

TH. Prodrug of green tea epigallocatechin-3-gallate (Pro-EGCG) as a potent anti-angiogenesis agent for endometriosis in mice. *Angiogenesis*. 2013;(16):59-69. DOI:10.1007/s10456-012-9299-4.

43. Ricci AG, Olivares CN, Bilotas MA, Baston JJ, Singla JJ, Meresman GF, Baranao. Natural therapies assessment for the treatment of endometriosis. *Human Reproduction*. 2013;(28): 178-88. DOI:10.1093/humrep/des369.

44. Matsuzaki S, Darcha C. Antifibrotic properties of epigallocatechin-3-gallate in endometriosis. *Human Reproduction*. 2014;29(8):1677-87. DOI:10.1093/humrep/deu123.

45. Harlev A, Gupta S, Agarwal A. Targeting oxidative stress to treat endometriosis. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2015;19(11):1447-64. DOI:10.1517/14728222.2015.1077226.

46. Roshdy E, Rajaratnam V, Maitra S, Sabry M, Allah AS, Al-Hendy A. Treatment of symptomatic uterine fibroids with green tea extract: a pilot randomized controlled clinical study. *International Journal of Women's Health*. 2013;(5): 477-86. DOI:10.2147/ijwh.s41021.

47. Zhang D, Al-Hendy M, Richard-Davis G, Montgomery-Rice V, Sharan C, Rajaratnam V, Khurana A, Al-Hendy A. Green tea extract inhibits proliferation of uterine leiomyoma cells in vitro and in nude mice. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010;202(289):e1-289. DOI:10.1016/j.ajog.2009.10.885.

48. Zhang D, Al-Hendy M, Richard-Davis G, Montgomery-Rice V, Rajaratnam V, Al-Hendy A. Antiproliferative and proapoptotic effects of epigallocatechin gallate on human leiomyoma cells. *Fertility and Sterility*. 2010;(94):1887-93. DOI:10.1016/j.fertnstert.2009.08.065.

49. Zhang D, Rajaratnam V, Al-Hendy O, Halder S, Al-Hendy A. Green tea extract inhibition of human leiomyoma cell proliferation is mediated via catechol-O-methyltransferase. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2014;(78):109-18. DOI:10.1159/000363410.

51. Muñoz-Hernando L, Muñoz-Gonzalez JL, Marqueta-Marques L, Alvarez-Conejo C, Tejerizo-García Á, Lopez-Gonzalez G, Villegas-Muñoz E, Martin-Jimenez A, Jiménez-López JS. Endometriosis: alternative methods

of medical treatment. *International Journal of Women's Health and Wellness*. 2015;(7):595-603. DOI:10.2147/ijwh.s78829.

52. Ozercan IH, Sahin N, Akdemir F, Onderci M, Seren S, Sahin K, Kucuk O. Chemoprevention of fibroid tumors by epigallocatechin-3-gallate in quail. *Nutrition Research*. 2008;(28):92-7. DOI:10.1016/j.nutres.2007.11.009.

Сведения об авторах

Andreas D. Ebert, Клиника женского здоровья, гинекологии и акушерства проф. Эберта; адрес: Германия, 10787, г. Берлин, Нюрнбергер Штр. 67; тел.: +7(923)2872131; e-mail: info@prof-ebert.d

Цхай Виталий Борисович, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2743174; e-mail: tchai@yandex.ru

David Matthias, Университетская клиника, Шарите; адрес: Германия, 13353, г. Берлин, Аугустенбургер Платц 1; тел.: +493045050; e-mail: webmaster(at)charite.de

Магалов Ислам, Азербайджанский медицинский университет; адрес: Азербайджан, AZ1022, г. Баку, ул. Бакиханова, 23; тел.: (+994012)4390858, e-mail: bsu@bsu.az

Пашов Александр Иванович, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта; адрес: Российская Федерация, 236016, г. Калининград, ул. Александра Невского, 14; тел.: +7(4012)338217; post@kantiana.ru

Макаренко Татьяна Александровна, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2743174; e-mail: makarenko7777@yandex.ru

Никифорова Дарья Евгеньевна, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2743174; e-mail: dashsemch@mail.ru

Author information

Andreas D. Ebert, Praxis of female health, gynecology and obstetrics; Address: Nürnberger Str. 67, Berlin, Germany, 10787; Phone: +7(923)2872131; e-mail: info@prof-ebert.d

Vitaly B. Tskhai, Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; Phone: +7 (39422)33467; e-mail: tchai@yandex.ru

David Matthias, University hospital charité Berlin; Address: Augustenburger Platz 1, Berlin, Germany, 13353; Phone: +49 3045050; webmaster(at)charite.de

Islam Magalov, Azerbaijan Medical University; Address: 23, Bakixanov Str., Baku, Azerbaijan, AZ1022; Phone: (+994 012) 4390858, e-mail: bsu@bsu.az

Alexander I. Pashov, Immanuel Kant Baltic Federal University; Address: 14, Alexander Nevsky Str., Kaliningrad, Russian Federation, 236016; Phone: +7 (4012)338217; post@kantiana.ru

Tatyana A. Makarenko, Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; Phone: +7 (39422)33467; e-mail: makarenko7777@yandex.ru

Daria E. Nikiforova, Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; Phone: +7 (39422)33467; e-mail: dashsemch@mail.ru

Поступила 12.09.2017 г.

Принята к печати 10.10.2017 г.

© СЕМЯЧКИНА-ГЛУШКОВСКАЯ О. В.

УДК [612.82+612.017.1]:612.42

DOI: 10.20333/2500136-2017-6-39-50

ЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В ОБОЛОЧКАХ МОЗГА: НОВЫЕ ОТРЫТИЯ В НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ

О. В. Семячкина-Глушковская

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Саратов 410012, Российская Федерация

Резюме. До 2015 года считалось, что ткани мозга лишены лимфатических сосудов и потому, до сих пор, остается не ясным, как мозг очищается от метаболитов и регулирует водный баланс. Несмотря на тот факт, что еще в 18 веке итальянский анатом Паоло Маскагни представил макет лимфатики в менингеальных оболочках мозга, никто в течение двух тысячелетий не смог повторить его опыт, т.к. лимфатические сосуды прозрачны и чрезвычайно тонкие. Это стало возможно только с появлением прогресса в оптических технологиях в XXI веке, что позволило приоткрыть занавесу в загадки лимфатики. В данном обзоре освещаются новые фундаментальные знания о роли лимфатики в дренажной функции мозга и о

прогрессе в нейрофизиологии, открывающим двери в механизмы иммунной защиты мозга, контроля за его барьерной функцией и амбициозных пионерских перспектив лечения заболеваний центральной нервной системы.

Ключевые слова: лимфатическая система менингеальных оболочек мозга, спинномозговая жидкость, исторический аспект, теория о глифатической системе мозга, маркеры, нейрофизиология, оптические методы исследования.

Для цитирования: Семьякина-Глушковская ОВ. Лимфатическая система в оболочках мозга: новые открытия в нейрофизиологии. Сибирское медицинское обозрение. 2017;(6):39-50. DOI: 10.20333/2500136-2017-6-39-50

LYMPHATIC SYSTEM IN BRAIN TUNICS: NEW DISCOVERIES IN NEUROPHYSIOLOGY

O.V. Semyachkina-Glushkovskaya

N.G. Chernyshevsky Saratov State University, Saratov 410012, Russian Federation

Abstract. Until 2015, it was believed that the brain tissue is devoid of lymphatic vessels and therefore, until now, it remains unclear how the brain is cleansed of metabolites and regulates the water balance. Despite the fact that in the 18th century, by the Italian anatomist Paolo Mascagni was presented the model of lymphatics in the meningeal membranes of the brain, no one during two thousand years could repeat his experiment, because the lymphatic vessels are diaphanous and extremely thin. It became possible only with the progress in optical technologies in the 21st century, that allowed to understand the mystery of lymphatics in the brain. This review gives new fundamental knowledge about the role of lymphatics in the drainage function of the brain and about progress in neurophysiology, opening the door to mechanisms of immune defense of the brain, control for its barrier function and ambitious pioneering perspectives of treating central nervous system diseases.

