

Морфологическое обоснование дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток с гиперплазией эндометрия

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск

Zatvornickaja A.V., Voropaeva E.E., Kazachkova E.A., Kazachkov E.L.

Morphological justification for a differentiated approach to the tactics of patients with endometrial hyperplasia

Резюме

Целью исследования явилось обоснование дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток с гиперплазией эндометрия. На основании ряда морфологических и иммуногистохимических особенностей слизистой оболочки матки при гиперплазии эндометрия, сочетающейся с хроническим эндометритом, предложен персонализированный подход к тактике ведения пациенток с данной патологией.

Ключевые слова: гиперплазия эндометрия, хронический эндометрит

Summary

The aim of the study was to justify a differentiated approach to the tactics of patients with endometrial hyperplasia. Based on a number of morphological and immunohistochemical features of the uterine mucosa in endometrial hyperplasia, combined with chronic endometrial, a personalized approach to the tactics of dealing with patients with this pathology is proposed.

Keywords: endometrial hyperplasia, chronic endometritis

Введение

В большинстве стран мира наблюдается рост заболеваемости раком эндометрия (РЭ), и Россия не является исключением. В структуре женских онкологических заболеваний РЭ занимает сегодня 2 место [1]. Нередко развитию РЭ предшествует гиперплазия эндометрия (ГЭ) [2]. Помимо тенденции к малигнизации, неослабевающий интерес к ГЭ определяется тенденцией гиперпластических процессов эндометрия к длительному, рецидивирующему течению, отсутствием специфических, патогномичных симптомов, сложностью дифференциальной диагностики и выбора методов лечения [3]. Кроме того, сегодня интересны результаты работ, в которых подчеркивается значимость хронического эндометрита (ХЭ) в развитии ГЭ [4]. Существующая на сегодня тактика ведения пациенток с данной патологией не решает данные проблемы.

Цель исследования — обосновать дифференцированный подход к тактике ведения пациенток с гиперплазией эндометрия.

Материал и методы

Исследование проводили на кафедрах Акушерства и гинекологии, Патологической анатомии и судебной ме-

дицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск. Обследовано 100 пациенток. I группу составили 30 женщин, у которых при гистологическом изучении биоптатов эндометрия выявлена ГЭ без атипии, сочетающаяся с ХЭ; II группу - 30 пациентка с ГЭ без атипии; III группу – 20 женщин с ХЭ; IV группу – 20 соматически и гинекологически здоровых женщин. Критерии включения: репродуктивный возраст, нормальный овуляторный менструальный цикл (для I, III, IV групп), 16-22 дни менструального цикла, информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: овуляторная дисфункция (для I, III, IV групп), аденомиоз, миома матки, требующая хирургического лечения, атипичная ГЭ, злокачественные опухоли, аутоиммунные заболевания, сахарный диабет, вегетарианство (веганизм); прием витамина D менее чем за 6 месяцев до изучения статуса витамина D.

Исследование имеет дизайн одномоментного нерандомизированного ретроспективного с использованием микроскопических, культуральных, молекулярно-биологических, иммуноферментных, гистологических, иммуногистохимических, статистических методов.

Для определения микробного пейзажа влагалища и цервикального канала проводили микроскопическое, культуральное, молекулярно-биологическое исследование отделяемого из генитального тракта. С целью идентификации ВПЧ в слизистой оболочке матки использовали ПЦР-тест, направленный на качественное обнаружение ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 66, 68) в биоптатах эндометрия.

Для оценки статуса витамина D определяли уровень 25(OH)D в сыворотке крови с помощью хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (Architect i2000, США). Результаты интерпретировали в соответствии с клиническими рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов «Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение и профилактика». Дефицит витамина D определялся как концентрация 25(OH)D < 20 нг/мл, недостаточность - концентрация 25(OH)D от 20 до 30 нг/мл, адекватные уровни - более 30 нг/мл [5].

