



ORIGINAL

Estudio piloto sobre el efecto de la vitamina D en la patogenia de los miomas uterinos: influencia de la terapia con vitamina D en el volumen uterino y en la angiogénesis de los miomas determinados por ECO3DPW y niveles séricos de VEGF



P. Díaz Ortega*, M. García Manero y M. Osinaga Alcaraz

Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital García Orcoyen, Estella, España

Recibido el 3 de octubre de 2019; aceptado el 8 de enero de 2020

Disponible en Internet el 2 de marzo de 2020

PALABRAS CLAVE

Mioma uterino;
Vitamina D;
Angiogénesis;
VEGF

Resumen Los miomas uterinos son una de las patologías ginecológicas más comunes encontrándose hasta en el 70% de las mujeres de raza caucásica y en el 80% de las mujeres de raza negra^{1,2}.

En los últimos años, la angiogénesis y la vascularización se han convertido en pieza fundamental de estudio del crecimiento de los tumores. En el caso de los miomas uterinos se ha descubierto que existen diferencias en la vascularización cuando se compara con el tejido uterino adyacente.

La patogenia de los miomas es multifactorial existiendo varias vías que intervienen en el crecimiento de los mismos como la vía estrogénica, la progestagénica y la de los factores de crecimiento³.

Otra de las vías que influyen en su desarrollo es la vía de la vitamina D. Niveles inadecuados de dicha vitamina pueden favorecer el crecimiento de los mismos.

En nuestro trabajo hemos analizado cómo influye la terapia con vitamina D en el volumen de los miomas y en su vascularización mediante el análisis sérico de VEGF y ecografía 3 DPW.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Uterine fibroid;
Vitamin D;
Angiogenesis;
VEGF

Pilot study on the effect of vitamin D on the pathogenesis of uterine fibroids: Influence of vitamin D therapy on volume and vascularisation of uterine fibroids, determined by 3 DPW ultrasound and VEGF serum levels

Abstract Uterine fibroids are one of the most common gynaecological disorders, being found in 70% of Caucasian women and 80% of Afro-Caribbean women^{1,2}.

* Autora para correspondencia.

Correo electrónico: patry.do80@gmail.com (P. Díaz Ortega).

In recent years, angiogenesis and vascularisation have become a key part of study of tumour growth. Differences in vascularisation have been discovered in uterine fibroids when compared to adjacent uterine tissue.

The pathogenesis of uterine fibroids is multifactorial. Several pathways are involved in their growth have been described, such as the oestrogen pathway, the gestagen pathway, and the pathway of the growth factors. Another of the pathways that influences their development is the vitamin D pathway, as inadequate levels of this vitamin may favour the growth of uterine fibroids³.

In this work, an analysis is made on how vitamin D therapy influences the volume and vascularity of uterine fibroids, using serum VEGF levels and 3 DPW Ultrasound.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Objetivo

Demostrar el efecto de la vitamina D sobre la angiogénesis, en pacientes con miomas uterinos. Para evaluar la angiogénesis, se han tenido en cuenta la vascularización del mioma, valorada mediante ecografía 3 DPW, y los niveles en sangre del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

Introducción

Los miomas uterinos son el tipo más común de tumor benigno en las mujeres en edad reproductiva y se originan en las células musculares de la pared del útero.

Aunque los miomas pueden ser únicos, lo más frecuente es que sean múltiples y de diferentes tamaños, que pueden variar desde pequeños milímetros hasta varios centímetros, llegando incluso a englobar todo el espesor del útero, alcanzando tamaños importantes.

Se desconoce la causa de los miomas, sin embargo, se sabe que su crecimiento está influenciado por las hormonas sexuales femeninas (estrógenos y gestágenos) ya que normalmente su tamaño crece durante el embarazo y en la etapa reproductiva y disminuye durante la menopausia^{1,2,3}.