Key words: lymphatic system of meningeal membranes of the brain, cerebrospinal fluid, historical aspect, theory of the brain's glyphatic system, markers, neurophysiology, optical methods of investigation.

Citation: Semyachkina-Glushkovskaya O.V. Lymphatic system in brain tunics: new discoveries in neurophysiology. *Siberian Medical Review*. 2017;(6): 39-50. DOI: 10.20333/2500136-2017-6-39-50

Лимфатика в оболочках мозга?

Лимфатическая система оболочек мозга, пожалуй, самое мистическое открытие за последние два года, которое породила множество жарких дискуссий и сомнений [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]. Связано это с трудностями, возникающими при воспроизведении результатов, технических сложностей, отсутствия широко признанных коммерческих маркеров для четкой идентификации лимфатических сосудов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8]. Все это существенно тормозит возможности массового исследования в данном направлении и проверки научных данных в разных лабораториях. Отсюда сомнения со стороны научной общественности. Но, «молодая» лимфатика подобна искусству, ее можно сравнить с братством пре-Рафаэлитов в Англии или союзом импрессионистов во Франции. Она не боится сомнений и амбициозно открывает двери в новые механизмы нейрофизиологии, настойчиво заявляя о себе, что заставляет даже самых заядлых скептиков вновь и вновь обратить свое внимание на менингеальную лимфатическую систему.

Рассмотрим две фундаментальные работы Louveau et al. и Aspelung et al., которые позволили поставить восклицательный знак в истории открытия менингеальной лимфатики [1, 2]. Louveau et al. с применением специальных хирургических методик по выделению менингеальных оболочек у людей и мышей, а также маркеров лимфатических сосудов (см. табл.) показали их субдуральное расположение вдоль венозных синусов [1, 9]. Аналогичные данные продемонстрировали Aspelung et al., но на живых мышцах с использованием технологии истончения костей черепа для визуализа-

ции сосудов мозга с помощью двух-фотонной микроскопии [2, 9, 10, 11]. В этой работе они показали, что геометрия расположения и анатомия лимфатических сосудов оболочек мозга зависит от его области, где наибольшее разветвление, размеры и наличие клапанов наблюдается только в районе поперечного синуса головного мозга.

В этих двух независимых работах показана так же функциональная взаимосвязь лимфатики, представленной в оболочках мозга и на периферии [1, 2]. Aspelung et al. на модели трансгенных мышей K14-VEGFR3-IgTG, у которых не развиваются лимфатические сосуды, показали, что введение флуоресцентного красителя в паренхиму мозга приводит к его накоплению в глубоком лимфатическом узле – первой анатомической «станцией» выхода спинномозговой жидкости из мозга [12, 13]. Перевязка лимфатических сосудов выше указанного узла приводит к накоплению красителя в тканях мозга и существенному нарушению его выхода из церебральной паренхимы.

Вышеперечисленные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи между менингеальными и периферическими лимфатическими сосудами.

Однако, действительно ли наличие лимфатики в оболочках мозга молодое открытие? Еще в начале 19 века итальянский анатом Паоло Маскагни описал невидимые сосуды на поверхности мозга, которые назвал лимфатическими [14]. Поразительно, но он почти вслепую дал детали с мельчайшими подробностями их архитектуры в менингеальных оболочках мозга, что удивительно совпало с современными открытиями. До нашего времени дошли восковые макеты ана-

томии менингеальной лимфатики и ее взаимосвязи с периферией [15]. 28 моделей Маскагни хранятся сейчас в коллекции венской хирургической академии имени австрийского императора Иосифа II, который привез восковые фигуры из Флоренции, где еще в 15 веке зародилось искусство восковой анатомии [16, 17, 18]. Маскагни разработал пионерскую технологию визуализации бесцветных лимфатических сосудов в менингеальных оболочках путем введения ртути в цистерну магна, что в наши дни является основной методикой изучения лимфатики оболочек мозга, где ртуть заменена на различные красители, например, Evans Blue [1, 2, 19].

Однако современники писали об открытии Маскагни так: «Mascagni was probably so impressed with the lymphatic system that he saw lymph vessels even where they did not exist in the brain» [20]. Этого ученого можно сравнить с Антонио Гауди по своей одержимости в изучении лимфатических сосудов-невидимок, которые он предвидел в виде нитевидного архитектурного комплекса на поверхности мозга за два тысячелетия вперед, даже в отсутствие на то время технологий для их визуализации [14]. Прозрачность лимфатических сосудов и их тонкая организация делали их недоступными для широкого изучения, что явилось причиной прочно устоявшейся догмы в нейрофизиологии с конца 19 века об отсутствии лимфатических сосудов в мозге и потому научные труды Маскагни были забыты надолго [21].

Интересно отметить, что после выхода статьи Louveau et al. в *Nature*, в этом же журнале незамедлительно выходит статья Mezey и Palkovits, в которой приводятся работы Schwalbe et al. (1869), Brierley et al. (1948), Foldi et al. (1968), опубликованные гораздо раньше и, в которых четко показана роль лимфатики в дренажной функции центральной нервной системы [22].

Причиной разногласия в исторических аспектах развития учения о лимфатике в мозге является отсутствие возможности работать со статьями из старых архивов, а также с полнотекстовыми вариантами публикаций большинства журналов, что существенно снижает информативные возможности ученых.

Несмотря на разногласия за лавры в открытии менингеальной лимфатики, тем не менее, вокруг этой темы нарастает огромный интерес. По результатам анализа в PubMed с использованием фразы «Lymphatics in the brain или meningeal lymphatics» видно, что если с начала прошлого столетия исследования в этой области были единичными (от 2 до 22 научных работ с 1914 по 1961 гг.), то с 60-х годов публикационная активность возрастает (число статей увеличивается в 17 раз и составляет от 85 до 358 с 1962 по 2017 гг.).

Очищение тканей мозга: глимфатическая система

Середина 20-го века знаменовалась золотым временем для биологии и медицины благодаря появлению новых оптических технологий, таких как мультифотонная, флуоресцентная, конфокальная микроскопия, что позволило заглянуть за кулисы сценариев работы мозга. В частности, применение двух-фотонной микроскопии стало толчком в открытии глимфатической системы мозга. По сути, появление глимфатической системы на горизонте научных представлений о работе мозга явилось попыткой объяснения, как мозг очищается от метаболитов в отсутствие церебральной лимфатической системы.

В 2012 году Pliff et al. и в 2015 году его последователи представили экспериментальные результаты, где наглядно показали, что введение флуоресцентных маркеров (TR-d3 и FITC-d2000) в цистерну магна сопровождается их появлением в пиальных артериях, через 20 мин в паренхиме мозга и далее выводится через крупные вены мозга (рис.1, схема А) [23]. Основываясь на научных представлениях о периваскулярном

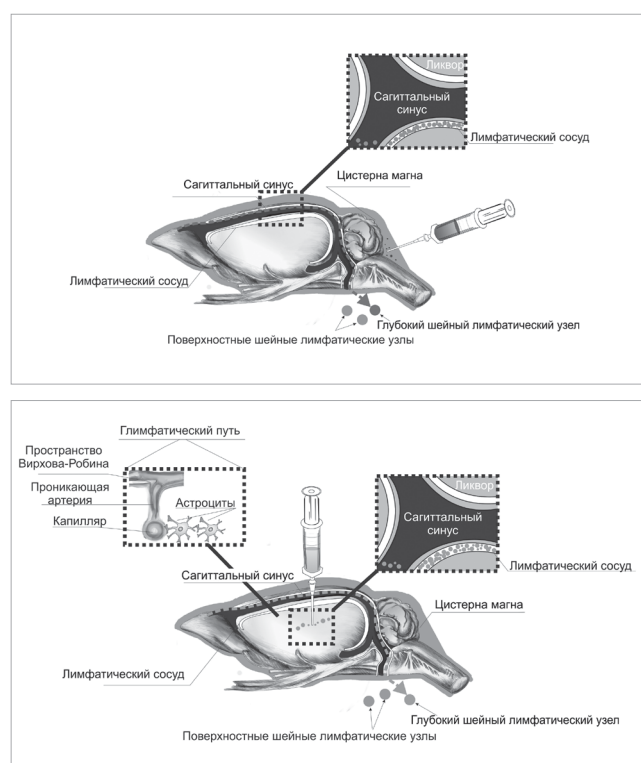


Рисунок 1. Схема экспериментов по изучению лимфатической (А) и глимфатической (Б) систем мозга.

