

Αρ.Οικογενείας Αλλαγή DNA

Αλλαγή Αμινοξέως

Περιοχή

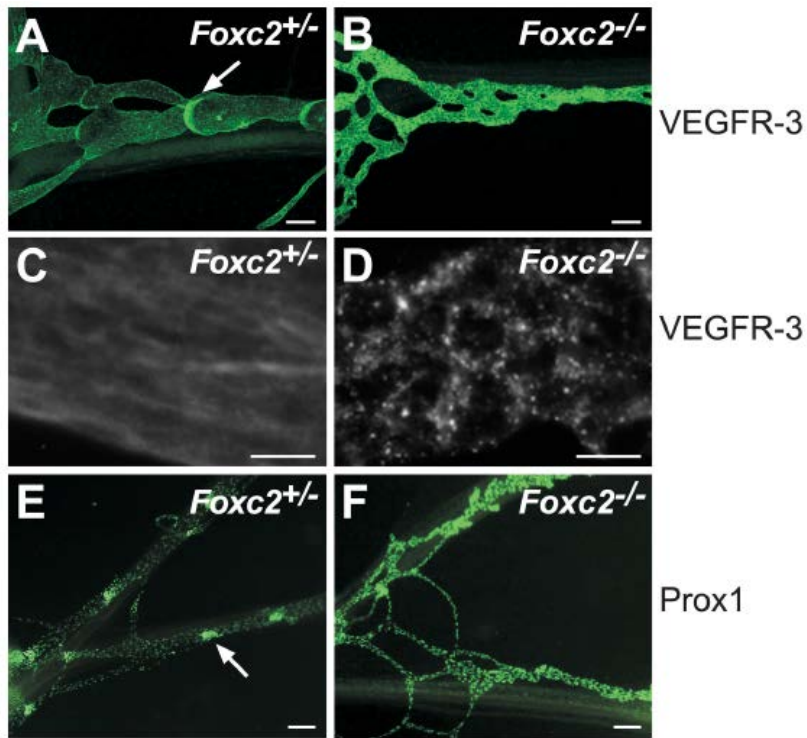
Table 1. *GJC2* Mutations Observed in Primary Lymphedema Families

Family	Sequence Substitution	Amino Acid Change	Predicted Domain
337	AGATCCACAACC(A>C)CTCCACCTTCGT	H19P	N-terminal
135	GAGGCCATCTACT(C>T)GGCGGAGCAGGCC	S48L	Extracellular loop 1
251	CCACGCCGCGCGCCCC(G>A)GCGCACCTGCCG	R125Q	Intracellular loop
104	GAGGAGCCCCATGCTG(G>A)GCCTGGGCGAGGAG	G149S	Intracellular loop
168	TGCTTCGTGTCG(C>T)GCCCTACTGAAAAG	R260C	Extracellular loop 2
151	CCC GCGCGCCCC(C>T)G CCCTGCGCCTTC	P316L	C-terminal

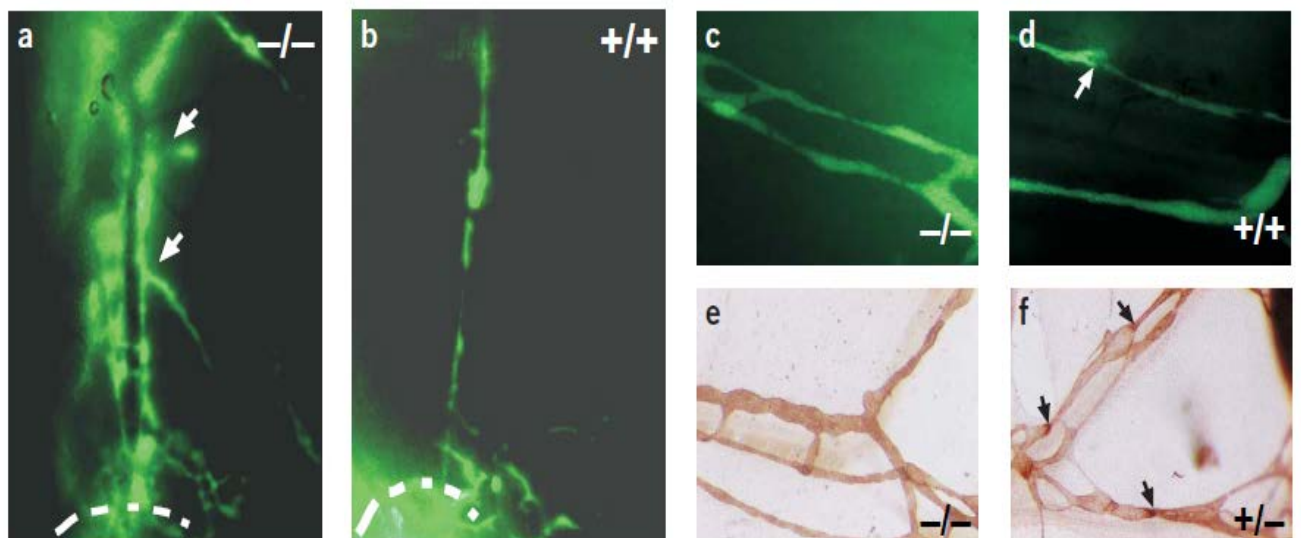
Προχωρώντας από την οικογένεια των κοννεξινών, ο μεταγραφικός παράγοντας FOXC2 έχει συνδεθεί με το λεμφοίδημα σε διάφορες μελέτες. Έχει από καιρό τεκμηριωθεί ότι η απλοανεπάρκεια FOXC2 προκαλεί το σύνδρομο λεμφοιδήματος-διστιχίας. Μια μελέτη για το σύνδρομο ανθρώπινου λεμφοιδήματος-διστιχίας [15] έδειξε ότι η παθοφυσιολογία της κατάστασης οφείλεται σε μεταλλάξεις του FOXC2 που προκαλούν λειτουργική αστοχία των αρχικών δερματικών λεμφικών αγγείων κατά τη διάρκεια του βαρυντικού στρες (εξάρτηση), χωρίς κανένα βαθμό λεμφικής υποπλασίας. Υπήρξε μεγάλη μείωση της πρόσληψης υγρών από τα αρχικά λεμφικά αγγεία στο πόδι κατά τη διάρκεια της εξάρτησης, αλλά η πρόσληψη ήταν φυσιολογική στο ίδιο πόδι, αν τοποθετούταν στο επίπεδο της καρδιάς, καθώς επίσης και στα αντιβράχια. Στη συνέχεια αποδείχθηκε ότι η υπέρβαση των επιπτώσεων της βαρύτητας με θεραπεία συμπίεσης και ανύψωση του σκέλους κατά την ανάπαυση από νεαρή ηλικία σε έναν ασθενή με μετάλλαξη στον FOXC2 εμπόδισε την εμφάνιση οιδήματος και οποιασδήποτε από τις δευτερεύουσες και μη αναστρέψιμες αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στο λεμφοίδημα που δεν αντιμετωπίζεται.