Проводили комплексное морфологическое исследование образцов эндометрия, интерпретируя морфологические картины по общепринятым критериям [6,7].

Для определения уровня маркера пролиферации Ki-67 использовали МКАТ к Ki-67 («Cell Marque», клон SP6, 1:100), для анализа уровня экспрессии p16INK4a – специфическую сыворотку к белку p16INK4a из набора «CINtec histology kit» (производство «mtm laboratories AG», Germany), для верификации VDR - кроличьи поликлональные антитела («GTX104615 Vitamin D Receptor [C1C2], Internal), для оценки уровня экспрессии HIF - моноклональные антитела к HIF-1 alpha (производитель Eritomics, клон EP118), для регистрации сосудистого эндотелия - моноклональные мышные антитела к CD-34 Class II («DAKO», Denmark, клон QVEnd10).

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов с использованием критерия Манна-Уитни; для сравнения в более чем 2-х независимых группах применяли критерий Краскела-Уоллиса. При оценке качественных показателей вычисляли фактические и процентные частоты наблюдений (n, %). Для выявления взаимосвязи признаков вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена и Пирсона. Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0,05. Расчеты выполнены с использованием статистического пакета Statistica 10 фирмы StatSoft.

Результаты и обсуждение

Сегодня ГЭ рассматривается как полиэтиологический патологический процесс, прогрессированию которого могут способствовать множество разнообразных причин. Принято считать, что одним из необходимых условий развития гиперпластических процессов эндометрия является абсолютный или относительный гиперэстрогенизм [8-12]. Определенный интерес представляют результаты работ, в которых подчеркивается значимость ХЭ в развитии ГЭ [13,14]. По мнению ряда исследователей, при ХЭ изменяется рецепция в слизистой оболочке матки, что ведет к нарушению связывания гормонов с рецепторами в эндометрии [15,16].

Следует отметить, что одной из особенностей течения ХЭ является отсутствие регистрации бактериальных возбудителей патологического процесса в слизистой оболочке матки в большинстве случаев. В связи с этим сегодня интересны исследования, посвященные изучению роли вирусной этиологии заболевания [17]. В последние годы внимание ученых обращено на изучение влияния ВПЧ на эндометрий и степень его участия в развитии ГЭ [9,12]. По результатам исследований частота обнаружения бактериальных возбудителей при ХЭ снизилась почти в 2 раза, а выявление вирусных агентов выросло на треть [18]. В процессе онкогенеза, индуцированного ВПЧ, нарушается экспрессия многих генов клетки-хозяина. Главные этапы этого процесса единообразны. Онкобелок E6 вируса связывается с белком-супрессором опухолевого роста p53 клетки-хозяина, а онкобелок E7 вируса - с клеточным белком-супрессором опухолевого роста Rb («белком ретинобластомы»), что приводит к деградации p53 и Rb. Это сопровождается нарушением экспрессии белков p16INK4a и Ki-67. Белок p16INK4a контролирует переход клетки из фазы G1 в фазу S в нормальных клетках, запускает остановку клеточного цикла в процессе дифференцировки клеток. Утрата Rb клеткой, в которой присутствует вирусный онкобелок E7, ведет к активации транскрипции INK4a, в следствие чего резко увеличивается содержание белка p16INK4a, кодируемого INK4a [19-21]. Таким образом, белок p16INK4a относится к ингибиторам циклинзависимых киназ, которые тормозят пролиферацию. Ki-67 является белком клеточной пролиферации и экспрессируется на протяжении всех активных фаз клеточного цикла, отсутствуя в клетках, находящихся в фазе G0. Одновременное увеличение уровня экспрессии маркера пролиферации Ki-67 и маркера антипролиферативной активности ингибитора циклин-D-зависимых киназ p16INK4a является предиктором онкологических заболеваний [19,21]. Известно, что в нормальных эпителиальных клетках, в частности, экзоцервикса, белок p16INK4a может экспрессироваться в незначительном количестве, но при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией (ПВИ), наблюдается значительное повышение его экспрессии [22,23]. В то же время исследования, посвященные анализу экспрессии вышеперечисленных маркеров в слизистой оболочке матки при гиперпластических процессах эндометрия малочисленны и противоречивы [24-26]. Так, Т.А. Аникина с соавт. [24] показали отсутствие экспрессии p16INK4a в нормальной эндометрии и при миоме матки, и повышенные экспрессии указанного маркера при ГЭ и аденомиозе. М.Р. Думановская с соавт. [25] не получили статистически значимых отличий экспрессии p16INK4a и Ki-67 в слизистой оболочке матки при ГЭ по сравнению с нормальным эндометрием. Р.С. Власов с соавт. [26] описали увеличение частоты аномального метилирования генов-супрессоров опухолевого роста, включая p16INK4a, у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией и карциномой эндометрия.

