

PATRÍCIA MAGDA SOARES

**TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM
MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof^a. Dr^a. CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. CÉSAR CABELLO DOS SANTOS**

**Unicamp
2007**

PATRÍCIA MAGDA SOARES

**TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM
MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, área de
Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof^a. Dr^a. CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. CÉSAR CABELLO DOS SANTOS

Unicamp
2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

So 11t Soares, Patrícia Magda
Terapia hormonal e densidade mamária em
mulheres com falência ovariana prematura / Patrícia
Magda Soares. Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadores: Cristina Laguna Benetti Pinto,
César Cabello dos Santos.

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Terapia reposição hormonal. 2. Mamografia.
3. Menopausa prematura. 4. Diagnóstico por imagem.
5. Mamas – Doenças. I. Pinto, Cristina Laguna Benetti.
II. Santos, César Cabello dos. III. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. IV. Título.

Título em inglês: Hormone therapy and breast density in women with premature ovarian failure

Keywords: • Hormone replacement therapy
• Mammography
• Menopause, premature
• Diagnostic Imaging
• Breast diseases

Titulação: Mestre em Tocoginecologia

Área de concentração: Tocoginecologia

Banca examinadora: Profa. Dra. Cristina Laguna Benetti Pinto
Profa. Dra. Ilza Maria Urbano Monteiro O
Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Data da defesa: 29 - 08 -2007

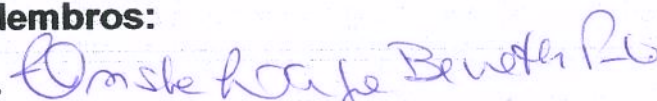
BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO


Aluna: PATRÍCIA MAGDA SOARES

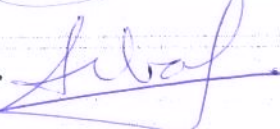
Orientador: Prof^a. Dr^a. CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO

Co-Orientador: Prof. Dr. CÉSAR CABELLO DOS SANTOS

Membros:

1. 

2. 

3. 

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 29/08/2007

Dedico este trabalho...

*... A Deus,
por me abençoar e sempre guiar os meus passos.*

*... À minha mãe Elisene,
sempre presente, amiga e fundamental na minha vida.*

*...Às pacientes,
sem a ajuda de vocês jamais realizaria este trabalho.*

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra. Cristina Laguna Benetti Pinto, pela orientação, incentivo em todos os momentos e sempre presente na realização deste sonho.

Ao Prof. Dr. César Cabello dos Santos por ter aceitado o convite de co-orientar este trabalho.

Ao Mestre Eduardo Tinois, nosso colaborador, pela dedicação nos momentos primordiais deste trabalho, traduzindo a linguagem médica em física.

Ao Dr. Luis Alberto Magna, pela dedicação nas análises estatísticas.

Ao Dr. Carlos Alberto Petta, pelas correções dos artigos.

À Vanda, bibliotecária do CAISM, pela amizade e dedicação nas pesquisas bibliográficas.

À Rogéria, Cidinha e toda equipe do SAME, pelo fornecimento dos prontuários médicos.

À Dra. Susana, médica do Departamento de Radiologia e colega de turma de pós-graduação, pela inestimável ajuda na realização das mamografias.

À Margarete, secretária da Pós-graduação/DTG, pela amizade, gentileza nas informações, sempre disponível para nos atender.

À Sueli Chaves pela gentileza em resolver minhas dúvidas e pelo profissionalismo da equipe da ASTEC/CAISM.

Aos funcionários dos Departamentos de Tocoginecologia e Planejamento Familiar, pela colaboração durante a realização deste projeto.

***“Descobrir consiste em
olhar as mesmas coisas que todos olham
e pensar algo diferente.”***

Albert Szent-Gyorgyi

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	viii
Resumo	xi
Summary	xiv
1. Introdução	17
2. Objetivos	34
2.1. Objetivo geral	34
2.2. Objetivos específicos	34
3. Publicação.....	35
3.1. Artigo 1	35
3.2. Artigo 2	50
4. Discussão.....	65
5. Conclusões	69
6. Referências Bibliográficas.....	70
7. Anexos	78
7.1. Anexo 1 – Lista de Verificação - Grupo de Estudo (FOP)	78
7.2. Anexo 2 – Ficha Clínica - Grupo de Estudo (FOP)	79
7.3. Anexo 3 – Lista de Verificação - Grupo de Controle 1 (Eumenorréicas).....	80
7.4. Anexo 4 – Ficha Clínica - Grupo de Controle 1 (Eumenorréicas).....	81
7.5. Anexo 5 – Lista de Verificação - Grupo de Controle 2 (Pós-Menopausa).....	82
7.6. Anexo 6 – Ficha Clínica - Grupo de Controle 2 (Pós-Menopausa).....	83
7.7. Anexo 7 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	84
7.8. Anexo 8 – Processo de avaliação das imagens pelo MATHLAB®.....	86
7.9. Anexo 9 – Método de avaliação pela medida da área da imagem (digitalização da imagem mamográfica).....	89

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AMP – Acetato de Medroxiprogesterona

ANOVA – Teste estatístico

CAISM – Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher

CGR® – Marca e tipo do mamógrafo de alta resolução
SENOGRPHE® 500 T

DNG – *Dienogest*

DTG – Departamento de Tocoginecologia

Dy – *Dysplasia* – Tipo de padrão mamográfico segundo WOLFE, 1976

17β-estradiol – Estrogênio natural

E2 – Estradiol

E2V – Valerato de estradiol

EEC – Estrogênio Equino Conjugado

ESTRADERM® – Terapia de reposição hormonal transdérmica

FCM – Faculdade de Ciências Médicas

FOP – Falência ovariana prematura

- FSH** – Hormônio folículo-estimulante
- HD** – *Hard disk* – Disco rígido (computador)
- HP®** – *Hewlett Packardt* – Marca de empresa para material de informática
- IBM®** – Marca de empresa para material de informática
- IMC** – Índice de massa corpórea = peso dividido pela altura ao quadrado
- Kg** – Quilograma(s)
- Kg/m²** – Quilograma(s) dividido(s) por metro(s) quadrado(s)
- Kliogest®** – Hormônio composto por estradiol e acetato de noretisterona
- Kodak®** – Marca de empresa fornecedora de filmes de mamografia
- Kodak RPX-OMAT®** – Marca e tipo da processadora de filmes de mamografia
- MATHLAB4®** – Programa de computação para interpretação de imagens
- MICROSOFT®** – Marca de empresa para material de informática
- mg/dia** – Miligrama(s) por dia
- n** – Tamanho amostral
- NETA** – Acetato de Noretisterona
- N1** – *Normal Pattern* – Tipo de padrão mamográfico segundo WOLFE, 1976
- P1** – *Proeminents ducts 1* – Tipo de padrão mamográfico segundo WOLFE, 1976
- P2** – *Proeminents ducts 2* – Tipo de padrão mamográfico segundo WOLFE, 1976
- PAINTBRUSH®** – Programa de computador para edição de imagens
- PC** – *Personal Computer* – Computador pessoal

- Pixel** – *Picture element* – componentes da imagem
- Premarim®** – Estrogênios Eqüinos Conjugados – nome comercial
- Prempak C®** – Estrogênios conjugados associados ao Norgestrel
- p-valor** – Significância estatística
- RAM** – Memória do computador
- Scanner** – Máquina captadora e digitalizadora de imagens
- SPSS** – *Statistical Package for the Social Sciences*
- Syntex** – Terapia de reposição hormonal com Mestranol +
Menophase® Noretisterona
- Teste t de Student** – Teste estatístico
- Teste de Mann-Whitney** – Teste estatístico
- Teste de X²** – Teste estatístico qui-quadrado
- TH** – Terapia hormonal
- Trisequens®** – Estradiol + Acetato de Noretisterona
- Unicamp** – Universidade Estadual de Campinas
- WHI** – *Women's Health Initiative*

Resumo

Introdução: A falência ovariana prematura (FOP) provoca graves conseqüências devido ao estado prolongado de hipoestrogenismo, havendo indicação precisa de reposição hormonal para minimizar tais alterações. Estudos mostram que a terapia hormonal pode aumentar o risco de câncer de mama em mulheres na pós-menopausa, porém as conseqüências em mamas de mulheres jovens ainda são desconhecidas. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da terapia hormonal com Estrogênio Eqüino Conjugado (EEC) associado ao Acetato de Medroxiprogesterona (AMP) cíclico ou contínuo sobre a densidade mamária de mulheres com falência ovariana prematura. **Sujeitos e Métodos:** Foi realizado um estudo tipo corte transversal em 31 mulheres com FOP atendidas no Ambulatório de Ginecologia-Endócrina do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp. Todas realizaram mamografia, sendo feita a digitalização destas mamografias. O grupo de estudo foi comparado a um grupo de controle composto por 31 mulheres eumenorréicas pareadas por idade em anos completos, que também realizaram mamografia. Um segundo grupo de controle composto por 31 mulheres na pós-menopausa, utilizando terapia hormonal com Estrogênio Eqüino conjugado associado

ao Acetato de Medroxiprogesterona, pareadas pelo tempo de terapia hormonal em meses (± 11 meses) que também realizou mamografia para comparação. A densidade mamária dos três grupos foi quantificada pela técnica de digitalização das imagens mamográficas recebendo valores de 0 a 100%. Utilizamos ainda para a avaliação da densidade mamária o Método de Wolfe, porém subestratificado em duas categorias: mamas densas (incluindo os padrões N1 e P1, ou seja, com densidade mamária $< 25\%$) e não-densas (incluindo os padrões P2 e Dy, ou seja, com densidade mamária $\geq 25\%$). **Análise Estatística:** Os dados idade e IMC foram avaliados pela média e desvios-padrão. Para comparação da densidade mamária, avaliada pelo método da digitalização de imagens, foi utilizado o teste de ANOVA e, quando analisada pelo método de Wolfe, utilizou-se o teste Qui-Quadrado (X^2). Para avaliar as variáveis paridade, tempo de falência gonadal e tempo de terapia hormonal foi utilizado o teste T de Student e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney e, para a variável amamentação utilizou-se o teste Qui-Quadrado. O nível de significância assumido foi de 5%. O software utilizado para a análise estatística foi o SPSS 15.0 para Windows/2006. **Resultados:** As médias das densidades mamárias das mulheres com FOP e eumenorréicas, pela técnica de digitalização, foram de 24,1% (DP $\pm 14,6$) e de 21,8% (DP $\pm 11,3$), respectivamente ($p= 0,50$), sem diferenças entre os grupos. Também a avaliação pelo método de Wolfe não mostrou diferença significativa entre os grupos. As médias das densidades mamárias das mulheres com FOP e das mulheres na pós-menopausa foram de 24,1% (DP $\pm 14,6$) e de 18,1% (DP $\pm 17,2$), respectivamente ($p= 0,15$), sem diferença entre os grupos, o mesmo ocorrendo quando a análise

foi realizada pelo método de Wolfe. **Conclusão:** Apresentamos uma evidência inicial de que a reposição hormonal com Estrogênio Eqüino Conjugado associado ao Acetato de Medroxiprogesterona parece não aumentar a densidade mamária de mulheres com FOP quando comparadas a mulheres com função gonadal preservada de mesma idade e quando comparadas a mulheres após a menopausa, pareadas pelo tempo de reposição hormonal.

Palavras-chave: terapia hormonal, menopausa precoce, mamografia, diagnóstico por imagem, doenças da mama.

Summary

Introduction: Premature ovarian failure (POF) may lead to serious consequences due to a prolonged low estrogen state and there is a precise indication for hormone replacement therapy to minimize such alterations. Studies have evaluated the impact of hormone therapy on the breasts of postmenopausal women, however the consequences of treatment on the breasts of younger women are still unknown.

Objective: To evaluate the effects of hormone therapy with Conjugated Equine Estrogen (CEE) associated with cyclic or continuous Medroxyprogesterone Acetate (MPA) on breast density in women affected by premature ovarian failure, compared to breast density in age-matched eumenorrheic women, and also to breast density in postmenopausal women who had been receiving hormone therapy for the same amount of time. **Subjects and Methods:** A cross-sectional study was conducted involving 31 women with premature ovarian failure seen at the Gynecologic Endocrinology Outpatient Clinical Facility of the Department of Obstetrics and Gynecology in the UNICAMP Medical School. All women underwent mammography and digitization of mammogram films was performed. The study group was compared to a control group composed of 31 eumenorrheic women paired by

age in years, who had also undergone mammography. A second control group consisting of 31 postmenopausal women, using hormone therapy with Conjugated Equine Estrogen associated with Medroxyprogesterone Acetate, paired by length of hormone replacement therapy in years (± 11 months), also underwent mammography for comparison. Breast density in the three groups was quantified by a digitizing technique of mammographic images and also by the Wolfe classification system, stratified into two categories: dense and non-dense. **Statistical and Analysis:** Age and BMI were data assessed by the mean and standard deviations. For comparison of breast density, calculated by an image digitization method, the ANOVA test was used. When breast density was analysed by the Wolfe system, the chi-square test was used (X^2). The Student's T-test and the Mann-Whitney's nonparametric test were used to evaluate the following variables: parity, time since gonadal failure and duration of hormone therapy. The Chi-Square test (X^2) was used to evaluate the breastfeeding variable. The significance level was set at 5%. For statistical analysis, the SPSS 15.0 software for Windows/2006 was used. **Results:** The mean mammographic breast densities in women with POF who were eumenorrheic, using the digitization technique were 24.1% (± 14.6) and 21.8% (± 11.3), respectively ($p = 0.50$) and no differences were observed between the groups. Evaluation by the Wolfe system also showed no significant difference among the groups. The mean breast densities in women with POF and in postmenopausal women were 24.1% (± 14.6) and 18.1% (± 17.2), respectively ($p = 0.15$) and no difference was observed among the groups, the same occurring when analysis was performed by the Wolfe system. **Conclusion:** We have

presented initial evidence that hormone replacement therapy with CEE + MPA does not increase breast density in women with POF, when compared to age-matched women with preserved gonadal function or postmenopausal women paired by length of hormone replacement therapy. Follow-up of the POF group is now being carried out for future prospective studies.