Схема А: флуоресцентный маркер вводится в цистерну магна и наблюдается его мигрирование из субарахноидального пространства через менингеальные лимфатические сосуды в глубокий шейный лимфоузел. Флуоресцентные маркеры через некоторое время также появляются в сакиттальном синусе, вдоль которого располагаются лимфатические сосуды. Это происходит за счет абсорбции спинномозговой жидкости в венозную систему мозга через арахноидальные ворсинки.

Схема Б: Флуоресцентные маркеры вводятся в паренхиму мозга и далее по глимфатическому пути выводятся через менингеальные лимфатические сосуды в глубокий шейный лимфоузел.

пространстве Вирхова-Робина [25, 26, 27], авторы сделали заключение, что маркеры с током спинномозговой жидкости проходят по ходу проникающих артерий и далее могут попадать в капилляры и в паренхиму мозга через астроцитарные аквапорины, которые, в конечном счете, выводят маркеры в венозный кровоток мозга (рис. 1, схема Б).

На примере флуоресцентного бета-амилоида, Piff et al. выдвинул гипотезу, что глимфатика выполняет функцию лимфатической системы мозга, очищая его от продуктов обмена, в частности, белков, а также регулируя обмен жидкости через глию. Гипотеза построена на предположении, что аквапорины на астроцитах выполняют дренажную функцию и за счет движения воды также способствуют элиминации продуктов обмена, в частности, бета-амилоида. Эти рассуждения основаны на результатах экспериментов, в которых показано, что у накаутных животных с отсутствием астроцитарных аквапоринов наблюдается накопление воды и бета-амилоида в паренхиме мозга [24]. На основании данных предположений возник новый тер-

мин - глимфатическая система, объединяющая слово «глия» и «лимфатическая система».

Маркеры и функции лимфатической системы мозга

В исследованиях Louveau et al. на мозге человека и крыс была показана возможность применения маркеров периферической лимфатики для менингеальных лимфатических сосудов (табл. [28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37]). Это белки эндотелиоцитов лимфатических сосудов (гомеобокса 1, подопланин, сосудистый эндотелиальный фактор), которые отвечают за рост, дифференцировку, формирование лимфатической сети и ее дренажную функцию в межклеточном пространстве. В менингеальных лимфатических сосудах, как и у периферических, имеются клапаны и положительная реакция на интегрин альфа-9 – белок, входящий в их структуру. Однако, как уже отмечалось, клапаны есть только в крупных лимфатических сосудах, располагающихся в основании черепа. У остальных клапанов нет [1, 2]. Присутствуют маркеры «инструментов» иммунной защиты. В частности, эндотелиальный рецеп-

Таблица

Маркеры и характеристики менингеальных лимфатических сосудов

Маркеры (антитела)	Описание
Эндотелиальный рецептор гиалуронана 1 эндотелия лимфатических сосудов (Live-1-Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1)	Трансмембранный рецептор гиалуронана 1 экспрессируется на люминальной и аблюминальной мембране эндотелиоцитов лимфатических сосудов и отвечает за транспорт гиалуроновой кислоты в просвет сосуда или обеспечивает ее локализацию на его поверхности, способствуя миграции CD44 ⁺ клеток. Показано, что повышенная экспрессия LYVE-1 сопровождается высокой миграцией как CD44 ⁺ , так и злокачественных клеток через лимфатические сосуды [28]. Применение специфических антител к LYVE-1 используется для изучения роли лимфогенеза в метастазировании опухолей.
Белок гомеобокса 1 (Prox1-Prospero homeobox protein 1)	Транскрипционный фактор, регулирующий процесс роста и дифференцировки эндотелиальных клеток лимфатических сосудов [29, 30].
С-С Хемокин (CCL21-Chemokine (C-C motif ligand 21).	Секретируется эндотелиальными клетками лимфатических сосудов и участвует в активации движения Т-лимфоцитов, миграции лимфоцитов в другие органы и дендритных клеток в лимфоузлы [31].
Сосудистый эндотелиальный фактор роста, связанный с рецептором 3 (VEGFR3-Vascular endothelial growth factor receptor 3)	Сигнальный белок, представляющий собой рецептор, который при его активации запускает механизмы лимфангиогенеза, т.е. формирование новых лимфатических сосудов. У мышей с накаутным геном VEGFR3 не развиваются лимфатические сосуды в менингеальных оболочках и отмечается гипоплазия лимфоузлов [2, 31-33].
Подопланин (PDPN-Podoplanin)	Интегральный мембранный белок, который отвечает за нормальное развитие сети лимфатических сосудов, обеспечивая дренаж межклеточной жидкости. При нарушении его синтеза формируется лимфедема [34, 35]. Активация данного маркера сопровождается лимфангиогенезом, что рассматривается как важный индикатор интенсивности развития злокачественных новообразований [36].
Интегрин альфа-9 (ITGA9-Intergrin-α9)	Белок, входящий в состав створок в лимфатических сосудах [37].
Красители для окраски лимфатических и кровеносных сосудов	
Live-1, конъюгированный с Alexa448 (5 мкл вводится в течение 5 мин в цистерну магна) для окраски лимфатических сосудов с целью проведения двух-фотонной микроскопии на живых животных.	
VEGFR3-специфичный рекомбинант VEGF-с (5 мкл вводится в течение 5 мин в цистерну магна) используется для снижения лимфотока в лимфатических сосудах и их дилатации, которая наблюдается через 7 дней после введения и продолжается в течение двух недель.	
Красители для окраски кровеносных сосудов с целью отличия их от лимфатических (вводятся внутривенно в объеме 100 мкл за 5 мин до эвтаназии):	
1. fluorescent dye 1,1'-dioctadecyl-3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine;	
2. Dy Light 488 Labeled LycopersiconEsculentum;	
3. Alexa Fluor 633 hydrazide (преимущественно окрашивает артериолы, но не вены).	

тор гиалуронана 1 в эндотелии лимфатических сосудов и С-Схемокинин, которые обеспечивают активацию Т-лимфоцитов, их миграцию в очаги воспаления, а также движение дендритных клеток в лимфоузлы для распознавания патогенных организмов. Применение маркеров периферической лимфатики к изучению лимфатической системы оболочек мозга было показано также и в других работах [38, 39, 40, 41]. На рисунке 2 отражена топография основных маркеров лимфатических сосудов в соответствии с их функциональным значением.

Ранее считалось, что клетки иммунной защиты попадают в мозг только при эмбриональном развитии и

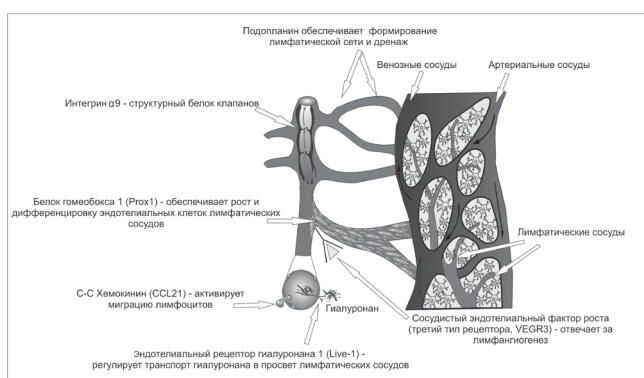


Рисунок 2. Маркеры лимфатических сосудов.

остаются там на всю жизнь. Миграция макрофагов в ткани мозга ассоциировалась только с патологическими состояниями, в частности, при инфаркте головного мозга или черепно-мозговых травмах, т.е. в условиях повреждения гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [42, 43]. Однако в работе Louveau et al. на здоровых крысах было обнаружено наличие Т-лимфоцитов в менингеальных оболочках мозга [1]. При этом в этой области происходит существенное повышение числа Т-лимфоцитов, если пережать лимфатические сосуды под шейным глубоким лимфоузлом, через который осуществляется отток спинномозговой жидкости. Показано, что около 24 % от общего числа лимфоцитов в церебральном кровотоке располагаются непосредственно в менингеальных лимфатических сосудах. Эти результаты свидетельствуют, что циркуляция и миграция Т-лимфоцитов в мозге осуществляется в условиях нормы.