По нашим данным, хронический цервицит, ассоциированный с ПВИ, был обнаружен у 20% женщин с ГЭ,

сочетающейся с ХЭ: зарегистрирован ВПЧ 16, 31 и 58 типов; у пациенток групп сравнения ВПЧ обнаружен не был ($p=0,03$). Следует отметить, что и в биоптатах эндометрия у 33,3% пациенток с ГЭ при сочетании с ХЭ выделялся ВПЧ высокого онкогенного риска, в то время как у женщин остальных групп исследования ВПЧ в слизистой оболочке матки не зарегистрирован ($p = 0,002$). Клетки эндометрия при ГЭ, особенно в случае сочетания с ХЭ, характеризуются как повышенной пролиферативной, так и антипролиферативной активностью. Наблюдаемая коэкспрессия Ki-67 и p16INK4a при ГЭ, возможно, является сигналом повреждения клеточного цикла. Указание на наличие максимальных уровней экспрессии Ki-67 и p16INK4a в образцах эндометрия у пациенток с рецидивированием гиперпластического процесса стало основой для разработки программы ЭВМ для оценки риска рецидива ГЭ. Таким образом, имеющиеся данные позволяют предположить, что ХЭ и ВПЧ являются потенцирующими друг друга предикторами ГЭ. Вышеизложенное указывает на необходимость выполнения дополнительного обследования пациенток на наличие ВПЧ в слизистой оболочке матки и проведения противовирусной терапии. Кроме того, необходима оценка экспрессии в отношении Ki-67 и p16INK4a в образцах эндометрия при данной патологии. Определение повышенного риска рецидивирования ГЭ требует дополнительного обследования и расширенной терапии [27].

Наличие инфекционно-воспалительного процесса в эндометрии является причиной активации антиоксидантной системы. Продолжительная суперпродукция активных форм кислорода носит для эндометрия деструктивный характер, приводя к развитию гиперпластических и неопластических процессов [12]. Хроническое воспаление и, как его следствие, внутриклеточная гипоксия существенно ухудшают прогноз заболевания посредством стабилизации транскрипционного фактора гипоксии (HIF-1 alpha) [28]. Кроме того, образование активных форм кислорода в условиях воспаления, также ведет к активации HIF-1 alpha. Стабилизация HIF-1 alpha способствует адаптации клеток в условиях гипоксии посредством усиления пролиферации клеток, неоваскуляризации, антиапоптоза [29]. Однако процессы гипоксического повреждения и неоваскуляризации эндометрия при его гиперплазии остаются малоизученными. По нашим данным, в образцах эндометрия при его гиперплазии в случае сочетания с ХЭ, регистрируется статистически значимое увеличение экспрессии HIF-1 alpha, что свидетельствует о более выраженном гипоксическом повреждении эндометрия в сравнении с изолированными ГЭ и ХЭ. Статистически значимое повышение экспрессии CD-34 при сочетанной патологии отражает закономерную усиленную неоваскуляризацию эндометрия. Полученные данные могут стать платформой для разработки персонализированного подхода к терапии ГЭ, сочетающейся с ХЭ, с использованием ингибиторов HIF-1 alpha, а также препаратов, обладающих антиоксидантной активностью.