Keywords: Hormonal replacement therapy, premature menopause, mammograms, diagnostic imaging, breast diseases.

1. Introdução

As primeiras publicações que relacionaram a elevação anormal das gonadotrofinas urinárias em mulheres jovens com “menopausa precoce” são de 1939 (Heller e Heller, 1939). A falência ovariana prematura (FOP) foi primeiramente definida em 1967 como a tríade amenorréia, hipergonadotrofismo e hipoestrogenismo, presentes nas mulheres com idade inferior a 40 anos (De Moraes e Jones, 1967), porém ainda existem muitas dúvidas em relação à sua etiologia, patogênese, tratamento e repercussões em longo prazo.

Embora a etiologia e a patogênese da FOP ainda não estejam totalmente claras (Mainini et al., 2003; Santoro, 2003), parecem estar relacionadas a fatores endócrinos e parácrinos (Parborell et al., 2002). Os mecanismos sugeridos para explicar a ocorrência da FOP são de causas genética, imunológica, ambiental e iatrogênica. Todavia, muitos casos permanecem sem etiologia definida, sendo então considerados de causa idiopática (Santoro, 2003).

A prevalência da FOP permanece controversa. Segundo estudos clínicos, estima-se que 0,9% (Coulam et al., 1986), 1,1% (Luborsky et al., 2003), ou ainda, 1,2% (Cramer, 1990) das mulheres experimentarão esta patologia.

Ainda que de etiologia nem sempre determinada, são claras as conseqüências do hipoestrogenismo prolongado. Considerando o tempo de hipoestrogenismo e o aumento da expectativa de vida, as mulheres com FOP estão potencialmente expostas aos mais severos e diferentes riscos de saúde que as mulheres com menopausa na idade habitual. Estudos relatam aumento do risco de mortalidade precoce (Luborsky et al., 2003), cânceres colorretal e ovariano (Cramer, 1990; Cooper e Sandler, 1998; Bachmann, 1999; Luborsky et al., 2003), osteoporose (Harlow e Signorello, 2000), além de sintomas vasomotores, atrofia urogenital e piora das funções cognitivas (Bachmann, 1999).

Para minimizar os problemas causados pela deficiência estrogênica, a terapia hormonal (TH) foi introduzida com associações estroprogestativas nas mulheres com útero e com estrogênios isolados nas mulheres hysterectomizadas (Armitage et al., 2003). A aderência das mulheres a esta terapia tem-se mostrado difícil, sendo um dos fatores da má aceitação a preocupação quanto ao risco de câncer de mama, em especial após a divulgação na imprensa leiga da relação entre câncer de mama e terapia hormonal em mulheres após a menopausa em idade habitual (Mann, 1992; WHI, 2002).

As mulheres com FOP representam um desafio para os ginecologistas, uma vez que requerem tratamento prolongado pela perda da função gonadal

em uma idade em que deveriam estar produzindo hormônios endógenos. O impacto da administração prolongada de hormônios sobre as mamas não é conhecido (Armitage et al., 2003).

Na revisão bibliográfica realizada no PubMed não foram localizados estudos que relacionassem aumento da incidência de câncer de mama na população com falência ovariana prematura usuária de reposição hormonal.

Estudos observacionais e clínicos têm associado a administração prolongada de terapia hormonal a um aumento pequeno, porém estatisticamente significativo, no risco de câncer de mama (Beral et al., 1997; Koukoulis, 2000). Na menopausa, pela depleção de estrogênio, a mama involui, o tecido fibroglandular regride e é progressivamente substituído por tecido gorduroso, resultando na redução da densidade mamária (Laya et al., 1995; Marugg et al., 1997). A terapia hormonal tende a aumentar a densidade do parênquima mamário; entretanto, não na maioria das mulheres. A frequência e extensão do aumento, focal ou difuso, dependem do regime hormonal, dose utilizada e forma de administração (Laya et al., 1995; Marugg et al., 1997; Persson et al., 1997; Santos et al., 1998; Sterns e Zee, 2000; Lundstron et al., 2001).

Os progestágenos estão associados a uma desordem proliferativa do parênquima mamário, de tal forma que sua adição à terapia estrogênica resultou na interrupção de um grupo de mulheres participantes do estudo WHI, pelo aumento de 26% no risco de câncer invasivo de mama após cinco anos de uso da TH (WHI, 2002). Em contrapartida, o estrogênio tem desempenhado papel menos importante

na determinação da densidade mamária quando comparado à progesterona. Além disso, a densidade mamária aumenta cerca de 3% a 5% em mulheres com terapia hormonal contendo progesterona contra 1,3% em mulheres com terapia hormonal contendo estrogênio isolado (Greendale et al., 2003; Noh et al., 2006).

O risco absoluto para uma mulher usuária de TH estroprogestativa desenvolver câncer de mama, individualmente, é muito pequeno (um acréscimo de oito casos para cada 10.000 mulheres por ano) (WHI, 2002), porém tem maior repercussão o efeito cumulativo, que não é considerado insignificante para o uso prolongado (Armitage et al., 2003).

Metanálise de 51 estudos epidemiológicos mostrou o aumento do risco de câncer de mama em mulheres após a menopausa em idade habitual com reposição hormonal estrogênica ou estroprogestativa, possivelmente relacionado à duração do uso do hormônio, sendo o RR = 1,26 após cinco anos (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1997; Dixon, 2001; Armitage, 2003), assim como pela redução da sensibilidade e especificidade da triagem mamográfica nestas mulheres (Kavenagh et al., 2000; Armitage et al., 2003).

A mamografia representa um importante instrumento para o diagnóstico precoce do câncer de mama. Estudos de metanálise mostraram redução de 20% a 35% na mortalidade por câncer de mama em mulheres entre 50 e 69 anos submetidas ao rastreamento mamográfico (Olsen e Gotzsche, 2001). A sensibilidade mamográfica no diagnóstico de câncer invasivo é de 73% para as mamas

lipossubstituídas; no entanto, para mamas mais densas, características mais comuns às mulheres jovens, a sensibilidade é de 44% (Mandelson et al., 2000).

Existem evidências que o uso de TH provoca um prejuízo na sensibilidade e especificidade mamográfica, resultando no aumento de resultados falso-positivos, maior chance de *recall*, uma vez que o tecido glandular denso tende a mascarar massas tumorais (Banks, 2001; Warren, 2004). Nesses casos, a avaliação dos sinais diretos ou indiretos da presença de lesões suspeitas fica dificultada, pois as lesões são atenuadas e, ao RX, assemelham-se ao tecido fibroglandular, tornando o diagnóstico precoce de câncer de mama comprometido (Kavenagh et al., 2000).

Em 2000, um estudo prospectivo randomizado observou diminuição na sensibilidade do rastreamento mamográfico em 64,3% das usuárias de TH comparado com 79,8% das não-usuárias (Kavanagh et al., 2000). Outros estudos mostraram a taxa de resultados falso-positivos de 3,3% nas usuárias e 2,8% nas não usuárias (Salminen et al., 2000). Ainda existe controvérsia, uma vez que recentes estudos prospectivos e retrospectivos do Hospital Geral de Massachussets concluíram que a taxa de *recall* é, essencialmente, a mesma em mulheres usuárias e não-usuárias de TRH. Desta forma, a densidade mamária independe da TH como necessidade da repetição do exame (Moy, 2001).

A associação entre o padrão da densidade mamária e o risco de câncer de mama foi inicialmente descrita por Ingleby e Gershon-Cohen (Ingleby e Gershon-Cohen, 1960) e, posteriormente, por Wolfe (Wolfe, 1976).

Wolfe, em 1976, foi o primeiro a propor um sistema para avaliar a densidade radiológica mamária (Wolfe, 1976). Criou uma classificação que dividiu as mamografias em quatro grupos principais de acordo com a densidade mamográfica. Em ordem crescente de densidade, os grupos foram classificados em:

- N1= parênquima composto primariamente por gordura com pequenas áreas de displasia. Nenhum ducto visível;
- P1= parênquima composto por gordura com ductos proeminentes na porção anterior ocupando $\frac{1}{4}$ do volume da mama;
- P2= severo envolvimento com padrão ductal proeminente ocupando mais que $\frac{1}{4}$ do volume da mama;
- Dy= envolvimento severo com displasia.

O estudo inicial de Wolfe abrangeu 5284 mulheres com mamografias previamente classificadas, com exclusão daquelas com antecedente de câncer de mama, assim como das que apresentaram o diagnóstico de câncer até seis meses após uma mamografia negativa. O estudo concentrou-se em mulheres com diagnóstico de câncer de mama histologicamente confirmados e desenvolvidos após seis meses de uma triagem mamográfica negativa. Concluiu que mulheres com padrão mamográfico Dy apresentavam risco 37 vezes maior de câncer de mama quando comparadas às mulheres com padrão N1. Graus intermediários de risco foram encontrados nas mulheres com padrões P1 e P2 (Wolfe, 1976).

Um segundo estudo de Wolfe confirmou o risco de eventual surgimento de câncer de mama em mulheres com padrão mamográfico Dy. Nesses dois

estudos de Wolfe, 87% dos diagnósticos confirmados de câncer de mama ocorreram em mulheres com padrão mamográfico P2 ou D_y. Esses estudos forneceram importantes evidências da associação entre o padrão de alta densidade mamária e o risco de câncer de mama (Wolfe, 1976).

Ainda que os estudos de Wolfe representassem um marco, os resultados foram alvo de várias críticas. A principal interrogava se o risco de câncer de mama em padrão mamográfico mais denso não seria resultante da dificuldade na detecção do câncer pela redução da sensibilidade mamográfica (Hipótese do mascaramento). Esta hipótese baseou-se no fato de que o câncer pode ser mais facilmente detectado em mamografias com padrão menos denso. A diferença na detecção do câncer nos diferentes padrões de densidade significa que mais casos de câncer em mamografias com padrão mais densos são subdiagnosticados (Ma et al., 1992; Oza e Boyd, 1993). Resultados discrepantes de inúmeros estudos a respeito da significância do padrão do parênquima mamário - alguns mostrando não haver associação entre o parênquima mamário e o risco de câncer de mama, outros concordantes com as observações de Wolfe - fizeram com que estudos fossem realizados para elucidar a causa destas diferenças. Após vários estudos epidemiológicos, concluiu-se que as controvérsias eram decorrentes de diferenças nas metodologias utilizadas, tais como no critério de seleção das mulheres, variação dos observadores e no seguimento das pacientes (Boyd et al., 1984).

Atualmente, fica claro que a presença de parênquima mamário mais denso apresenta duas grandes desvantagens: a primeira relaciona-se ao aumento do

risco de câncer de mama e a segunda, ao maior risco de o câncer não ser detectado precocemente (Warren, 2004).

Críticas quanto à utilidade da classificação da densidade mamária pelo método de Wolfe referem-se ao fato de ser um método de quantificação subjetiva, passível de variação na sua aplicação por diferentes observadores, caindo em desuso nos Estados Unidos na década de 80 (Moskowitz et al., 1980; Carlile et al., 1983). Neste tipo de classificação, por exemplo, a variação interobservadores foi de 52% a 97% e intra-observadores de 69% a 87%, com um *score* de Kappa de 0,47 a 0,67 (Boyd et al., 1986; Oza e Boyd, 1993).

No início dos anos 80, métodos quantitativos mais precisos para a avaliação da densidade mamária foram desenvolvidos e mostraram associação positiva com o risco de câncer de mama (Boyd et al., 1995; Wolfe et al., 1987; Harvey e Bovjerg, 2004). Mais recentemente, a digitalização da imagem mamográfica (mamografia digital indireta) (Cyberknoh, 1994; Santos et al., 1998; Harvey et al., 2005; Noh et al., 2006) tem sido utilizada, apresentando uma concordância de resultados de 90% ou mais (Byng et al., 1998). Neste método, os filmes de RX realizados por mamógrafos de alta resolução são captados por vídeo e processados por computador, ou diretamente por *scanners*, transformando a imagem analógica em digital, podendo ser analisada e quantificada pelo computador (Anexo 9). Conseqüentemente, a avaliação, antes subjetiva, passa a ser analisada de forma objetiva (Marias et al., 2004).

As limitações do método caracterizam-se pelo *pixel* (menor elemento da imagem ao qual é possível atribuir-se uma cor) ser usado com um ajuste binário (gordura/parênquima), sem o controle da sua profundidade e pela variação dos fatores expostos ao filme, como compressão e processo químico. Além disso, o uso da porcentagem da densidade mamária reflete somente uma representação bidimensional de um fenômeno tridimensional (Wolfe et al., 1987; Harvey e Bovbjerg, 2004).

