



Rola estrogenów w procesach angiogenezy układu rozrodczego kobiet

The role of estrogens in angiogenesis in the female reproductive system

Bożena Dobrzycka¹, Maciej Kinalski², Dorota Piechocka¹, Sławomir J. Terlikowski¹

¹Zakład Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego Uniwersytetu Medycznego, Białystok

²Oddział Ginekologii SPZOZ Wojewódzki Szpital Zespolony im. J. Śniadeckiego, Białystok

Streszczenie

Podczas fizjologicznego cyklu menstruacyjnego w macicy dochodzi do powstawania nowych naczyń krwionośnych. Istnieją liczne dowody, że to właśnie estrogeny wpływają na śródbłonki tych naczyń i modulują przebieg angiogenezy. Wykazano związek pomiędzy estrogenami i ekspresją receptora estrogenowego na komórkach śródbłonka oraz ich aktywnością angiogenną. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd piśmiennictwa dotyczący roli estrogenów w angiogenezie zachodzącej w narządzie rodnym kobiet. (*Endokrynol Pol* 2009; 60 (3): 210–214)

Słowa kluczowe: angiogeneza, estradiol (E2), estrogeny (E), komórki prekursorowe śródbłonka (EPC), komórki śródbłonka (EC), receptor estrogenowy (ER)

Abstrakt

Under physiological conditions, angiogenesis is routinely observed in the uterus. Multiple lines of evidence suggest that estrogen directly modulates angiogenesis via effects on endothelial cells. A clear association between estrogen, estrogen receptor expression by endothelial cells and angiogenic activity has been confirmed. This minireview will discuss the recent progress in research into the role of estrogens in angiogenesis. (*Pol J Endocrinol* 2009; 60 (3): 210–214)

Key words: angiogenesis, estradiol (E2), estrogen (E), endothelial progenitor cell (EPCs), endothelial cells (EC), estrogen receptor (ER)

Wstęp

W przeciwieństwie do waskulogenezy, która odnosi się do tworzenia naczyń w okresie zarodkowym, angiogeneza to tworzenie nowych naczyń krwionośnych z już istniejących. Ponadto oba te procesy są niezbędne w cyklu płciowym, gojeniu ran, a także w powstawaniu naczyń w licznych stanach chorobowych, takich jak miażdżyca i nowotwory [1].

Powstawanie naczyń krwionośnych odgrywa przede wszystkim ważną rolę w rozwoju zarodka. U kręgowców układ krążenia rozwija się jako pierwszy, ponieważ do powstania i wykształcenia wszystkich narządów niezbędna jest sieć naczyń krwionośnych. W okresie embrionalnym naczynia krwionośne powstają zarówno na drodze waskulogenezy, jak i angiogenezy [2, 3].

W dojrzałych organizmach angiogeneza występuje fizjologicznie jedynie w żeńskim układzie rozrodczym. Sugeruje to, że biorące udział w regulacji cyklu płciowego hormony mogą wpływać na powstawanie no-

wych naczyń. Potwierdzono to w modelu doświadczalnym u myszy pozbawionych receptorów estrogenowych α (ER α , estrogen receptor α), u których obserwowano upośledzoną angiogenezę oraz jej wybiórcze hamowanie po zastosowaniu antagonistów ER α [4].

W cyklu menstruacyjnym procesowi powstawania nowych naczyń towarzyszy regeneracja błony śluzowej jamy macicy ze znacznym wzrostem, a następnie redukcją sieci naczyniowej bez wytworzenia blizny. W jajniku natomiast zachodzi neowaskularyzacja pęcherzyków i ciała żółtego. Nowych naczyń krwionośnych wymaga także implantacja zarodka i tworzenie łożyska [5, 6].

Angiogenezę obserwuje się także w krezce jelita i zianinie podczas gojenia się ran [7, 8]. Odpowiednie unaczynienie uszkodzonego miejsca umożliwia ograniczenie strefy martwicy i rozpoczęcie procesów naprawy [9].