Основная функция лимфатической системы – дренажная, т.е. регуляция водного гомеостаза за счет сбалансирования содержания межклеточной жидкости для нормального обмена веществ. Существует гипотеза, что менингеальные лимфатические сосуды за счет дренажных свойств вовлекаются также в механизмы выведения спинномозговой жидкости в периферическую лимфатическую систему. Данная гипотеза построена на основании результатов, полученных в следующих экспериментах.

Первый эксперимент построен на введении красителя Evans Blue в цистерну magna [1]. Через 30 мин после введения краситель появляется в глубоком шейном лимфоузле, как уже отмечалось выше это первая анатомическая станция выхода спинномозговой жидкости из мозга (рис.1, схема А). Перевязка лимфатических сосудов на шее, соединенных с глубоким шейным лимфоузлом, приводит к расширению менингеальных лимфатических сосудов и отсутствию выхода краски из них.

Введение красителя в носовые пазухи не сопровождается его появлением в менингеальных лимфатических сосудах и аккумулярованием в лимфоузлах, что свидетельствует об ошибочном представлении назального лимфатического пути. Отметим, до 2012 года считалось, что спинномозговая жидкость выходит в периферическую лимфатику через лимфатические сосуды в области решетчатой кости пазух носа и через периваскулярные пространства носовых артерий [44, 45, 46].

Второй эксперимент проведен в других независимых исследованиях *in vivo*, в которых использовали трансгенных флуоресцентных мышей с высокой экспрессией Prox1-GFP, т.е. у которых лимфатические сосуды во всем организме светятся при их освещении в зеленом свете [47]. Используя инертный маркер (20-кД полиэтиленгликоль, конъюгированный с красным красителем), было показано, что его введение в паренхиму мозга через 2 часа сопровождается появлением маркера в глубоком шейном лимфоузле со стороны инъекции.

Третий эксперимент был проведен нами с применением оптической когерентной томографии, где было также показано, что введение золотых наностержней (70 нм) в подкорковую область приводит к быстрому (через 20 мин) их накоплению в глубоком шейном лимфоузле со стороны области введения [48, 49].

Эти три серии экспериментов, проведенных в независимых лабораториях, приоткрывают занавесу за кулисы сценариев дренажа межклеточной и спинномозговой жидкостей, где первой анатомической станцией, собирающей жидкости из мозга, является глубокий шейный лимфатический узел. Результаты наглядно отражают взаимосвязь между процессами очищения мозга от зондов, применяемых в экспериментах, и лимфатикой. Однако, это всего лишь первые ласточки в череде новых открытий в области лимфатической системы и понимании ее роли в поддержании водного и иммунного баланса центральной нервной системы.

Много вопросов остается открытыми для их решения. В частности, если лимфатические сосуды располагаются только в менингеальных оболочках, то, как маркеры, введенные в паренхиму мозга, попадают в

них? Как работает лимфатическая система через глию и как осуществляется взаимосвязь с менингеальными лимфатическими сосудами? Показано близкое расположение венозных и лимфатических сосудов в менингеальных оболочках, но нет четких доказательств их анатомических контактов.

Создание новых методов изучения центральной лимфатики открывает принципиально новые двери в нейрофизиологию. Интригующими являются векторы для изучения трафика лимфоцитов и антител в мозге при воспалительных процессах, что даст возможность управлять механизмами иммунных реакций, возникающих при инсульте, травмах, онкологии мозга, и, соответственно, найти эффективные решения в лечении данных заболеваний. Интересно отметить, что удаление глубокого шейного лимфоузла сопровождается развитием когнитивной недостаточности, а перевязка лимфатических сосудов выше его, отягощает степень выраженности последствий после инсульта, что может свидетельствовать о потенциальной роли менингеальной лимфатики в очищении мозга от токсинов и продуктов обмена, что неразрывно связано с проявлением нормальных функций мозга и его регенеративных свойств.

Нити Ариадны в поисках выхода из лабиринта гипотез: спинномозговая жидкость и лимфатика оболочек мозга

Очевидно, что мы только приоткрыли кулисы, где разворачиваются сценарии дружественного союза между менингеальными сосудами, спинномозговой жидкостью и периферической лимфатикой. Однако в этих физиологических сценариях остаются неизвестными роли главных героев и, потому, научные факты выглядят как запутанный клубок гипотез.

Какие существуют перспективы для решения научной проблемы?

Обратимся к истории. Она уходит корнями в древние времена, которые нитями Ариадны помогают ученым выйти из лабиринта гипотез о взаимодействии лимфы и спинномозговой жидкости.

Первое описание наличия спинномозговой жидкости встречается в древнем Египте (1700 лет до н.э.). На многочисленных папирусах изображено вскрытие мозга и этапы мумифицирования трупов с заполнением желудочковых пространств мозга формалином [50]. Гиппорат (около 460 лет до н.э.) – древнегреческий врач описал гидроцефалию и объяснил это накоплением воды в головном мозге [51]. В последствии Клавдий Гален (около 217 года) - римский (греческого происхождения) хирург, наблюдая за пациентами, у которых спинномозговая жидкость вытекала через носовые пазухи, высказал предположение, что эта жидкость “*psychic pneuma*” формируется в самом мозге, а именно в его желудочках во время болезни

за счет чего далее она попадает субарахноидальное пространство [52, 53]. Через двенадцать тысячелетий Андреас Визалий (1514-1564), нидерландский анатом, исправил ошибку Галена и показал, что спинномозговая жидкость – это необходимая и нормальная составляющая мозга, присущая здоровым людям [54]. До наших дней сохранились эскизы желудочковой системы мозга Леонардо да Винчи в 1489 года. Эскизы хранились в коллекции королевы Элизабет II [55]. Интересно отметить, что Вильям Гарвей (1578-1657) никогда не работавший непосредственно с мозгом, делает провидящее предположение, что спинномозговая жидкость формируется в желудочках [56]. Аристотель (384-322) будучи студентом Платона в возрасте 39 лет был призван ко двору Филиппом II обучать его сына Александра. Этот период, благодаря военным походам Александра, знаменуется путешествиями Аристотеля в Азию, где он в его «Анатомии Аристотеля» описывает вскрытие трудов животных и делает зарисовки, где корректно показывает взаимосвязь между мозговым и периферическим кровообращением [57, 58].

С конца 18 века наступает время новых открытий в области геометрии взаимодействия спинномозговой жидкости и лимфатики. Z. Schwalbe в 1869 г., используя введение красителей в цистерну magna или непосредственно в ткани мозга собак и кроликов, установил, что через короткое время красители появлялись в глубоком шейном лимфоузле. Впоследствии подобные результаты были успешно воспроизведены Brierley et al. в 1981 г., Cscerr et al. в 1992 г. на кошках и овцах [12, 13, 59]. В 1914 году Weed описал лимфатико-подобные сосуды в субарахноидальном пространстве [60]. Он предположил, что эти сосуды могут выполнять функцию абсорбции спинномозговой жидкости в венозные синусы с помощью арахноидальных гранул и, таким образом, осуществлять дренажную функцию. Однако Weed указывал на отсутствие эндотелия в таких сосудах, что не позволило дать им характеристику лимфатических.

Таким образом, исторические страницы отражают последовательное формирование научных представлений о взаимосвязи между спинномозговой жидкостью и лимфатикой системой. Однако появление новых данных о менингеальных лимфатических сосудах и о лимфатической системе внесло определенный хаос в существующие знания.

Чтобы не потерять нити Ариадны в бесконечном потоке гипотез обратимся к лимфатической системе, почему научная общественность не признает данную теорию?

Рассмотрим внимательнее рассуждения авторов. Итак, флуоресцентный зонд вводится в цистерну magna и уже через 20-30 мин он попадает, как утвержда-

ют авторы, в паренхиме мозга. Это происходит через церебральные артерии, но не вены. Авторы отмечают, что такой путь возможен через Вирхов-Робин пространство, которое окружает проникающие артерии и которое образуется из спинномозговой жидкости, стекающей сюда из субарахноидального пространства, туда, куда ввели флуоресцентный зонд. Эти рассуждения носят классический характер и соответствуют тем научным представлениям, о которых мы говорили выше.

