

## Angiogenesis y Endometriosis

M. García Manero, B. Olartecoechea, M. Aubá, J. L. Alcázar, G. López.

*Departamento de Ginecología y Obstetricia. Clínica Universidad de Navarra.*

Correspondencia:

Manuel García Manero

Departamento de Ginecología y Obstetricia

Clínica Universidad de Navarra

31008 Navarra

(mgmanero@unav.es)

### Resumen

La endometriosis se produce por un proceso de implantación y crecimiento de las células endometriales sobre la superficie peritoneal y ovárica. Al igual que los procesos tumorales los implantes de células endometriales no son capaces de proliferar a menos que exista un proceso de neoangiogénesis. Se ha propuesto que la angiogénesis endometrial excesiva pudiera ser un importante mecanismo en la patogénesis de la endometriosis. El proceso de angiogénesis implica la interacción de un elevado número de factores de crecimiento entre los que se encuentra el factor de crecimiento vascular (VEGF), el cual es reconocido como el principal factor angiogénico. En un reciente investigación hemos estudiado el papel del VEGF sérico en pacientes con endometriosis ovárica divididos en dos grupos en función de si presentaban o no síntomas de dolor pélvico crónico y/o dismenorrea.

**Palabras clave:** angiogenesis, endometriosis, VEGF

### Angiogénesis

La endometriosis se produce por un proceso de implantación y crecimiento de las células endometriales sobre la superficie peritoneal y ovárica. Al igual que los procesos tumorales los implantes de células endometriales no son capaces de proliferar a menos que exista un proceso de neoangiogénesis. Se ha propuesto que la angiogénesis endometrial excesiva pudiera ser un importante mecanismo en la patogénesis de la endometriosis.

El proceso neoangiogénico es esencial para la reproducción normal, incluyendo maduración folicular, selección y funcionamiento normal del cuerpo lúteo, y crecimiento y remodelamiento endometrial<sup>1,2</sup>.

En el estudio realizado por Healy<sup>3</sup> y colaboradores, el proceso de neoangiogénesis ha sido descrito como fundamental en el desarrollo de la endometriosis. En esta investigación se destaca el hecho de que en aquellas pacientes con endometriosis a las que se les realizó una cirugía laparoscópica alrededor de los implantes endometriales se objetivó la presencia de vasos sanguíneos.

El proceso de angiogénesis implica la interacción de un elevado número de factores de crecimiento entre los que se encuentra el factor de crecimiento vascular (VEGF), el cual es reconocido como el principal factor angiogénico<sup>4</sup>.

### Summary

Endometriosis is a common gynaecological disease of unknown aetiology. Angiogenesis appears to be one of the processes involved in its pathogenesis. Angiogenic factors are increased in the peritoneal fluid of patients with endometriosis (McLaren 1996 et al; Taylor et al, 2002), in peritoneal implants (Ferriani et al, 1993) and in ovarian endometriomas. On the other hand, some researchers have found that angiogenesis is related to pelvic pain. We speculated that ovarian endometriomas in patients presenting with pelvic pain would be more angiogenic than those in asymptomatic women and that their vascular features would therefore be different.

**Key words:** VEGF, ovarian endometriosis, pelvic pain.

### Factor de crecimiento endotelial vascular

#### 1.1. Introducción

En 1983, Senger y colaboradores [108] describieron la purificación parcial de una proteína capaz de inducir proliferación vascular. Esta proteína fue llamada factor de permeabilidad vascular (VPF) y se pensó que era un regulador específico de la permeabilidad de vasos sanguíneos en tumorales más que un factor de crecimiento. En 1989 Ferrara y Henzel<sup>5</sup> describieron la purificación, homogeneización y secuenciación de un aminoácido terminal de un mitógeno específico para células endoteliales, que denominaron respectivamente, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y vasculotropina. El clonaje y la expresión del VEGF y el VPF revelaron que estas dos moléculas eran en realidad la misma<sup>6</sup>.