Powstanie nowego naczynia zapoczątkowane jest poprzez aktywację komórek śródbłonka (EC, endothelial cells). W obrębie naczynia już istniejącego następuje



Dr med. Bożena Dobrzycka, Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego, ul. Warszawska 15, 15-062 Białystok, e-mail: bdobrzycka@gmail.com

przerwanie ciągłości błony podstawnej i dochodzi do migracji EC w podścielisku, w kierunku bodźców uwalnianych przez ognisko niedokrwienia [10]. Do wykształcenia prawidłowego naczynia, oprócz proliferacji EC, niezbędne jest wewnątrzkomórkowe utworzenie światła włócniczki, napływ perycytów oraz wytworzenie błony podstawnej. Migracja EC poprzedza o około 24 godziny ich proliferację. Dzięki badaniom *in vitro* i *in vivo* opisano 5 kolejnych etapów angiogenezy. W pierwszym dochodzi do zwiótnienia ściany naczynia i pobudzenia EC, w drugim do degradacji błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, w trzecim następuje migracja i proliferacja EC, w czwartym — wytworzenie rurkowatych struktur nowego naczynia, a w piątym — otoczenie nowo powstałych naczyń przez komórki mezenchymalne [7].

Wpływ estrogenów na komórki śródbłonna naczyń

Estrogeny promują rozwój, proliferację, migrację i przeżycie wielu komórek, w tym EC. Receptor estrogenowy α i β wykryto na EC i mięśniach gładkich naczyń (SMC, *smooth muscle cells*) [11]. Biologiczne działanie estrogenów E zależy od ich wiązania z ER, przez który wpływają na regulację komórkowych procesów transkrypcyjnych. Jest to jeden z głównych mechanizmów wpływu estradiolu (E2, *estradiol 2*) na angiogenezę. Przerwanie anatomicznej i czynnościowej ciągłości EC jest jedną z głównych przyczyn powstawania blaszki miażdżycowej. Uszkodzeniu naczynia towarzyszy nadekspresja ER β . Procesy naprawy EC stymulowane przez E2 mogą hamować rozwój procesu miażdżycowego [12–14].

Zmniejszone stężenie E2 prowadzi do dysfunkcji EC. Stwierdzono, że wazodylatacja zależna od EC jest najsilniejsza w folikularnej i lutealnej fazie cyklu menstruacyjnego — w fazach charakteryzujących się dużym stężeniem E2 [15]. U kobiet po menopauzie, z potwierdzoną klinicznie chorobą wieńcową wykazano dysfunkcję EC [16]. Odnotowano również związek ekspresji ER, aktywności angiogenicznej i inwazyjności raka gruczołu piersiowego [17]. Stosowany w jego leczeniu tamoksyfen na skutek współzawodnictwa z endogennymi E o ER może hamować powstawanie nowych naczyń [18]. Podobny efekt obserwuje się po zastosowaniu progesteronu i jego pochodnych. Wykazano, że progesteron hamuje powstawanie naczyń nowotworowych przez regulację ekspresji trombospodny-1, która stanowi naturalny inhibitor angiogenezy [19, 20].

Proces angiogenezy jest dla wielu nowotworów czynnikiem prognostycznym [21–23]. Na przykładzie raka gruczołu piersiowego i endometrioidalnego wy-

kazano efektywne hamowanie angiogenezy przez antyestrogeny. Stwierdzono, że 2-metoksyestradiol (naturalny metabolit E2 o silnej aktywności przeciwnowotworowej i przeciwiangiogennej) słabo wiąże się z ER. Jego działanie przeciwnowotworowe opiera się na indukcji apoptozy i jest niezależne od ekspresji ER i jego aktywności [24–26].

Rola VEGF w angiogenezie zależnej od estrogenów

W indukcji procesu powstawania nowych naczyń krwionośnych kluczową rolę odgrywa czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF, *vascular endothelial growth factor*). Jego wpływ na wzrost przepuszczalności naczyń i ich poszerzenie wynika z pobudzenia w EC syntezy i uwalniania tlenku azotu (NO, *nitric oxide*). Aktywuje także enzymy proteolityczne oraz ekspresję receptorów ważnych w powstawaniu nacieków komórkowych i przebudowie naczyń oraz chroni EC przed apoptozą. Najsilniejszym bodźcem wpływającym na wzrost ekspresji VEGF jest hipoksja. Wykazano, że pod wpływem czynnika indukowanego niedotlenieniem (HIF, *hypoxia-inducible factor*) dochodzi do transkrypcji genu VEGF. Świadczy to o wczesnym włączeniu VEGF w proces angiogenezy [27–29].