Сегодня изучается антипролиферативный эффект витамина D. Считается, что он опосредован увеличением

синтеза ингибиторов клеточного цикла, а именно циклин-зависимых киназ, которые блокируют переход от фазы G1 к S-фазе цикла. Дефицит витамина D приводит к бесконтрольному делению клетки [30]. В то же время данные о статусе витамина D при пролиферативных заболеваниях женских половых органов немногочисленны и разноречивы. Так, A. Agic et al. [31] зарегистрировали повышение уровня экспрессии рецепторов к витамину D (VDR) в слизистой оболочке матки женщин с эндометриозом. A. Clavatini et al. [32] показали взаимосвязь между снижением уровня витамина D в сыворотке крови и увеличением диаметра эндометриодных гетеротопий. В работах исследователей Северной Африки, США и Центральной Европы отражено влияние низкого уровня витамина D в сыворотке крови на повышение риска развития миомы матки [33-35]. M. Blauer et al. [36] подтвердили действие витамина D3 на торможение роста миометрия. В то же время изучение уровня 25(OH)D в сыворотке крови и уровня экспрессии VDR в слизистой оболочке матки при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, не проводилось. Мы оценили статус витамина D у пациенток с ГЭ, сочетающейся с ХЭ, регистрировался дефицит витамина D в сыворотке крови и выраженное снижение уровня VDR в эндометрии, что, возможно, определяет уменьшение антипролиферативного эффекта витамина D в слизистой оболочке матки при данной патологии [27]. Оценка статуса витамина D, а именно анализ сывороточного уровня 25(OH)D и уровня экспрессии VDR в эндометрии, может стать одним из этапов обследования пациенток. А дотация препаратов витамина D может повлиять на нарушенный баланс процессов пролиферации и апоптоза в слизистой оболочке матки.

Заключение

Таким образом, установлен ряд гистологических и иммуногистохимических особенностей слизистой оболочки матки при ГЭ, сочетающейся с ХЭ. В связи с этим полагаем, что при ГЭ, ассоциированной с ХЭ, наряду с назначением гормональных препаратов с антипролиферативной активностью, целесообразен дифференцированный подход к тактике ведения этих пациенток, заключающийся в следующем.

1. Персонализированный подход к тактике ведения пациенток с ГЭ определяется формой гиперплазии слизистой оболочки матки: изолированная ГЭ или сочетающаяся с ХЭ.

2. В случае ГЭ, сочетающейся с ХЭ, требуется проведение дополнительного исследования микробиома эндометрия, в том числе, на наличие ВПЧ высокого канцерогенного риска, комплексная терапия хронического эндометрита, включающая назначение препаратов с антибактериальной и противовирусной активностью с учётом выделенных микроорганизмов

3. При обнаружении сочетанной патологии необходимо проведение иммуногистохимического исследования с оценкой экспрессии Ki-67 и p16INK4a в образцах эндометрия для определения повышенного риска рецидивирования ГЭ.

4. При регистрации повышенного риска рецидивирования ГЭ необходима оценка экспрессии HIF-1 alpha и CD-34 в образцах эндометрия с дальнейшим использованием в качестве терапии ингибиторов HIF-1 alpha, а также препаратов, обладающих антиоксидантной активностью.