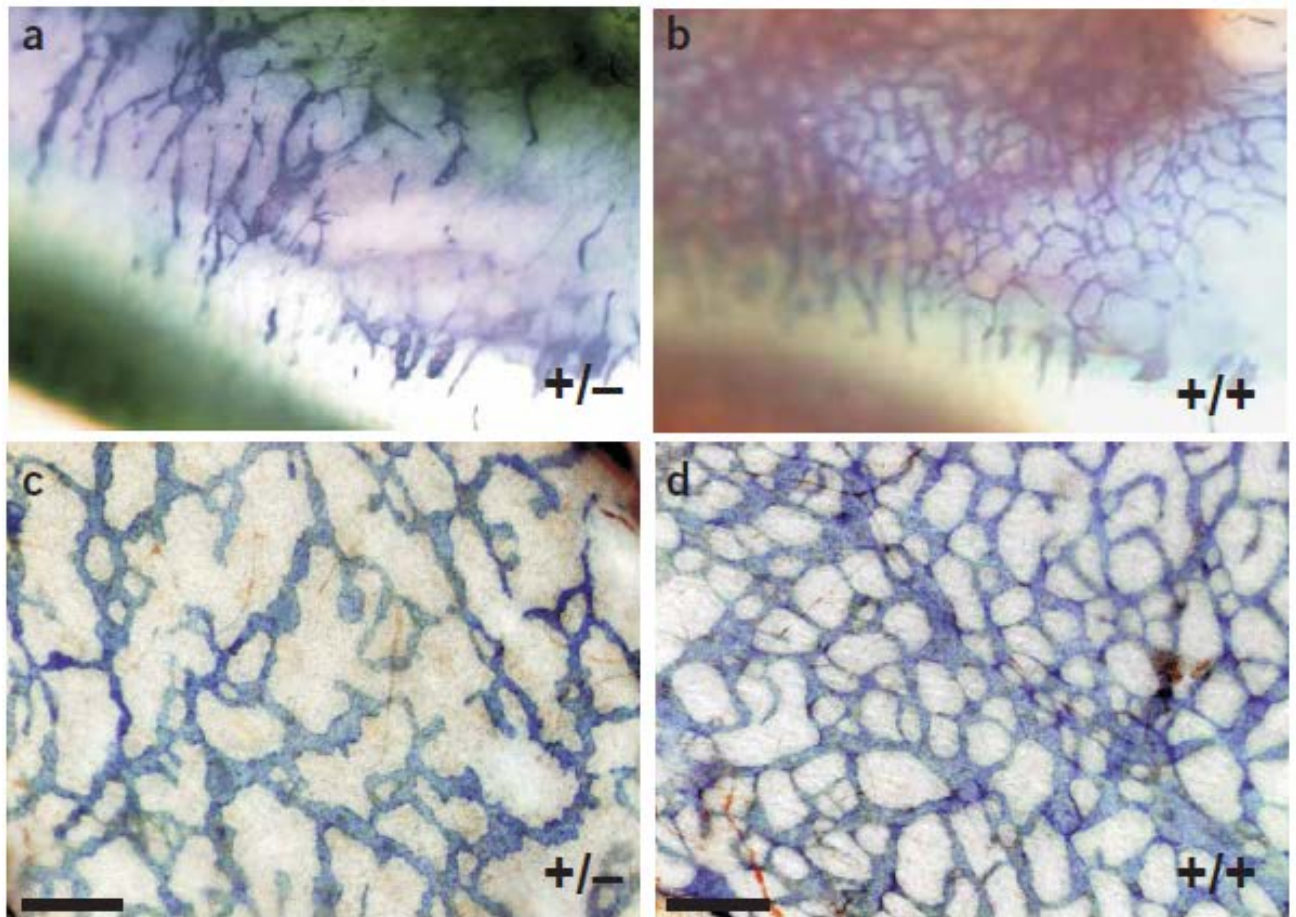
Επί πλέον, σε μια πειραματική μελέτη [16] απεικονίστηκε η αγενεσία των λεμφικών βαλβίδων σε ποντικούς με έλλειψη-διαγραφή και των δύο αλληλίων του FOXC2 (FOXC2 *-/-* knockout mice)

Ανοσοϊστοχημεία σε μεσεντέρια λεμφαγγεία, σε εξάλειψη *Foxc2*.

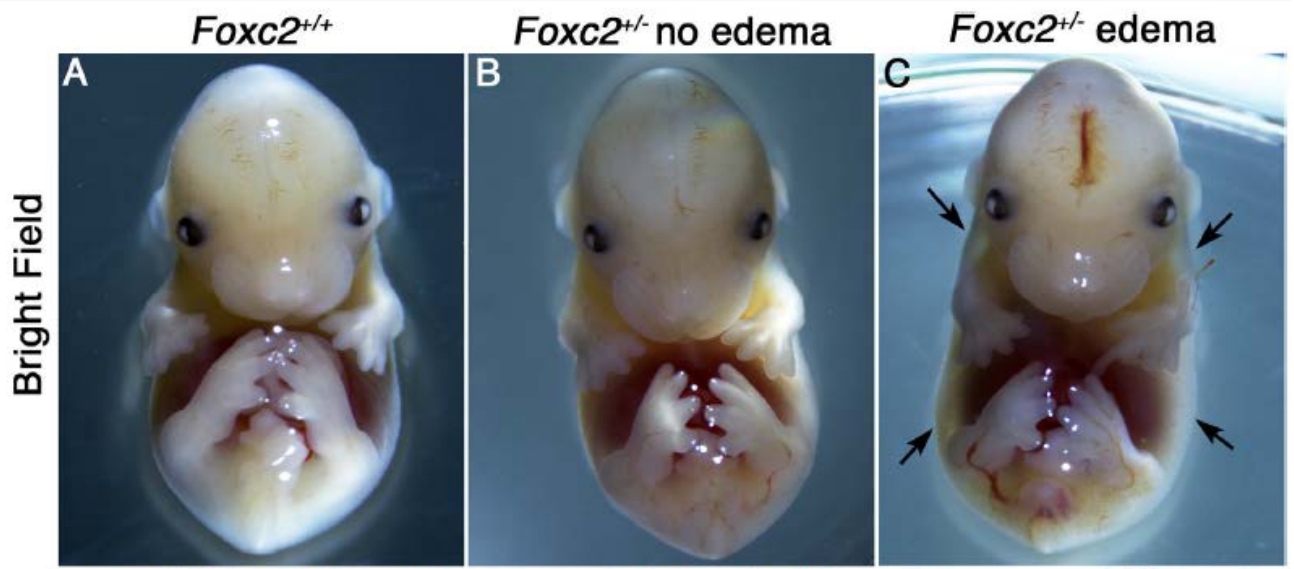


Ανώμαλη λεμφαγγειακή λειτουργία και αγενεσία λεμφικών βαλβίδων σε *Foxc2*^{+/-} ποντίκια. (α) θέσεις παλίνδρομης λεμφικής ροής. (c, e) έλλειψη λεμφικών βαλβίδων.



