

MARCELO GIACOBBE

**AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA OVARIANA E
ESTADO MENOPAUSAL**

Tese de Doutorado

ORIENTADOR: Prof. Dr. Prof. Dr. AARÃO MENDES PINTO-NETO

**UNICAMP
2003**

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRA
SEÇÃO CIRCULANTE**

MARCELO GIACOBBE

**AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA OVARIANA E
ESTADO MENOPAUSAL**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tocoginecologia, área de Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. AARÃO MENDES PINTO-NETO

**UNICAMP
2003**

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	UNICAMP
	G346a
V	EX
TOMBO BCI	59064
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	22/05/03
Nº CPD	

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

CM00183413-2

ID 290528

G346a

Giacobbe, Marcelo

Avaliação ultra-sonográfica ovariana e estado menopausal /
Marcelo Giacobbe. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Aarão Mendes Pinto-Neto

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Ciências Médicas.

1. Menopausa. 2. Ovários. 3. Ultra-som. 4. Idade. I. Aarão
Mendes Pinto-Neto. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: MARCELO GIACOBBE

Orientador: PROF. DR. AARÃO MENDES PINTO-NETO

Membros:

1.

Aarão

2.

Marcelo

3.

[Signature]

4.

SOP - [Signature]

5.

[Signature]

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

Data: 21/02/2003

Dedico este trabalho...

*...à minha amada Soraya, esposa e companheira,
pela dedicação e paciência nos momentos em que
estive ausente em pensamento e presença.
Cúmplice e incentivadora em todos os momentos.
Amor e complemento de minha existência .*

*... aos meus amados filhos Victoria e Arthur,
luzes que iluminam nossos corações.
Extensões do nosso amor, alegria, carinho e
pureza em nossas vidas.*

*... aos meus amados pais Gleno e Aparecida,
pelo carinho, amor e incentivo constantes.
Pelo seu irrestrito apoio na minha formação como médico.*

*... aos meus amados sogro e sogra Luiz e Neusa,
pelo apoio e por realmente me aceitarem como filho.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Aarão Mendes Pinto-Neto pelo apoio, amizade, aprendizado e orientação deste estudo - minha profunda admiração.

Ao Prof. Dr. Luis Carlos Zeferino pela amizade e encaminhamento na realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Corintio Mariani Neto, Prof. Dr. Valdir Tadini, e Dr. Temístocles Pie de Lima pela confiança, amizade e incentivo na realização deste estudo.

À Profa. Dra. Sílvia Brenna pela amizade e colaboração na realização e apresentação deste estudo.

Aos Drs. Francisco José Cavalcante de Albuquerque Lacerda, José Benedito Bragagnolo Rizzi e Sergio Toshio Yamamoto pela amizade e incentivo na realização deste estudo.

Aos amigos e colaboradores da ASTEC: Sueli Chaves, Fernanda Fraguas, Cylene Camargo, Maria do Rosário G.R. Zullo, Willian Alexandre de Oliveira, Néder Piagentini do Prado, Sueli Regina Teixeira e Márcia Fussi, pelo auxílio na qualidade da apresentação deste trabalho.

À Margarete, secretária da Comissão de Pós-Graduação, pela simpatia e ajuda durante todo o curso.

Ao amigo Edson Zangiacomi Martinez pela dedicação e esmero na realização da análise estatística deste estudo.

Aos médicos residentes e do Corpo Clínico do HMLMB pela colaboração na realização deste estudo.

À funcionária do Setor de Ultra-som do HMLMB Alaíde Marques Carneiro, pela grande colaboração na organização da realização dos exames ultra-sonográficos.

Às funcionárias do Setor de Ultra-som do HMLMB Abigail Neide dos Santos, Alaíde Marques Carneiro, Galdina Sena de Lima, Maria Aparecida Manzoni pelo auxílio na realização deste estudo.

Às secretárias da Diretoria Clínica do Hospital-Maternidade Leonor Mendes de Barros pelo auxílio na realização deste estudo.

Às secretárias de meu consultório Camila Rios, Evanete Brito Basílio e Marlene Cabral Oldani pela organização de minhas atividades diárias e auxílio na realização deste estudo.