Esta glicoproteína, es capaz de unirse a uno de los múltiples receptores de tirosina kinasa lo que provoca su autofosforilación, consiguiendo la activación de proteínas kinasas con acción mitogénica<sup>7</sup>. A lo largo de los últimos años han sido identificados otros miembros de la familia del VEGF, que incluye el factor de crecimiento placentario (PlGF), el VEGF-B, el VEGF-C, el VEGF-E y el EG-VEGF<sup>8</sup>. La nomenclatura de estos miembros más recientes ha hecho que el primer factor descubierto se denomine VEGF-A, aunque la mayoría de investigaciones le denominan simplemente VEGF.

## 1.2. Estructura y síntesis del VEGF

La localización cromosómica del gen VEGF humano es 6p21.3[9]. Este gen está compuesto por ocho exones y siete intrones, con una región codificante de una longitud aproximada de 14kb.

A partir de este gen se generan 5 isoformas por splicing alternativo, que tienen un tamaño de 121,145,165,189, y 206 aminoácidos (Figura 1)<sup>10, 11</sup>.

Las propiedades bioquímicas de las diferentes isoformas dependen en gran parte de su capacidad o no de unión a la heparina, y esto está determinado por la presencia de exones 6 y 7. A la isoforma VEGF 121 le faltan estos dos exones, por lo que no puede unirse a la matriz extracelular y es una proteína totalmente difundible. La isoforma VEGF 145 carece de un fragmento del exón 6 y de la totalidad del exón 7, y a la isoforma VEGF 165 le falta el exón 6, por lo que una vez secretadas una parte queda retenida en la matriz extracelular y otra difundible libremente. VEGF 189 sólo carece de una parte del exón 6 y VEGF 206 contiene todos los exones, por lo que estas isoformas quedan totalmente secuestradas en la matriz extracelular. No obstante, tras la acción de diferentes enzimas como la heparinasa, la uroquinasa o la plasmina se puede liberar un fragmento de 110 aminoácidos con actividad biológica. Esto sugiere que las diferentes isoformas del VEGF podrían estar biodisponibles mediante difusión libre o tras la acción de proteasa sobre las isoformas más grandes<sup>13</sup>.

El VEGF nativo (VEGF 165) es una glicoproteína (Asn 75) de 45 kDa, básica, homodimérica con varios puentes disulfuro intra e intercatenarios. Los monómeros se asocian de forma antiparalela, y su reducción implica la pérdida total de su actividad biológica. La isoforma VEGF 121 es un péptido con propiedades de ácido débil, mientras que las isoformas VEGF 189 y VEGF 206 son las más básicas<sup>14, 15</sup>.

La mayoría de tipos celulares que expresan VEGF, tanto en situaciones fisiológicas como patológicas, expresan las isoformas VEGF 121 y VEGF 165. VEGF 145 parece ser expresada únicamente en células derivadas de órganos reproductores<sup>16</sup>.

## 1.3. Expresión del VEGF

Durante la embriogénesis la expresión del VEGF es más amplia, detectándose en pulmón, glándula adrenal, testículo, riñón y cerebro<sup>17</sup>. En el adulto, en condiciones normales, la expresión de VEGF es baja o inexistente en la mayoría de tejidos, y está limitada a órganos que presentan capilares con endotelio fenestrado como son el plexo coroidal y los glomerulos renales<sup>18</sup> y en situaciones de angiogénesis fisiológica como la que tiene lugar en el tracto reproductor femenino<sup>19</sup>. Sin embargo, como se explica a continuación, la expresión de VEGF puede ser activada por diferentes factores.