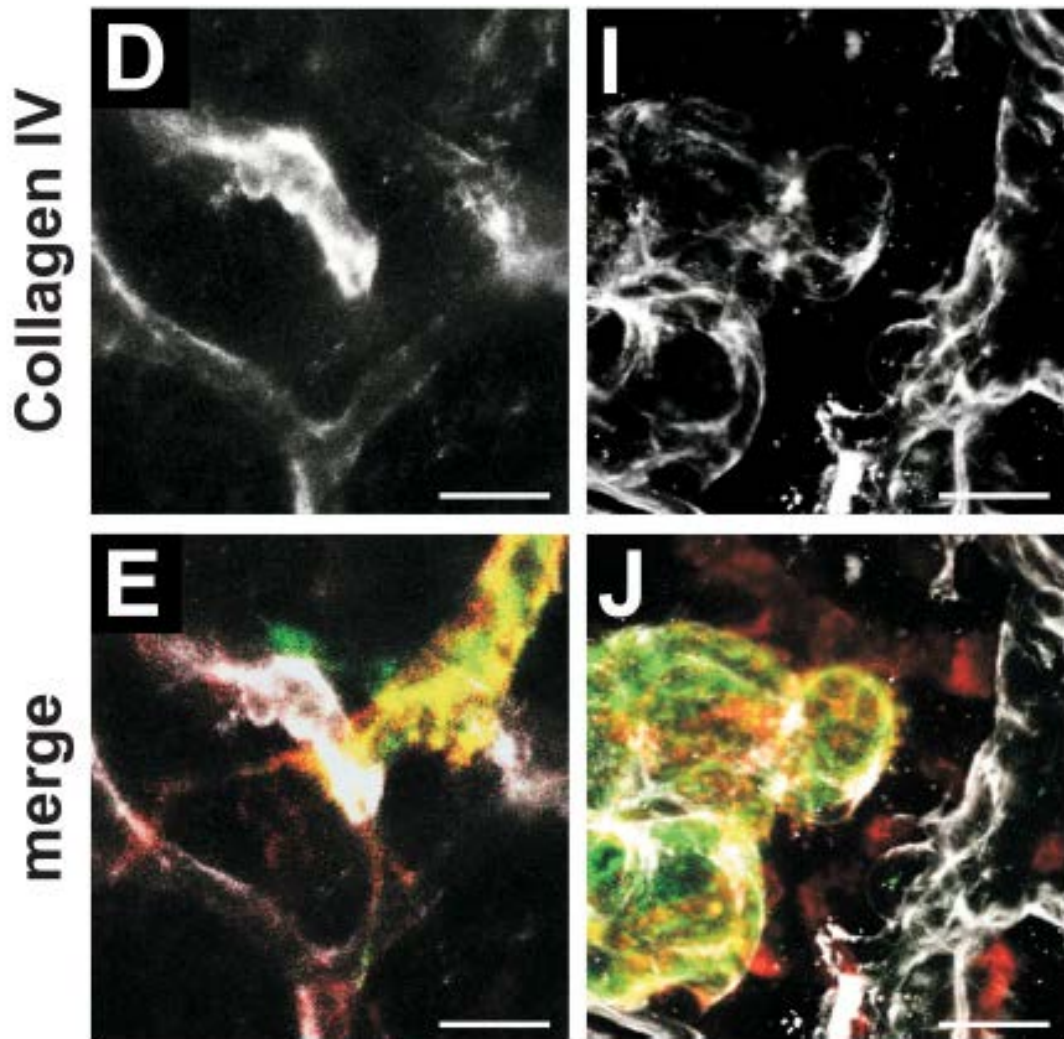


Ποντίκια $Foxc2^{+/-}$ $Vegfr3^{+/-}$ εμφανίζουν παρόμοιο λεμφαγγειακό φαινότυπο με τα ποντίκια $Foxc2^{-/-}$. (a,b) Ανωμαλίες στην έκφυση των λεμφαγγείων. (c,d) Ανωμαλία στη διάταξη και διατεταμένα υποδόρια λεμφαγγεία.



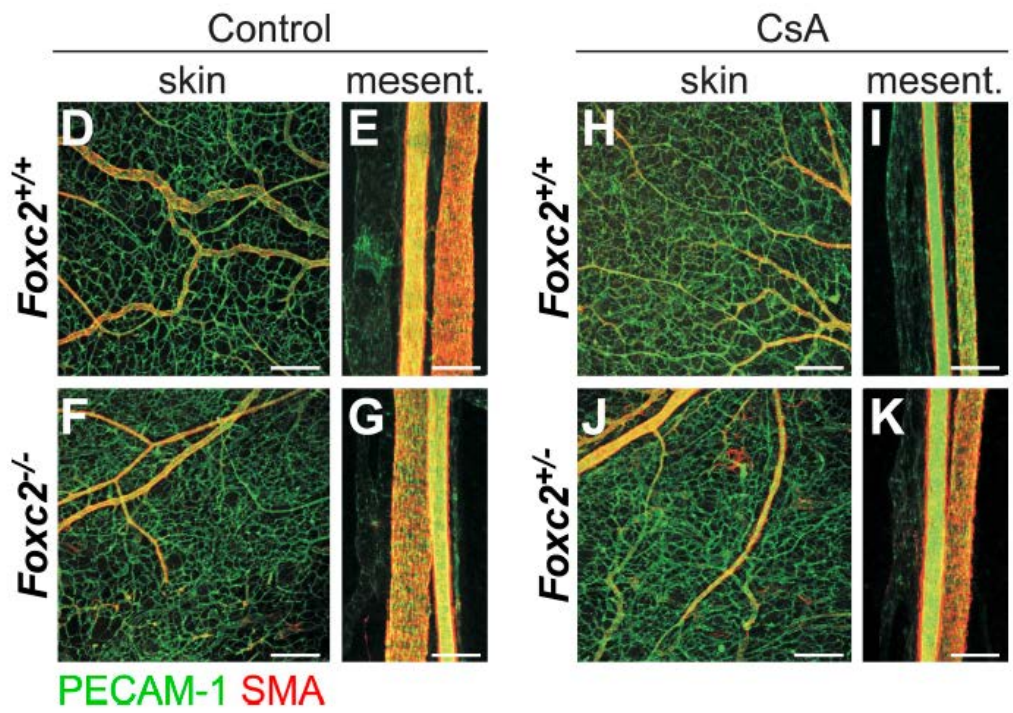
Διάφορη διεισδυτικότητα του οιδηματώδους φαινοτύπου. Περίπου τα μισά έμβρυα δε διαφοροποιούνται από τα άγριου τύπου.

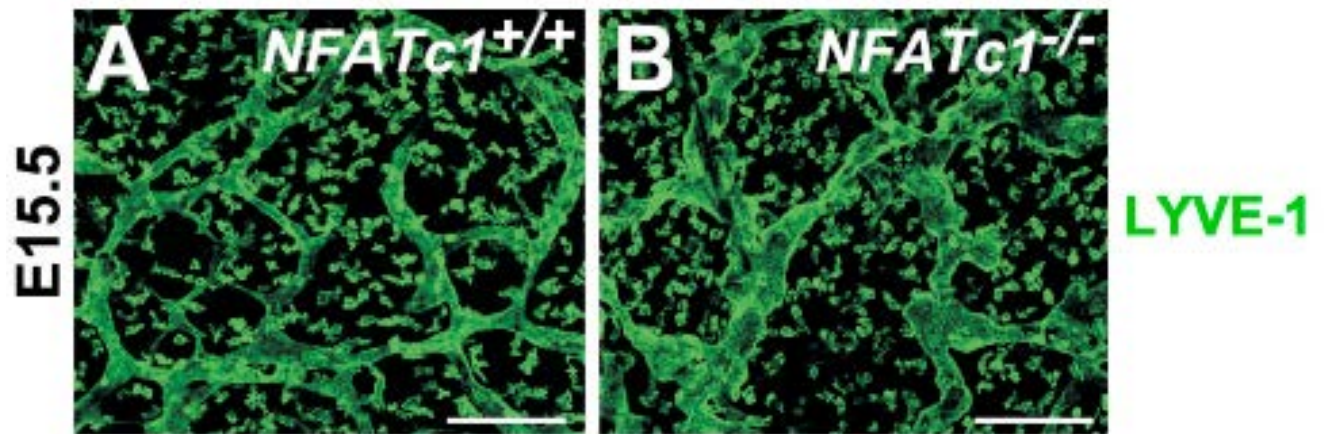
Στη συνέχεια, βρέθηκε ότι ο FOXC2 [17] ελέγχει τη διαδικασία της ανάπτυξης των συλλεκτικών λεμφικών αγγείων δια μέσου ρύθμισης της έκφρασης γονιδίων σε συνδυασμό με τον παράγοντα μεταγραφής NFATc1, ο οποίος ελέγχει επίσης τη μορφογένεση των καρδιακών βαλβίδων. Τα ποντίκια που δεν είχαν αυτούς τους παράγοντες εμφάνισαν υπερπλασία των λεμφικών αγγείων, με μείωση του σχηματισμού λεμφικών βαλβίδων και μειωμένη εκβλάστηση.