Às mulheres que participaram deste estudo meu sincero reconhecimento, respeito e agradecimento.

Em especial ...

Aos meus queridos irmãos Glauco e Gláucia pelo carinho e incentivo constantes.

Sumário

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	29
2.1. OBJETIVO GERAL.....	29
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3. SUJEITOS E MÉTODOS	31
3.1. DESENHO DO ESTUDO	31
3.2. TAMANHO AMOSTRAL.....	31
3.3. SELEÇÃO DOS SUJEITOS	32
3.4. CONCEITOS E VARIÁVEIS.....	34
3.5. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	38
3.6. ASPECTOS ÉTICOS	39
4. ARTIGOS	41
5. DISCUSSÃO	107
6. CONCLUSÕES	113
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
8. BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES	123
9. ANEXOS.....	125

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

FSH	Hormônio folículo estimulante
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
cm³	Centímetros cúbicos
HMLMB	Hospital - Maternidade Leonor Mendes de Barros
Máx.	Máximo
Mín.	Mínimo
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
$\bar{X}$	Média
DP	Desvio padrão
IC	Intervalo de confiança

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar as modificações do volume ovariano de acordo com o estado menopausal e a idade cronológica através da ecografia pélvica endovaginal em mulheres de 40 a 55 anos. Verificou-se também o desempenho do ultra-som em prever o estado menopausal da mulher. Foi realizado um estudo de corte transversal entre junho e setembro de 2002 em 121 mulheres pré-menopausadas e 71 mulheres pós-menopausadas que procuraram atendimento médico com finalidade preventiva. Estudou-se o volume ovariano e a contagem de folículos antrais de acordo com a idade e o estado menopausal. Foi verificada também a correlação entre os antecedentes de cor da pele, contraceptivos hormonais, paridade, aleitamento materno, laqueadura tubária, tabagismo e terapia de reposição hormonal com o volume ovariano e o estado menopausal. Curvas ROC foram elaboradas para verificar o desempenho da idade, volume ovariano e número de folículos antrais em prever o estado menopausal. Para a análise estatística foram utilizadas a análise de variância (ANOVA) e a análise de regressão linear múltipla. O desempenho do volume ovariano, idade e da contagem de folículos antrais em classificar as mulheres segundo seu estado menopausal foi descrito conforme

medidas de sensibilidade e especificidade. As mulheres na pré-menopausa apresentaram volume ovariano maior que na pós-menopausa. O estado menopausal e a idade mostraram correlação com o comportamento do volume ovariano. O estado menopausal mostrou ser mais importante na determinação do comportamento do volume ovariano do que a idade. Os parâmetros idade, volume ovariano e contagem de folículos antrais mostraram-se ser sensíveis e específicos na determinação do estado menopausal, com desempenho semelhante entre si. Os melhores pontos de corte foram obtidos quando a idade ≥ 48 anos, volume ovariano $< 4 \text{ cm}^3$ e a contagem de folículos antrais ≤ 2 folículos. Não foi identificada correlação entre o tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade com o volume ovariano em mulheres pré e pós menopausadas. A idade, volume ovariano e a contagem de folículos antrais podem ser utilizados como parâmetros coadjuvantes no diagnóstico do estado menopausal da mulher.

Summary

The aim of this study was to evaluate ovarian volume modifications according to menopausal status and age. Transvaginal ultrasound was performed in women between 40 and 55 years old. It was verified also ultrasound accuracy to predict women menopausal status. This was a cross sectional study performed between June and September 2002. Premenopausal (n=121) and postmenopausal (n=71) women that looked for medical attention with preventive care were examined in this period. Ovarian volume and antral follicle count were studied according to age and menopausal status. It was verified too the correlation between skin color, hormonal contraception, parity, breast feeding, surgical sterilization, smoking history and hormonal replacement therapy with ovarian volume and menopausal status. ROC curves were elaborated to verify accuracy of age, ovarian volume and antral follicle count to predict woman menopausal status. Variance analysis (ANOVA) and linear multiple regression were used for the statistical analysis. The accuracy of ovarian volume, age and antral follicle count to predict menopausal status were described in sensitivity and specificity measures. Premenopausal women presented bigger ovaries than postmenopausal ones. Menopausal status and age were associated with