Авторы продолжили этот путь, используя свою гипотезу, которая состоит в том, что далее из периваскулярного пространства флуоресцентный трейсер проходит непосредственно в паренхиму мозга. Однако доказательств этого факта в данной работе нет. Авторы всего лишь видели флуоресцентный зонд в периваскулярном пространстве с помощью двухфотонной микроскопии. Чтобы доказать наличие зонда в паренхиме необходимо представить сведения, в которых зонд будет виден за пределами периваскулярного пространства, используя специфические метки на эндотелий церебральных сосудов (SMI 71) и белки базальной мембраны (ламинин и коллаген), чтобы наглядно видеть расположение зонда.

На уровне предположений авторы также оставили факт прохождения зонда в венозную часть церебрального кровотока через аквапорины астроцитов. Данное предположение базируется на косвенных данных, когда вводился флуоресцентный бета-амилоид и в условиях подавления (фармакологическая блокада) или отсутствия (накаутные мыши) аквапоринов указанный белок накапливался в мозге. Однако авто-

ры не детектировали непосредственно применяемые зонды в венах мозга. Также аквапорины астроцитов по размерам намного меньше бета-амилоида, как, впрочем, и вся архитектура астроцитов. Идея дренажной функции астроцитов выглядит красиво, однако, пока бездоказательно и требует более тщательных исследований.

В собственных экспериментах, применяя маркеры лимфатических сосудов (Levy-1+Alexa488), мы разработали дизайн эксперимента, в котором поставили цель увидеть, как будет выходить из мозга флуоресцентный зонд (декстран 70 кДа) после его попадания в паренхиму мозга при открытии ГЭБ фотодинамическим воздействием [61]. Результаты показали, что через 30 мин после попадания декстрана в паренхиму мозга он обнаруживается в лимфатических сосудах оболочек мозга и через 2 часа в сагиттальном синусе. Аналогичный эксперимент, но с применением золотых наностержней, позволил также определить их быстрое накопление (через 20 мин) сначала в глубоком шейном лимфатическом узле и потом (через 2 часа) в поверхностных шейных лимфатических узлах.

Результаты данного эксперимента показали, что флуоресцентный зонд, попадая в мозг, выводятся как по лимфатическому, так и по венозному путям, однако, первый осуществляется быстрее, чем второй.

Возможный путь элиминации зондов из мозга представлен на рисунке 3. Зонд, введенный в паренхиму мозга за счет даже небольшого объема, создает осмотическое давление, которое заставляет двигаться его путем диффузии в область меньшего давления, т.е. в периваскулярные пространства, расположен-

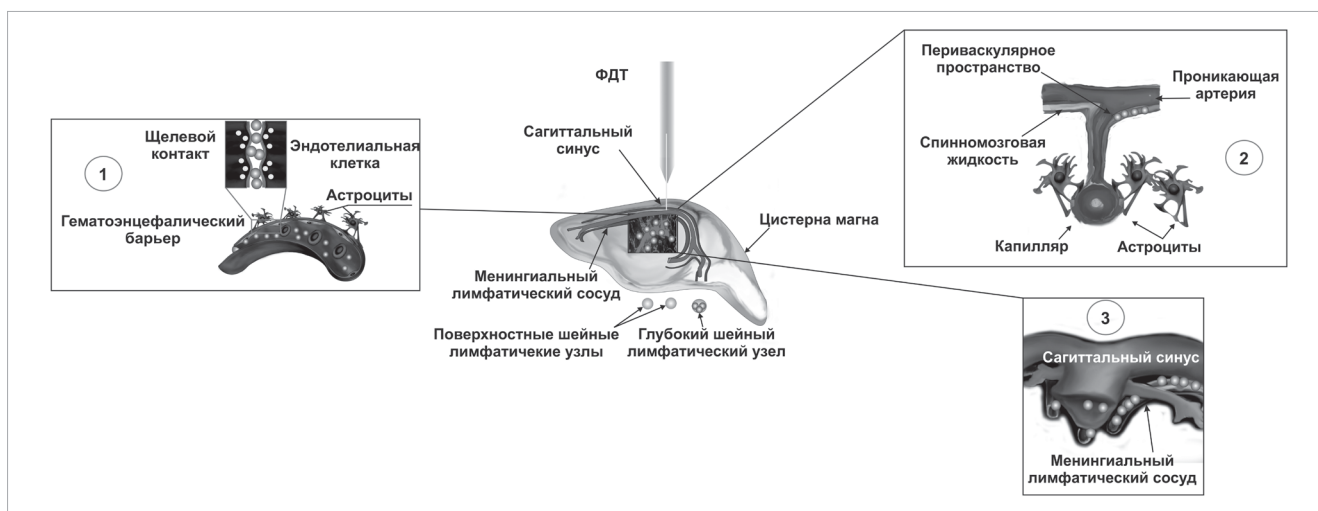


Рисунок 3. Иллюстрация гипотезы очищения тканей мозга от высокомолекулярных соединений (декстран 70 кДа) после фотодинамического повышения проницаемости ГЭБ:

- 1) Повышение проницаемости ГЭБ для декстрана за счет фотодинамического эффекта;
- 2) Диффузия декстрана из микрососудов мозга через открытый ГЭБ в периваскулярное пространство Вирхова-Робина с последующим проникновением в субарахноидальные полости мозга;
- 3) Абсорбция декстрана из субарахноидального пространства в менингеальные лимфатические сосуды и его экспресс выведение в глубокий шейный лимфоузел. Диффузия декстрана из субарахноидального пространства в венозную систему мозга (сагиттальный синус) через арахноидальные ворсинки и гранулы.

ные вблизи лежащих сосудов. Далее зонд попадет в субарахноидальное пространство, через которое абсорбируется лимфатической системой. Поэтому мы можем видеть зонд уже через 20-30 мин после его попадания в ткани мозга. Появление зонда позже в сагиттальном синусе может свидетельствовать о его фильтрации в венозную систему через арахноидальные ворсинки. Таким образом, приведенные результаты согласуются и объединяют прежние научные представления о взаимосвязи спинномозговой жидкости и лимфатической системы уже в новом аспекте полученных знаний о существовании лимфатических сосудов в менингеальных оболочках мозга.

Какую роль играют астроциты в этих процессах и система акваоринов, остается за кадром этой истории и как в многосерийном сериале, очевидно, следуют серии новых и новых открытий в этой области. Сейчас представлен только первый сценарий с попыткой корректно расставить роли главных героев – спинномозговая жидкость и лимфатическая система. В условиях задач со многими неизвестными моделирование играет важную роль мыслительной и экспериментальной навигации, позволяя взглянуть на проблему с птичьего полета, когда видны недостающие пазлы в единой картине физиологических процессов. Следующий обзор “Ariadne’s threads in the hypotheses about physiological interaction between lymphatics and cerebrospinal fluid”, представленной в журнал “Fluids and Barriers of the CNS”, будет рассматривать взаимодействие лимфатики, спинномозговой жидкости и астроцитов с применением междисциплинарного подхода на основе моделирования и программирования этих процессов.

Научный обзор представлен в рамках выполнения проекта, поддержанного грантом РФФИ № 17-15-01263.

Благодарности

Автор выражает благодарность к.б.н., доценту кафедры физиологии человека и животных Е. И. Саранцевой в подготовке иллюстраций для данного обзора.

Литература

1. Louveau A, Smirnov I, Keyes T, Eccles J, Rouhani S, Peske J, Derecki N, Castle D, Mandell J, Lee K, Harris T, Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;(523):337-341. DOI:10.1038/nature14432.
2. Aspelund A, Antila S, Proulx S, Karlsen T, Karaman S, Detmar M, Wiig H, Alitalo K. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *Journal of Experimental Medicine*. 2015;212(7):991-999. DOI:10.1084/jem.20142290.
3. Iliff JJ, Goldman SA, Nedergaard M. Implications of the discovery of brain lymphatic pathways. *Lancet*

Neurology. 2015;14(10):977-9. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00221-5.