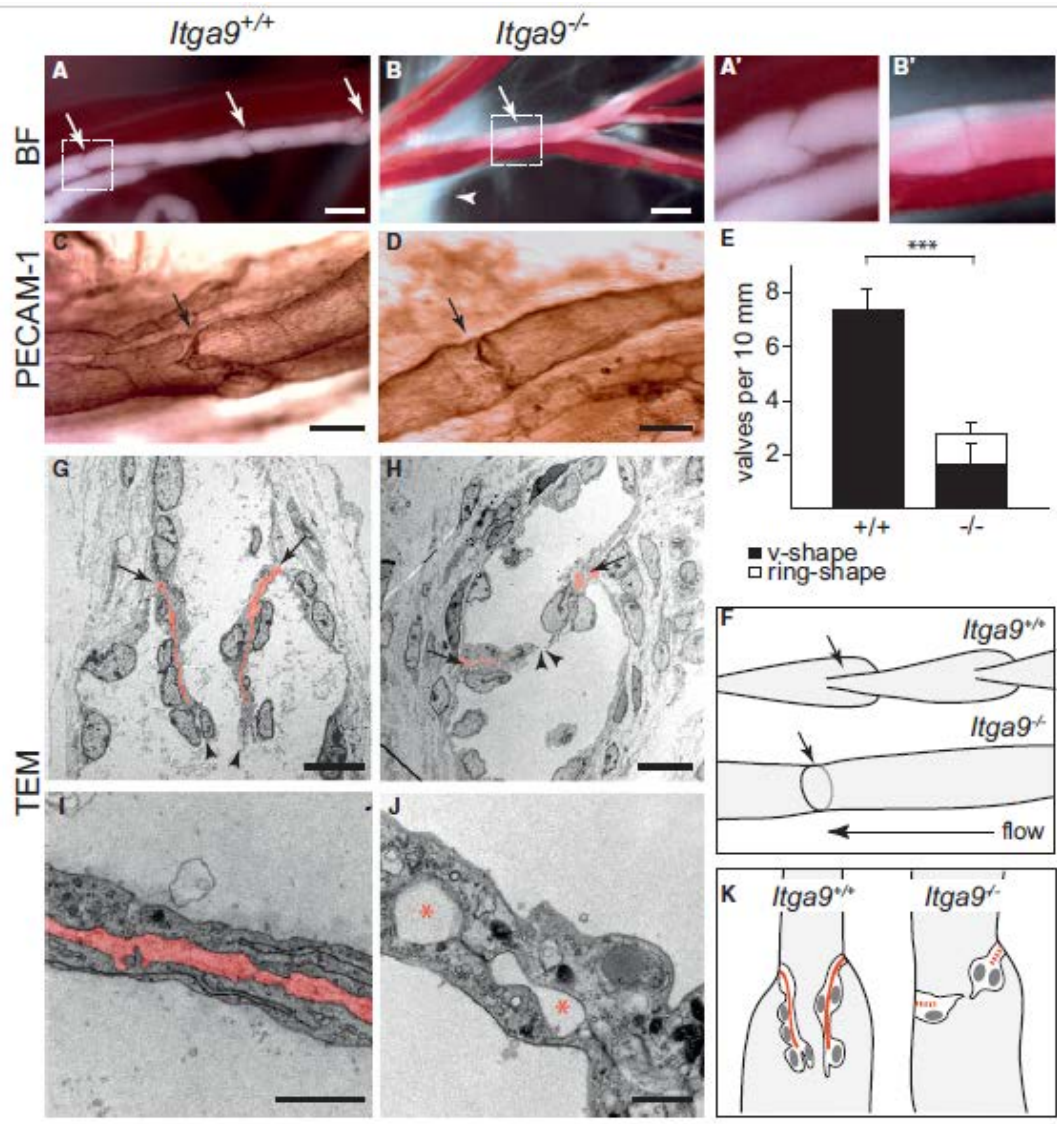
Ανώμαλη έκφραση λεμφαγγείων σε foxc2^{-/-} ποντίκια. Ανοσοϊστοχημεία.

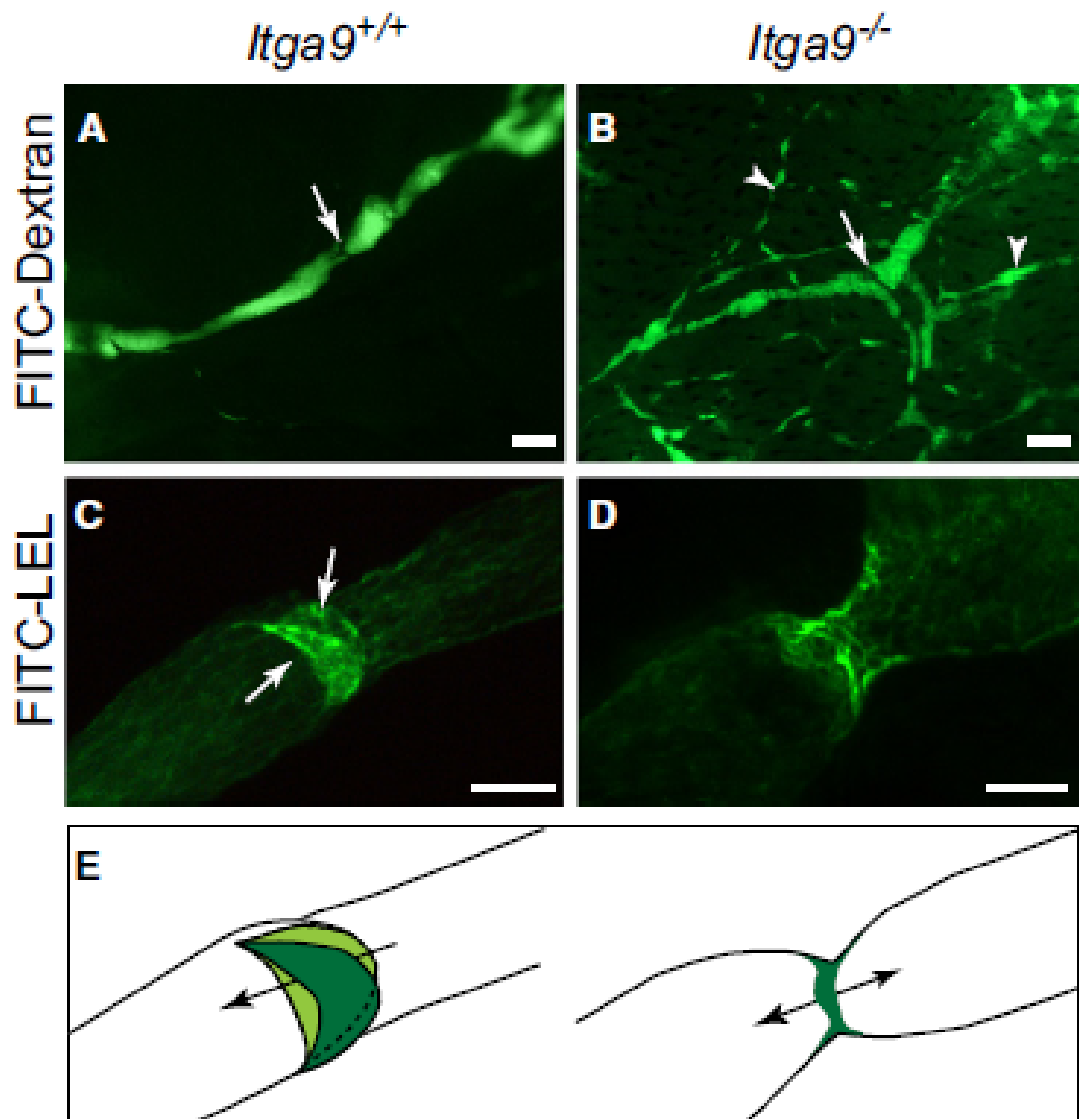
Ανόμαλη λεμφαγγειακή και αιμαγγειακή ανάπτυξη σε απώλεια του NFAT.