Alguns investigadores estão propondo novas técnicas para avaliar o tecido fibroglandular da mama de forma tridimensional (Shephard et al., 2002), outros ainda estão explorando o uso da ressonância magnética (Lee et al., 1997) e do ultra-som no sentido de quantificar a densidade mamária. Entretanto, estes métodos não têm provado ser úteis para o uso de rotina, uma vez que a mamografia ainda fornece informações mais adequadas (Harvey e Bovbjerg, 2004).

Recentemente, as alterações da densidade mamária na pós-menopausa, vistas nas mamografias, têm sido consideradas como forte marcador do risco de câncer de mama (Warren, 2004), sendo ainda consideradas como um fator de risco independente, com magnitude maior que a associação de todos os outros fatores de risco (Saftlas e Szklo, 1987; Oza e Boyd, 1993; Greendale et al., 2005), como idade do nascimento do primeiro filho, paridade, história familiar de câncer de mama, doença mamária benigna prévia (Vachon et al., 2000) e ainda, idade, idade da menarca, antecedente de amamentação, idade da falência gonadal e tempo de terapia hormonal (El-Bastawissi et al., 2000; Speroff, 2002).

Estudos epidemiológicos confirmam esta associação positiva entre o padrão do parênquima mamário e o risco de câncer de mama (Saftlas e Szklo, 1987). A densidade mamária tem revelado informações sobre o ambiente hormonal endógeno e exógeno no qual o câncer se instala e se desenvolve (Warren, 2004).

Vários estudos têm mostrado que mulheres com mamas mais densas têm quatro a seis vezes mais risco de desenvolver câncer de mama que as mulheres com mamas menos densas (Boyd et al., 1995; Byrne et al., 1995; Maskarinec e Meng, 2000; Vachon et al., 2000; Noh et al., 2006), quando esta densidade é aferida através da porcentagem da densidade de tecido fibroglandular em relação ao volume total da mama ($\geq 1/5$ do total da mama). O risco é de duas a quatro vezes quando aferido indiretamente pelo padrão de Wolfe (P2/Dy e N1/P1) (Byrne et al., 1995; Salminen et al., 1998).

Estudos epidemiológicos sugerem que um importante fator de risco para câncer de mama é a exposição da mama ao estrógeno endógeno, particularmente antes da primeira gestação a termo (Warren, 2004). Mulheres nulíparas e com idade tardia ao nascimento do primeiro filho estão associadas às mamas com padrão denso (Vachon et al., 2000). Um estudo que avaliou a relação entre a paridade e a densidade mamária com o risco de câncer de mama mostrou que mulheres nulíparas com mamas de padrão N1 de Wolfe não apresentaram aumento do risco de câncer de mama. Porém, mulheres nulíparas com densidade mamária $> 25\%$ apresentaram RR= 6,6 de desenvolver câncer de mama, enquanto mulheres multíparas com densidade mamária $> 25\%$ apresentaram RR= 3,6 de desenvolver câncer de mama (Van Gils et al., 2000).

Ainda que baixa paridade e idade tardia ao primeiro filho estejam relacionadas ao padrão mamográfico P2 e Dy, a associação da paridade com a classificação mamográfica é mais forte e consistente do que a idade do primeiro filho. Estas associações são independentes dos outros fatores de risco, incluindo a obesidade (Grove et al., 1985; Saftlas e Szklo, 1987).

A associação entre densidade mamária e risco de câncer de mama tende a ser maior quanto maior for a idade. Estudos mostram uma forte associação entre o aumento da densidade mamária com o *status* menopausal. Esta associação aumenta com o avançar da idade, no mesmo momento em que está ocorrendo a diminuição da densidade mamária (Harvey e Bovbjerg, 2004). Uma vez que a idade e o *status* menopausal estão altamente correlacionados, é difícil determinar qual desses parâmetros está mais fortemente associado às mudanças do padrão mamário (Wolfe, 1976; Grove et al., 1985).

Fatores reprodutivos como tipo e idade da menopausa na idade habitual, idade da menarca, história de amamentação e irregularidade menstrual foram avaliados em poucos estudos, não apresentando resultados claros das suas associações (Brisson et al., 1984).

Estudos que avaliaram a relação entre padrão mamográfico e história familiar de câncer de mama mostraram que mulheres com história familiar de primeiro grau apresentaram RR= 11,1 de câncer de mama em mulheres com mamas densas em relação às mulheres com mamas não densas. Concluiu-se que a densidade mamária pode estar fortemente associada ao risco de câncer

de mama em mulheres com história familiar positiva desta patologia (Boyd et al., 1999). Em 2003, outro estudo concluiu que mulheres com mamas extremamente densas estão mais propensas a ter parentes de primeiro grau com câncer de mama (Ziv et al., 2003).

Vários estudos têm mostrado que o peso corporal está relacionado ao padrão mamário. A obesidade é um fator de risco conhecido para câncer de mama. Um estudo divulgado em 2000 avaliou a relação entre o peso corporal, índice de massa corpórea (IMC) e o risco de câncer de mama. Os resultados mostraram que mulheres obesas, com elevação do IMC, estavam menos propensas a ter mamas densas e, ainda, mulheres obesas com mamas densas apresentam maior risco de câncer de mama (Lam et al., 2000). Outro estudo mostrou a importância do peso e da altura das mulheres na variação da densidade mamária. Concluiu que mulheres magras e altas têm padrões de densidade maiores (P2 ou Dy) que mulheres com estatura menor e obesas (93,6% e 18,8%, respectivamente) (Brisson et al., 1984). Dois fatores de risco isolados - obesidade e idade - têm correlações inversas com a densidade mamária. Alguns autores consideram que estas duas variáveis são fatores confundidores e, desta forma, devem ser ajustadas na população estudada (Warren, 2004).

Existe uma extensa literatura relacionando TH e densidade mamária em mulheres com menopausa em idade habitual, com variações quanto ao tipo e duração da TH, além de avaliações da sensibilidade e especificidade mamográfica (Warren, 2004). Entretanto, não foi encontrado na literatura estudo científico na população com falência ovariana prematura.

Com a divulgação dos resultados do WHI, a preocupação com os estudos que relacionassem os fatores de risco de câncer de mama e TH cresceu, surgindo vários estudos que avaliaram a densidade mamária (WHI, 2002).

Uma coorte formada por 33 mulheres na pós-menopausa usuárias de terapia hormonal e um grupo de controle composto por 31 mulheres na pós-menopausa que nunca haviam realizado terapia hormonal foram convidadas a participar de um estudo para avaliar os efeitos de cinco tipos de TH (Prempak C®, Premarin®, Estraderm®, Kliogest®, Trisequens® e Syntex Menophase®) na densidade mamária. Ao final de 13 meses observou-se um aumento subjetivo da densidade mamária em nove usuárias de hormônio (27%) contra nenhum aumento entre as não-usuárias. Os aumentos apresentados foram focal em quatro casos, multifocal em quatro casos e difuso em somente um caso. Todas as alterações foram vistas após quatro semanas de tratamento e em todos os regimes de TH utilizados. Não houve um único caso de redução da densidade mamária entre as mulheres usuárias de hormônio (McNicholas et al., 1994).

Em 2005, um estudo de caso-controle avaliou os efeitos da duração e do regime da TH na densidade mamária de mulheres na pós-menopausa com média de 50,4 anos de idade. Um grupo composto por 200 mulheres utilizou esquema estrogênico com estrogênio equino conjugado (EEC 0,625mg) e outro, composto por 267 mulheres, utilizou esquema estroprogestativo com estrogênio equino conjugado associado ao acetato de medroxiprogesterona (EEC 0,625mg + AMP 2,5mg). As porcentagens das densidades mamárias aumentaram de acordo com o tempo de uso da TH. Mulheres com TH combinada por mais de quatro

anos apresentaram aumento significativo da densidade mamária em comparação ao grupo com estrogênio isolado, ocorrendo nos primeiros dois anos de TH. A densidade mamária permaneceu nos níveis pré-tratamento em aproximadamente 80% das mulheres com TH por cinco anos ou mais. Houve casos de diminuição da densidade nas mulheres com reposição por mais de cinco anos (0,9% das mulheres com TH combinada e em 3,2% das mulheres em uso de TH somente com estrogênio) (Chen et al., 2005).

No mesmo ano foi realizado um estudo prospectivo randomizado para avaliar a influência de diferentes regimes de TH na densidade mamária de mulheres na pós-menopausa e na perimenopausa tardia. Receberam TH contínuo combinado (1mg 17 β -estradiol + 0,5mg de acetato de noretisterona) ou seqüencial (0,625mg EEC + AMP 5,0mg) por nove meses. Foi realizada uma mamografia basal e outra após o término do estudo. Concluiu-se que aproximadamente 67% das mulheres de cada grupo não apresentavam mudanças no padrão mamográfico após TH. Entretanto, 33% das mulheres de cada grupo apresentaram algum grau de aumento da densidade. Aumento significativo foi observado em somente 10% a 14% das mulheres de ambos os grupos, porém sem diferenças significativas entre os dois regimes de TH. A incidência e a extensão de mudança da densidade mamária não se mostraram diferentes com a baixa dose de TH contínua ou seqüencial combinada, não havendo variação com o tipo de progestágeno. A explicação por não ter havido um efeito mais pronunciado na densidade mamária de mulheres que utilizaram a TH contínua combinada em relação ao regime seqüencial deve-se ao fato de ter sido usada menor dosagem de E2 e de NETA. Em outros

estudos em que foram utilizadas dosagens maiores de E2/NETA (2mg/1mg) e EEC/AMP (0,625mg/5mg), quando se comparou a densidade mamária entre os grupos, esta foi maior entre as usuárias de E2/NETA, com 31,4% de aumento, em comparação a 11,8% no outro grupo (Junkermann et al., 2005).

Outro estudo clínico randomizado avaliou por seis meses, pelo método de Wolfe, os efeitos na densidade mamária de mulheres na pós-menopausa de dois regimes de TH contínuo combinado: 2mg de valerato de estradiol associado a 2mg de dienogest (E2V/DNG) ou 2mg de estradiol associado a 1g de acetato de noretisterona (E2/NETA). Foi realizada uma mamografia basal e outra após seis meses de tratamento. Após seis meses foi encontrado aumento da densidade em 50% das mulheres com o regime E2V/DNG, e em 68% das mulheres com E2/NETA. Todas as alterações foram consideradas significativas, porém não foram encontradas diferenças entre os grupos de tratamento. Além disso, a densidade mamográfica antes de se iniciar o tratamento apresentou correlação inversa com o índice de massa corporal. A mudança na densidade mamográfica durante o tratamento hormonal apresentou correlação positiva com o tempo de menopausa (Conner et al., 2004).

Um estudo prospectivo randomizado realizado em 2005 comparou a incidência do aumento da densidade mamária e mastalgia em mulheres na pós-menopausa em uso de terapia hormonal contínua transdérmica (E2 50µg + NETA 140µg) comparado com a terapia hormonal contínua via oral (E2 2mg + NETA 1mg). As mamografias foram realizadas em todas as mulheres 90 dias antes do início do estudo e um ano após o término. As alterações na densidade

mamária foram categorizadas de acordo com uma escala: 0 a 5% - sem alterações significativas; 5% a 14% - mínimo aumento; 15% a 24% - aumento moderado; \geq a 25% - aumento significativo. Da mesma forma, a queixa de mastalgia também foi avaliada, porém de forma subjetiva, no início do estudo e na 4^a, 12^a, 24^a e 48^a semanas. A média da densidade mamária no final do estudo foi significativamente menor nas mulheres usuárias de TH transdérmica (38,4%) comparadas às usuárias de TH via oral (46,9%). As usuárias de TH transdérmica também apresentaram menores variações de densidade mamária entre a mamografia basal e no final do estudo. Somente 2,6% das mulheres com TH transdérmica apresentaram aumento significativo da densidade mamária em comparação a 11,8% no grupo com TH via oral. A redução na frequência e magnitude do aumento de densidade mamária também interferiu na incidência de queixa de mastalgia, sendo observada em 36% no grupo com TH transdérmica e 57,6% no grupo com TH via oral (Harvey et al., 2005).

Em 2006, Christodoulakos et al. avaliaram os efeitos de três regimes diferentes de TH estroprogestativa na densidade mamária de mulheres na pós-menopausa. Os regimes utilizados foram EEC 0,625mg + AMP 5mg; 17 β estradiol 2mg + NETA 1mg; 17 β estradiol 1mg + NETA 0,5mg. Do total de 132 mulheres, 38 utilizaram o primeiro esquema de TH e 13,2% destas mostraram aumento da densidade mamária; 44 mulheres utilizaram o segundo esquema e destas 31,8% apresentaram aumento da densidade mamária. No último grupo apenas 12,2% apresentaram aumento da densidade. Fica claro que a TH com 2mg E2 + 1mg NETA teve efeito mais potente na densidade mamária em

relação aos outros dois regimes de TH. Sugere-se ainda a importância em relação à redução da dose utilizada para contrabalancear o efeito da associação com o progestágeno utilizado (Christodoulakos et al., 2006).