Los miomas uterinos muestran una prevalencia clínicamente significativa de un 20% con picos del 40% en mujeres entre 35 y 55 años. La mayoría son asintomáticos y no requieren ningún tipo de tratamiento; pero en aquellas mujeres en las que se desarrollan síntomas, el impacto negativo en su bienestar físico y emocional hace necesario un tratamiento efectivo. Normalmente, el 62% de las mujeres que presentan síntomas, tienen más de uno¹, dependientes del tamaño y la localización de los miomas. Los síntomas más frecuentes son los siguientes^{2,4}:

- Alteraciones del sangrado: sangrados irregulares o prolongados, sangrados entre menstruaciones o sangrados excesivos con el resultado de anemia.
- Molestias pélvicas por compresión de algunos órganos adyacentes (vejiga, intestino, uréteres).
- Dolor pélvico provocado por distorsiones anatómicas del útero.
- Dificultades en la concepción o infertilidad.

- Dificultades en la implantación del embrión. Durante la gestación, la presencia de miomas puede aumentar el riesgo de aborto espontáneo, nacimientos prematuros, así como hacer más difícil el parto.

Según la clasificación de la FIGO, los miomas pueden clasificarse en:

- Tipo 0: Submucoso, pediculado intracavitario
- Tipo 1: Submucoso, < 50% intramural
- Tipo 2: Submucoso, > 50% intramural
- Tipo 3: 100% intramural, contacta con el endometrio
- Tipo 4: Intramural
- Tipo 5: Subseroso, > 50% intramural
- Tipo 6: Subseroso, < 50% intramural
- Tipo 7: Subseroso, pediculado
- Tipo 8: otros (cervical...)
- Miomas híbridos

Hasta hace poco, el *gold estándar* de tratamiento para suprimir los síntomas de los miomas era la extirpación quirúrgica del mioma (miomectomía) o del útero (histerectomía); sin embargo, no todas las pacientes son subsidiarias de este tipo de tratamientos, agresivos y no exentos de complicaciones. Es por ello que en la actualidad se opta por tratamientos más conservadores, minimizando, e incluso evitando, así los riesgos y complicaciones inherentes a una intervención quirúrgica.

A pesar de que los miomas uterinos son tumores benignos, la angiogénesis es crítica para su aparición y su desarrollo. El VEGF desempeña un papel muy importante en el crecimiento de los miomas uterinos^{5,6} y podría utilizarse como un marcador y posible factor pronóstico⁷. En estudios previos se ha encontrado que el factor VEGF-A estaba significativamente sobreexpresado en el tejido del mioma uterino, en comparación con el miometrio adyacente⁸ (figs. 1 y 2).

Los miomas uterinos responden al estímulo del estradiol y la progesterona pero no son los únicos factores que influyen en su patogenia; existen otras vías implicadas en su desarrollo; véase, la vía de los factores de crecimiento y la vía de la vitamina D.

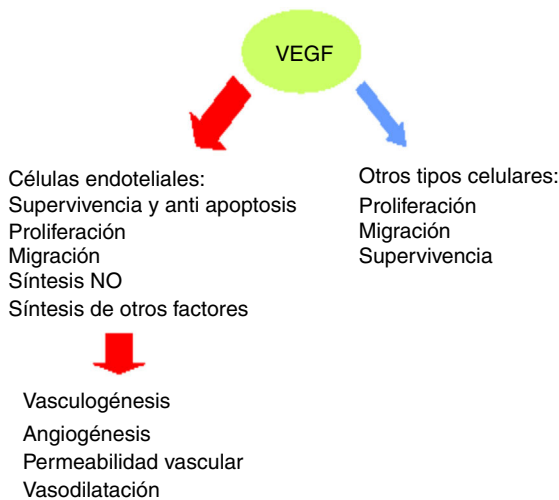


Figura 1 Procesos celulares en los que está implicado VEGF.