Όσον αφορά άλλους παράγοντες, μια πειραματική μελέτη [18] τόσο σε μοντέλα ποντικών όσο και σε ανθρώπους έδειξε ότι η Integrin-α9 απαιτείται ιστικά αυτόνομα στα ενδοθήλια για ανάπτυξη λεμφικών βαλβίδων, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη συγκρότηση της μήτρας (matrix) ινωδονεκτίνης. Τα ποντίκια με διαγραφή και των δύο αλληλίων της *Itga9* εμφάνισαν λιγότερες και μορφολογικά ανώμαλες λεμφικές βαλβίδες, εμφάνισαν παλίνδρομη ροή λέμφου και είχαν μειωμένη μεταφορά υγρών.



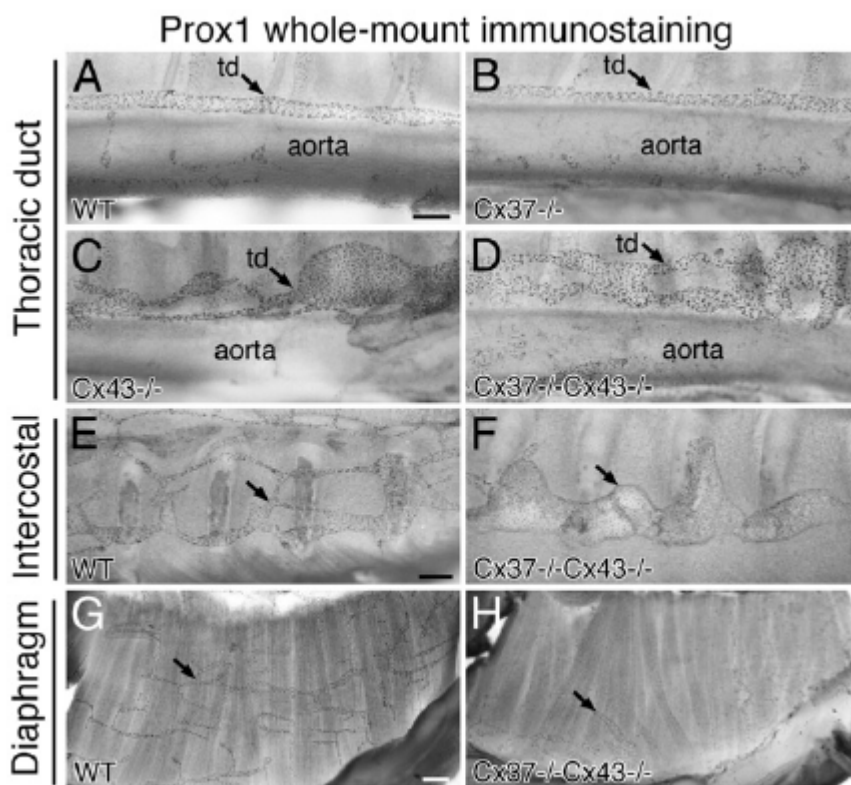


Ανώμαλη λεμφική αποχέτευση σε ποντίκια με έλλειψη Itga9. Απεικόνιση δερματικών λεμφαγγείων.

Η οδός των Akt / Protein Kinase B και η οδός της φωσφοϊνοσιτιδης-3 κινάσης-Akt έχουν αποδειχθεί [19] ότι απαιτούνται για το σχηματισμό του λεμφικού δικτύου, την αναδιαμόρφωση και την ανάπτυξη των λεμφικών βαλβίδων, αν και ο ακριβής μηχανισμός δεν έχει μελετηθεί.

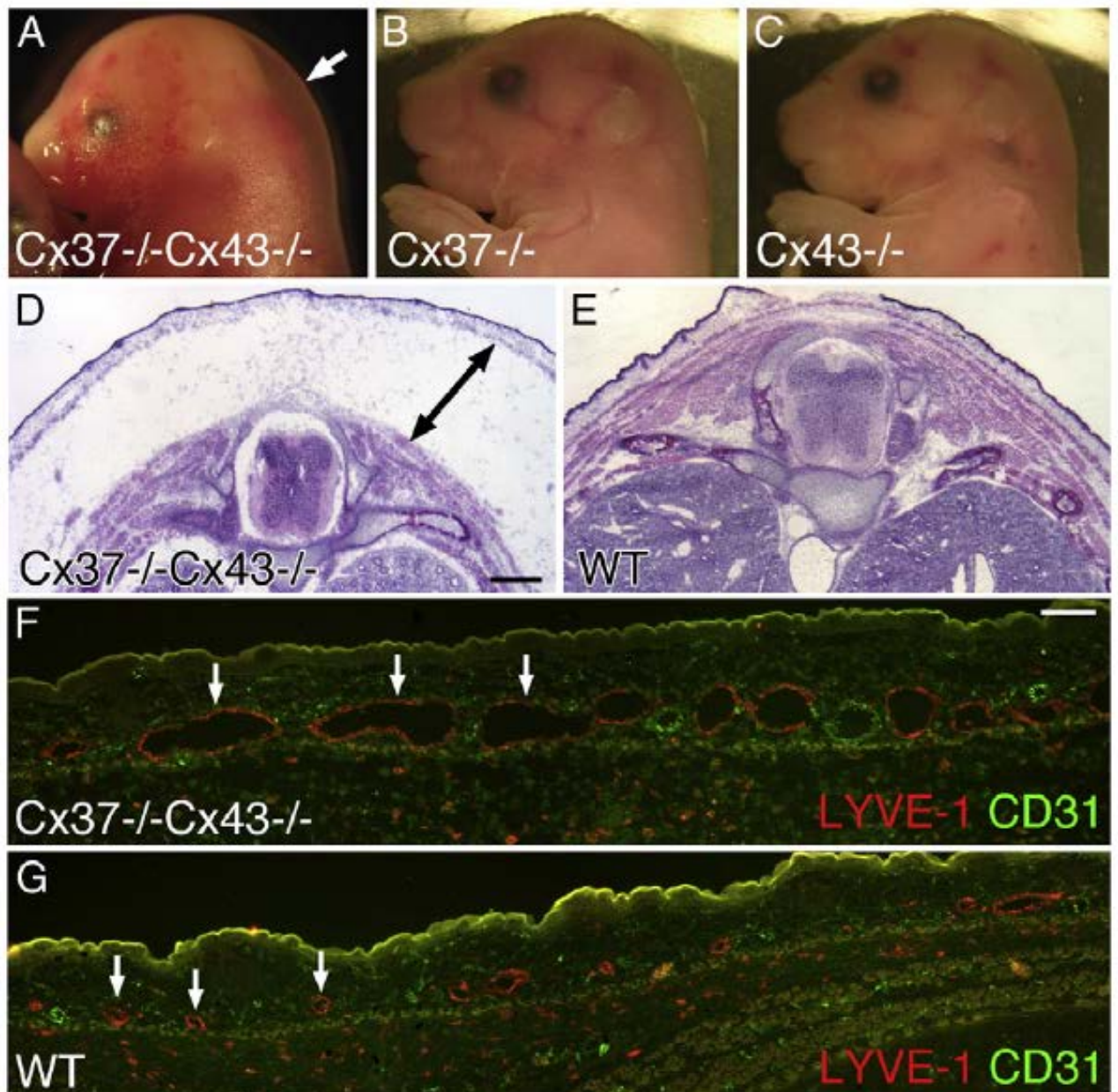
Μια μελέτη πολλαπλών μοντέλων ποντικών του πρωτογενούς λεμφοειδήματος [20], συμπεριλαμβανομένων γενετικά τροποποιημένων ποντικών με ανεπάρκεια σε πολλαπλούς από τους προαναφερθέντες παράγοντες, περιελάμβανε την ιδέα ότι η ανάπτυξη λεμφαγγειακών βαλβίδων έπαιξε σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία

της νόσου. Έμβρυα με ανεπάρκεια στο Prox1 δεν είχαν λεμφικές βαλβίδες, τα έμβρυα με εξάλειψη και των δύο αλληλίων του FOXC2 ήταν οιδηματώδη με διεσταλμένους λεμφικούς σάκους. Η κοννεξίνη Cx37, αν και δεν απαιτείται για τη διαφοροποίηση των λεμφικών βαλβίδων ή των λεμφικών ενδοθηλιακών κυττάρων, βρέθηκε ότι απαιτείται για τη σωστή μορφογένεση αυτών. Στα έμβρυα με ανεπάρκεια TgVE / Gata2 δεν υπήρχαν σωστά διαφοροποιημένες λεμφικές βαλβίδες ούτε και λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Κατεδείχθη ότι το φαινοτυπικά προφανές λεμφοίδημα συσχετίζεται με την πλήρη απουσία ή παραμόρφωση των λεμφαγγειακών βαλβίδων.