Związek między angiogenezą, VEGF a E i ER potwierdzono w badaniach *in vitro*. W hodowlach komórkowych wykazano, że ekspresja genu VEGF oraz receptora VEGF typu 2 (VEGFR-2) mogą podlegać regulacji przez E oraz ER α i β [30–32]. Mechanizm ten reguluje angiogenezę zachodzącą w błonie śluzowej jamy macicy podczas cyklu menstruacyjnego. Przypuszcza się, że na tej drodze zachodzi również stymulacja przez E2 angiogenezy nowotworowej [33, 34]. Estrogeny biorą udział w syntezie VEGF przez makrofagi w przebiegu endometriozy [35]. Powodują wzrost ekspresji VEGF i VEGFR w nowotworach estrogenozależnych [31]. Wpływają na wzrost ekspresji VEGF na SMC [36].

Rola tlenku azotu w angiogenezie zależnej od estrogenów

Tlenek azotu stanowi kluczowe ogniwo w sygnalizacji i regulacji procesu angiogenezy. Wpływa na relaksację naczyń, czynność płytek, przebieg procesu zapalnego, neurotransmisję, proliferację limfocytów oraz cytotoxiczność makrofagów [37].

Estrogeny indukują różne izoformy syntazy tlenku azotu (NOS, *nitric oxide synthase*) i powstawanie w mitochondriach wolnych rodników (ROS, *reactive oxygen species*). W hodowli ludzkich EC aorty zwiększają jego stężenie przez wpływ na NOS. U chorych z mutacją w genie ER takiego efektu nie ma [38].

W macicy ekspresję NOS reguluje E2. W ten sposób, za pośrednictwem NO dochodzi do rozkurczu macicznego łożyska naczyniowego na skutek zwiększonego podstawowego uwalniania NO i wzrostu aktywności NOS [39, 40].

W osoczu kobiet stosujących doustnie skonjugowane E wykazano obniżenie stężenia ulegających oksydacji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL, *low-density lipoproteins*) oraz wydłużenie czasu trwania tego procesu. Świadczy to o działaniu antyoksydacyjnym E wobec peroksydacji LDL. Upośledzona oksydacja LDL odgrywa istotną rolę w patogenezie miażdżycy [41, 42].

Doniesienia na temat wpływu NO na proces angiogenezy są kontrowersyjne. Wcześniejsze publikacje sugerowały, że NO hamuje migrację EC, co jest podstawowym etapem angiogenezy [43]. Współczesne badania wykazują, że NO pobudza angiogenezę *in vitro* oraz *in vivo*, wpływając na migrację i różnicowanie EC we włóścikach. Mechanizmu tego dotychczas jednak do końca nie poznano. Być może wiąże się on ze zwiększeniem ekspresji integrzyn na powierzchni EC lub odmiennym wpływem NO na angiogenezę indukowaną przez zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF, *basic fibroblast growth factor*) i VEGF [44, 45].

Regulacja ekspresji cząsteczek adhezyjnych przez estrogeny

Ważną rolę w procesie angiogenezy odgrywają integryny — białka receptorowe, które wykorzystywane są przez komórki jako receptory dla składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz jako białka adhezyjne ułatwiające przyłączanie się komórki do macierzy [46].

Za pośrednictwem integrzyn $\alpha_v\beta_3$ zachodzi przyleganie komórek do fibrynogenu, lamininy, kolagenu, witronektyny oraz czynnika von Willebranda [47]. Wykazano dwa mechanizmy przebiegu angiogenezy wykorzystujące udział różnych integrzyn. Ustalono, że bFGF i czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α , *tumor necrosis factor- α*) indukują angiogenezę zależną od $\alpha_v\beta_3$, natomiast VEGF i transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β , *transforming growth factor- β*) zapoczątkowują angiogenezę zależną od $\alpha_v\beta_5$ [48, 49]. Wykazano wpływ E na zmianę ekspresji pewnych cząsteczek adhezyjnych zarówno na EC, jak i innych typach komórek [11, 48, 49].

Zmieniające się stężenia hormonów płciowych wpływają nie tylko na ekspresję cząsteczek adhezyjnych i białek macierzy, ale także modyfikują ich aktywność angiogeniczną. Na powierzchni luminalnej i bocznej EC znajdują się zarówno konstytutywne, jak i indukowane cząsteczki adhezyjne zawierające fragment lektyny — selektynę E (CD62E) i selektynę P (CD62P) oraz adhezyny immunoglobulinopodobne: cząsteczkę międzykomórkowej adhezji-1 (ICAM-1 [*Intercellular*

adhesion molecule-1], CD54), cząsteczkę międzykomórkowej adhezji-2 (ICAM-2 [*Intercellular adhesion molecule-2*], CD102), cząsteczkę adhezji komórkowej płytek i śródbłonna-1 (PECAM-1 [*Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1*], CD31) oraz cząsteczkę adhezji komórkowej naczyń-1 (VCAM-1 [*vascular cell adhesion molecule-1*], CD106) [46].