La vitamina D es una hormona esteroidea, clave en el metabolismo del calcio en los huesos, y que, a su vez, tiene una gran cantidad de órganos diana, como el útero dentro del sistema reproductor femenino. Se sintetiza como una prohormona en la piel, en respuesta a la acción de la radiación UVB; y es activada por medio de 2 hidroxilaciones en el riñón y en el hígado, transformándose en 1-25 dihidroxicalciferol. Es esta forma activa de la vitamina D la que, uniéndose a su receptor VDR en los diferentes tejidos diana, participa en la modulación de varios procesos a nivel extraóseo, como la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis, la angiogénesis, la progresión tumoral, etc.

El propósito de nuestro estudio piloto, prospectivo y observacional, es determinar si la corrección de los niveles de vitamina D en pacientes con miomas e hipovitaminosis D previa, seguidas a lo largo de 6 meses, permite frenar el crecimiento de los miomas y disminuir la vascularización de los mismos; medida esta última por ecografía 3 DPW y nivel sérico de VEGF.

Material y métodos

Diseño del estudio

Tipo de estudio

Se ha diseñado un estudio observacional, es decir, empleando el medicamento en las condiciones de uso habitual, de acuerdo con la indicación establecida en su ficha técnica aprobada.

La asignación de un paciente a una estrategia terapéutica concreta no estuvo decidida de antemano por este protocolo, sino que estuvo determinada por la práctica habitual de la medicina; asimismo, la decisión de prescribir vitamina D estuvo claramente dissociada de la decisión de incluir a la paciente en el estudio. No se sometió a las pacientes a ninguna intervención, ya sea diagnóstica o de seguimiento, que no fuese la habitual de la práctica clínica, y se utilizaron métodos epidemiológicos para el análisis de los datos recogidos.

Las pacientes debían cumplir todos los criterios de inclusión y no cumplir ninguno de los criterios de exclusión.

El investigador obtuvo el consentimiento informado de las pacientes previo a la inclusión de las mismas en el estudio

Criterios de inclusión

- Mujeres 18-50 años (ambos incluidos).
- Mujeres con miomas uterinos sintomáticos (hipermenorrea, dolor y presión).
- Pacientes con hipovitaminosis D confirmada; entendiéndose por hipovitaminosis niveles inferiores a 20 ng/ml
- Pacientes que acepten participar en el estudio y hayan firmado el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Mujeres < 18 años.
- Mujeres > 50 años.
- Pacientes elegibles para el tratamiento con cirugía.

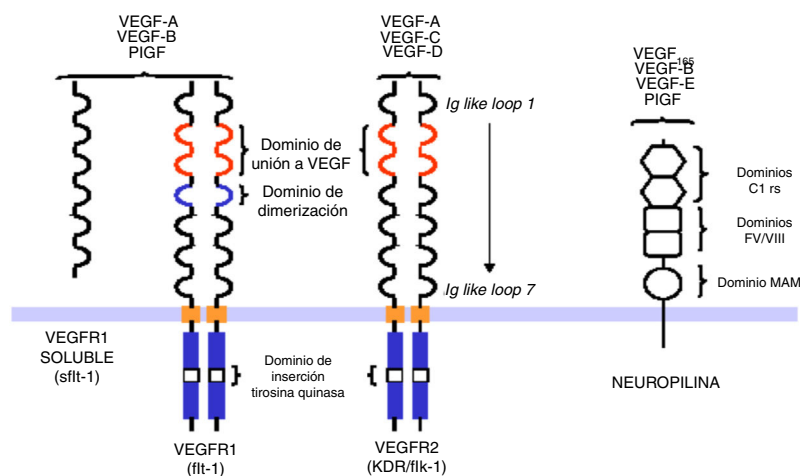


Figura 2 Los receptores VEGF tienen una porción extracelular con 7 dominios similares a inmunoglobulinas, una región transmembrana y una región intracelular con un dominio tirosina-cinasa escindido. La unión ligando-receptor produce la dimerización y activación mediante transfosforilación.