Ανώμαλη λεμφαγγειακή κατανομή σε μεταλλαγμένα ποντίκια. Απεικόνιση σε μείζονα θωρακικό πόρο, μεσοπλεύρια, διάφραγμα. Χαώδες εύρος, τυφλές απολήξεις και

διχασμένα τμήματα, σε αντιδιαστολή με τα άγριου τύπου ποντίκια.



Λεμφοίδημα και διεσταλμένα επιφανειακά λεμφαγγεία. Τα έμβρυα που έχουν ταυτόχρονη εξάλειψη Cx37 και Cx43 εμφανίζουν οίδημα, ένω η μεμονωμένη έλλειψη του ενός γονιδίου δεν το προκαλεί.

Ασθενείς με πρωτογενές λεμφοίδημα με μεταλλάξεις στον FOXC2 ή στο GATA2 και γεννημένοι με μη φυσιολογικές λεμφαγγειακές βαλβίδες μπορεί να μην εμφανίζουν σημάδια της νόσου, έως ότου επιτευχθεί ένα ορισμένο όριο λεμφαγγειακής λειτουργικότητας. Ο εντοπισμός αυτών των λεπτών ελαττωμάτων χρησιμοποιώντας μη επεμβατικές προσεγγίσεις θα μπορούσε να έχει ισχυρή

προγνωστική ικανότητα στην πρόβλεψη της πιθανότητας ανάπτυξης λεμφοειδήματος. Η έγκαιρη διόρθωση αυτών των ελαττωμάτων θα μπορούσε να αποτρέψει την εξέλιξη της νόσου.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανατομία των λεμφικών αγγείων έχει τεκμηριωθεί σταθερά και ο ρόλος τους στη μεταφορά διάμεσων υγρών, ανοσοκυττάρων και λιπιδίων έχει αναγνωριστεί επαρκώς. Το επίκεντρο της μελέτης έχει πλέον μετατοπιστεί στους μοριακούς μηχανισμούς και το γενετικό υπόβαθρο των λεμφικών ανατομικών και λειτουργικών ανωμαλιών. Ο σκοπός αυτής της βιβλιογραφικής ανασκόπησης ήταν να συνοψίσει δεδομένα από υπάρχουσες μελέτες μοντέλων ποντικών, καθώς και μελέτες αναφορών περιπτώσεων σε ανθρώπους ασθενείς και άρθρα ανασκόπησης, για να τονίσει ότι οι λεμφαγγειακές βαλβίδες και όχι άλλοι μηχανισμοί, όπως μηχανισμοί προώθησης και ενδοαυλικές πιέσεις, παίζουν τον πρωταρχικό ρόλο στο σχηματισμό του λεμφοειδήματος. Εν γνώσει του συγγραφέα, αυτή είναι η πρώτη κριτική ανασκόπηση που εστιάζει στο ζήτημα των λεμφαγγειακών βαλβίδων, ειδικότερα στην περίπλοκη παθοφυσιολογία του λεμφοειδήματος, με επίκεντρο σε μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν την εμβρυολογική δυσπλασία και δυσλειτουργία τους, σε αντίθεση με την εστίαση σε άλλες λεμφαγγειακές παραμέτρους όπως προώθηση δια λείων μυικών ινών και ενδοαυλικές πιέσεις.

Συνοψίζοντας το υπό μελέτη υλικό, διάφορα μοντέλα ποντικών και διαγονιδιακών ποντικών, καθώς και άλλες προσεγγίσεις έχουν αποδείξει τη σημασία των βασικών παραγόντων μεταγραφής (Prox1, FOXC2, Sox18, NFATc1, Coup-TFII, Net), σηματοδοτικών πρωτεϊνών (VEGF-C / D, Ang1 and Ang2, FIAF, EphrinB2, rodoplanin, Syk, Akt / PKB, PI3K); υποδοχέων (VEGFR-3, Np2); και αλληλεπιδράσεων κυττάρων-μήτρας (ιντεγκρίνη-α9, FnEIII, Emilin1) στη λεμφαγγειακή ανάπτυξη. Οι παράγοντες μεταγραφής, μαζί με τον PROX1, συντονίζουν και καθοδηγούν ένα πρόγραμμα έκφρασης γονιδίων, ενώ οι παράγοντες Itga9, Calcineurin / NFATc1, Connexins 37 και 43, ephrinB2, Epsin, Nrp1, και πιθανότατα και άλλοι, προκαλούν με την έκφρασή τους κυρίως την ανάπτυξη των λεμφικών βαλβίδων. Ο παράγοντας μεταγραφής FOXC2 είναι ένα από τα παλαιότερα μόρια που μελετήθηκαν, με πολύ σαφή μηχανισμό δράσης στην παθογένεση της νόσου, με περαιτέρω λεπτομέρειες σε κάθε διαδοχική μελέτη. Μια ομάδα από τα

νεότερα μελετημένα μόρια είναι εκείνα της οικογένειας των κοννεξινών, μερικά με σαφείς ρόλους στην εμβρυολογική ανάπτυξη των λεμφικών αγγείων και μερικά με διαφορούμενα πειραματικά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο GJC2 που κωδικοποιεί την Connexin 47 έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν κάποιες μορφές πρωτοπαθούς λεμφοειδήματος, καθώς και προδιάθεση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, οι οποίες υποβάλλονται σε χειρουργική θεραπεία ή ακτινοθεραπεία για την ασθένειά τους, για την ανάπτυξη δευτερογενούς λεμφοειδήματος. Τέτοιοι πληθυσμοί ασθενών θα μπορούσαν ενδεχομένως να επωφεληθούν από την τρέχουσα ανάπτυξη φαρμάκων τροποποίησης των διακυτταρικών κενών (gap-junction modifying drugs).

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Από όλα τα δεδομένα που συγκεντρώθηκαν προκύπτει ότι τα δομικά ελαττώματα των βαλβίδων των λεμφαγγείων αποτελούν τον κύριο παράγοντα σχηματισμού λεμφοειδήματος, τόσο στον ποντικό όσο και στον άνθρωπο, σε αντίθεση με τις προηγούμενες πεποιθήσεις που υποστήριζαν τις ανίσχυρες συσπάσεις των λείων μυϊκών ινών των λεμφαγγείων, τους παράγοντες ενδαυλικής λεμφαγγειακής πίεσης και τη σύσταση του λεμφικού υγρού ως ενόχων. Μερικές αποκλίσεις στα συμπεράσματα των πειραμάτων παραμένουν μέχρι σήμερα σχετικά με το ρόλο ορισμένων από τα αναφερόμενα μόρια, όπως οι Cx47 και Cx45, με διαφορούμενα αποτελέσματα από ξεχωριστές μελέτες. Άλλα μόρια πρέπει να εξεταστούν περαιτέρω όσον αφορά τον ακριβή μηχανισμό συμβολής τους στις λεμφαγγειακές διαταραχές, καθώς δεν έχουν δημοσιευθεί μελέτες για το συγκεκριμένο θέμα από το 2018. Μετά από μια σφαιρική σύνοψη της τρέχουσας βιβλιογραφίας, ορισμένες κατευθύνσεις για μελλοντική έρευνα θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν τα ακόλουθα :

- (1) Ο μοριακός μηχανισμός που διέπει τον διαχωρισμό και το όριο μεταξύ του λεμφικού συστήματος και του καρδιαγγειακού συστήματος. Αυτό μπορεί να είναι το τελευταίο αναπάντητο ερώτημα της σχετικής εμβρυολογίας.
- (2) Ο ακριβής κυτταρικός και μοριακός μηχανισμός που διέπει τον ρόλο της οδού της φωσφοϊνοσιτιδης-2 κινάσης-Akt στην ανάπτυξη των λεμφικών βαλβίδων, καθώς έχει τεκμηριωθεί η συμβολή του στο λεμφοίδημα [19].