Analisando os resultados obtidos pelas avaliações da densidade mamográfica em mulheres na pós-menopausa, surge certa inquietação sobre o que representariam estes resultados se generalizados para as mulheres com falência ovariana prematura. Estas mulheres, freqüentemente tratadas com TH por tempo prolongado, sentem-se inseguras e questionam sobre o risco que assumem com a reposição hormonal. Da mesma forma, os médicos, sem embasamento científico, continuam realizando o tratamento sem o adequado conhecimento sobre o risco real, baseando seus argumentos nos artigos científicos realizados com mulheres na pós-menopausa. Generalizar os resultados de estudos em pacientes com menopausa na idade habitual para corrigir a deficiência estrogênica de mulheres com FOP é inadequado (Armitage et al., 2003). Desta forma, não há dados científicos que permitam responder com segurança e tranquilizar este grupo específico de mulheres.

Embasado nestes fatos, este estudo visa avaliar a densidade mamográfica das mulheres com falência ovariana prematura em uso de terapia hormonal estroprogestativa.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a densidade mamária de mulheres com falência ovariana prematura em uso de terapia hormonal estroprogestativa.

2.2. Objetivos específicos

ARTIGO 1

- Comparar a densidade mamária das mulheres com FOP, usuárias de reposição hormonal estroprogestativa com a de mulheres eumenorréicas de mesma idade.

ARTIGO 2

- Comparar a densidade mamária de mulheres com FOP em uso de reposição hormonal estroprogestativa com a de mulheres na pós menopausa, pareadas pelo tempo de uso de terapia hormonal.

3. Publicação

3.1. Artigo 1

De: gynendo
Para: pat.mags
Cópia: crislag
Data: 17/07/07 08:38
Assunto: GE3662

:

Dear Dr. Pinto,

please consider that we have received your manuscript entitled "**Breast density in women with premature ovarian failure using hormone therapy**".

It has been numbered as GE3662.

Please refer to this number in all future correspondance. The review process will begin as of now. You will be notified as soon as the Editor takes a decision regarding the suitability of your manuscript for publication in Gynecological Endocrinology. Thank you for your contribution.

Sincerely,
Giovanna Simi
Editorial assistant to Prof. A.R.Genazzani
Gynecological Endocrinology

Breast density in women with premature ovarian failure using hormone therapy

¹Benetti-Pinto CL, M.D., Ph.D., ¹Soares PM, M.D., ²Magna LA, M.D., Ph.D, ¹Petta, C.A, M.D., Ph.D, ¹Santos CC, M.D, Ph.D.

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.

² Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.

Key words: hormone therapy; mammography; Wolfe's classification; mammographic digitalization; breast density.

Address for correspondence:

Cristina Laguna Benetti-Pinto, M.D., Ph.D.

Rua Sacramento 1099

13023-185 Campinas, SP, Brazil.

Telephone: + (55-19) 3521-9306

E-mail: crislag@sigmanet.com.br

Abstract

Women with premature ovarian failure (POF) are treated with estrogen-progestin therapy; however, doubts remain regarding the effect of this therapy on the breasts of women with POF. **Objective:** To evaluate breast density of women with POF using estrogen-progestin therapy compared to normally menstruating women. **Methods:** A cross-sectional study was performed in 31 women with POF using conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate and a control group of 31 normally menstruating women, paired by age. All underwent mammography, analyzed by digitalization and Wolfe's classification and defined as: non-dense (N1 and P1) or dense (P2 and Dy). Parity, breast-feeding and body mass index were evaluated, as well as duration of hormone use and ovarian failure in the POF group. **Results:** Digitalization revealed no difference in mean breast density between the groups: $24.1\% \pm 14.6$ and $21.8\% \pm 11.3$ for POF and control groups, respectively. The Wolfe classification also failed to detect any significant difference between the groups (dense breasts being detected in 51.6% and 35.5% of cases in the POF and control groups, respectively). **Conclusion:** Periods of hypoestrogenism followed by hormone therapy resulted in no changes in breast density in women with POF compared to normally menstruating women of the same age.

Introduction

The breast is a hormone-dependent organ. Prior to the prepubertal phase, it is formed basically of ductal tissue. At puberty, the increase in estrogen and progesterone levels is associated with an increase in breast volume, which is histologically confirmed by an increase in the ductal, glandular and stromal elements. As menopause approaches, the proportion of the ductal and glandular elements is gradually substituted by breast stroma with fewer cells and by fatty tissue as a result of the lower estrogen and progesterone levels. When ovarian failure occurs and the gonadal hormones are no longer produced, the cyclic process of cell proliferation becomes quiescent and there is a regression of lobular tissue [1].

Loss of gonadal function in women under 40 years of age characterizes premature ovarian failure (POF) [2]. These women are more prone to health risks such as colorectal and ovarian cancer [2-5], osteoporosis [6], vasomotor symptoms, urogenital atrophy and impaired cognitive function [5].

Women with POF represent a challenge for gynecologists, since they require prolonged hormone therapy [7]; however, adherence to treatment has proven difficult and one of the factors that contribute towards the poor acceptance of therapy is concern with respect to the risk of breast cancer, particularly following the coverage in the lay-press of the link between breast cancer and hormone therapy (HT) in menopausal women [8-10].

Changes in breast density in the postmenopause, as detected by mammography, have been considered strong markers of breast cancer risk [11]. It is an independent risk factor of greater magnitude than the association of all other factors (age at birth of first child, parity, family history, history of benign breast disease, age, menarche, history of breastfeeding, age at ovarian failure and duration of HT use) [12-14].

To extrapolate the results of postmenopausal women to women with POF is inappropriate [7], principally in view of the large difference in age between these two groups. To the best of our knowledge, however, no specific studies have yet been carried out in women with POF.

Since clarification of the questions involving breast density and HT in women with POF may affect adherence of these women to hormone therapy, this study was carried out to analyze the breast density of women with POF in use of estrogen-progestin hormone therapy, and the results were compared with the breast density of normally menstruating women of the same age.

Methods

A cross-sectional pilot study was carried out in women receiving care at the Outpatient Department of Gynecological Endocrinology of the Department of Obstetrics and Gynecology, *Universidade Estadual de Campinas* (UNICAMP) between January and December 2005, who had received a diagnosis of POF (secondary amenorrhea with hypergonadotropic hypoenestrogenism and FSH >40 mUI/mL at two different moments) [15].

The study group consisted of 31 women with POF, 30-40 years of age, in use of HT consisting of 0.625 mg of conjugated equine estrogens (CEE) and medroxyprogesterone acetate (MPA), used cyclically or continuously for 12 months or more. Women with a history of any pathology and/or previous breast surgery, tobacco use > 20 cigarettes/day or BMI (kg/m²) >30 were excluded from the study.

The control group, consisting of 31 normally menstruating women (defined as menstrual cycles with intervals of 24-35 days) [16], paired by age to women in the study

group, were selected from women attending the family planning clinic of the same institution. Women who had not been using any hormonal contraception for the previous 12 months were eligible for the study. The same exclusion criteria that applied to the study group also applied to the control group; in addition, women with a delayed menstrual period, pregnant women and women who had used hormonal contraception for periods of more than 5 years were excluded from the study. The women in the two groups were submitted to mammography, which was evaluated and compared using mammographic digitalization [17] and classified according to Wolfe's patterns [18]; however, the data were stratified into only two groups: non-dense (N1 and P1) and dense breasts (P2 and Dy).

This study was approved by the Institutional Review Board of the Department of Obstetrics and Gynecology of UNICAMP and by the Ethics Committee of the School of Medicine, UNICAMP.

Mammography was carried out using a high resolution scanner, Mammomat 3000 Nova (Siemens®/Muenchen-Germany) with a Kodak® M35-M X-OMAT processor. Kodak® diagnostic films were used, and the left mid-lateral oblique incidence was used for digitalization.

The mammogram films were placed on a negatoscope-type apparatus and covered by a sheet of transparent, vegetable paper. The outlines of the images corresponding to the fibroglandular and fatty portions were sketched by a specialist in mammography. The areas with the same density as the pectoralis major muscle were considered to be fibroglandular, while the remainder was considered fatty tissue. The drawings were digitalized using a Hewlett Packard® scanner and an IBM 486 desktop computer (DX4, 8RAM, 540HD). Digitalization fragmented the figure into small areas referred to as pixels (picture elements). In the computer, the images were opened in an image editing software

program (Paintbrush[®], Microsoft[®]), in which the areas corresponding to the fatty or fibroglandular areas were colored light grey for the fatty areas and black for the fibroglandular areas. A numerical value of 250 was attributed to the light grey areas and zero to the black. The images were evaluated using the Matlab4[®] software program by a specialist in physics to quantify the percentage of glandular tissue in relation to the total volume of the breast, resulting in the dependent variable of breast density.

Evaluation of breast density was also carried out according to Wolfe's classification; however, subdivided into only two categories: non-dense (patterns N1 and P1; i.e. fibroglandular tissue accounting for <25% of the breast volume in the left mid-lateral oblique incidence) and dense (patterns P2 and Dy; i.e. fibroglandular tissue accounting for ≥25% of the breast volume in the left mid-lateral oblique incidence).

The specialist in mammography and the physicist who performed the analyses were blinded with respect to the groups.

For the analysis of the variables age, parity and BMI, means and standard deviations were calculated. For the comparison of breast density between groups (digitalization technique), the ANOVA test was used. Student's t-test for independent groups was used, as well as the Mann-Whitney non-parametric test. For analysis of the Wolfe classification patterns, stratified into two categories, proportions were compared using the Chi-square test in contingency tables [19]. Significance level was established at 5%. The software used for the statistical analysis was SPSS, version 15.0 for Windows 2006.

Results

The mean age of the women with POF and the normally menstruating women, paired by age, was 36.9 ± 2.9 years. Women in the study group had undergone ovarian failure a mean of 85.9 ± 44 months prior to the study; however, they had been using hormones for approximately 50.3 ± 39 months. There was no difference between the groups with respect to BMI (kg/m^2), mean BMI being 24.1 ± 3.2 in the POF group and 25.7 ± 2.8 in the control group ($p=0.62$), or number of pregnancies (1.5 ± 1.7) in the POF group and 2.0 ± 1.3 in the control group. Breastfeeding was less frequent in the group of women with POF compared to the normally menstruating women (54.8% and 80.6%, respectively), and this difference was statistically significant ($p=0.009$).

According to the digitalization method, there was no statistically significant difference in breast density between the groups ($p=0.50$), the percentage of density being $24.1 \pm 14.6\%$ in the POF group and $21.8 \pm 11.3\%$ in the control group. According to the Wolfe classification, stratified into two categories (non-dense: fibroglandular tissue occupying $<25\%$ of the area of the breast; and dense: fibroglandular tissue occupying an area $\geq 25\%$ of the breast), there was also no statistically significant difference in the percentage of dense breasts between the two groups ($p=0.171$), (Table 1).

Discussion

Concern with respect to breast cancer has caused women with POF to avoid using hormone therapy following publication of observational and clinical studies in postmenopausal women that associated the use of estrogen-progestin hormone therapy with a

significant increase in breast density and breast cancer [8, 20-26]. Following an extensive computerized review of the literature, we were unable to find any studies evaluating breast density in women with POF; therefore, to the best of our knowledge, the impact of the prolonged use of hormones on the breasts of these women remains unknown [7].

This is the first study of which we are aware that has quantified the breast density of women with POF in use of estrogen-progestin therapy. Pairing these women with normally menstruating women of the same age is justified because this technique enables a comparison to be made between the impact of exogenous hormones on the breast and that of the endogenous hormones produced by women with normal ovarian function.

A hasty analysis may suggest that, since hormone therapy was only initiated following a period of hypoestrogenism (time since diagnosis of POF: $85,9 \pm 44$ months; use of HT $50,3 \pm 39$ months) and since the dose and the circulating levels of hormones administered for the treatment of POF are lower than the levels achieved when endogenous hormones are used, the stimulus on the breasts would, therefore, be lower and the resulting density also lower. However, the present findings refute this hypothesis, since breast density evaluated either objectively, using the digitalization method, or subjectively, using Wolfe's classification, showed similar results in women with POF ($24.1 \pm 14.6\%$) and in normally menstruating women ($21.8 \pm 11.3\%$).

Considering that breast density is a strong independent marker of risk for breast cancer [11], and that increased density hampers mammographic interpretation, it may be inferred from these findings that there was no statistically significant difference in the breast density of women with early ovarian failure who used conjugated equine estrogens combined with medroxyprogesterone acetate for 50.3 ± 39 months compared to women with normal ovarian function.

There was no difference between the two groups with respect to the protective factor of parity; however, breastfeeding, which reduces breast density [27], was less frequent in women with POF.

With respect to the other factors analyzed that may have altered breast density, it was found that, although pregnancy was slightly higher in the normally menstruating women compared to the women with POF, this difference was not statistically significant. Breast feeding, a factor that may reduce breast density, was less frequent in the group of women with POF ($p=0.04$).

The relationship between BMI and breast cancer has been debated in the literature. $BMI > 35 \text{ Kg/m}^2$ is considered a risk factor for breast cancer; however, shorter, heavier women tend to have lower breast density compared to tall, thin women [28]. In this study, we opted to include women with $BMI \leq 30 \text{ kg/m}^2$. The BMI of the study and control groups was 24.1 ± 3.2 and 25.7 ± 2.8 , respectively, and this difference wasn't statistically significant ($p=0,62$).

The two groups were composed of women of 30-40 years of age, an age-group in which the breast density of normally menstruating women may be declining. Women with POF receive steady, constant doses of hormones. The prospective action of these hormones on the breasts remains unknown.