- Pacientes para las que el tratamiento con vitamina D esté contraindicado.
- Pacientes que no puedan cumplir con las visitas del estudio.

Criterios para discontinuación o retirada prematura

Las pacientes se consideraron incluidas en el estudio una vez firmado el consentimiento informado.

La discontinuación se definió como el hecho de que una paciente incluida en el estudio, por cualquier motivo, abandonara el mismo en cualquier momento, antes de que se cumplieran las condiciones señaladas en el protocolo, sin que por ello debiera ofrecer explicación o justificación alguna. Las pacientes en estudio también podían abandonarlo en cualquier momento a criterio del investigador o del promotor por seguridad u otras razones.

Tratamientos y productos en estudio

El medicamento utilizado en este estudio es *vitamina D vial VIDESIL* según las condiciones de su ficha técnica autorizada. El tratamiento realizado se basó en la corrección de la hipovitaminosis D atendiendo a las directrices de la Sociedad de Endocrinología. Los controles oportunos y los esquemas de tratamiento y duración son avalados por dichas entidades. En el artículo de Brakta et al. de *Fertility and Sterility*⁹ se hace mención a los niveles no tóxicos de vitamina D siendo estos de 30 ng/dl los cuales son obtenidos con una ingesta de 2.000 UI/vit D, al día. La administración crónica de vitamina D puede ser tóxica, provocando hipercalcemia e hipoparatiroidismo, por lo que no está indicada en pacientes con niveles óptimos de vitamina D. La Sociedad Norteamericana de Endocrinología recomienda una dosis de 50.000 UI de vitamina D semanales para adultos con déficit de esta vitamina, durante 6-8 semanas para alcanzar las cifras objetivo (o sus equivalentes en dosis diarias o mensuales), y posteriormente una pauta de mantenimiento variable entre 800 y 2.000 UI/día; nunca superando las 500.000 UI/año, por el riesgo de toxicidad.

Consideraciones sobre información a los sujetos y consentimiento informado

Todas las pacientes recibieron información detallada por parte del investigador sobre la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos, duración estimada, los potenciales riesgos y beneficios relacionados con la participación en el estudio, así como cualquier inconveniente que este le pudiera suponer, y del carácter voluntario de su participación y la opción de abandono del en cualquier momento; sin que esto afectara a su tratamiento médico posterior, ni a la relación con el médico que la trataba.

Las participantes en el estudio dispusieron de tiempo suficiente para leer y entender las explicaciones del médico que constan en la hoja de información al paciente antes de firmar y fechar el documento de consentimiento informado, y recibieron una copia de este documento. Ninguna paciente pudo ser incluida en el estudio sin otorgar antes su consentimiento informado por escrito.

Tabla 1 Programa de evaluación del estudio

Evaluación	Visita basal	Visita 6 meses
Consentimiento informado	✓	
Criterios de selección	✓	
Datos sociodemográficos	✓	
Historia médica previa	✓	
Nivel de vitamina D	✓	
Datos clínicos	✓	✓
Niveles séricos VEGF	✓	✓
Ecografía power doppler 3D	✓	✓
Medicación concomitante	✓	✓

Comité Ético de Investigación

El protocolo, la hoja de información para la paciente, el formulario de consentimiento informado propuesto y cualquier otra información para las pacientes, fueron revisados por un CEI/CEIm. Cualquier modificación del protocolo, que no fuesen cambios administrativos, necesitaría una enmienda al protocolo que debería ser aprobada por este Comité.

Consideraciones prácticas

Programación de visitas

La participación en este estudio incluyó 2 visitas que coincidieron con las visitas planificadas por el médico especialista en su práctica clínica habitual. En estas visitas se recogen todos los datos de la historia clínica de la paciente. Todo el protocolo de investigación se realizó en la Unidad Ginecológica del Hospital García Orcoyen (tabla 1).