4. Choy C, Jandial R. Lymphatics in the Brain?! *Neurosurgery*. 2016;78(2):14. DOI: 10.1227/01.neu.0000479890.79747.0d.

5. Bucchieri F, Farina F, Zummo G, Cappello F. Lymphatic vessels of the dura mater: a new discovery? *Journal of Anatomy*. 2015;227(5):702-3. DOI: 10.1111/joa.12381.

6. Engelhardt B, Carare RO, Bechmann I, Flügel A, Laman JD, Weller RO. Vascular, glial, and lymphatic immune gateways of the central nervous system. *Acta Neuropathology*. 2016; 132(3):317-38. DOI: 10.1007/s00401-016-1606-5.

7. Wood H. Neuroimmunology: uncovering the secrets of the “brain drain”: the CNS lymphatic system in finally revealed. *Nature Reviews Neurology*. 2015;11(7):367. DOI: 10.1038/nrneurol.2015.105

8. Iliff JJ, Goldman SA, Nedergaard M. Clearing the mind: implications of dural lymphatic vessels for brain function. *Lancet Neurology*. 2015;14(10):977-979. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00221-5.

9. Louveau A, Kipnis J. Dissection and immunostaining of mouse whole-mount meninges. *Protocol Exchange*. 2015. DOI:10.1038/protex.2015.047.

10. Marker DF, Tremblay ME, Lu SM, Majewska AK, Gelbard HA. A thin-skull window technique for chronic two-photon in vivo imaging of murine microglia in models of neuroinflammation. *Journal of Visualized Experiments*. 2010;19(43). DOI: 10.3791/2059.

11. Yang G. Thinned-skull cranial window technique for long-term imaging of the cortex in live mice. *Nature Protocol*. 2010;(5):201-8. DOI:10.1038/nprot.2009.222.

12. Bradbury MWB, Cserr HF, Westrop RJ. Drainage of cerebral interstitial fluid into deep cervical lymph of the rabbit. *American Journal of Physiology*. 1981;(240):329-336.

13. Cserr HF, Harling-Berg CJ, Knopf PM. Drainage of brain extracellular fluid into blood and deep cervical lymph and its immunological significance. *Brain Pathology*. 1992;(2):269-276.

14. Mascagni P, Bellini GB. *Presso Euse bio Pacinie Figlio*: Florence; 1816. 195 p

15. Holubar K. The anatomical wax preparation sin the Josephinum Vienna, Austria. *Archives of Surgery*. 1991;(126):421-422.

16. Glass N. Waxen bodies. *Lancet*. 2000;(356):775-76.

17. Allmer K, Jantsch M. *Katalog der Josephinischen Sammlunganatomischer und geburtshilfflicher Wachspräparate im Institut für Geschichte der Medizin an der Universität Wien*. Verlag Hermann Böhlaus Nachf: Graz, Köln; 1965.

18. Schmidt G. The collection of anatomical and obstetric wax models. In: Holubar K, ed. Vienna: Institute Schmidt G. The collection of anatomical and obstetric wax

models. In: Holubar K, ed. Vienna: Institute for the history of medicine University of Vienna. 1999:77-80.

19. Williams PL. Gray's anatomy. 38th edn. The anatomical basis of medicine and surgery. London: Churchill Living stone; 1995:1264.

20. Key A, Retzius MG. Studien in der Anatomie des Nervensystems und des Bindegewebes. Stockholm: Norstedt and Söner, 1875-76.

21. Lukić IK, Glunčić V, Ivkić G, Hubenstorf M, Marušić A. Virtual dissection: a lesson from the 18th century. *Lancet*. 2003;(362):2110-2113.

22. Mezey E, Palkovits M. Neuroanatomy: forgotten findings of brain lymphatics. *Nature*. 2015;(524):415. DOI: 10.1038/524415b.

23. Iliff JJ. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Science Translational Medicine*. 2012;(4):147ra111. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.

24. Jessen NA, Munk AS, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochemical Research*. 2016;40(12):2583-2599. DOI 10.1007/s11064-015-1581-6.

25. Virchow R. Ueber die Erweiterung kleinerer Gefäße. *Archives of Pathological Anatomy and Physiology and of Clinical Medicine*. 1851;(3):427-62.

26. Robin C. Recherches sur quelques particularités de la structure des capillaires de l'encephale. *De Physiologie De L'Homme Et Des Animaux*. 1859;(2):537-48.

27. Nakada T. Virchow-Robin space and aquaporin-4: new insights on an old friend. *Croatian Medical Journal*. 2014;(55):328-36. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.328.

28. Osborn AJ. Activating PIK3CA alleles and lymphangiogenic phenotype of lymphatic endothelial cells isolated from lymphatic malformations. *Human Molecular Genetics*. 2015;(24):926-38. DOI: 10.1093/hmg/ddu505.

29. Davis JM. Lymphatic endothelial differentiation in pulmonary lymphangiomyomatosis cells. *Journal of Histochemistry Cytochemistry*. 2013;(61):580-90. DOI: 10.1369/0022155413489311.

30. Liao S. Lymphatic system: An active pathway for immune protection. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2015;(38):83-89. DOI:10.1016/j.semcdb.2014.11.012.

31. Secker GA. VEGFR signaling during lymphatic vascular development: From progenitor cells to functional vessels. *Developmental Dynamics*. 2015;(244):323-331. DOI:10.1002/dvdy.24227.

32. Mkinen T, Jussila L, Veikkola T, Karpanen T, Kettunen MI, Pulkkanen KJ, Kauppinen R, Jackson DG, Kubo H, Nishikawa S. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nature Medicine*. 2001;(7):199-205. DOI:10.1038/84651.

33. Alitalo AK, Proulx ST, Karaman S, Aebischer D, Martino S, Jost M, Schneider N, Bry M, Detmar M. VEGF-C and VEGF-D blockade inhibits inflammatory skin carcinogenesis. *Cancer Research*. 2013;(73):4212-4221. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-4539.

34. Schacht V, Ramirez MI, Hong YK, Hirakawa S, Feng D, Harvey N, Williams M, Dvorak AM, Dvorak HF, Oliver G, Detmar M. T1alpha/podoplanin deficiency disrupts normal lymphatic vasculature formation and causes lymphedema. *EMBO Journal*. 2003;(22):3546-3556.

35. Gerhardt H, McDaniel JM, Xia B, Liu X, Ivanciu L, Ny A, Hermans K, Silasi-Mansat R, Mcgee S, Nye E, Ju T, Ramirez MI, Carmeliet P, Cummings RD, Lupu F, Xia L. Endothelial cell O-glycan deficiency causes blood/lymphatic misconnections and consequent fatty liver disease in mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2008;(118):3725-373. DOI: 10.1172/JCI36077.

36. Astarita JL. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Frontiers in Immunology*. 2012;(3):283. DOI:10.3389/fimmu.2012.00283.

37. Bazigou E. Integrin- α 9 is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Developmental Cell*. 2009;(17):175-186. DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.017.

38. Li Y, Song Y, Zhao L, Gaidosh G, Laties AM, Wen R. Direct labeling and visualization of blood vessels with lipophilic carbocyanine dye DiI. *Nature Protocols*. 2008;(3):1703-8. DOI:10.1038/nprot.2008.172.

39. Trost A, Bruckner D, Kaser-Eichberger A, Motloch K, Bogner B, Runge C, Strohmaier C, Couillard-Despres S, Reitsamer HA, Schroedl F. Lymphatic and vascular markers in an optic nerve crush model in rat. *Experimental Eye Research*. 2017;(159):30-39. DOI: 10.1016/j.exer.2017.03.003.

40. Kaser-Eichberger A, Schroedl F, Bieler L, Trost A, Bogner B, Runge C, Tempfer H, Zaubmair P, Kreutzer C3, Traweger A, Reitsamer HA, Couillard-Despres S. Expression of Lymphatic Markers in the Adult Rat Spinal Cord. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016;(9):10:23. DOI: 10.3389/fncel.2016.00023.

41. Schrödl F, Kaser-Eichberger A, Trost A, Strohmaier C, Bogner B, Runge C, Motloch K, Bruckner D, Laimer M, Heindl LM, Reitsamer HA. Lymphatic Markers in the Adult Human Choroid. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2015;56(12):7406-16. DOI: 10.1167/iovs.15-17883.