Although this study was carried out in a small sample and despite the fact that it is a cross-sectional study, it is important because it is perhaps the first study to demonstrate that estrogen-progestin therapy with CEE+MPA does not alter breast density in women with POF up to 40 years of age, raising questions that will lead to the design of new prospective studies with different hormone combinations. At the moment, however, these findings comprise the first scientific evidence that the periods

of hypoestrogenism and later estrogen-progestin replacement do not result in any changes in breast density in women with POF compared to normally menstruating women of the same age.

Acknowledgment: The authors would like to thank Mr. Eduardo Tinois, who collaborated with us by translating medical data into physics.

References

- [1] Harvey JA, Bovbjerg VE. Quantitative assessment of mammographic breast density: relationship with breast cancer risk. *Radiology* 2004;230:29-41.
- [2] Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB, Santoro N. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. *Hum Reprod* 2003;18:199-206.
- [3] Cramer DW. Epidemiologic aspects of early menopause and ovarian cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1990;592:363-75.
- [4] Cooper GS, Sandler DP. Age at natural menopause and mortality. *Ann Epidemiol* 1998;8:229-35.
- [5] Bachmann GA. Androgen cotherapy in menopause: evolving benefits and challenges. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(3Pt2):S312-6.
- [6] Harlow BL, Signorello LB. Factors associated with early menopause. *Maturitas* 2000;35:3-9.
- [7] Armitage M, Nooney J, Evans S. Recent concerns surrounding HRT. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59:145-55.

- [8] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormone replacement therapy: Collaborative analyses of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* 1997;350(9084):1047-59.
- [9] [9] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321-33
- [10] Beral V; Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419- 27.
- [11] Warren R. Hormones and mammographic breast density. *Maturitas* 2004;49:67-78.
- [12] El-Bastawissi AY, White E, Mandelson MT, Taplin SH. Reproductive and hormonal factors associated with mammographic breast density by age (United States). *Cancer Causes Control* 2000;11:955-63.
- [13] Vachon CM, Kuni CC, Anderson K, Anderson VE, Sellers TA. Association of mammographically defined percent breast density with epidemiologic risk factors for breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2000;11(7):653-62.
- [14] Speroff L. The meaning of mammographic breast density in users of postmenopausal hormone therapy. *Maturitas* 2002;41:171-5.
- [15] de Moraes-Ruehsen M, Jones GS. Premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1967;18:440-61.
- [16] Treloar AE, Boynton RE, Behn BG, Brown BW. Variation of the human menstrual cycle through reproductive life. *Int J Fertil* 1967;12:77-126.
- [17] Cymberknoh M. Mamografia Digital. In: Dias EN, Caleffi M, Silva HMS, Figueira-Filho ASS, editors. *Mastologia Atual*. Rio de Janeiro: Revinter; 1994. p 75-8.

- [18] Wolfe JN, Albert S, Belle S, Salane M. Breast parenchymal patterns and their relationship to risk for having or developing carcinoma. *Radiol Clin North Am* 1983;21(1):127-36.
- [19] Altman DG. *Statistics for medical research*. London: Chapman and Hall; 1987. p 396-439.
- [20] Laya MB, Gallagher JC, Schreiman JS, Larson EB, Watson P, Weinstein L. Effect of postmenopausal hormonal replacement therapy on mammographic density and parenchymal pattern. *Radiology* 1995;196:433-7.
- [21] Marugg RC, van der Mooren MJ, Hendriks JH, Rolland R, Ruijs SH. Mammographic changes in postmenopausal women on hormonal replacement therapy. *Eur Radiol* 1997;7:749-55.
- [22] Santos CC, Pinto-Neto AM, Costa-Paiva LHS, Brenelli HB. Efeitos da terapia hormonal na densidade mamográfica de mulheres na pós-menopausa. *Reprod Clim* 1998;13(2):117-22.
- [23] Sterns EE, Zee B. Mammographic density changes in perimenopausal and postmenopausal women: is effect of hormone replacement therapy predictable? *Breast Cancer Res Treat* 2000;59:125-32.
- [24] Koukoulis GN. Hormone replacement therapy and breast cancer risk. *Ann N Y Acad Sci* 2000;900:422-8.
- [25] Lundström E, Wilczek B, von Palffy Z, Söderqvist G, von Schoultz B. Mammographic breast density during hormone replacement therapy: effects of continuous combination, unopposed transdermal and low potency estrogen regimens. *Climateric* 2001;4:42-8.

- [26] Christodoulakos GE, Lambrinouadaki IV, Vourtsi AD, Vlachou S, Creatsa M, Panoulis KP, Botsis D. The effect of low dose hormone therapy on mammographic breast density. *Maturitas* 2006;54:78-85.
- [27] van Gils CH, Hendriks JH, Otten JD, Holland R, Verbeek AL. Parity and mammographic breast density in relation to breast cancer risk: indication of interaction. *Eur J Cancer Prev* 2000;9:105-11.
- [28] Brisson J, Morrison AS, Kopans DB, Sadowsky NL, Kalisher L, Twaddle JA, Meyer JE, Henschke CI, Cole P. Height and weight, mammographic features of breast tissue, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1984;119(3):371-81.

Table 1: Breast density according to the digitalization method and to Wolfe's classification in women with POF and normally menstruating women (control group) (n=31 in each group).

	POF		Controls		
Breast density according to mammographic digitalization method					
	Mean	SD	Mean	SD	p-value
% Breast density	24.1	14.6	21.8	11.3	0.50 ^{&}
Breast density according to Wolfe's classification					
% non-dense	48.4		64.5		0.171*
% dense	51.6		35.5		

p-value < 0.05

& Student's t-test

* Chi-squared test (χ^2)

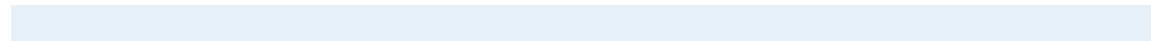
3.2. Artigo 2

Data: 20/07/07 09:53

De: [Maturitas](#)

Para: pat.mags@terra.com.br

Assunto: A manuscript number has been assigned to your submission



Dear Dra. Soares,

Your submission entitled "Hormone therapy and breast density in women with premature ovarian failure and menopausal women" has been assigned the following manuscript number: MAT-D-07-00119.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author.

The URL is <http://ees.elsevier.com/mat/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Prof. Peter Kenemans
Editor in Chief
Maturitas

Hormone therapy and breast density in women with premature ovarian failure and menopausal women.

¹Soares PM, M.D., ¹Santos CC, M.D., Ph.D., ¹Petta, C.A, M.D., Ph.D., ²Magna LA, M.D., Ph.D, ¹ Benetti-Pinto CL, M.D., Ph.D.

- ¹. Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.
- ². Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.

Address for correspondence:

Cristina Laguna Benetti-Pinto

Rua Sacramento 1099

13023-185 Campinas, SP, Brazil

Telephone: +(55-19) 3521-9306

E-mail: crislag@sigmanet.com.br

Abstract

Objective: The objective of this study was to evaluate the effects of estrogen-progestin hormone replacement therapy on the breast density of women with premature ovarian failure (POF) compared to that of postmenopausal women. **Methods:** A cross-sectional study was carried out in 31 women with POF using estrogen-progestin hormone therapy consisting of conjugated equine estrogens combined with medroxyprogesterone acetate, and 31 postmenopausal women using the same hormone therapy, paired for time of hormone use. Mammography was carried out in all women and analyzed by digitalization and according to the Wolfe classification, but stratified into only two categories: non-dense (patterns N1 and P1) and dense (patterns P2 and Dy). Other variables evaluated were: duration of ovarian failure, parity, breastfeeding and body mass index (BMI). **Results:** No statistically significant differences were found in breast density between the two groups either when analyzed by digitalization or according to the Wolfe classification. Digitalization calculated a mean breast density of $24.1\% \pm 14.6$ and $18.1\% \pm 17.2$ in the POF and postmenopausal groups, respectively ($p=0.15$), while the Wolfe classification identified dense breasts in 51.6% and 29.0% of the POF and postmenopausal groups, respectively ($p=0.171$). **Conclusion:** There was no statistically significant difference in the breast density of the women with POF compared to the postmenopausal women, who had used conjugated equine estrogens combined with medroxyprogesterone acetate for similar periods of time.

Key words: hormone therapy; mammography; Wolfe's classification; mammographic digitalization; breast density.

Introduction

Studies carried out in postmenopausal women have shown an increase in the risk of breast cancer related to the type of hormone therapy (HT) used and the duration of use [1-7]. It is still under debate whether HT causes a reduction in the sensitivity and specificity of mammographic screening as a result of the increase in breast density [8-10]. The absolute risk for a postmenopausal woman using estrogen-progestin HT of developing breast cancer, individually, is very low (an increase of 8 cases per 10,000 women annually); however, the cumulative effect has greater repercussions and is not considered insignificant in the case of prolonged use [11].

Women with premature ovarian failure (POF) represent a challenge since they require prolonged hormone therapy in view of their early loss of gonadal function; however, little is known with respect to the impact of prolonged HT use on the breasts of these women [11]. Concern with breast cancer represents one of the most frequent causes of discontinuation of HT [12].

Recently, changes in breast density in the postmenopause, evaluated by mammography, have been considered a strong marker of risk for breast cancer. Breast density has been shown to reveal information on the exposure to endogenous and exogenous hormones that affect the environment in which cancer originates and develops [10]. Various studies have shown that women with denser breasts have a 2-6-fold higher risk of developing cancer compared to women with less dense breasts [13-17].

Much has been published in the literature linking HT and breast density in postmenopausal women [7,18-23]; however, to the best of our knowledge, no papers

have been published on the evaluation of the breast density of women with POF, who are frequently treated with HT in the same way as postmenopausal women.

Considering the scientific evidence, the questions regarding the effect of estrogen-progestin hormone therapy on breast density in the postmenopause and the lack of information with respect to this subject in women with premature ovarian failure, a study was carried out to compare the breast density of women with POF in use of estrogen-progestin HT to the breast density of postmenopausal women using the same type of HT for similar lengths of time.

Material and Methods

This cross-sectional pilot study evaluated 31 women 30-40 years of age receiving care at the outpatient clinic of Gynecological Endocrinology of the Department of Obstetrics and Gynecology, *Universidade Estadual de Campinas* (UNICAMP), with a diagnosis of POF (secondary amenorrhea with hypergonadotropic hypoenestrogenism, with FSH > 40mIU/mL at two different moments) [24], who had been using an estrogen-progestin HT regimen composed of 0.625 mg conjugated equine estrogens (CEE) combined with medroxyprogesterone acetate (MPA), cyclically or continuously, for at least 12 months. Women who had some form of pathology and/or had been submitted to previous breast surgery, women who smoked more than 20 cigarettes/day and those with body mass index (BMI) > 30 kg/m² were excluded from the study. This group was compared to a control group of 31 postmenopausal women using the same hormone therapy in a cyclic or continuous regime, paired with women in the study group for duration of hormone use (\pm 11 months). These women were selected from the Menopause Clinic of the Department of

Obstetrics and Gynecology, *Universidade Estadual de Campinas* (UNICAMP). Women over 50 years of age in whom menopause had been diagnosed at least 12 months previously were eligible for inclusion in the study. Exclusion criteria were identical to those of the study group. All women in both groups were submitted to mammography, analyzed and compared using the techniques of mammographic digitalization [25] and according to the Wolfe classification [26]; however, patients were stratified into only two groups: non-dense breasts (N1 and P1 patterns) and dense breasts (P2 and Dy patterns).

The study protocol was approved by the Institutional Review Board of the Department of Obstetrics and Gynecology, *Universidade Estadual de Campinas*, and by the Ethics Committee of the School of Medicine, *Universidade Estadual de Campinas*.

Mammography was carried out using a high resolution scanner, Mammomat 3000 Nova (Siemens®/Muenchen-Germany) with a Kodak® M35-M X-OMAT processor. Kodak® diagnostic films were used, and the left mid-lateral oblique incidence was used for digitalization.

The mammogram films were placed on a negatoscope-type apparatus and covered by a sheet of transparent, vegetable paper. The outlines of the images corresponding to the fibroglandular and fatty portions were sketched by a specialist in mammography. The areas with the same density as the pectoralis major muscle were considered to be fibroglandular, while the remainder was considered fatty tissue. The drawings were digitalized using a Hewlett Packard® scanner and an IBM 486 desktop computer (DX4, 8RAM, 540HD). Digitalization fragmented the figure into small areas referred to as pixels (picture elements). In the computer, the images were opened in an image editing software program (Paintbrush®, Microsoft®), in which the areas corresponding to the fatty or fibroglandular areas were colored light grey for the fatty areas and black for the

fibroglandular areas. A numerical value of 250 was attributed to the light grey areas and zero to the black. The images were evaluated using the Matlab4[®] software program by a specialist in physics to quantify the percentage of glandular tissue in relation to the total volume of the breast, resulting in the dependent variable of breast density.

Evaluation of breast density was also carried out according to Wolfe's classification; however, subdivided into only two categories: non-dense (patterns N1 and P1; i.e. fibroglandular tissue accounting for <25% of the breast volume in the left mid-lateral oblique incidence) and dense (patterns P2 and Dy; i.e. fibroglandular tissue accounting for ≥25% of the breast in the left mid-lateral oblique incidence).

The specialist in mammography and the physicist who performed the analyses were blinded with respect to the groups.