Análisis VEGF

La determinación del VEGF se realizó utilizando el método ELISA tipo sándwich con un anticuerpo monoclonal (Human VEGF Immunoassay, Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, EE. UU.), según el siguiente protocolo: Sobre una placa de 96 pocillos recubiertos de anticuerpo anti-VEGF, se añade la muestra una vez centrifugada, y se incuba con la intención de que el VEGF de la muestra se una al anticuerpo. Posteriormente, se lava con un buffer para eliminar la muestra que no se ha unido y se le añade un segundo anticuerpo anti-VEGF. Este lleva unido una enzima peroxidasa que se incuba de nuevo con la muestra para que se una al VEGF que previamente se ha unido al anticuerpo. Una vez realizado este proceso, se vuelve a lavar la muestra para eliminar el exceso de ese segundo anticuerpo y se le añade sustrato; este sustrato lleva una mezcla de H₂O₂ y un cromógeno. La peroxidasa utiliza el H₂O₂ para oxidar el cromógeno el cual adquiere una coloración que se detecta por espectrofotometría.

Cuanto mayor es la concentración de VEGF en la muestra, más se unirá a la placa, mayor será la cantidad de peroxidasa unida con una mayor oxidación de sustrato, y se detectará una mayor absorbancia.

Procedimiento realizado

1. Preparación de los reactivos y los niveles estándares.
2. Añadir 100 ml de la muestra diluida.

3. Añadir el estándar.
4. Incubar.
5. Aspirar y lavar.

Exploración ecográfica

La ecografía es el método más útil para el diagnóstico del mioma, ya que permite precisar su tamaño, localización y muchas de sus complicaciones.

La exploración ecográfica se realizó por vía transvaginal con la paciente en posición de litotomía. Con una elevación de la cabeza de 15° sobre la horizontal y con la vejiga vacía. Todas las exploraciones se realizaron con el ecógrafo Voluson S-8 dotado de una sonda vaginal equipada para obtener información en modo B, mapa color, y doppler pulsado.

La ecografía transvaginal (a través de la vagina) es la que mayor información ofrece; pero en los casos en que haya grandes nódulos, la ecografía abdominal ayuda a completar la exploración y, en ocasiones, es imprescindible.

Desde el punto de vista ecográfico el mioma presenta una estructura redondeada, bien limitada con respecto al miometrio adyacente, que puede presentar todas las características de ecogenicidad. Habitualmente son homogéneos, aunque en ocasiones pueden apreciarse calcificaciones, hemorragias o zonas quísticas.

El mioma se localiza fácilmente y, en los casos de miomatosis, el útero puede estar tan deformado que resulta difícil delimitar su contorno y cavidad; además, la ecografía permite medir el tamaño del mioma con mucha precisión, reconocer el número de miomas y hacer una valoración global.

Para obtener el volumen del mioma, utilizamos el modo de representación 3D multiplanar que permite adquirir paquetes de datos volumétricos en 3D de una región anatómica.

Los miomas son neoplasias habitualmente muy poco vascularizadas, que en su desarrollo, desplazan los vasos normales hacia la periferia. La gran mayoría de los miomas poseen una vascularización situada en la periferia tumoral y los flujos son de elevada resistencia. Las áreas de necrosis, hemorragia y degeneración grasa son siempre avasculares.

La combinación de power doppler con la representación 3D permite evaluar la vascularización en los 3 planos¹⁰ (figs. 3 y 4).