5. Высокий риск рецидивирования ГЭ требует анализа статуса витамина D с помощью изучения уровня 25(OH)D в сыворотке крови и уровня экспрессии VDR в слизистой оболочке матки. Дефицит витамина D в организме обуславливает необходимость терапии пациенток с ГЭ с использованием препаратов витамина D. ■

Затворническая Александра Вадимовна, аспирант кафедры Акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГ-

МУ Минздрава России; Воропаева Екатерина Евгеньевна, д.м.н., доцент, профессор кафедры Патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России; Казачкова Элла Алексеевна, д.м.н., профессор, профессор кафедры Акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России; Казачков Евгений Леонидович, д.м.н., профессор, зав. кафедрой Патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России; Автор, ответственный за переписку — Затворническая Александра Вадимовна, аспирант кафедры Акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России; Адрес: 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, 64; Телефон: 8 (919) 400-75-35; E-mail: monostyle@list.ru

Литература:

1. Давыдов М.И., Максимович Д.И., Заридзе Д.Г. Динамика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в России. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2015; 26: 1.
2. Kurman R.J., Carcanglu M.L., Herrington C.S., Young R.H. WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs. 4th ed. IARC. World Health Organization Classification of Tumors. – Lyon: IARC Press, 2014
3. Чернуха Г.Е., Думановская М.Р. Современные представления о гиперплазии эндометрия (обзор литературы). Акушерство и гинекология. 2013; 3: 26-32.
4. Ткаченко Л.В., Свиридова Н.И. Двухэтапный метод лечения хронического эндометрита у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе. Гинекология. - 2016; №01: 40-44
5. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых. Проблемы эндокринологии. 2016; 4: 60-84.
6. Кондриков Н.И. Баринова И.В. Патология матки. Иллюстрированное руководство (руководство для врачей). М.: Практическая медицина, 2019 – 352 с.
7. Murdock T.A., Veras E.F.T., Kurman R.J., Mazur M.T. Diagnosis of endometrial biopsies and curetings. 3rd ed. Springer, 2019.
8. Вихляева Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии. М.: Медицинское информационное агентство; 2000.
9. Киселев В.И., Сидорова И.С., Унанян А.П. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика. М.: ИД МЕД-ПРАКТИКА; 2011.
10. Кузнецова И.В. Гиперпластические процессы эндометрия. М.; 2009.
11. Сидорова И.С., Овсянникова Т.В. Практическое руководство по клинической гинекологии. М.: МЕД-пресс - информ.; 2006
12. Шешукова Н.А., Макаров И.О., Фомина М.Н. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение. Акушерство и гинекология. 2011; 4: 16-21
13. Сидорова И. С., Шешукова Н.А., Федотова А.С. Современный взгляд на проблему гиперпластических процессов в эндометрии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2008; 5: 19-22.
14. Лукач А.А., Коновалов В.И. Роль инфекции в патологии репродуктивной системы женщины, плода и новорожденного. Сборник тезисов. М.; 2000: 3-4
15. Сухих Т.Г., Чернуха Г.Е., Сметник В.П. Проллиферативная активность и апоптоз в гиперплазированной эндометрии. Акушерство и гинекология. 2005; 5: 25-29
16. Лисовская Т.В., Мальгина Г.Б., Переплетина Т.А., Мелкозерова О.А., Пацюк О.В. Гиперпластические заболевания эндометрия у женщин, больных хроническим гепатитом С: внепеченочные проявления или результат гормональных нарушений на фоне гепатоцеллюлярной недостаточности? Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2015; 2: 36-41.
17. О.А. Мелкозерова, Н.В. Баймакова, А.В. Есарева. Современные технологии подготовки пациенток с патологией эндометрия вирусной этиологии к применению программ вспомогательных репродуктивных технологий. Российский вестник акушера-гинеколога. 2018; 1: 19-24
18. Радзинский В.Е., Ордиянц И.М., Добрецова Т.А. Эндометрий в огне. Острое и хроническое воспаление эндометрия: от новых взглядов к новым стратегиям. Status Praesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. 2016; 2: 126-132.
19. Клиньшикова Т.В., Самосудова И.Б. Результаты оценки белков E7 ВПЧ, p16INK4a, Ki-67 при цервикальном предраке, ассоциированном с папилломавирусной инфекцией. Российский вестник акушера-гинеколога. 2012; 4: 21-24
20. Волгарева Г.М. Вирусы папиллом человека и рак. Участие вирусных и клеточных генов в вирус-инду-