- (3) Εάν η κοννεξίνη Cx43 έχει πρόσθετους ρόλους, όπως στη συσταλτικότητα των λεμφικών αγγείων, στην αγωγή των συσταλτικών κυμάτων ή στη δομική ακεραιότητα των αγγείων. [13]
- (4) Εάν η αιτιολογία της λεμφαγγειεκτασίας στους ανθρώπους, που εμφανίζεται σε πολλές ασθένειες όπως τα σύνδρομα von Recklinghausen, Turner, Noonan, Klippel-Trenaunay και Hennekam, συνδέεται με μειωμένη έκφραση των FOXC2 και Cx37, καθώς το τελευταίο δεν έχει μελετηθεί.[10]
- (5) Ο μηχανισμός με τον οποίο η κοννεξίνη Cx37 ασκεί το κατασταλτικό της αποτέλεσμα στην ανάπτυξη, μια νέα πτυχή στη μελέτη του μορίου.[10]
- (6) Ο μηχανισμός με τον οποίο οι μεταλλάξεις της Cx47 αυξάνουν την προδιάθεση σε δευτερογενές λεμφοίδημα δεν έχει καθοριστεί. Επίσης, εάν μια φαρμακευτική θεραπεία τροποποίησης της κοννεξίνης θα προσφέρει βελτιωμένο αποτέλεσμα σε γυναίκες που έχουν γενετική προδιάθεση για δευτερογενές λεμφοίδημα μετά από θεραπεία καρκίνου του μαστού.[11]
- (7) Ο μηχανισμός με τον οποίο ένα βαρυτικό φορτίο (εξάρτηση) επηρεάζει δυσμενώς την προώθηση της λέμφου σε έναν πάσχοντα από το σύνδρομο λεμφοιδήματος-διστιχίασης, αλλά όχι σε έναν υγιή άνθρωπο. Τρεις πιθανότητες που θα απαιτούσαν μελλοντική έρευνα περιλαμβάνουν την αποτυχία των εγγύς λεμφικών βαλβίδων, μια ανώμαλη επένδυση των αρχικών λεμφικών αγγείων με λεία μυϊκά κύτταρα ή τη συμμετοχή και φλεβικής διόγκωσης.[15]
- (8) Τα κυτταρικά σήματα που ελέγχουν την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FOXC2 κατά την ανάπτυξη των λεμφικών αγγείων. Οι παράγοντες TGF και BMP2 έχει αποδειχθεί ότι τον επάγουν σε μελέτες in vitro, αλλά δεν έχουν διεξαχθεί μελέτες in vivo.[17]

Η παροχή απαντήσεων στα παραπάνω ερωτήματα θα μπορούσε να έχει εξαιρετικά σημαντικές επιπτώσεις στη διάγνωση, την πρόγνωση και τη θεραπεία των ασθενών με λεμφοίδημα, βελτιώνοντας τη συνολική ποιότητα ζωής τους. Ο θεράπων ιατρός θα είχε καλύτερα εργαλεία για τη μοριακή διάγνωση ενός πιθανού ασθενούς δευτερογενούς λεμφοιδήματος με καρκίνο του μαστού, ακολουθώντας τον προσδιορισμό του γονιδίου της Cx-47, βοηθώντας τον να επιλέξει το πιο κατάλληλο σχέδιο θεραπείας χωρίς περιττό κίνδυνο επιπλοκών που σχετίζονται με δευτερογενές λεμφοίδημα. Η κατανόηση της γενετικής βάσης του πρωτογενούς λεμφοιδήματος θα

μπορούσε επίσης να οδηγήσει σε διεύρυνση των θεραπευτικών δυνατοτήτων για ασθενείς που πάσχουν από συγγενές λεμφοίδημα, όπως φάρμακα τροποποίησης μορίων λεμφαγγειακών βαλβίδων ή ακόμη και μια μορφή γονιδιακής θεραπείας, αντικαθιστώντας, με τη χρήση ικών φορέων, τα ελλείποντα ή ελαττωματικά γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη των λεμφαδενικών βαλβίδων με υγιή. Τέλος, η κατανόηση της ακριβούς μοριακής αλληλεπίδρασης κατά το σχηματισμό του λεμφικού συστήματος, κατά τη λειτουργία και την ασθένειά του θα βοηθήσει στη βελτίωση των τεχνικών που χρησιμοποιούνται σήμερα, όπως η μέθοδος μεταφοράς λεμφαδένων και ακόμη και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών δυνατοτήτων που δεν μπορούμε επί του παρόντος να φανταστούμε, είτε είναι φαρμακευτικές είτε επεμβατικές-χειρουργικές στη φύση τους.

Πίνακας 1: Μελέτες και μέθοδοι σχεδιασμένες για τον έλεγχο της συμμετοχής των λεμφικών βαλβίδων στην παθοφυσιολογία του λεμφοιδήματος

Συγγραφέας	Είδος ιστού (άνθρωπος/ποντικός)	Μέθοδοι	Συμβολή στη δημιουργία λεμφοιδήματος (θετική,αρνητική,απροσδιόριστη)
Guex,1994	Ασθενείς με εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση	Μετρήσεις πίεσης σε αγγεία κάτω άκρων	+
Olszewski,2002	Ασθενείς με λεμφοίδημα	Μετρήσεις πίεσης σε ανθρώπινα λεμφαγγεία	+
Petrova,2004	FOXC2 (-) ποντικοί, ανθρώπινα ενδοθηλιακά λεμφαγγειακά κύτταρα	Whole-mount staining,in situ υβριδισμός,μικροσκόπηση φθορισμού,απομόνωση RNA και northern blotting,καλλιέργεια ανθρώπινων κυττάρων και επιμόλυνση-επαγωγή με ιικό φορέα	+

Bazigou,2009	Ποντίκια με μετάλλαξη στο Itga9 , ανθρώπινα ενδοθηλιακά λεμφαγγειακά κύτταρα	Ανοσοφθορισμός και X-Gal Staining,μικροσκόπηση φθορισμού,Ηλεκτρονική μικροσκόπηση,ανάλυση FN Fibril Assembly,ανάλυση Western Blot,σχετικά ποσοτική PCR,στατιστική ανάλυση	+
Norrmn,2009	FOXC2 (-) και NFATc1 (-) ποντίκια, ανθρώπινα ενδοθηλιακά λεμφαγγειακά κύτταρα	λεμφαγγειογραφία φθορισμού,μικροσκόπηση φθορισμού,whole-mount staining,Υβριδισμός in situ,ανάλυση ChIP-chip ,EMSA,Immunoprecipitation και Western και Northern blotting,ποσοτικοποίηση και στατιστική ανάλυση	+
Ferrell,2010	Ασθενείς με λεμφοίδημα και μετάλλαξη στο GJC2	Ανάλυση γονιδιώματος δύο διευθύνσεων	+
Zhou,2010	Ποντίκια με έλλειμα ως προς Akt/Protein Kinase B, ανθρώπινα ενδοθηλιακά λεμφαγγειακά κύτταρα	Φθορίζουσα μικρολεμφαγγειογραφία,Ανοσοϊστοχημεία,ανάλυση κυτταρικής ανάπτυξης,ανάλυση Western Blot,στατιστική ανάλυση,επαγωγή με φορέα αδενοϊό	+
Kanady,2011	ποντικοί με έλλειψη σε Cx37 και/ή Cx43	Ανοσοχρωματισμός ,Whole-mount immunostaining,λεμφαγγειογραφία	+