Se calcularon 3 índices doppler:

- *Índice de vascularización: VIa
- *Índice de flujo
- *Índice de vascularización-flujo

Resultados

Quince pacientes fueron incluidas en el estudio, y 4 de ellas lo abandonaron. Once pacientes completaron el tiempo de seguimiento (n = 11). La media de edad estudiada fue de 42 años, con un rango entre 24 y 52 años (tabla 2). Todas las pacientes presentaban miomas uterinos sintomáticos previamente diagnosticados ecográficamente e hipovitaminosis D comprobada mediante medición de los niveles séricos de

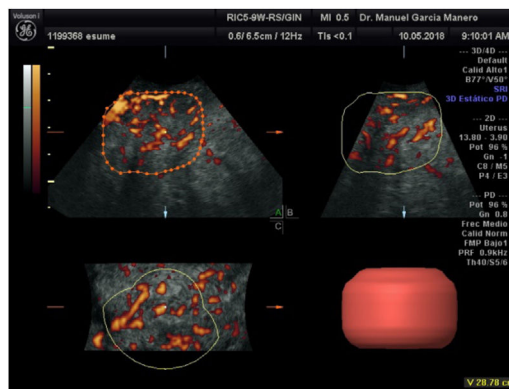


Figura 3 Valoración del volumen del mioma y su vascularización mediante ecografía 3D multiplanar.

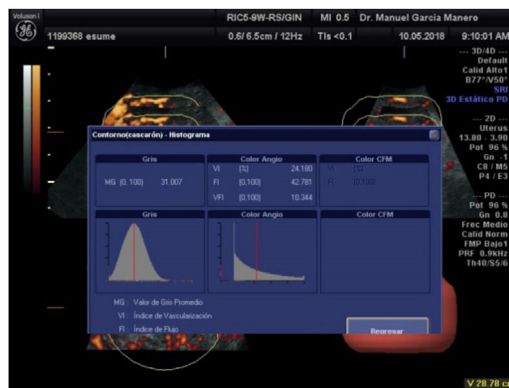


Figura 4 La combinación de ecografía 3D y Power Doppler permite evaluar la vascularización en los 3 planos; y el cálculo del índice de vascularización, índice de flujo, índice de vascularización-flujo.

ésta (niveles inferiores a 20 ng/ml). Ninguna de las pacientes seguía tratamiento hormonal o de otro tipo al inicio del estudio; tampoco recibía suplementación con vitamina D o calcio por otras causas.

Se inició tratamiento con 50.000 UI semanales de vitamina D siguiendo las recomendaciones de la European Society of Endocrinology y la American Association of Clinical Endocrinologists; y se tomó como *endpoint* los 6 meses de tratamiento según dichas recomendaciones, y con el fin de comparar el volumen de los miomas y los niveles de VEGF al inicio del tratamiento y al final del estudio.

El volumen medio de los miomas mediante ecografía 3D multiplanar fue de 45,35 mm³ al inicio del tratamiento con un rango entre 4,44 y 77,5 mm³; y tras 6 meses de tratamiento con vitamina D, la media fue de 42 mm³ con un rango entre 15 y 98 mm³ (tabla 3), objetivándose una disminución de volumen estadísticamente significativa.

Se analizaron los niveles de VEGF antes y después del tratamiento con vitamina D siendo la media de VEGF al inicio de 134,29 pg/ml y de 102,5 pg/ml a los 6 meses, existiendo diferencias estadísticamente significativas (tablas 4 y 5).

Los niveles de vitamina D se corrigieron en su totalidad; aunque se vio, como es lógico, una tendencia a la elevación de dichos parámetros (tabla 6).

Tabla 2 Estadísticos descriptivos: rango de edad y edad media de las pacientes incluidas en el estudio

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
edad	15	24	52	42,1333	7,36659
N válido (según lista)	15				

Tabla 3 Estadísticos descriptivos: El volumen medio de los miomas fue de 45,35 mm³ al inicio del tratamiento con un rango entre 4,44 y 77,50 mm³ y tras 6 meses de tratamiento con vitamina D la media fue de 42 mm³ con un rango entre 15 y 98 mm³

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Vol1	11	4,44	77,50	45,35	
Vol2	11	15	98	42,00	22,22268
N válido (por lista)	11				

Tabla 4 Estadísticos descriptivos: media de VEGF al inicio de 134, 29 y de 102,5 tras el tratamiento existiendo diferencias estadísticamente significativas