ovarian volume. Menopausal status seemed to be more important than age to determine ovarian volume variations. Age, ovarian volume and antral follicle count showed to be parameters with sensitivity and specificity to predict menopausal status. The best cut-off points were achieved when age ≥ 48 years, ovarian volume $< 4 \text{ cm}^3$ and antral follicle count ≤ 2 . Skin color, hormonal contraception, parity, breast feeding, surgical sterilization, smoking history and hormonal replacement therapy were not correlated with ovarian volume in premenopausal and postmenopausal women. Age, ovarian volume and antral follicle count may be useful co-adjuvant parameters in women menopausal status diagnosis.

1. Introdução

A transição da vida reprodutiva para o período não reprodutivo representa uma etapa importante na vida da mulher face às incertezas geradas pela expectativa das mudanças fisiológicas e sua possível implicação no papel da mulher na família e sociedade. As modificações orgânicas envolvidas exercem influências em aspectos emocionais, sociais e de saúde, que são fundamentais para a manutenção da qualidade de vida. Os anos seguintes à menopausa estão relacionados com um aumento na incidência de doenças cardiovasculares, artrites, osteoporose, depressão, insônia e distopias genitais (EUROPEAN MENOPAUSE SOCIETY CONSENSUS, 1996).

As investigações sobre menopausa, como em outras áreas de pesquisa sobre saúde da mulher, foram muito criticadas no passado pela medicalização das experiências e sentimentos das mulheres e, principalmente por tratá-las como objetos de pesquisa. Aplicando o princípio de boa prática em saúde à menopausa poderemos superar estas críticas, sobretudo se direcionarmos as investigações no sentido de serem capazes de aclarar as dúvidas ainda persistentes relacionadas à este importante período da vida da mulher.

Existem muitas maneiras de se realizar uma pesquisa objetivando a avaliação de como a transição menopausal afeta a qualidade de vida da mulher. Estas maneiras contemplam desde modelos básicos de ciência a estudos com primatas, e ensaios clínicos em mulheres com menopausa natural ou cirúrgica. Sabemos, por exemplo, que os sintomas são piores em casos de menopausa cirúrgica. Por outro lado, muitas mulheres de meia idade poderão apresentar um grau muito grande de ansiedade nesse período, o que poderá atuar como um agravante da sintomatologia associada, gerando um efeito dominó, piorando sua qualidade de vida. Esta ansiedade na prática clínica pode ser traduzida por questionamentos como: Estou na menopausa ? Preciso realizar dosagens hormonais ? Poderei ou deverei fazer uso de terapia de reposição hormonal ? Preciso usar métodos anticoncepcionais ? Ainda posso engravidar ? Com que idade terei a menopausa?

Admite-se que fisiologicamente a menopausa ocorra entre os 40 e 55 anos (PEDRO et al., 2003). É o estágio final de um processo de senescência fisiológica que começa em torno de 6 a 8 anos antes. Entretanto, alterações da secreção hormonal nem sempre podem ser observadas nesta fase e a endocrinologia deste período de transição menopausal apresenta-se frequentemente de forma inconstante (PRIOR, 1998). Dessa forma, esse período inicial de falência da função ovariana é clinicamente silencioso, exceto pelo declínio da fecundidade da mulher.

A perimenopausa compreende o período precedente, onde se verifica alterações menstruais como oligomenorréia e sangramento uterino disfuncional

secundárias à anovulação, podendo ou não ocorrer elevação das gonadotrofinas hipofisárias. O aumento na taxa de depleção folicular ovariana é coincidente com esse aumento inconstante na secreção do hormônio folículo estimulante. Em consequência, uma maior coorte folicular é parcialmente estimulada podendo ser responsável pelo hiperestrogenismo frequentemente identificado nesse período. Em contrapartida, alguns ou nenhum desses folículos estimulados chegam a atingir a maturidade. A transição do hiperestrogenismo do período perimenopausal para o hipoestrogenismo do período pós-menopausal correlaciona-se com o aparecimento de sintomas emocionais, característicos da transição menopausal (PRIOR, 1998). Nesse período existe uma grande preocupação das mulheres em saber quando se tornarão menopausadas, qual é a consequência das alterações menstruais em seu envelhecimento e qual deverá ser sua atitude no que diz respeito ao estilo de vida.