Na EC działają także składniki macierzy pozakomórkowej, regulując ich czynność i zmieniając ich strukturę. Ważną rolę przypisuje się trombospondynie, której rozpuszczalna forma hamuje proliferację EC, podczas gdy forma związana przez macierz pobudza ich proliferację. Równocześnie trombospondyna, wiążąc się i aktywując TGF- β oraz pobudzając enzymy proteolityczne, może wpływać na wzrost, migrację i różnicowanie EC. Lamina pobudza wydzielanie enzymów proteolitycznych, wchodzi w interakcje z innymi składnikami macierzy pozakomórkowej i nasila proliferację EC [50, 51].

Wpływ estrogenów na komórki prekursorowe szpiku

Współcześnie szczególną uwagę zwrócono na rolę w angiogenezie krążących, pochodzących ze szpiku, prekursorowych EC. Wpływ E na EC wykazano już w latach 80. XX wieku [52]. Niedobory E nasilają limfopoezę i osteoblastogenezę. Ekspresję ER α wykazano na monocytach oraz komórkach T i B. W macicy E2 reguluje syntezę erytropoetyny. Dane te sugerują, że E2 działa bezpośrednio na szpik kostny i reguluje dojrzewanie komórek prekursorowych [53–55].

Wpływ hormonów steroidowych na komórki zapalne w macicy

Spośród licznych komórek układu immunologicznego obecnych w macicy najistotniejszą rolę odgrywają makrofagi, granulocyty obojętnochłonne i komórki tłuszczne. Wśród nich najczęściej badano makrofagi. Uważa się, że pełnią one ważną funkcję w miejscowych procesach immunologicznych, w cyklu menstruacyjnym i macicy kobiety w ciąży [56, 57]. W macicy na rekrutację makrofagów, ich funkcje i dystrybucję wpływają hormony płciowe. Wykazano, że E2 pobudza rekrutację makrofagów, natomiast progesteron hamuje [58].

Rola makrofagów w układzie rozrodczym kobiety

W żeńskim układzie rozrodczym makrofagi zasiedlają jajniki, jajowody, macicę, szyjkę macicy i pochwę. W jajniku uczestniczą w procesie rozwoju pęcherzyków i oogenezy oraz w tworzeniu i funkcjonowaniu ciała żółtego. Znaczącą rolę makrofagów w macicy sugeruje

ich liczba i rozmieszczenie w poszczególnych fazach cyklu menstruacyjnego, jak również w przebiegu ciąży. Wykazano, że są one źródłem licznych czynników wzrostu i cytokin, które mogą pobudzać angiogenezę [45, 59].

Błona śluzowa jamy macicy oraz jej podścielisko są również źródłem wielu cytokin, które mogą wpływać na angiogenezę poprzez bezpośrednią stymulację rozrostu EC lub poprzez rekrutację ich komórek prekursorowych [60].

Wielkość populacji makrofagów oraz ich funkcje podlegają kontroli hormonalnej, w tym E i progesteronu, które z kolei, regulują ilość czynnika wzrostu kolonii makrofagów (M-CSF, *monocyte-macrophage colony-stimulating factor*), który jest dla nich głównym chemotatraktantem [61].

Podsumowanie

1. Angiogenne działanie estradiolu wpływa na cykliczne zmiany zachodzące w naczyniach narządu rodowego kobiet.
2. Estrogeny i progesteron wpływają na ekspresję VEGF.