Means and standard deviations were calculated to analyze the variables of age, parity and BMI. For the comparison of breast density between groups (digitalization technique), the ANOVA test was used. Student's t-test for independent groups was used, as well as the Mann-Whitney non-parametric test. For analysis of the Wolfe classification, stratified into two categories, proportions were compared using the Chi-square test in contingency tables [27]. Significance level was established at 5%. The software used for the statistical analysis was SPSS, version 15.0 for Windows 2006.

Results

The mean age of the women with POF was 36.9 ± 2.9 years and the mean age of the postmenopausal women was 58.4 ± 5.1 years. The two groups were paired according to

the duration of hormone therapy use (± 11 months). Hormone therapy (CEE + MPA) had been used for a mean of 50.3 ± 39.0 months by women in the POF group and for a mean of 50.1 ± 38.4 months by the women in the postmenopausal control group. There was no statistically significant difference in duration of HT use between the two groups ($p=0.98$). The mean time since diagnosis of POF was 85.9 ± 44.4 months, whereas the mean time since diagnosis of menopause was 117.7 ± 57.6 months.

With respect to the other parameters evaluated, women with POF had had fewer pregnancies compared to the postmenopausal women (1.5 ± 1.7 and 3.7 ± 2.6 pregnancies, respectively, $p<0.001$) and fewer women in this group had breastfed compared to women in the control group (54.8% of the women with POF and 81.7% of the control group, $p=0.005$).

Although women with BMI > 30 kg/m² had been excluded from enrollment in the study, the difference in BMI between the group with POF (24.1 ± 3.2) and the control group (25.8 ± 3.3) was statistically significant ($p=0.04$).

The percentage of breast density analyzed using mammographic digitalization was $24.1 \pm 14.6\%$ in the POF group and $18.1 \pm 17.2\%$ in the control group. This difference was not statistically significant ($p=0.15$). The Wolfe classification, stratified into two sub-groups (non-dense: fibroglandular tissue occupying an area $< 25\%$ of the breast; and dense: fibroglandular tissue occupying an area $\geq 25\%$ of the breast) also failed to detect any statistically significant difference in breast density between the two groups, although 51.6% of the women with POF had dense breasts compared to only 29% of the postmenopausal group ($p=0.171$) (Table 1).

Discussion

No difference was found in breast density between the women with POF and the postmenopausal women using hormone therapy with conjugated equine estrogens and medroxyprogesterone acetate for similar periods of time, either when analyzed objectively using digitalization or subjectively according to the Wolfe classification; however, in both groups, the percentage of fibroglandular tissue in respect to the total area of the breast was low ($24.1 \pm 14.6\%$ and $18.1 \pm 17.2\%$, respectively).

In the POF group, composed of younger women (mean age 36.9 ± 2.9 years), the mean time since gonadal failure was shorter than that of the control group. Other factors that could have protectively contributed towards the reduction in breast density were in fact less frequent in the POF group, in which women had undergone fewer pregnancies and fewer women had breastfed. Despite these characteristics, breast density in the study group was no different from that of the control group.

This study does not permit conclusions to be made regarding the causes of this finding, but one hypothesis may be that the hypoestrogenism following gonadal failure, which would cause a regression in fibroglandular tissue and its progressive substitution by fatty tissue [18,20], when present at a younger age, may have greater repercussions in reducing breast density.

A concern with increased breast density resulting from estrogen-progestin replacement therapy refers to impaired mammographic sensitivity and specificity, resulting in a higher number of false-positive results, since the dense glandular tissue tends to make identification of tumorous masses more difficult [9,10], compromising the early diagnosis of breast cancer [8].

Hormone therapy is known to increase the density of the breast parenchyma; however, not in the majority of women [18,20,22,28], and this stimulus is also known to vary according to the type of hormone therapy used. In view of these factors, the groups were paired for duration of HT use and for the type of hormone used (CEE + MPA); however, pairing for exclusively cyclic or continuous use was not possible, since younger women with POF often want to menstruate, whereas postmenopausal women prefer continuous regimes to avoid bleeding.

Although age has been shown to have an inverse correlation with breast density [29], this association was not found in the study group compared to the control group of postmenopausal women. Although women in the study group were younger, their breast density was similar to that of the older postmenopausal women.

No significant difference was found in breast density between the two groups in this study, despite the fact that the groups have such different characteristics, which encourages us to proceed with designing new, prospective studies involving correlated data that would permit a more precise control of the variables that affect each woman participating in the study.

Although this is a pilot study, its findings are important because this is the first paper reporting on the effects of estrogen-progestin HT on the breast density of women with POF compared to that of postmenopausal women using the same type of HT for similar periods of time. The findings of this study may serve to eliminate some of the concerns of young users of this form of hormone therapy.

Acknowledgment: The authors are grateful to Mr. Eduardo Tinois for his collaboration in translating the medical language of this paper into physics.

References

- [1] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321-33.
- [2] Beral V; Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419-27.
- [3] Conner P, Svane G, Azavedo E, et al. Mammographic breast density, hormones and growth factors during continuous combined hormone therapy. *Fertil Steril* 2004; 81: 1617-23.
- [4] Chen FP, Cheung YC, Teng LF, Soong YK. The relationship between mammographic density and duration of hormone therapy: effects of estrogen and estrogen-progestin. *Human Reprod* 2005; 20(6):1741-5.
- [5] Harvey J, Scheurer C, Kawakami FT, Quebe-Fehling E, de Palacios PI, Ragavan VV. Hormone replacement therapy and breast density changes. *Climacteric* 2005; 8: 185-92.
- [6] Junkermann H, von Holst T, Lang E, Rakov V. Influence of different HRT regimens on mammographic density. *Maturitas* 2005; 50:105-10.
- [7] Christodoulakos GE, Lambrinouadaki IV, Vourtsi AD, et al. The effect of low dose hormone therapy on mammographic breast density. *Maturitas* 2006; 54: 78-85.
- [8] Kavanagh AM, Mitchell H, Giles GG. Hormone replacement therapy and accuracy of mammographic screening. *Lancet* 2000; 355(9200): 270-4.

- [9] Banks E. Hormone replacement therapy and the sensitivity and specificity of breast cancer screening: a review. *J Med Screen* 2001; 8(1): 29-34.
- [10] Warren R. Hormones and mammographic breast density. *Maturitas* 2004; 49: 67-78.
- [11] Armitage M, Nooney J, Evans S. Recent concerns surrounding HRT. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59: 145-55.
- [12] Mann RD. Hormone replacement therapy and breast cancer risk: studies of the last fifteen years. In: Mann RD. *Hormone replacement therapy and breast cancer*. London: Taylor and Francis, 1992; 1-13.
- [13] Boyd NF, Byng JW, Jong RA et al. Quantitative classification of mammographic densities and breast cancer risk: results from the Canadian National Breast Screening Study. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 670-5.
- [14] Byrne C, Schairer C, Wolfe J, et al. Mammographic features and breast cancer risk: effects with time, age and menopause status. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1622-9.
- [15] Maskarinec G, Meng L. A case-control study of mammographic densities in Hawaii. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 63: 153-61.
- [16] Vachon CM, Kuni CC, Anderson K, Anderson VE, Sellers TA. Association of mammographically defined percent breast density with epidemiologic risk factors for breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2000; 11(7): 653-62.
- [17] Noh JJ, Maskarinec G, Pagano I, Cheung LW, Stanczyk FZ. Mammographic densities and circulating hormones: a cross-sectional study in premenopausal women. *Breast* 2006; 15: 20-8.

- [18] Laya MB, Gallagher JC, Schreiman JS, Larson EB, Watson P, Weinstein L. Effect of postmenopausal hormonal replacement therapy on mammographic density and parenchymal pattern. *Radiology* 1995; 196: 433-7.
- [19] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350: 1047-59.
- [20] Marugg RC, van der Mooren MJ, Hendriks JH, Rolland R, Ruijs SH. Mammographic changes in postmenopausal women on hormonal replacement therapy. *Eur Radiol* 1997; 7: 749-55.
- [21] Koukoulis GN. Hormone replacement therapy and breast cancer risk. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 900: 422-8.
- [22] Lundström E, Wilczek B, von Palffy Z, Söderqvist G, von Schoultz B. Mammographic breast density during hormone replacement therapy: effects of continuous combination, unopposed transdermal and low-potency estrogen regimens. *Climacteric* 2001; 4: 42-8.
- [23] Greendale GA, Palla SL, Ursin G, et al. The association of endogenous sex steroids and sex steroid binding proteins with mammographic density: results from the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions Mammographic Density Study. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 826-34.
- [24] de Moraes-Ruehsen M, Jones GS. Premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1967; 18: 440-61.

- [25] Cymberknoh M. Mamografia Digital. In: Dias EN, Caleffi M, Silva HMS, Figueira-Filho ASS, eds. Mastologia Atual. Rio de Janeiro: Revinter, 1994; 75- 8.
- [26] Wolfe JN. Breast patterns as an index of risk for developing breast cancer. AJR Am J Roentgenol 1976; 126: 1130-37.
- [27] Altman DG. Statistics for medical research. London: Chapman and Hall, 1987; 396-439.
- [28] Persson I, Thurfjell E, Holmberg L. Effect of estrogen and estrogen-progestin replacement regimens on mammographic breast parenchymal density. J Clin Oncol 1997; 15: 3201-7.
- [29] Harvey JA, Bovbjerg VE. Quantitative assessment of mammographic breast density: relationship with breast cancer risk. Radiology 2004; 230: 29-41.

Table 1: Breast density of women with POF and postmenopausal women (n=31 in each group) analyzed according to digitalization and Wolfe’s classification.

Breast density according to mammographic digitalization					
	POF		Postmenopausal (Controls)		
	Mean	SD	Mean	SD	p-value
% Breast density	24.1	14.6	18.1	17.2	0.15 ^{&}
Breast density according to Wolfe’s classification					
% non-dense	48.4		71.0		0.171*
% dense	51.6		29.0		0.171*

p-value < 0.05

& Student’s t-test

* Chi-square test (χ^2)

4. Discussão

A densidade mamária tem sido considerada forte marcador de risco para câncer de mama (Warren, 2004). Inúmeros estudos realizados em mulheres na pós-menopausa, a respeito das alterações do parênquima mamário, mostraram que a terapia hormonal acarreta aumento da densidade mamária. Entretanto, não se pode afirmar que este aumento sempre ocorra. Existe a dependência do regime hormonal, dose e forma de administração utilizada (Laya et al., 1995; Marugg et al., 1997; Persson et al., 1997; Sterns e Zee, 2000; Lundstron et al., 2001).

A avaliação da densidade mamográfica pode ser realizada pelo método subjetivo, como o Método de Wolfe e, objetivo, como o Método de digitalização mamográfica (mamografia digital indireta) (Wolfe, 1976; Cymberknoh, 1994; Santos et al., 1998). O método de Wolfe, nos estudos científicos, vem sendo substituído pelo método da digitalização mamográfica por ser um método objetivo, o que o torna mais seguro e confiável (Cymberknoh, 1994; Santos et al., 1998; Harvey et al., 2005; Noh et al., 2006). Neste estudo utilizamos os dois métodos de avaliação e observamos que ambos os métodos apresentaram resultados semelhantes, sem diferença estatisticamente significativa.

Sabe-se que a densidade mamária sofre interferência de alguns fatores como idade, paridade, antecedente de amamentação e tempo de terapia hormonal (El-Bastawissi et al., 2000; Vachon et al., 2000; Speroff, 2001). Diante disso, cada grupo de mulheres foi pareado de acordo com o objetivo do que se desejava avaliar. O grupo de mulheres com FOP, usuárias de terapia de reposição hormonal estroprogestativa, foi pareado pela idade com mulheres eumenorréicas sem métodos hormonais, com a finalidade de analisar a interferência do período de hipostrogenismo conseqüente à falência gonadal e posterior reposição hormonal em relação às mulheres com produção hormonal endógena adequada. Mulheres com falência gonadal precoce tiveram ação hormonal sobre as mamas por tempo reduzido, podendo acarretar involução do tecido fibroglandular mamário. Porém, o uso da terapia hormonal age sobre as porções glandulares, ativando-as e fazendo com que a densidade mamária tenda a aumentar. Em contrapartida, mulheres jovens eumenorréicas com função gonadal preservada produzem hormônios endógenos adequadamente, com ação fisiológica sobre as mamas.

Tendo em vista que a terapia hormonal fornecida às mulheres com FOP é composta por doses fixas e constantes e que a concentração hormonal presente no sangue destas mulheres é menor que a de mulheres com função gonadal preservada poderia-se esperar que a densidade das mamas das mulheres com FOP fosse menor que a das eumenorréicas. Porém, não observamos alterações significativas nas densidades mamárias entre os dois grupos. Deve-se considerar que os dois grupos foram compostos por mulheres com idades entre 30 e 40 anos, média de 36,9 anos, e que nesta faixa etária o grupo de mulheres eumenorréicas

poderia ter sua densidade mamária em declínio. Os dois grupos também não diferiram quanto ao fator protetor paridade, porém a amamentação, que poderia reduzir a densidade mamária, esteve menos presente entre as mulheres com FOP (Van Gils et al., 2000). Estes dados levantam questionamentos do que ocorreria na comparação destes grupos em idade mais próxima da menopausa, quando as mulheres com FOP continuariam recebendo doses fixas e constantes de hormônios, enquanto o grupo de controle apresentaria redução da produção hormonal ovariana.