## 1.4. Regulación de la expresión del VEGF

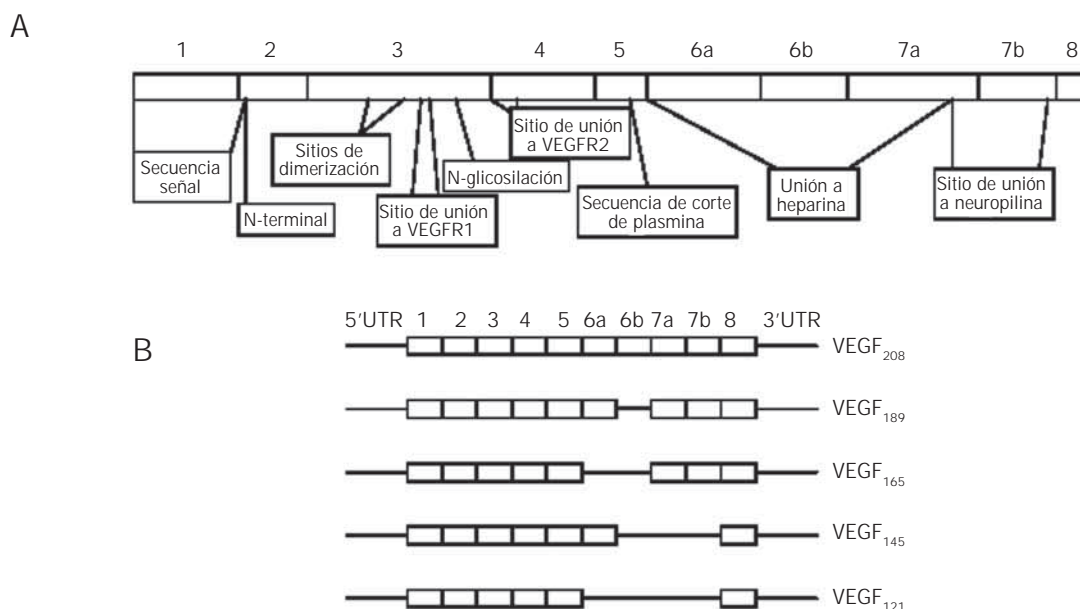
### 1.4.1. Hipoxia

La hipoxia es el principal regulador de la expresión de VEGF tanto in vitro como in vivo [10]). El significado fisiológico de la inducción de la expresión de VEGF en respuesta a hipoxia sería el mejorar el aporte de oxígeno a zonas en las que la perfusión tisular ha sido interrumpida por algún motivo.

### 1.4.2. Hormonas y citoquinas

Existen numerosos trabajos que describen la inducción de VEGF, tanto a nivel mRNA como de proteína, por efecto de diferentes factores de crecimiento, citoquinas, hormonas y otros agentes en diferentes tipos celulares. En la siguiente tabla aparece un listado de los factores más representativos.

Figura 1. Estructura de VEGF



**Tabla.** Factores que influyen en la expresión de VEGF

Factores de crecimiento	Citoquinas	Hormonas	Otros
EGF	IL1	TSH	Acidosis
IGF	IL5	ACTH	Estress de Cizallamiento
FGF	IL6	Hormonas esteroideas	PGE
	IL12	Insulina	PGE <sub>2</sub>
	TNF $\alpha$	Angiotensina	Trombina
		Tamoxifeno	Agregación plaquetaria
			Trombopoyetina

### 1.5.Receptores de VEGF

Hasta el momento actual se han identificado 4 receptores diferentes a los que se pueden unir los miembros de la familia VEGF. Tres de ellos, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 son receptores tirosina quinasa. El cuarto, neuropilina-1, es una proteína transmembrana sin actividad tirosina quinasa. La mayoría de las acciones biológicas del VEGF tienen lugar tras la unión a VEGFR2.

Los receptores de VEGF 1 y 2 son expresados predominantemente en las células endoteliales

### 1.6.Funciones del VEGF

El VEGF es una citoquina multifuncional que ejerce la mayoría de sus funciones en el endotelio vascular. Entre estas funciones se encuentra ser el principal inductor de angiogénesis, promover permeabilidad vascular y actuar como vasodilatador.