Piśmiennictwo

1. Pandya NM, Dhalla NS, Santoni DD. Angiogenesis — a new target for future therapy. *Vascul Pharmacol* 2006; 44: 265–274.
2. Jakobsson L, Kreuger J, Claesson-Welsh L. Building blood vessels-stem cell models in vascular biology. *J Cell Biol* 2007; 177: 751–755.
3. Shimizu M, Pelisek J, Nikol S. Vasculogenesis and angiogenesis depend on the developmental origin in the arterial tree. *Curr Med Chem* 2002; 9: 1619–1630.
4. Rubanyi GM, Johns A, Kausar K. Effect of estrogen on endothelial function and angiogenesis. *Vascul Pharmacol* 2002; 38: 89–98.
5. Fraser HM. Regulation of the ovarian follicular vasculature. *Reprod Biol Endocrinol* 2006; 4: 18.
6. Torry DS, Leavenworth J, Chang M i wsp. Angiogenesis in implantation. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24: 303–315.
7. Norrby K. In vivo models of angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 588–612.
8. Eming SA, Brachvogel B, Odorisio T i wsp. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model. *Prog Histochem Cytochem* 2007; 42: 115–170.
9. Konya D, Gercek A, Akakin A i wsp. The effects of inflammatory response associated with traumatic spinal cord injury in cutaneous wound healing and on expression of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and platelet-derived growth factor (PDGF)-A at the wound site in rats. *Growth Factors* 2008; 26: 74–79.
10. Brahim-Horn MC, Chiche J, Pouysselgur J. Hypoxia and cancer. *J Mol Med* 2007; 85: 1301–1307.
11. Cid MC, Schnaper HW, Kleinman HK. Estrogens and the vascular endothelium. *Ann NY Acad Sci* 2002; 966: 143–157.
12. Hisamoto K, Bender JR. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors. *Steroids* 2005; 70: 382–387.
13. Matthews J, Gustafsson JA. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv* 2003; 3: 281–292.
14. Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta: an overview and update. *Nucl Recept Signal* 2008; 6: e003.
15. Hashimoto M, Akishita M, Eto M i wsp. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995; 92: 3431–3435.
16. Collins P, Rosano GM, Sarrel PM i wsp. 17 beta-Estradiol attenuates acetylcholine-induced coronary arterial constriction in women but not men with coronary heart disease. *Circulation* 1995; 92: 24–30.
17. Elkin M, Orgel A, Kleinman HK. An angiogenic switch in breast cancer involves estrogen and soluble vascular endothelial growth factor receptor 1. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 875–878.
18. Banerjee S, Dowsett M, Ashworth A i wsp. Mechanisms of disease: angiogenesis and the management of breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4: 536–550.
19. Byrne GJ, Hayden KE, McDowell G i wsp. Angiogenic characteristics of circulating and tumoural thrombospondin-1 in breast cancer. *Int J Oncol* 2007; 31: 1127–1132.
20. Hyder SM. Sex-steroid regulation of vascular endothelial growth factor in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 667–687.
21. Mazurek A, Pierzyński P, Kuć P i wsp. Evaluation of angiogenesis, p-53 tissue protein expression and serum VEGF in patients with endometrial cancer. *Neoplasma* 2004; 51: 193–197.
22. Mazurek A, Kuć P, Terlikowski S i wsp. Evaluation of tumor angiogenesis and thymidine phosphatase tissue expression in patients with endometrial cancer. *Neoplasma* 2006; 53: 242–246.
23. Pang RW, Poon RT. Clinical implications of angiogenesis in cancers. *Vasc Health Risk Manag* 2006; 2: 97–108.
24. Gui Y, Zheng XL. 2-methoxyestradiol induces cell cycle arrest and mitotic cell apoptosis in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 2006; 47: 271–280.
25. Horn LC, Meinel A, Handzel R i wsp. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma: an update. *Ann Diagn Pathol* 2007; 11: 297–311.
26. Hussain SA, Palmer DH, Spooner D i wsp. Molecularly targeted therapeutics for breast cancer. *BioDrugs* 2007; 21: 215–224.
27. Breen EC. VEGF in biological control. *J Cell Biochem* 2007; 102: 1358–1367.
28. Khosravi Shahi P, Fernández Pineda I. Tumoral angiogenesis: review of the literature. *Cancer Invest* 2008; 26: 104–108.
29. Mizukami Y, Kohgo Y, Chung DC. Hypoxia inducible factor-1 independent pathways in tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5670–5674.
30. Albrecht ED, Babishkin JS, Lidor Y i wsp. Effect of estrogen on angiogenesis in co-cultures of human endometrial cells and microvascular endothelial cells. *Hum Reprod* 2003; 18: 2039–2047.
31. Garvin S, Dabrosin C. In vivo measurement of tumor estradiol and vascular endothelial growth factor in breast cancer patients. *BMC Cancer* 2008; 8: 73.
32. Takei H, Lee ES, Jordan VC. In vitro regulation of vascular endothelial growth factor by estrogens and antiestrogens in estrogen-receptor positive breast cancer. *Breast Cancer* 2002; 9: 39–42.
33. Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C i wsp. Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2000; 60: 3183–3190.
34. Mueller MD, Vigne JL, Minchenko A i wsp. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10972–10977.
35. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 45–55.
36. Osada-Oka M, Ikeda T, Imaoka S i wsp. VEGF-enhanced proliferation under hypoxia by an autocrine mechanism in human vascular smooth muscle cells. *J Atheroscler Thromb* 2008; 15: 26–33.
37. Ying L, Hofseth LJ. An emerging role for endothelial nitric oxide synthase in chronic inflammation and cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 1407–1410.
38. Kim KH, Moriarty K, Bender JR. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors. *Steroids* 2008; 73: 864–869.
39. Han G, Magee T, Khorram O. Regulation of nitric oxide synthase isoforms by estrogen in the human endometrium. *Fertil Steril* 2005; 84 (suppl. 2): 1220–1227.
40. Scott PA, Tremblay A, Brochu M i wsp. Vasorelaxant action of 17-estradiol in rat uterine arteries: role of nitric oxide synthases and estrogen receptors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H3713–H3719.
41. Majmudar NG, Robson SC, Ford GA. Effects of the menopause, gender, and estrogen replacement therapy on vascular nitric oxide activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1577–1583.
42. Monsalve E, Oviedo PJ, García-Pérez MA i wsp. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 66–72.
43. Goligorsky MS, Budzikowski AS, Tsukahara H i wsp. Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 269–271.
44. Morbidelli L, Donnini S, Ziche M. Role of nitric oxide in the modulation of angiogenesis. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 521–530.
45. Singh RP, Agarwal R. Inducible nitric oxide synthase-vascular endothelial growth factor axis: a potential target to inhibit tumor angiogenesis by dietary agents. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7: 475–483.
46. Mousa SA. Cell adhesion molecules: potential therapeutic and diagnostic implications. *Mol Biotechnol* 2008; 38: 33–40.
47. Serini G, Valdembri D, Bussolino F. Integrins and angiogenesis: a sticky business. *Exp Cell Res* 2006; 312: 651–658.
48. Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M i wsp. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med* 2003; 47: 149–161.
49. Vanderslice P, Munsch CL, Rachal E i wsp. Angiogenesis induced by tumor necrosis factor-alpha; is mediated by alpha4 integrins. *Angiogenesis* 1998; 2: 265–275.