O grupo de mulheres com FOP foi ainda comparado ao das mulheres na pós-menopausa, pareadas pelo tempo de uso de terapia hormonal estroprogestativa (± 11 meses), com o intuito de comparar a atuação do mesmo tipo de hormônio sobre a densidade mamária dos dois grupos. Analisando alguns fatores protetores para a diminuição da densidade mamária, estes foram desfavoráveis para o grupo de mulheres com FOP, uma vez que apresentaram taxas de gravidez e de amamentação menores que as do o grupo de mulheres na pós-menopausa.

Os resultados deste estudo não apontaram diferença significativa entre as densidades mamárias dos três grupos, mesmo apresentando características tão distintas. Considerando o método de digitalização da imagem mamográfica como objetivo e com menor índice de falha (Marias et al., 2004), os três grupos apresentaram percentual de densidade mamária baixo em relação ao volume total das mamas (24,1% (DP \pm 14,6) para FOP; 21,8% (DP \pm 11,3) para eumenorréica e 18,1% (DP \pm 17,2) para pós-menopausa. Talvez isto seja um reflexo da faixa etária das mulheres com FOP e eumenorréicas (36,9 (DP \pm 2,9) anos), o que estimularia a continuidade da pesquisa através de estudos prospectivos em diferentes faixas etárias.

Sob nosso ponto de vista, este trabalho apresenta uma contribuição para a literatura científica por apresentar metodologia adequada e atual na avaliação das mamografias pela técnica de digitalização, sendo realizada de forma cega, fornecendo respostas até então desconhecidas sobre a densidade mamária na FOP.

Entretanto, observamos algumas limitações. Dentre elas o fato de ser um estudo do tipo corte transversal com capacidade analítica menor e amostragem pequena de mulheres com FOP, por tratar-se de patologia de baixa incidência, e, para a realização de um pareamento adequado, a exclusão de muitas mulheres.

Embora este seja um estudo inicial, ele tem o mérito de ser talvez o primeiro a estudar a densidade mamária de mulheres com FOP. Consideramos que o esclarecimento de questões envolvendo densidade mamária e terapia hormonal neste grupo seja de fundamental importância, pois estas conclusões poderiam influenciar na aderência destas mulheres ao tratamento, além de fornecer dados científicos aos médicos.

5. Conclusões

ARTIGO 1

- A densidade mamária de mulheres com FOP usuárias de terapia hormonal estroprogestativa não diferiu da densidade mamária de mulheres eumenorréicas de mesma idade sem métodos hormonais.

ARTIGO 2

- Não houve diferença significativa entre as densidades mamárias de mulheres com FOP e de mulheres na pós-menopausa, ambas usuárias de terapia hormonal estroprogestativa, pareadas pelo tempo de reposição hormonal.

6. Referências Bibliográficas

Armitage M, Nooney J, Evans S. Recent concerns surrounding HRT. *Clin Endocrinol* 2003; 59:145-55.

Bachmann GA. Androgen cotherapy in menopause involving benefits and challenges. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180:307-11.

Banks E. Hormone replacement therapy and the sensitivity and specificity of breast cancer screening: a review. *J Med Sceen* 2001; 8:29-34.

Beral V, Bull D, Doll R, et al. Breast cancer and hormone replacement therapy; collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350:1047-59.

Boyd NF, O'Sullivan B, Fishell E, Simor I, Cooke G. Mammographic patterns and breast cancer risk: Methodologic Standards and contradictory results. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72:1253- 9.

Boyd NF, Wolfson C, Moskowitz M, Carlile T, Petitclerc C, Ferri HA, et al. Observer variation in the classification of mammographic parenchymal pattern. *J Chronic Dis* 1986; 39:465- 72.

Boyd NF, Byng JW, Jong RA, Fishell EK, Miller AB, et al. Quantitative classification of mammographic densities and breast cancer risk: results from the Canadian National Breast Screening Study. **J Natl Cancer Inst** 1995; 87:1622- 9.

Boyd NF, Lockwood GA, Martin LJ, Knight JA, Jong RA, Fishell E, et al. Mammographic densities and risk of breast cancer among subjects with a family history of this disease. **J Natl Cancer Inst** 1999; 91: 1404- 8.

Brisson J, Morrison AS, Kopans DB, Sadowsky NL, Kalisher L, Twaddle JA, et al. Height and weight mammographic features of breast tissue and breast cancer risk. **Am J Epidemiol** 1984; 119: 371- 81.

Byng JW, Yaffe MJ, Jong RA, Shumak RS, Lockwood GA, Tritchler DL et al. Analysis of mammographic density and breast cancer risk from digitized mammograms. **Radiographics** 1998. 18:1587- 98.

Byrne C, Schairer C, Wolfe J, Parekh N, Salane M, Brinton LA, et al. Mammographic features and breast cancer risk: effects with time, age and menopause status. **J Natl Cancer Inst** 1995; 87:1622- 9.

Carlile T, Thompson DJ, Kopecky KJ, Giebert FI, Krook PM, Present AJ et al. Reproducibility and consistency in classification of breast parenchymal patterns. **AJR Am J Roentgenol** 1983; 45:185- 93.

Chen FP, Cheung YC, Teng LF, Soong YK. The relationship between mammographic density and duration of hormone therapy: effects of estrogen and estrogen-progestin. **Human Reprod** 2005; 1-5.

Christodoulakos GE, Lambrinouadaki IV, Vourtsi AD, Vlachou S, Creatsa M, Panoulis KPC, Botsis D. The effect of low dose hormone therapy on mammographic breast density. **Maturitas** 2006; 54:78-85.

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormone replacement therapy: Collaborative analyses of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer. **Lancet** 1997; 350:1047-59.

Conner P, Svane G, Azavedo E, Söderqvist G, Carlström, Gräser T, Walter F, von Schoultz B. Mammographic Breast density, hormones and growth factors during continuous combined hormone therapy. **Fertil Steril** 2004; 81:1617- 23.

Cooper GS, Sandler DP. Age at natural menopause and mortality. **Ann Epidemiol** 1998; 8:229-35.

Coulam CB, Adamson SC, Annegers LF. Incidence of premature ovarian failure. **Obstet Gynecol** 1986; 67:604-6.

Cramer DW. Epidemiologic aspects of early menopause and ovarian cancer. **Ann NY Acad Sci** 1990; 592:363-75.

Cyberknoh M. Mamografia Digital. In: Dias EN, Caleffi M, Silva HMS, Figueira-Filho ASS. **Mastologia atual**. Rio de Janeiro:Revinter, 1994. p.75-8.

De Moraes M, Jones GS. Premature ovarian failure. **Fertil Steril** 1967; 18:440.

Dixon JM. Hormone replacement therapy and the breast: we should worry about the increase risk in breast cancer. **Br Med J** 2001; 323:1381-2.

El-Bastawissi AY, White E, Mandelson MT, Taplin SH. Reproductive and hormonal factors associated with mammographic breast density by age (US). **Cancer Causes Control** 2000; 11:955-63.

Greendale GA, Reboussin BA, Slone S, Wasilaukas C, Pike MC, Ursin G. Postmenopausal hormone therapy and change in mammographic density. **J Natl Cancer Inst** 2003; 95:30- 7.

Greendale GA, Palla SL, Ursin G, Laughlin GA, Crandal C, Pike MC, Reboussin BA. The Association of Endogenous Sex Steroids Binding Proteins with Mammographic Density: Results from the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions Mammographic Density Study. **Am J Epidemiol** 2005; 162:826-34.

Grove JS, Goodman MJ, Gilbert FI, Mi MP. Factors associated with mammographic pattern. **Br J Radiol** 1985; 58:21- 5.

Harlow BL, Signorello LB. Factors associated with early menopause. **Maturitas** 2000; 35:3-9.

Harvey J, Csheurer C, Kawakami FT, Quebe-Fehling E, et al. Hormone replacement therapy and breast density changes. **Climateric** 2005; 8:185-92.

Harvey JA, Bovbjerg VE. Quantitative Assessment of Mammographic Breast Density: Relationship with Breast Cancer Risk. **Radiology** 2004; 230:29-41.

Heller CG, Heller EJ. Gonadotrophic hormone: assays of normal cycling, menopausal, castrated and strin treated females. **J Clin Invest** 1939; 18:171-9.

Ingleby H, Gershon-Cohen J. Comparative anatomy, pathology and roentgenology of the breast. Philadelphia, PA: University of Pennsylvania Press, 1960.

Junkermann H, Von Holst T, Lang E, Rakov V. Influence of different HRT regimens on mammographic density. **Maturitas** 2005; 50:105-10.

Kavenagh A, Mitchell H, Giles GG. Hormone replacement therapy and accuracy of mamographic screening. **Lancet** 2000; 355:270-4.

Koukoulis GN. Hormone replacement therapy and breast cancer risk. **Ann NY Acad Sci** 2000; 900: 422-8.

Lam PB, Vacck PM, Geller BM, Muss HB. The association of increased weight body mass index, and tissue density with risk of breast carcinoma in Vermont. **Cancer** 2000; 89:369-75.

Laya MB, Gallagher JC, Schreiman JS, Larson EB, Watson P, Weinstein L. Effect of postmenopausal replacement therapy on mammographic density and parenchymal pattern. **Radiology** 1995; 196:433-7.

Lee NA, Rusinek H, Weinreb J, Chandra R, Toth H, Singer C, et al. Fatty and fibroglandular tissue volumes in the breast of women 20- 83 years old: Comparison of X-ray mammographic and computer-assisted MR imaging. **AJR Am J Roentgenol** 1997; 168: 501- 6.

Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Golg EB, Santoro N. Premature menopause in a multiethnic population study of the menopause transition. **Hum Reprod** 2003; 18:199-206.

Lundstron E, Wilczek B, von Palffy Z, Soderquist G, von Schoultz B. Mammographic breast density during hormone replacement therapy: effects of continuous combination, unopposed transdermal and low potency estrogen regimens. **Climateric** 2001; 4:42-8.

Ma L, Fishell E, Wright B, Hanna W, Allan W, Boyd NF. Case-control study of factors associated with failure to detect breast cancer by mammography. **J Natl Cancer Inst** 1992; 84:781-5.

Mainini G, Festa B, Messali EM, Torella M, Ragucci A. Premature ovarian failure. **Minerva Ginecol** 2003; 55:525-9.

Mandelson M, Oestreicher N, Porter PL, White D, Finder CA, Taplin SH, et al. Breast density as an predictor of mammographic detection: comparison of interval and screen-detected cancers. **J Natl Cancer Inst** 2000; 92:1081-7.

Mann RD. Hormone replacement therapy and breast cancer risk: studies of the last fifteen years. In: Mann RD. Hormone replacement therapy and breast cancer. London (UK), Taylor and Francis, 1992. p.1-13.

Marias K, Behrenbruch C, Highnam R, Parbhoo S, Seifalian A, Brady M. A mammographic image analysis method to detect and measure changes in breast density. *Eur J Radiol* 2004; 52:276-82.

Marugg RC, van der Mooren MJ, Hendriks JHCL, Rolland R, Ruijs SH. Mammographic changes in postmenopausal women on hormonal replacement therapy. *Eur Radiol* 1997; 7: 749-55.

Maskarinec G, Meng L. A case-control study of mammographic densities in Hawaii. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 63:153- 61.

McNicholas MMJ, Heneghan JP, Milner MH, Tunney T, Hourihane JB, MacErlaine DP. Pain and Increased Mammographic Density in Women Receiving Hormone Replacement Therapy: a prospective study. *AJR* 1994; 163:311-5.

Moskowitz M, Gartside P, McLaughlin C. Mammographic patterns as marker for high-risk benign breast disease and incident cancers. *Radiology* 1980; 134:293-5.

Moy L. HRT use seldom affects mammogram readings. *Radiol Soc North Am* 2001.

Noh JJ, Maskarinec G, Pagano I, Cheung LWK, Stanczyk FZ. Mammographic densities and circulating hormones: A cross-sectional study in premenopausal women. *Breast* 2006; 15:20-8.

Olsen O, Gotzsche PC. Cochrane review on screening for breast cancer with mammography. *Lancet* 2001; 358:1340-2.

Oza AM, Boyd NF. Mammographic Parenchymal Patterns: A Marker of Breast Cancer Risk. *Epidemiol Rev* 1993; 15:197-208

Parborell F, Picci A, Gonzalez O, Vitale A, Tesone M. Effects of a gonadotropin-releasing hormone agonist on rat ovarian follicle apoptosis: regulation by epidermal growth factor and the expression of bcl-2-related genes. **Biol Reprod** 2002; 67:481-6.

Persson I, Thurfjell E, Holmberg L. Effect of estrogen and estrogen-progestin replacement regimens on mammographic breast parenchymal density. **J Clin Oncol** 1997; 15:3201-7.

Saftlas AF, Skzlo M. Mammographic parenchymal patterns and breast cancer risk. **Epidemiol Rev** 1987; 9:147-74.

Salminen T, Saarenmaa I, Heikkeila MM, Hakama M. Risk of breast cancer and changes in mammographic parenchymal patterns. **Acta Oncol** 1998; 37:547-51.

Salminen TM, Saarenmaa IE, Heikkilä MM, Hakama M. Is a dense mammographic parenchymal pattern a contraindication to hormonal replacement therapy. **Acta Oncol** 2000; 39: 969-72.