#### 1.6.1. Efectos biológicos del VEGF en células endoteliales

Las células endoteliales constituyen la diana preferencial del VEGF para la mayoría de sus efectos biológicos<sup>20, 21</sup>. En estas células, el VEGF actúa como factor de supervivencia y como inhibidor de la apoptosis, es un potente mitógeno, induce migración y cambia la expresión génica dando lugar al aumento de expresión de diferentes proteínas como las metaloproteasa, proteínas implicadas en la actividad fibrinolítica, o la sintasa endotelial del óxido nítrico.

Los cambios que causa el VEGF en las células endoteliales están implicados en la acción del VEGF como promotor de angiogénesis, de permeabilidad vascular o como agente vasodilatador.

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un mitógeno para células endoteliales vasculares derivado de arterias, venas y linfáticos, pero carece de actividad mitogénica significativa para otros tipos de células<sup>15</sup>. El VEGF también induce una fuerte respuesta angiogénica en una variedad de

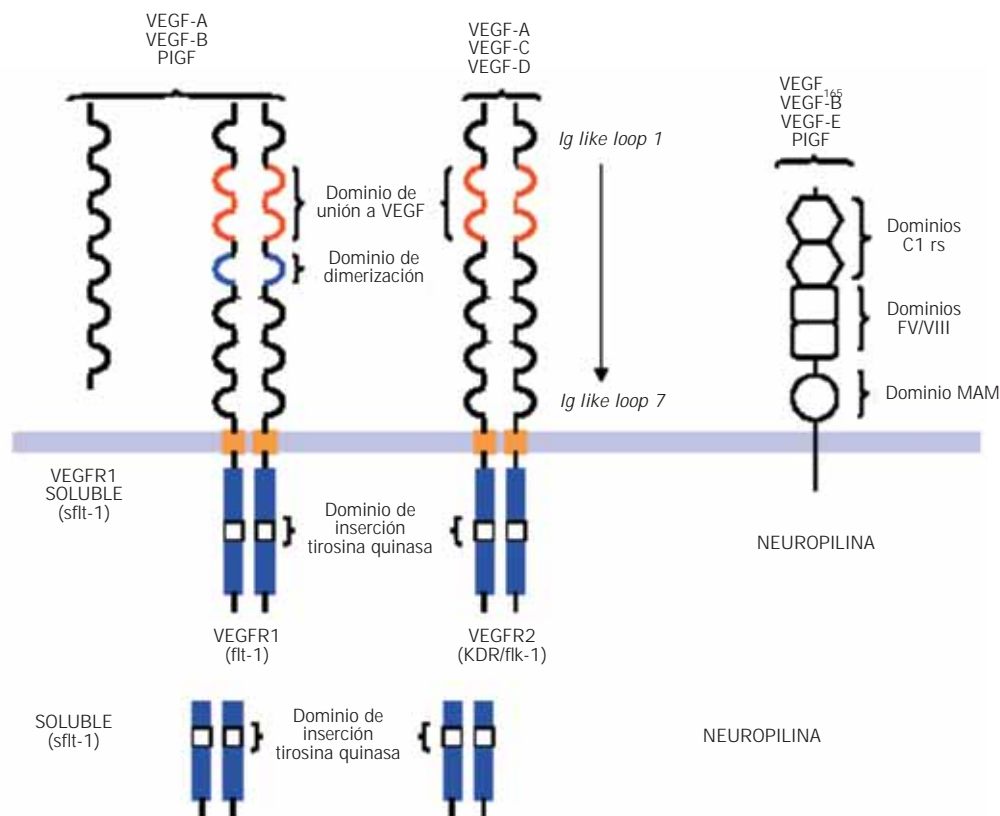
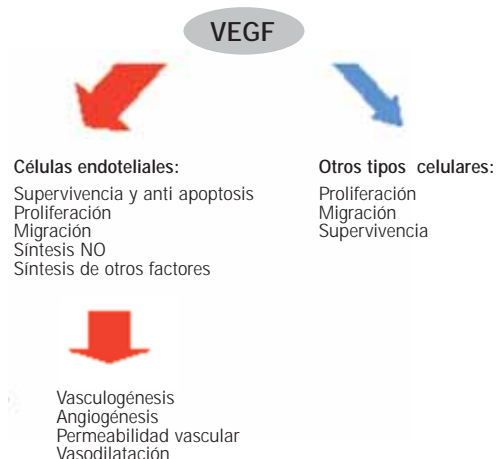
**Figura 2.** Receptor VEGF.