50. Kumar VB, Viji RI, Kiran MS i wsp. Modulation of expression of LDH isoenzymes in endothelial cells by laminin: implications for angiogenesis. *J Cell Biochem* 2008; 103: 1808–1825.
51. Ogenesian A, Armstrong LC, Migliorini MM i wsp. Thrombospondins use the VLDL receptor and a nonapoptotic pathway to inhibit cell division in microvascular endothelial cells. *Mol Biol Cell* 2008; 19: 563–571.
52. Smithson G, Couse JF, Lubahn DB i wsp. The role of estrogen receptors and androgen receptors in sex steroid regulation of B lymphopoiesis. *J Immunol* 1998; 161: 27–34.
53. Sørensen MG, Henriksen K, Dziegiel MH i wsp. Estrogen directly attenuates human osteoclastogenesis, but has no effect on resorption by mature osteoclasts. *DNA Cell Biol* 2006; 25: 475–483.
54. Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S. Mobilizing endothelial progenitor cells. *Hypertension* 2005; 45: 321–325.
55. Romagnani P, Lasagni L, Mazzinghi B i wsp. Pharmacological modulation of stem cell function. *Curr Med Chem* 2007; 14: 1129–1139.
56. Salamonsen LA, Hannan NJ, Dimitriadis E. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentaion. *Semin Reprod Med* 2007; 25: 437–444.
57. Salamonsen LA, Lathbury LJ. Endometrial leukocytes and menstruation. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 16–27.
58. Jones RL, Morison NB, Hannan NJ i wsp. Chemokine expression is dysregulated in the endometrium of women using progestin-only contraceptives and correlates to elevated recruitment of distinct leukocyte populations. *Hum Reprod* 2005; 20: 2724–2735.
59. Gordon S. The macrophage: past, present and future. *Eur J Immunol* 2007; 37 (supl. 1): S9–S17.
60. Kapiteijn K, Koolwijk P, Van Der Weiden R i wsp. Steroids and cytokines in endometrial angiogenesis. *Anticancer Res* 2001; 21: 4231–4242.
61. Wood GW, Hausmann E, Choudhuri R. Relative role of CSF-1, MCP-1/ JE, and RANTES in macrophage recruitment during successful pregnancy. *Mol Reprod Dev* 1997; 46: 62–69.