Mellor,2011	Ασθενείς με FOXC2 +/-	In vivo ποσοτική φθορίζουσα μικρολεμφαγγειογραφία ,χρώση μικρών λεμφαγγείων από βιοψίες δέρματος	+/- (εμφάνιση λεμφοιδήματος μόνο υπό βαρυντικό φορτίο)
Finegold,2012	Ασθενείς με καρκίνο του μαστού και μετάλλαξη στην Cx47	Ανάλυση γονιδιώματος,βιοπληροφορι κή ανάλυση,in vitro λειτουργικές δοκιμασίες σε επαγόμενα ανθρώπινα λεμφαγγειακά κύτταρα,λειτουργικές δοκιμασίες σε ανθρώπινα λεμφαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα,λεμφοσπινθηρογρά φηση	+
Kanady,2015	Ποντικοί FOXC2-/- , Cx37-/-	Section immunostaining, Whole- mount immunostaining,λεμφαγγει ογραφία,ποσοτικοποίηση λεμφικών αγγειακών δικτύων,στατιστική ανάλυση	+
Munger,2016	Ποντικοί με έλλειψη στην Cx46	Section immunostaining, Whole- mount immunostaining,Λεμφαγγει ογραφία,Ποσοτικοποίηση λεμφαγγειακών κυττάρων,δοκιμασίες παλίνδρομης λεμφικής ροής	+

		σε αγγειακές βαλβίδες ενηλίκων, In situ απεικόνιση φλεβικών βαλβίδων	
Geng,2016	ποντικοί με ελλείψεις σε Prox1,FOXC2, TgVE/Gata2,CX37	Ανοσοϊστοχημεία,Transmission scanning, ηλεκτρονική μικροσκόπηση	+
Meens,2017	Ποντικοί με έλλειψη στην Cx47	Ποσοτική PCR, whole- mount confocal microscopy λεμφικών αγγείων	-
Castorena- Gonzalez,2018	Ποντικοί με έλλειψη στην Cx45	Απεικόνιση ανοσοφθορισμού ,Whole- mount stains	+/- (μόνο υπό βαρυτικό φορτίο)

.....

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hartiala P, Saarikko AM. Lymphangiogenesis and Lymphangiogenic Growth Factors. *J Reconstr Microsurg.* 2016; 32(1):10-5. PMID: 25665098. DOI: 10.1055/s-0035-1544179.
2. Witte MH, Jones K, Wilting J et al. Structure function relationships in the lymphatic system and implications for cancer biology. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25(2):159-184. PMID: 16770531 DOI: 10.1007/s10555-006-8496-2.
3. Meens MJ, Sabine A, Petrova Tv et al. Connexins in lymphatic vessel physiology and disease. *FEBS Lett.* 2014; 588(8):1271-7. PMID: 24457200. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.01.011.

4. Welsh JD, Kahn ML, Sweet DT. Lymphovenous hemostasis and the role of platelets in regulating lymphatic flow and lymphatic vessel maturation. *Blood*. 2016; 128(9):1169-73. PMID: 27385789. DOI: 10.1182/blood-2016-04-636415.
5. Olszewski WL. Contractility patterns of normal and pathologically changed human lymphatics. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 979:52-63. PMID: 12543716 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04867.x.3.
6. Guex JJ. [Physiopathology of post-thrombotic syndrome. Update 1994]. *J Mal. Vasc*. 1994; 19(1):12-6. PMID: 8027676.
7. Rockson SG, Rivera KK. Estimating the population burden of lymphedema. *Ann N Y Acad Sci*. 2018; 1131:147-54. PMID: 18519968. DOI: 10.1196/annals.1413.014
8. Castorena-Gonzalez JA, Zawieja SD, Li M, Srinivasan RS et al. Mechanisms of Connexin-Related Lymphedema. *Circ Res*. 2018; 123(8):964-985. PMID: 30355030. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312576.
9. Kanady JD, Dellinger MT, Munger SJ et al. Connexin37 and Connexin43 deficiencies in mice disrupt lymphatic valve development and result in lymphatic disorders including lymphedema and chylothorax. *Dev Biol*. 2011; 354(2):253-66. PMID: 21515254. DOI: 10.1016/j.ydbio.2011.04.004.
10. Kanady JD, Munger SJ, Witte MH et al. Combining FOXC2 and Connexin37 deletions in mice leads to severe defects in lymphatic vascular growth and remodeling. *Dev Biol*. 2015; 405(1):33-46. PMID: 26079578. DOI: 10.1016/j.ydbio.2015.06.004.
11. Finegold DN, Baty CJ, Knickelbein KZ et al. Connexin 47 mutations increase risk for secondary lymphedema following breast cancer treatment. *Clin Cancer Res*. 2012; 18(8):2382-90. PMID: 22351697. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2303.
12. Meens MJ, Kutkut I, Rochemont V et al. Cx47 fine-tunes the handling of serum lipids but is dispensable for lymphatic vascular function. *PLoS One*. 2017; 12(7):e0181476. PMID: 28732089. DOI: 10.1371/journal.pone.0181476.

13. Munger SJ, Davis MJ, Simon AM. Defective lymphatic valve development and chylothorax in mice with a lymphatic-specific deletion of Connexin43. *Dev Biol.* 2017; 421(2):204-218. PMID: 27899284. DOI: 10.1016/j.ydbio.2016.11.017.
14. Ferrell RE, Baty CJ, Kimak MA et al. GJC2 missense mutations cause human lymphedema. *Am J Hum Genet.* 2010; 86(6):943-8. PMID: 20537300. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.04.010.
15. Mellor RH, Tate N, Stanton AW et al. Mutations in FOXC2 in humans (lymphoedema distichiasis syndrome) cause lymphatic dysfunction on dependency. *J Vasc Res.* 2011; 48(5):397-407. PMID: 21464574. DOI: 10.1159/000323484.
16. Petrova TV, Karpanen T, Norrmén C et al. Defective valves and abnormal mural cell recruitment underlie lymphatic vascular failure in lymphedema distichiasis. *Nat Med.* 2004; 10(9):974-981. PMID: 15322537 DOI: 10.1038/nm1094.
17. Norrmén C, Ivanov KI, Cheng J et al. FOXC2 controls formation and maturation of lymphatic collecting vessels through cooperation with NFATc1. *J Cell Biol.* 2009; 185(3):439-57. PMID: 19398761. DOI: 10.1083/jcb.200901104.
18. Bazigou E, Xie S, Chen C et al. Integrin-alpha9 is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Dev Cell.* 2009; 17(2):175-86. PMID: 19686679. DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.017.
19. Zhou F, Chang Z, Zhang L et al. Akt/Protein kinase B is required for lymphatic network formation, remodeling, and valve development. *Am J Pathol.* 2010; 177(4):2124-33. PMID: 20724596. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091301.
20. Geng X, Cha B, Mahamud MR et al. Multiple mouse models of primary lymphedema exhibit distinct defects in lymphovenous valve development. *Dev Biol.* 2016; 409(1):218-233. PMID: 26542011. DOI: 10.1016/j.ydbio.2015.10.022.