42. Kim Y. Innate inflammatory responses in stroke: mechanisms and potential therapeutic targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;21(18):2076-2097.

43. Hinson EH. Clinical evidence of inflammation driving secondary brain injury: A systematic review. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2015;78(1):184-91. DOI: 10.1097/TA.0000000000000468.

44. Furukawa M, Shimoda H, Kajwara T, Kato S, Yanagisawa S. Topographic study on nerve-associated lymphatic vessels in the murine craniofacial region by immunohistochemistry and electron microscopy. *Biochemistry Research International*. 2008;29(6):289-296.

45. Kida S, Patazis A, Weller O. CSF drains directly from the subarachnoid space into nasal lymphatics in the rat. *Anatomy, histology and immunological significance. Neuro pathology and Applied Neurobiology*. 1993;(19):480-488.

46. Weller R, Kisa S, Zhang E-T. Pathway of fluid drainage from the brain – morphological aspects and immunological significance in rat and man. *Brain Pathology*. 1992;(2): 277-284.

47. Choi I, Chung HK, Ramu S, Lee HN, Kim KE, Lee S, Yoo J, Choi D, Lee YS, Aguilar B, Kwon Y. Visualization of lymphatic vessels by Prox1-promoter directed GFP reporter in a bacterial artificial chromosome-based transgenic mouse. *Blood*. 2011;117(1):362-365. DOI: 10.1182/blood-2010-07-298562.

48. Breadsted J. *The Edwin Smith Surgical Papyrus*. Chicago: University of Chicago Press; 1930. 634p.

49. Garrison FH. *History of Medicine*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1966.996p.

50. Nutton V. The Chronology of Galen's Early Career. *The Classical Quarterly*. 1973;23:158-171. DOI: 10.1017/S0009838800036600.

51. Thompson S. *The cerebrospinal fluid: it's spontaneous escape from the nose*. London: Cassell and Co; 1899.

52. O'Malley C. *Andreas Vesalius of Brussels*. Berkeley: University of California Press; 1964.

53. O'Malley C, Saunders J. *Leonardo da Vinci on the Human Body*. New York: Henry Schuman; 1952.

54. Gregory A. *Harvey's Heart, the Discovery of Blood Circulation*. Cambridge: Icon Books; 2001.

55. Russel B. *A History of Western Philosophy*. New York: Simon & Schuster; 1945.

56. Singer C. *A short history of biology: a general introduction to the study of living things*. London: Oxford University Press; 1931.

57. Schwalbe G: Die Arachnoidalraum ein Lymphraum und sein Zusammenhang mit den Perichoroidalraum. *Zbl med Wiss Zentralblatt fur die medizinischen Wissenschaften* 1869; 7:465-67.

58. Weed LH. Studies on cerebro-spinal fluid. No. III: the pathways of escape from the subarachnoid spaces with particular reference to the arachnoid villi. *European Journal of Medical Research*. 1914;(31):51-91.

References

1. Louveau A, Smirnov I, Keyes T, Eccles J, Rouhani S, Peske J, Derecki N, Castle D, Mandell J, Lee K, Harris T, Kipnis J. Structural and functional features of central

nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;(523):337-341. DOI:10.1038/nature14432.

2. Aspelund A, Antila S, Proulx S, Karlsen T, Karaman S, Detmar M, Wiig H, Alitalo K. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *Journal of Experimental Medicine*. 2015;212(7):991-999. DOI:10.1084/jem.20142290.

3. Iliff JJ, Goldman SA, Nedergaard M. Implications of the discovery of brain lymphatic pathways. *Lancet Neurology*. 2015;14(10):977-9. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00221-5.

4. Choy C, Jandial R. Lymphatics in the Brain?! *Neurosurgery*. 2016;78(2):14. DOI: 10.1227/01.neu.0000479890.79747.0d.

5. Bucchieri F, Farina F, Zummo G, Cappello F. Lymphatic vessels of the dura mater: a new discovery? *Journal of Anatomy*. 2015;227(5):702-3. DOI: 10.1111/joa.12381.

6. Engelhardt B, Carare RO, Bechmann I, Flügel A, Laman JD, Weller RO. Vascular, glial, and lymphatic immune gateways of the central nervous system. *Acta Neuropathology*. 2016; 132(3):317-38. DOI: 10.1007/s00401-016-1606-5.

7. Wood H. Neuroimmunology: uncovering the secrets of the "brain drain": the CNS lymphatic system in finally revealed. *Nature Reviews Neurology*. 2015;11(7):367. DOI: 10.1038/nrneuro.2015.105

8. Iliff JJ, Goldman SA, Nedergaard M. Clearing the mind: implications of dural lymphatic vessels for brain function. *Lancet Neurology*. 2015;14(10):977-979. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00221-5.

9. Louveau A, Kipnis J. Dissection and immunostaining of mouse whole-mount meninges. *Protocol Exchange*. 2015. DOI:10.1038/protex.2015.047.

10. Marker DF, Tremblay ME, Lu SM, Majewska AK, Gelbard HA. A thin-skull window technique for chronic two-photon in vivo imaging of murine microglia in models of neuroinflammation. *Journal of Visualized Experiments*. 2010;19(43). DOI: 10.3791/2059.

11. Yang G. Thinned-skull cranial window technique for long-term imaging of the cortex in live mice. *Nature Protocol*. 2010;(5):201-8. DOI:10.1038/nprot.2009.222.

12. Bradbury MWB, Cserr HF, Westrop RJ. Drainage of cerebral interstitial fluid into deep cervical lymph of the rabbit. *American Journal of Physiology*. 1981;(240):329-336.

13. Cserr HF, Harling-Berg CJ, Knopf PM. Drainage of brain extracellular fluid into blood and deep cervical lymph and its immunological significance. *Brain Pathology*. 1992;(2):269-276.

14. Mascagni P, Bellini GB. *Presso Euse bio Pacinie Figlio*: Florence; 1816. 195 p

15. Holubar K. The anatomical wax preparation sin the Josephinum Vienna, Austria. *Archives of Surgery*. 1991;(126):421-422.