Santoro N. Mechanisms of premature ovarian failure. **Ann Endocrinol** 2003; 64:87-92.

Santos CC, Pinto-Neto AM, Costa-Paiva LHS, Brenelli HB. Efeitos da terapia hormonal na densidade mamográfica de mulheres na pós-menopausa. **Reprod Clim** 1998; 13:117-22.

Shephaard JA, Kerlikowski KM, Smith-Bindman R, Genant HK, Cummings SR. Measurement of breast density with dual X-ray absorptometry: feasibility. **Radiology** 2002; 223:554-7.

Speroff L. The meaning of mammographic breast density in users of postmenopausal hormone therapy. **Maturitas** 2002; 41:171-5.

Sterns EE, Zee B. Mammographic density changes in perimenopausal and postmenopausal women: is effect of hormone replacement therapy predictable?. **Breast Cancer Res Tr** 2000; 59:125-32.

Vachon CM, Kuni CC, Anderson K, Anderson VE, Sellers TA. Association of mammographically defined percent breast density with epidemiologic risk factors for breast cancer (United States). **Cancer Causes Control** 2000; 11:653-62.

Van Gils CH, Hendricks JH, Otten JD, Holland R, Verbeek AL. Parity and mammographic breast density in relation to breast cancer risk: indication of interaction. **Eur J Cancer Prev** 2000; 9:105-11.

Warren R. Hormones and mammographic breast density. **Maturitas** 2004; 49:67-78.

WHI. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. **Journal of the American Medical Association** 2002; 288:2123-9.

Wolfe JN. Breast patterns as an index of risk for developing breast cancer. **Am Roentgenol** 1976; 126:1130-7.

Wolfe JN. Risk for breast cancer development determined by mammographic parenchymal pattern. **Cancer** 1976; 37: 2486- 92.

Wolfe JN, Saftlas AF, Salane M. Mammographic parenchymal patterns and quantitative evaluation of mammographic densities: a case-control study. **AJR Am J Roentgenol** 1987; 148:1087- 92.

Ziv E, Shepherd J, Smith-Bindman R, Kerlikowske K. Mammographic breast density and family history of breast cancer. **J Natl Câncer Inst** 2003; 95: 556- 8.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Lista de Verificação - Grupo de Estudo (FOP)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Data: __/__/____

Nº|_|_|

	INCLUI	EXCLUI
1. Idade: _ _	(1) 30-35	(2) <30 ou > 35
2. Uso de TRH (EEC+AMP) por 1 ano	(1) SIM	(2) NÃO
3. História de patologia mamária	(1) SIM	(2) NÃO
4. História de cirurgia mamária	(1) SIM	(2) NÃO
5. Tabagismo >20 cigarros/dia	(1) SIM	(2) NÃO
6. IMC>30	(1) SIM	(2) NÃO

OBS: Caso todos os critérios assinalados forem de inclusão poderemos prosseguir com a coleta dos dados. Caso contrário, esta mulher não participará desta pesquisa.

7.2. Anexo 2 – Ficha Clínica - Grupo de Estudo (FOP)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Nº|_|_|

1. Idade da falência gonadal: |_|_| anos
2. Tempo de falência gonadal: |_|_| meses
3. Tipo de TRH: (1) contínuo (2) cíclico
4. Tempo de TRH: |_|_| meses
5. Amamentação de pelo menos 1 filho por 3 meses: (1) sim (2) não
6. Paridade: |_|_|
7. Peso: |_|_|_| kg

Altura: | | | | m

IMC: | | |, | | | Kg/m²

Mamografia: (/ /): | | | % porção fibroglandular WOLFE: | | |

Observação:

Nome:

Endereço

Cidade

Estado

CEP

Telefone ()

HC

nº GE

7.3. Anexo 3 – Lista de Verificação - Grupo de Controle 1 (Eumenorréicas)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Data: __/__/____

NºI__I

	INCLUI	EXCLUI
1. Idade: I__I	(1) 30-35	(2) <30 ou > 35
2. Ciclos menstruais regulares (24-35 dias)	(1) SIM	(2) NÃO
3. História de patologia mamária	(1) NÃO	(2) SIM
4. História de cirurgia mamária	(1) NÃO	(2) SIM
5. Tabagismo >20 cigarros/dia	(1) NÃO	(2) SIM
6. IMC>30	(1) NÃO	(2) SIM
7. Uso atual de ACO há menos de 1 ano	(1) NÃO	(2) SIM
8. Gravidez ou atraso menstrual	(1) NÃO	(2) SIM
9. Uso de ACO por mais de 5 anos	(1) NÃO	(2) SIM

OBS: Caso todos os critérios assinalados forem de inclusão poderemos prosseguir com a coleta dos dados. Caso contrário, esta mulher não participará desta pesquisa.

7.4. Anexo 4 – Ficha Clínica - Grupo de Controle 1 (Eumenorréicas)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Nº

1. Idade à menarca: anos
2. Amamentação de pelo menos 1 filho por 3 meses: (1) sim (2) não
3. Paridade:
4. Peso: kg

Altura: m

IMC: Kg/m²

Mamografia: (/ /): % porção fibroglandular WOLFE:

Observação: _____

Nome: _____

Endereço _____

Cidade _____ Estado _____ CEP _____

Telefone () _____ HC _____ nº PF _____

7.5. Anexo 5 – Lista de Verificação - Grupo de Controle 2 (Pós-Menopausa)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Data: __/__/____

NºI__I

	INCLUI	EXCLUI
1. Idade: I__I	(1) > 50 anos	(2) < 50
2. Falência gonadal há pelo menos 1 ano	(1) SIM	(2) NÃO
3. Uso de TRH (EEC+AMP) por 1 ano	(1) SIM	(2) NÃO
4. História de patologia mamária	(1) NÃO	(2) SIM
5. História de cirurgia mamária	(1) NÃO	(2) SIM
6. Tabagismo >20 cigarros/dia	(1) NÃO	(2) SIM
7. IMC>30	(1) SIM	(2) NÃO

OBS: Caso todos os critérios assinalados forem de inclusão poderemos prosseguir com a coleta dos dados. Caso contrário, esta mulher não participará desta pesquisa.

7.6. Anexo 6 – Ficha Clínica - Grupo de Controle 2 (Pós-Menopausa)

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Nº

1. Idade da falência gonadal: anos
2. Tempo de falência gonadal: meses
3. Tipo de TRH: (1) contínuo (2) cíclico
4. Tempo de TRH: meses
5. Amamentação de pelo menos 1 filho por 3 meses: (1) sim (2) não
6. Paridade:
7. Peso: kg

Altura: m

IMC: , Kg/m²

Mamografia: (/ /): % porção fibroglandular WOLFE:

Observação:

Nome:

Endereço

Cidade

Estado

CEP

Telefone ()

HC

nº MENO

7.7. Anexo 7 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nº|_|_|

TERAPIA HORMONAL E DENSIDADE MAMÁRIA EM MULHERES COM FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA

Pesquisadora responsável- Dra. Patrícia M. Soares

Nome _____ Idade _____ RG _____
Endereço _____ nº _____ Apto _____
Bairro _____ Cidade _____ CEP _____
HC _____ N°CPF _____

Eu estou sendo convidada a participar de uma pesquisa que avaliará o efeito da terapia de reposição hormonal na quantidade de glândula mamária presente na mamografia de mulheres com menopausa precoce.

Este estudo permitirá aos médicos conhecer as características das mamas de três grupos de mulheres, assim como as modificações decorrentes do uso de hormônios, principalmente nas mulheres que terão que fazer uso do hormônio por tempo prolongado.

O primeiro grupo é composto por mulheres que tiveram menopausa precocemente, o segundo por mulheres com menopausa na idade habitual, ambas em uso de hormônios, e o terceiro grupo, do qual faço parte, menstrua regularmente e não usa hormônio. Estou ciente que cada mulher que pertence ao primeiro e segundo grupos têm mamografias, porém o grupo o qual pertenço não possui. Para que eu possa participar desta pesquisa terei que realizar somente uma mamografia, mesmo sabendo que não faz parte de um exame de rotina na minha idade.

Fui informada que para realizar este exame minhas mamas serão apoiadas em um aparelho e serão comprimidas por menos de 1 minuto e que poderei sentir algum desconforto no momento da realização do exame. Fui orientada ainda que não haverá nenhum prejuízo da minha saúde com a exposição à radiação. Caso o resultado do exame mamográfico mostre algum tipo de alteração serei informada e encaminhada para o Ambulatório competente para acompanhamento.

Sei que meu nome será mantido em sigilo pelo pesquisador e que posso sair do estudo, a qualquer momento, e que isso não vai prejudicar o meu tratamento na UNICAMP.

Todas as dúvidas foram esclarecidas no momento em que foi lido e esclarecido o termo de consentimento, porém, se ainda tiver dúvidas poderei procurar a Dra. Patrícia M. Soares no CAISM, telefone (0XX 19) 3788-9347 às 6ª feiras, das 8:00 – 12:00, no Ambulatório de Ginecologia-Endócrina.

Se achar necessário, poderei pedir esclarecimentos ou informações sobre questões éticas ao CEP (Comitê de Ética em Pesquisa)-FCM-UNICAMP pelo telefone (0XX19) 37888936.

Eu li/ouvi o conteúdo deste termo, recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente e desejo participar deste estudo.

Campinas, ____ de _____ de 2005.

Assinatura da participante

Assinatura da pesquisadora

7.8. Anexo 8 – Processo de avaliação das imagens pelo MATHLAB®

Para avaliar o percentual de cada tecido presente na mama, foi contabilizado as quantidades de pixels de cada tom, e efetuado os seguintes cálculos:

Mama (100%) = número pixels pretos + número pixels cinzas de tecido fibroglandular = (número pixels pretos)/(Mama) de tecido gorduroso = (número pixels cinzas)/(Mama) já que os pixels pretos correspondem ao tecido fibroglandular e os pixels cinzas correspondem ao tecido gorduroso.

A determinação da área pressupõe uma calibração do digitalizador de imagens, que efetivamente consiste em calcular a área de um pixel. Para tanto, desenhamos um quadrado preto de 10cm de lado, portanto com 100cm², e o digitalizamos com os mesmos parâmetros utilizados para as mamografias. Utilizando o mesmo programa, contabilizamos o número de pixels pretos, e com uma regra de três simples determinamos a área de um pixel:

Número de pixels pretos _____ 100 cm²

Um pixel _____ área de um pixel

Tendo em mãos este valor, calculou-se a superfície de cada tecido por regra de três simples:

Superfície glandular = n° de pixels pretos x área de um pixel

Superfície gordurosa = n° de pixels cinzas x área de um pixel

Superfície total = Mama x área de um pixel

Para identificar a quantidade de cada tipo de tecido presente, e realizar os cálculos, desenvolvemos um programa no MATHLAB4®, a qual contabiliza quantos pixels de cada tom (portanto de cada tipo de tecido) estão presentes na imagem. Abaixo arrolamos o programa empregado para o processamento das imagens, descrevendo abaixo de cada linha de comando, sua função. As descrições das tarefas são precedidas por hífen.

Este programa tem como objetivo separar tecido glandular do tecido adiposo em mamografias.

Leitura da imagem Médio-Lateral ----

clear all;

clear global;

- as duas linhas acima limpam todos os espaços da memória RAM destinados às variáveis utilizadas. [im,gray]=bmpread('c:\gmn\tinois\caism\cais159l.bmp');

- esta linha realiza a leitura da imagem, colocando-a na variável im.

Determinando o tamanho da imagem ---- [m,n]=size(im)

- este comando fornece as dimensões da imagem digital (número de linhas e de colunas).

Contabilização do número de pixels de cada tom ----

intgl = número de pixels de tecido glandular

intgo = número de pixels de tecido gorduroso

intgl=0;

intgo=0;

- estas duas linhas atribuem valor inicial zero para as variáveis que armazenarão o número de pixels de cada tom.

for i=1:m,

for j=1:n,

- estes comandos servem para percorrermos todos os pixels da imagem e checar o tom de cinza.

if im(i,j)<10

intgl=intgl+1;

- o preto corresponde ao valor zero. Assim toda vez que o valor do pixel é zero, é adicionado 1 ao número de pixels correspondente ao tecido glandular.

else if(i,j)<200

intgo=intgo+1;

- o cinza corresponde ao valor 100. Assim toda vez que o valor do pixel for 100, é adicionado 1 ao número de pixels correspondente ao tecido glandular.

end

end

end

Relação área glandular/área da mama ----pergl=intgl/(intgl+intgo)

- aqui calculamos o percentual de tecido glandular na mama.

Relação área gorduroso/área da mama ----pergo=intgo/(intgl+intgo)

- aqui calculamos o percentual de tecido gorduroso na mama.

Área do Pixel (cm²) ----

spixel=0.0025;

- nesta linha determinamos a área de um pixel.

Calculando a Área da Mama ---- smama=(intgl+intgo)*spixel

- smama corresponde à área da mama.

sgl=intgl*spixel

- sgl é a variável correspondente à superfície glandular.

sgo=intgo*spixel

- sgo é a variável correspondente à superfície gordurosa.

Mostrando a Imagem ----

imshow(im1, gray);

- a imagem analisada é mostrada ao usuário.

**7.9. Anexo 9 – Método de avaliação pela medida da área da imagem
(digitalização da imagem mamográfica)**