- цированном канцерогенезе (учебная лекция). *Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи.* 2015; 2: 30-35.
21. Казачкова Э.А., Гошгарлы А.В., Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л., Рогозина А.А. Экспрессия белка p16INK4a при гиперплазии эндометрия, ассоциированной с хроническим эндометритом. *Уральский медицинский журнал.* 2018; 2: 97-100.
 22. Лешкина Г.В., Шипулина О.Ю., Романюк Т.Н., Шабалова И.П. Сравнение эффективности двойной и монокспрессии белков p16/ki67 и p16 для выявления поражений шейки матки тяжелой степени у ВПЧ-инфицированных женщин. *Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика».* 2017: 103-104.
 23. Коган Е.А., Ли Д.Д., Файзулина Н.М., Козаченко А.В. Экспрессия *ost-4*, *p53*, *p16* и *ki67* при ВПЧ-ассоциированном предраке и раке шейки матки. *Клиническая практика.* 2016; 1: 34-38.
 24. Аникина Т.А., Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Радзинский В.Е. Экспрессия маркеров клеточного цикла мезенхимными клетками нормального эндометрия и эндометрия при пролиферативных заболеваниях матки. *Акушерство и гинекология.* 2016; 9: 79-86.
 25. Думановская М.Р., Чернуха Г.Е., Бурменская О.В., Донников А.Е., Трофимов Д.Ю. Вероятность неопластической трансформации при различных типах гиперплазии эндометрия. *Акушерство и гинекология.* 2013; 8: 56-62.
 26. Власов Р.С., Карпов Д.В., Залетаев Д.В., Коган Е.А и др. Метилирование генов-супрессоров опухолевого роста при патологических процессах эндометрия. *IV международный конгресс по репродуктивной медицине.* 2010. – «Проблемы репродукции» (Специальный выпуск): 285-286.
 27. Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А. Гиперплазия эндометрия, ассоциированная с хроническим эндометритом: особенности экспрессии *Ki-67*, *p16ink4a* и рецепторов к витамину D (*VDR*). *Уральский медицинский журнал.* 2019; 5: 87-94.
 28. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Гипоксией индуцированный фактор (*HIF-1a*) как мишень фармакологического воздействия. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии,* 2013; 11 (2): 8-16.
 29. Кобляков В.А. *HIFa* как объект воздействия различных онкобелков при канцерогенезе. *Успехи молекулярной онкологии.* 2018; 5(4): 64-71.
 30. Баклейчева М.О., Ковалева И.В., Беспалова О.Н., Коган И.Ю. Влияние витамина D на репродуктивное здоровье женщины. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2018; № 3: 4-19.
 31. Agic A., Xu H., Altgassen C., et al. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3-receptor, vitamin D 1a-hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproduct. Sci.* 2007; 14: 486-97
 32. Ciavattini A, Serri M, Delli Carpini G, et al. Ovarian endometriosis and vitamin D serum levels. *Gynecol Endocrinol.* 2017; 33(2): 164-167
 33. Sabry M, Halder SK, Allah AS et al. Serum vitamin D3 level inversely correlates with uterine fibroid volume in different ethnic groups: a cross-sectional observational study. *Int. J. Womens Health.* 2013; 5: 93-100;
 34. Baird DD, Hill MC, Schectman JM, Hollis BW. Vitamin D and the risk of uterine fibroids. *Epidemiology.* 2013; 24(3): 447-453;
 35. Paffoni A, Somigliana E, Viganó P, et al. Vitamin D status in women with uterine leiomyomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98(8): E1374-E1378.
 36. Blauer M, Rovio PH, Ylikomi T, Heinonen PK. Vitamin D inhibits myometrial and leiomyoma cell proliferation *in vitro.* *Fertil. Steril.* 2009; 91: 1919-1925