16. Glass N. Waxen bodies. *Lancet*. 2000;(356):775-76.
17. Allmer K, Jantsch M. Katalog der Josephinischen Sammlunganatomischer und geburtshilflicher Wachspräparateim Institutfür Geschichte der Medizin an der Universität Wien. Verlag Hermann Böhlaus Nachf: Graz, Köln; 1965.
18. Schmidt G. The collection of anatomical and obstetric wax models. In: Holubar K, ed. Vienna: Institute Schmidt G. The collection of anatomical and obstetric wax models. In: Holubar K, ed. Vienna: Institute for the history of medicine University of Vienna. 1999:77-80.
19. Williams PL, ed. Gray's anatomy. 38th edn. The anatomical basis of medicine and surgery. London: Churchill Living stone; 1995:1264.
20. Key A, Retzius MG. Studieninder Anatomiedes Nervensystem sunddes Bindegewebes. Stockholm: Norstedtand Söner, 1875-76.
21. Lukić IK, Glunčić V, Ivkić G, Hubenstorf M, Marušić A. Virtual dissection: a lesson from the 18th century. *Lancet*. 2003;(362):2110-2113.
22. Mezey E, Palkovits M. Neuroanatomy: forgotten findings of brain lymphatics. *Nature*. 2015;(524):415. DOI: 10.1038/524415b.
23. Iliff JJ. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Science Translational Medicine*. 2012;(4):147ra111. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.
24. Jessen NA, Munk AS, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochemical Reserch*. 2016;40(12):2583-2599. DOI 10.1007/s11064-015-1581-6.
25. Virchow R. Ueber die Erweiterung kleiner er Gefaesse. *Archives of Pathological Anatomy and Physiology and of Clinical Medicine*. 1851;(3):427-62.
26. Robin C. Recherches sur quelquesparticularites de la structure des capillaires de l'encephale. *De Physiologie De L'Homme Et Des Animaux*. 1859;(2):537-48.
27. Nakada T. Virchow-Robin space and aquaporin-4: new insights on an old friend. *Croatian Medical Journal*. 2014;(55):328-36. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.328.
28. Osborn AJ. Activating PIK3CA alleles and lymphangiogenic phenotype of lymphatic endothelial cells isolated from lymphatic malformations. *Human Molecular Genetics*. 2015;(24):926-38. DOI: 10.1093/hmg/ddu505.
29. Davis JM. Lymphatic endothelial differentiation in pulmonary lymphangioliomyomatosis cells. *Journal Histochemistry Cytochemistry*. 2013;(61):580-90. DOI: 10.1369/0022155413489311.
30. Liao S. Lymphatic system: An active pathway for immune protection. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2015;(38):83-89. DOI:10.1016/j.semcd.2014.11.012.
31. Secker GA. VEGFR signaling during lymphatic vascular development: From progenitor cells to functional vessels. *Developmental Dynamics*. 2015;(244):323-331. DOI:10.1002/dvdy.24227.
32. Mkinen T, Jussila L, Veikkola T, Karpanen T, Kettunen MI, Pulkkanen KJ, Kauppinen R, Jackson DG, Kubo H, Nishikawa S. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nature Medicine*. 2001;(7):199-205. DOI:10.1038/84651.
33. Alitalo AK, Proulx ST, Karaman S, Aebischer D, Martino S, Jost M, Schneider N, Bry M, Detmar M. VEGF-C and VEGF-D blockade inhibits inflammatory skin carcinogenesis. *Cancer Research*. 2013; (73):4212-4221. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-4539.
34. Schacht V, Ramirez MI, Hong YK, Hirakawa S, Feng D, Harvey N, Williams M, Dvorak AM, Dvorak HF, Oliver G, Detmar M. T1alpha/podoplanin deficiency disrupts normal lymphatic vasculature formation and causes lymphedema. *EMBO Journal*. 2003;(22):3546-3556.
35. Gerhardt H, Mcdaniel JM, Xia B, Liu X, Ivanciu L, Ny A, Hermans K, Silasi-Mansat R, Mcgee S, Nye E, Ju T, Ramirez MI, Carmeliet P, Cummings RD, Lupu F, Xia L. Endothelial cell O-glycan deficiency causes blood/lymphatic misconnections and consequent fatty liver disease in mice. *Journal Clinical Investigations*. 2008;(118):3725-373. DOI: 10.1172/JCI36077.
36. Astarita JL. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Frontiers in immunology*. 2012;(3):283. DOI:10.3389/fimmu.2012.00283.
37. Bazigou E. Integrin-α9 is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Developmental Cell*. 2009;(17):175-186. DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.017.
38. Li Y, Song Y, Zhao L, Gaidosh G, Laties AM, Wen R. Direct labeling and visualization of blood vessels with lipophilic carbocyanine dye DiI. *Nature Protocols*. 2008;(3):1703-8. DOI:10.1038/nprot.2008.172.
39. Trost A, Bruckner D, Kaser-Eichberger A, Motloch K, Bogner B, Runge C, Strohmaier C, Couillard-Despres S, Reitsamer HA, Schroedl F. Lymphatic and vascular markers in an optic nerve crush model in rat. *Experimental Eye Research*. 2017;(159):30-39. DOI: 10.1016/j.exer.2017.03.003.
40. Kaser-Eichberger A, Schroedl F, Bieler L, Trost A, Bogner B, Runge C, Tempfer H, Zaunmair P, Kreutzer C3, Traweger A, Reitsamer HA, Couillard-Despres S. Expression of Lymphatic Markers in the Adult Rat Spinal Cord. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016;(9):10:23. DOI: 10.3389/fncel.2016.00023.
41. Schrödl F, Kaser-Eichberger A, Trost A, Strohmaier C, Bogner B, Runge C, Motloch K, Bruckner D, Laimer M, Heindl LM, Reitsamer HA. Lymphatic Markers in the Adult Human Choroid. *Investigative Ophthalmology*

and *Visual Science*. 2015;56(12):7406-16. DOI: 10.1167/iovs.15-17883.

42. Kim Y. Innate inflammatory responses in stroke: mechanisms and potential therapeutic targets. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;21(18):2076-2097.

43. Hinson EH. Clinical evidence of inflammation driving secondary brain injury: A systematic review. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2015;78(1):184-91. DOI: 10.1097/TA.0000000000000468.

44. Furukawa M, Shimoda H, Kajwara T, Kato S, Yanagisawa S. Topographic study on nerve-associated lymphatic vessels in the murine craniofacial region by immunohistochemistry and electron microscopy. *Biochemistry Research International*. 2008;29(6):289-296.

45. Kida S, Patazis A, Weller O. CSF drains directly from the subarachnoid space into nasal lymphatics in the rat. Anatomy, histology and immunological significance. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 1993;(19):480-488.

46. Weller R, Kisa S, Zhang E-T. Pathway of fluid drainage from the brain – morphological aspects and immunological significance in rat and man. *Brain Pathology*. 1992;(2): 277-284.

47. Choi I, Chung HK, Ramu S, Lee HN, Kim KE, Lee S, Yoo J, Choi D, Lee YS, Aguilar B, Kwon Y. Visualization of lymphatic vessels by Prox1-promoter directed GFP reporter in a bacterial artificial chromosome-based transgenic mouse. *Blood*. 2011;117(1):362-365. DOI: 10.1182/blood-2010-07-298562.

48. Breadsted J. The Edwin Smith Surgical Papyrus. Chicago: University of Chicago Press; 1930.634p.

49. Garrison FH. History of Medicine. Philadelphia: WB Saunders Company; 1966. 996p.

50. Nutton V. The Chronology of Galen's Early Career. *The Classical Quarterly*. 1973;23:158-171. DOI: 10.1017/S0009838800036600.

51. Thompson S. The cerebrospinal fluid: it's spontaneous escape from the nose. London: Cassell and Co; 1899.

52. O'Malley C. Andreas Vesalius of Brussels. Berkeley: University of California Press; 1964.

53. O'Malley C, Saunders J. Leonardo da Vinci on the Human Body. New York: Henry Schuman; 1952.

54. Gregory A. Harvey's Heart, the Discovery of Blood Circulation. Cambridge: Icon Books; 2001.

55. Russel B. A History of Western Philosophy. New York: Simon & Schuster; 1945.

56. Singer C. A short history of biology: a general introduction to the study of living things. London: Oxford University Press; 1931.

57. Schwalbe G: Die Arachnoidalraum ein Lymphraum und sein Zusammenhang mit den Perichoroidalraum. *Zbl med Wiss Zentralblatt fur die medizinischen Wissenschaften* 1869, 7:465-67.

58. Weed LH. Studies on cerebro-spinal fluid. No. III: the pathways of escape from the subarachnoid spaces with particular reference to the arachnoid villi. *European Journal of Medical Research*. 1914;(31):51-91.

Сведения об авторах

Семьякина-Глушковская Оксана Валерьевна, Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Адрес: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская 83; тел.: +7(927)1155157; e-mail: glushkovskaya@mail.ru

Author information

Oxana V. Semyachkina-Glushkovskaya N.G. Chernyshevsky Saratov State University Address: 83,Astrakhanskaya Str., Saratov, Russian Federation, 410012; Phone: +7(927)1155157; e-mail: glushkovskaya@mail.ru

Поступила 29.05.2017 г.

Принята к печати 10.10.2017 г.

Оригинальные исследования / Original research



© ГОРИНА Я. В., ИПТЫШЕВ А. М., ЛОПАТИНА О. Л., КОМЛЕВА Ю. К., ЧЕРНЫХ А. И., САЛМИНА А. Б.

УДК 612.821.2:57.084.1:577.21

DOI: 10.20333/2500136-2017-6-50-56

АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ У NLRP3 - НОКАУТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Я. В. Горина¹, А. М. Иптышев¹, О. Л. Лопатина¹, Ю. К. Комлева¹, А. И. Черных², А. Б. Салмина¹

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Красноярская межрайонная клиническая больница №20 им. И.С. Берзона, Красноярск 660014, Российская Федерация

Болезнь Альцгеймера является наиболее частой причиной развития деменции в мире. Накопление β-амилоида ведет к развитию нейровоспаления в результате активации микроглии. Известно, что β-амилоид способен активировать NLRP3 инфламмосомы внутри клеток микроглии, что является необходимым условием для созревания интерлейкина 1β и развития дальнейших воспалительных реакций. Нейровоспаление является