Figura 3. Funciones de VEGF.



modelos in vivo<sup>22</sup> por lo que actualmente se asume que el factor de crecimiento vascular es uno de los principales factores relacionados con la angiogénesis.

### 1.7. VEGF y endometriosis

#### 1.7.1. Endometrio eutópico

Durante el ciclo menstrual de una mujer y gracias a un proceso fisiológico se produce un fenómeno de regeneración vascular que implica fundamentalmente a las arterias espirales y al plexo capilar subepitelial<sup>7, 23</sup>. El control de este fenómeno de regeneración se basa en la acción de las hormonas esteroideas ováricas y factores de crecimiento entre los que destaca el VEGF cuya presencia ha sido demostrada en el endometrio humano<sup>24</sup>.

Los niveles de mRNA del VEGF sufren variaciones a lo largo del ciclo menstrual aumentando su expresión en la fase secretora y en la fase menstrual. Shifren y colaboradores han demostrado que los cambios en el nivel de VEGF a lo largo del ciclo están en relación con los niveles de esteroides ováricos. Este dato asociado a las variaciones cíclicas del VEGF indica que este factor de crecimiento es un factor estrógeno dependiente con efecto angiogénico en el endometrio. Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha localizado la presencia de VEGF en tanto en el epitelio como el estroma en la fase proliferativa manteniéndose solo en epitelio en la fase secretora<sup>24, 25</sup>. Estos datos sugieren la expresión de VEGF durante la menstruación retrógrada y nos hacen sospechar que el tejido que alcanza la cavidad pélvica puede proliferar bajo la influencia del fenómeno de angiogénesis. Donnez y colaboradores<sup>25</sup> demostraron que los niveles de VEGF eran significativamente más elevados en el epitelio glandular eutópico de las pacientes con endometriosis. Autores como Brooks o Sepp<sup>26</sup> han demostrado el papel fundamental de la integrina  $\alpha v \beta 3$  en la supervivencia y maduración de los nuevos vasos sanguíneos formados. Todos estos datos sugieren que el endometrio de las mujeres con endometriosis tiene capacidad de proliferación para sobrevivir en localizaciones ectópicas. Esto nos lleva a pensar que incluso antes de entrar en la cavidad peritoneal, las diferencias en el endometrio asociado al fenómeno de angiogénesis y a la sobreexpresión de VEGF

confieren una mayor capacidad de implantación al endometrio exfoliado.

El ARNm del VEGF y la subsecuente proteína expresada han sido detectadas en lesiones endometriósicas; los niveles de dicha proteína son mayores en las lesiones rojas (activas) que en las lesiones oscuras, lo que sugiere una mayor vascularización en las lesiones rojas [124] respecto a las lesiones oscuras llenas de pigmentos sanguíneos.

El VEGF ARNm y la proteína expresada han sido detectadas también en endometrio normal y es conocido que juegan un papel importante en la formación de vasos sanguíneos en el ciclo menstrual<sup>20</sup>.

#### 1.7.2. Endometrio ectópico

En la actualidad se ha demostrado que el VEGF se expresa no solo en el tejido peritoneal sino también en las estructuras glandulares, las células estromales y macrófagos activos<sup>25, 27, 28</sup>. También se ha comprobado que las concentraciones de VEGF varían en función del tipo de lesiones endometriósicas analizadas; se ha objetivado una mayor concentración en las lesiones más vascularizadas que en las lesiones necróticas<sup>25, 27</sup>. La expresión de este factor de crecimiento indica la importancia de la angiogénesis en el mantenimiento de las lesiones. El aumento de esta vascularización se localiza con mayor frecuencia alrededor de los implantes endometriósicos.