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
VEGF	11	25	255	134,2909	91,40064
VEGF6	11	16	200	102,5909	64,08542
N válido (por lista)	11				

Tabla 5 Correlaciones de muestras emparejadas: VEGF al inicio y tras el tratamiento

		N	Correlación	Sig.
Par 1	VEGF & VEGF6	11	0,586	0,058

Tabla 6 Estadísticas de muestras emparejadas: niveles de vitamina D al inicio y a los 6 meses, tras el tratamiento

		Media	N	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Par 1	VITD1	13,091	11	3,4483	1,0397
	VITD6	21,4545	11	8,86976	2,67433

Discusión

Los miomas uterinos son los tumores benignos más frecuentes del tracto genital inferior, con una elevada prevalencia entre las mujeres en edad fértil, y cuyos síntomas, tales como el dolor pélvico o el sangrado genital abundante, empeoran notablemente la calidad de vida de estas pacientes. Es por ello que el encontrar un tratamiento efectivo, de fácil cumplimiento y libre de efectos adversos sea imperativo en estas pacientes. Los tratamientos médicos en la actualidad bloquean una de las vías de la patogenia como es la progesterona, mediante la acción ya demostrada del acetato de ulipristal. Sin embargo, es bien conocido el papel de otras vías en el crecimiento de los miomas, y aquí es donde la vitamina D tiene su papel. Esta vitamina participa activamente en los procesos de crecimiento y diferenciación celular, inhibe la angiogénesis y estimula la apoptosis. Diversos estudios han encontrado

niveles bajos de vitamina D como factor importante en la etiología de los miomas^{11,12}, hallazgos que se confirman con la presencia de hipovitaminosis D en poblaciones de alta prevalencia de miomas uterinos, como la afroamericana. Por tanto, se postula la posibilidad de que la corrección de estos niveles de vitamina D en mujeres con miomas uterinos e hipovitaminosis podría evitar el crecimiento de los miomas y reducir su sintomatología y, por tanto, los suplementos con vitamina D se convertirían en una nueva opción terapéutica barata y segura, para estas pacientes.

En 2016, Ciavattini et al.¹², demostraron en 53 pacientes que la corrección de los niveles de vitamina D provocaba una disminución de la progresión de los miomas.

En la revisión de Ciebiera et al. de 2018¹¹, ya se hace mención a la utilización de suplementos de vitamina D como terapia barata y eficaz en la prevención y tratamiento en la etapas tempranas de los miomas uterinos.

En nuestro trabajo, acorde con Ciavattini, queremos demostrar la reducción del tamaño de los miomas al corregir la hipovitaminosis pero, además, vamos más allá e insistimos en la acción de la vitamina D en la angiogénesis de los miomas. Para ello, medimos el volumen del mioma mediante ecografía 3D power doppler, y los niveles séricos de VEGF, molécula directamente relacionada con el proceso de angiogénesis. Objetivamos que la corrección de la hipovitaminosis D, con las dosis de suplementación recomendadas por las sociedades científicas, provoca una disminución de los niveles de VEGF estadísticamente significativa, así como una reducción del volumen de los miomas.

En este estudio piloto se demuestra la importancia de los niveles de vitamina D en la angiogénesis de los miomas. Sin embargo, creemos que es clave que los niveles de vitamina D sean los correctos para que el efecto de este tratamiento sea óptimo; dado que tanto la vitamina D como el acetato de ulipristal parecen influir en la angiogénesis mediada por VEGF como ya demostró nuestro grupo en investigaciones previas^{5,6,13}.

La monitorización de los niveles de VEGF pudiera servir tanto para valorar la respuesta al tratamiento como para optimizar la utilización de los tratamientos médicos y valorar otra opción diferente de tratamiento cuando los parámetros se eleven.