#### 1.7.3. Líquido peritoneal

El líquido peritoneal desempeña un papel fundamental en el desarrollo, mantenimiento y propagación de la enfermedad endometriósica. McLaren<sup>27</sup> y colaboradores han demostrado la presencia de VEGF en líquido peritoneal de mujeres con endometriosis, observándose los niveles más altos del mismo en fase proliferativa del ciclo menstrual donde el peritoneo se encuentra expuesto al fenómeno de la menstruación retrógrada. Shifren<sup>28</sup> en un estudio reciente ha demostrado una correlación positiva entre los niveles de VEGF en líquido peritoneal y la severidad de la endometriosis.

Investigaciones como las de Oosterlynch<sup>27, 29</sup> y McLaren<sup>27</sup> han demostrado que en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis se observa un mayor número de factores neoangiogénicos que en los grupos control. Estos niveles elevados de VEGF en líquido peritoneal podrían indicar una alteración de dichos niveles en suero de esas pacientes. Matalliotakis<sup>30</sup> confirma una ligera elevación de los niveles de VEGF en suero de pacientes con endometriosis respecto a grupos control, mientras que Pellicer<sup>31</sup> ó Gagné<sup>32</sup> no observan tales diferencias.

Varios autores han demostrado elevadas concentraciones de VEGF en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis moderada a severa al compararlas con mujeres sanas<sup>27</sup>. Sin embargo, la presencia de VEGF en tejido endometriósico está menos detallada en la literatura y hay una discrepancia entre las conclusiones de estos estudios. De hecho, aunque McLaren<sup>27</sup> encontró que la expresión de VEGF estaba limitada al tejido endometriósico y solo era visto en macrófagos de tejido individual distribuidos a través del estroma, Shifren y col<sup>28</sup> constataron que la expresión del VEGF fue similar en tejido endometrial y en tejido endometriósico. Por el contrario Donnez<sup>25</sup> ha demostrado la presencia de niveles elevados de VEGF en tejido endometriósico sugiriendo el papel crucial de dicho factor en el proceso angiogénico de la endometriosis<sup>25</sup>.

Hace unos años, iniciamos en el departamento de Ginecología una investigación encaminada a analizar los factores angiogénicos en la endometriosis. Basándonos en la literatura previamente comentada, estudiamos el papel del VEGF sérico en pacientes con endometriosis ovárica divididas en dos grupos en función de si presentaban o no síntomas de dolor pélvico crónico y/o dismenorrea.

Inicialmente, se plantearon los siguientes interrogantes: ¿por qué el VEGF y no otros factores de crecimiento? ¿En qué líquido biológico determinamos la concentración de VEGF?

En la actualidad está ampliamente demostrado que la presencia del factor de crecimiento vascular es fundamental en el proceso de neoangiogénesis tanto fisiológica como patológica [192] por lo que su determinación en pacientes con endometriosis puede permitirnos de una manera mínimamente invasiva saber la evolución de la actividad de la enfermedad.

Metodológicamente, previo al estudio de las determinaciones séricas de VEGF identificamos varios factores de confusión que influyen en los niveles séricos de VEGF y que de una manera no intencionada pueden llevarnos a conclusiones erróneas. Las determinaciones se realizaron en fase folicular donde los niveles de VEGF son más elevados evitando la aparición de sesgos por el momento del ciclo. De acuerdo con los datos de Gagne, [131] analizamos posibles factores de confusión. Debemos reseñar que solo estudiamos aquellos factores controlables pero no pudimos analizar aquellos no modificables dentro de los que destaca el grado de hipoxia.

En pacientes con endometriosis, está demostrado la expresión de VEGF tanto en el endometrio como en los implantes endometriósicos [111, 122, 123] y la presencia del mismo en líquido peritoneal sugiriendo que este factor sea marcador de la enfermedad [122].

Por otro lado, la endometriosis se encuentra asociada a fenómenos inmunitarios encontrándose niveles elevados de ciertas citoquinas en líquido peritoneal correlacionándose estos con niveles altos en suero de esas pacientes. Por lo tanto, y basándonos en esta hipótesis podemos suponer que los niveles elevados de VEGF en líquido peritoneal de pacientes con endometriosis tienen su reflejo en los niveles detectados en suero. Este tema es controvertido ya que autores como Pellicer [130] y Gagne [131] no encuentran diferencias significativas en los niveles de VEGF en pacientes con y sin endometriosis en contraposición a lo descrito por Matalliotakis [129]. Las series de este último y de Pellicer son excesivamente cortas, sin eliminar varios factores de confusión. Sin embargo, en el trabajo de Gagné, previamente a la determinación de VEGF se ajustaron varios factores de confusión como el índice de masa corporal tanto en los casos como en los controles.

Los valores de VEGF en suero de las pacientes pueden variar en función del tiempo transcurrido entre la extracción de la muestra y el procesamiento de la misma. Hormbrey<sup>30</sup> en su investigación demuestra que los niveles séricos de VEGF pueden variar si las muestras son procesadas entre 2 y 6 horas después de la extracción<sup>29</sup>.

La diferencia entre nuestro trabajo y los anteriormente comentados radica en que nosotros partimos de dos grupos con endometriosis diferenciados por la presencia de la sintomatología mientras que los trabajos anteriores utilizan un grupo control. Gagné<sup>31</sup> afirma que la presencia de dolor pélvico es un factor

de confusión cuando se trata de determinar los niveles séricos de VEGF pero en nuestro caso es la característica diferencial de las pacientes.

Por otro lado, con respecto al líquido biológico donde determinar el VEGF, existen múltiples trabajos que lo analizan en líquido peritoneal, líquido intraquístico, orina o suero. Nuestro grupo ha optado por la determinación sérica en un intento de realizar un procedimiento mínimamente invasivo, de fácil realización y con leve molestia al paciente. Cabe pensar que la determinación en orina del VEGF es todavía menos incruenta y agresiva para la paciente y que podía ser una buena elección. En el estudio realizado por Potlog-Nahari<sup>31</sup>, se demuestra que la determinación de VEGF en orina no era un marcador que reflejará la actividad de la endometriosis por lo que optamos por la determinación serológica.

Hemos querido demostrar si los niveles de dicho factor de crecimiento aumentan exponencialmente en relación con los niveles de sintomatología.

Nuestros resultados demuestran que no existen diferencias significativas en los niveles de VEGF en los dos grupos estudiados e incluso podemos reseñar que los niveles de VEGF sérico son mayores en el grupo de pacientes asintomáticos. Según esta afirmación y al igual que ocurre con el marcador tumoral CA-125, la determinación del VEGF sérico no puede ser utilizado como invasivo que determine la actividad de la endometriosis.

Como posible explicación de la ausencia de correlación entre los niveles séricos de VEGF con la sintomatología postulamos la presencia de factores no controlables que modulen la expresión del VEGF. Desde nuestro punto de vista, y de acuerdo con lo propuesto por Ferrara<sup>15</sup>, las situaciones de hipoxia influirían de un modo determinante en los niveles de VEGF modificándose las concentraciones del mismo en respuesta a aquellas situaciones en las que la perfusión tisular ha sido interrumpida por algún motivo.

En resumen, podemos afirmar que el VEGF interviene en la angiogénesis de la endometriosis de una manera directa, pero que existen otros mecanismos conocidos y desconocidos que probablemente influyan de una manera determinante en dicho proceso.