Los índices obtenidos mediante ecografía doppler 3D expresan adecuadamente la cantidad de vascularización presente en los miomas, siendo un método no invasivo válido para cuantificar la vascularización sin necesidad de técnicas invasivas. En este estudio se analiza cómo influyen los niveles de vitamina D en dichos parámetros. Mediante el estudio del doppler 3D por ecografía observamos que la angiogénesis determinada por esta no se ve afectada de manera significativa en los primeros 6 meses de tratamiento; lo que nos hace pensar que el efecto de la vitamina D en los parámetros fluoximétricos no influye de manera inmediata.

En este estudio piloto se demuestra que si no se produce la corrección de los niveles séricos de vitamina D, o dichos niveles vuelven a caer después de los tratamientos, los niveles de VEGF se elevan inmediatamente; lo que demuestra en vivo el efecto de la vitamina D sobre el nivel de VEGF, y por tanto, sobre la angiogénesis.

Al tratarse de un estudio piloto, no carece de limitaciones; así, dado el pequeño tamaño muestral, no disponemos de datos que relacionen el tipo de mioma con el grado de respuesta. Eso no impide que se desarrollen nuevos estudios en esa dirección

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Olufowobi O, Sharif K, Papaionnou S, Neelakantan D, Mohammed H, Afnan M. Are the anticipated benefits of myomectomy achieved in women of reproductive age? A 5-year review of the results at a UK tertiary hospital. *J Obstet Gynaecol.* 2004;24:434-40.
2. Gupta S, Jose J, Mayonda I. Clinical presentation of fibroids. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2008;22:615-26.
3. Kim M, Park HJ, Seol JW, Jang JY, Cho YS, Kim KR, et al. VEGF-A regulated by progesterone governs uterine angiogenesis and vascular remodelling during pregnancy. *EMBO Mol Med.* 2013;5:1415-30.
4. Stovall DW. Clinical symptomatology of uterine leiomyomas. *Clin Obstet Gynecol.* 2001;44:364-71.
5. Alcázar JLMD, García Manero MMD. Ovarian endometrioma vascularization in women with pelvic pain. *Fertil Steril.* 2007;87:1271-6.
6. García Manero M, Alcazar L, Toledo G. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and ovarian endometriosis: Correlation between VEGF serum levels VEGF cellular expression, and pelvic pain. *Fertil Steril.* 2007;88:513-5.
7. Tal R, Segars JH. The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: Potential implications for future therapy. *Hum Reprod Update.* 2014;20:194-216.
8. Borahay MA, Al-Hendy A, Kilic GS, Boehning D. Signaling pathways in leiomyoma: Understanding pathobiology and implications for therapy. *Mol Med.* 2015;21:242-56.
9. Brakta S, Diamond JS, Al-Hendy A, Diamond MP, Halder SK. Role of vitamin D in uterine fibroid biology. *Fertil Steril.* 2015;104:0015-282.
10. Nieuwenhuis LL, Keizer AL, Stoeltinga B, Twisk J, Hehenkamp W, Brölmann H, et al. Fibroid vascularisation assessed with three-dimensional power doppler ultrasound is a predictor for uterine fibroid growth: A prospective study. *BJOG.* 2018;125:577-658. DOI: 10.1111/1471-0528.14608.
11. Ciebiera M, Włodarczyk M, Ciebiera M, Zareba K, Lukaszuk K, Jakiel G. Vitamin D and uterine fibroids; review of the literature and novel concepts. *Int J Mol Sci.* 2018;19:2051.
12. Ciavattini A, Delli Carpini G, Serri M, Vignini A, Sabbatinelli J, Tozzi A, et al. Hypovitaminosis D and "small burden" uterine fibroids: Opportunity for a vitamin D supplementation. *Medicine (Baltimore).* 2016;95:e5698.
13. Ali M, Shahin SM, Sabri NA, Al-Hendy A, Yang Q. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 enhances the antifibroid effects of ulipristal acetate in human uterine fibroids. *Reprod Sci.* 2019;26:812-28.