## Bibliografía

1. Folkman, J. and Y. Shing, Angiogenesis. *J Biol Chem*, 1992. 267(16): p. 10931-4.
2. Gordon, J.D., et al., Angiogenesis in the human female reproductive tract. *Obstet Gynecol Surv*, 1995. 50(9): p. 688-97.
3. Healy, D.L., et al., Angiogenesis: a new theory for endometriosis. *Hum Reprod Update*, 1998. 4(5): p. 736-40.
4. Taylor, R.N., D.I. Lebovic, and M.D. Mueller, Angiogenic factors in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 955: p. 89-100; discussion 118, 396-406.
5. Senger, D.R., et al., Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*, 1983. 219(4587): p. 983-5.
6. Ferrara, N. and W.J. Henzel, Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989. 161(2): p. 851-8.
7. Keck, P.J., et al., Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*, 1989. 246(4935): p. 1309-12.
8. Ferrara, N., H.P. Gerber, and J. LeCouter, The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 2003. 9(6): p. 669-76.



9. Vincenti, V., et al., Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation*, 1996. 93(8): p. 1493-5.
10. Houck, K.A., et al., The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol*, 1991. 5(12): p. 1806-14.
11. Tischer, E., et al., The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem*, 1991. 266(18): p. 11947-54.
12. Dvorak, H.F., Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol*, 2002. 20(21): p. 4368-80.
13. Ferrara, N. and T. Davis-Smyth, The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, 1997. 18(1): p. 4-25.
14. Breier, G., et al., Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. *Development*, 1992. 114(2): p. 521-32.
15. Ferrara, N., et al., Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med*, 1998. 4(3): p. 336-40.
16. Ferrara, N., Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int*, 1999. 56(3): p. 794-814.
17. Zachary, I. and G. Gliki, Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res*, 2001. 49(3): p. 568-81.
18. Leung, D.W., et al., Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989. 246(4935): p. 1306-9.
19. Smith, S.K., Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and the endometrium. *Hum Reprod Update*, 1998. 4(5): p. 509-19.
20. Charnock-Jones, D.S., et al., Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biol Reprod*, 1993. 48(5): p. 1120-8.
21. Donnez, J., et al., Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*, 1998. 13(6): p. 1686-90.
22. Sepp, N.T., et al., Basic fibroblast growth factor increases expression of the alpha v beta 3 integrin complex on human microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol*, 1994. 103(3): p. 295-9.
23. McLaren, J., et al., Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest*, 1996. 98(2): p. 482-9.
24. Shifren, J.L., et al., Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996. 81(8): p. 3112-8.
25. Oosterlynck, D.J., et al., Angiogenic activity of peritoneal fluid from women with endometriosis. *Fertil Steril*, 1993. 59(4): p. 778-82.
26. Matalliotakis, I.M., et al., Serum concentrations of growth factors in women with and without endometriosis: the action of anti-endometriosis medicines. *Int Immunopharmacol*, 2003. 3(1): p. 81-9.
27. Pellicer, A., et al., The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril*, 1998. 70(3): p. 425-31.
28. Gagne, D., et al., Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod*, 2003. 18(8): p. 1674-80.
29. Ferrero, S., et al., Methodological concerns regarding levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod*, 2004. 19(1): p. 220-1.
30. Hormbrey, E., et al., A critical review of vascular endothelial growth factor (VEGF) analysis in peripheral blood: is the current literature meaningful? *Clin Exp Metastasis*, 2002. 19(8): p. 651-63.
31. Potlog-Nahari, C., et al., Urine vascular endothelial growth factor-A is not a useful marker for endometriosis. *Fertil Steril*, 2004. 81(6): p. 1507-12.

## Tarjeta de Miembro Visa Alumni Platinum

### Mucho más que una Tarjeta de Miembro...

- Es una tarjeta de Miembro Alumni
- Es una tarjeta de crédito
- Es una tarjeta de débito
- Es una tarjeta solidaria
- Es una tarjeta de descuentos en gasolina
- Es un seguro de accidentes
- Es un seguro de asistencia en viajes

### Además puedes conseguir...

- Plan de Pensiones Alumni Navarrenses
- Banca Personal exclusiva Alumni
- Banca a distancia

### Y como siempre...

- Servicios & Beneficios Alumni