Portanto o período de mudanças hormonais para uma mulher que está prestes a atingir o final de sua vida reprodutiva pode ser conceituada sob uma perspectiva endócrina como o período de máxima flutuação endócrina precedendo a última menstruação. Porém nenhum marcador bioquímico é aceitável como definidor de quando este período de transição começa ou termina. O sinal externo mais aceito como evidência deste período de flutuações hormonais é o estado menstrual da mulher que é tido como o mais visível reflexo da função ovariana (DUDLEY et al., 1998).

Entretanto, ainda persistem controvérsias a este respeito. O mais adequado é considerar dois estágios para a ocorrência da transição menopausal: um precoce em mulheres de meia idade que pode ou não estar associado a alterações menstruais e que é considerado como pré-menopausa e um tardio definido como o relato da mulher de um período de amenorréia por pelo menos 11 meses (TAFTE & DENNERSTEIN, 2000). Esta recomendação foi referendada em reunião recente que discutiu especificamente a questão do envelhecimento reprodutivo da mulher (SOULES et al., 2001).

Em relação às dosagens hormonais poucos estudos realizaram qualquer determinação hormonal na fase de transição da vida reprodutiva para a não reprodutiva da mulher. Os estudos sobre o estado menopausal tem sido baseados em hipóteses de que alterações relacionadas à menopausa poderão ser evidentes nos anos de pós-menopausa, mesmo com diferentes níveis das variáveis sob estudo, geralmente usando como padrão mulheres que ainda não atingiram a menopausa (definida como 12 meses de amenorréia). Considerando que as alterações endócrinas ocorrem alguns anos antes da menopausa, torna-se importante que a avaliação hormonal se inicie quando a mulher ainda menstrua regularmente. Outras questões envolvendo as quantificações hormonais são as relacionadas à frequência das avaliações (anual, diária, semanal), tipo da amostra (plasma, urina, saliva), fase do ciclo e sensibilidade do método (BURGER et al, 1999).

Sabe-se que os ovários são os órgãos que representam a maior fonte de esteróides sexuais na mulher. Os folículos ovarianos são estruturas essenciais

que desempenham as funções reprodutiva e endócrina dos ovários e compõe um patrimônio não renovável ao longo da vida. Ao redor da sexta semana de idade gestacional fetal as gônadas primitivas iniciam seu processo de diferenciação. Ao longo das próximas semanas, as células germinativas primordiais multiplicam-se intensamente por mitoses, atingindo aproximadamente de 6 a 7 milhões de células germinativas com 24 semanas de idade gestacional (BAKER & SUM, 1976). Por volta do sétimo mês de gestação, os folículos primordiais derivados das células germinativas encontram-se na fase de prófase da meiose e permanecerão nesta etapa até que sofram a estimulação das gonadotrofinas hipofisárias. Deste período da gestação em diante, o número de folículos primordiais diminui progressivamente até a menopausa, onde virtualmente não existem mais remanescentes.

Ao nascimento, estima-se que existam entre dois e 4 milhões de folículos primordiais e na ocasião da menarca este número esteja ao redor de 200.000 a 400.000 folículos remanescentes. Durante a vida reprodutiva, na ausência de gravidez, ocorrem aproximadamente 300 a 400 ovulações, sendo que todo o restante dos folículos sofre um processo denominado de atresia. Os folículos primordiais são continuamente estimulados, parcialmente maturados e posteriormente a maior parte deles sofre regressão. O conhecimento a respeito do desenvolvimento folicular durante a vida reprodutiva é maior do que sobre seu processo de atresia.

A ultra-sonografia por via endovaginal fornece uma boa aproximação anatômica com os ovários e permite a utilização de transdutores de alta

freqüência, sendo possível um estudo com riqueza de detalhes morfológicos de maneira confortável e não invasiva. Estudos histológicos de espécimes de biópsia de tecido ovariano sugerem que as alterações do volume ovariano são decorrentes de modificações no seu estroma e folículos ovarianos, de maneira que a medida do volume ovariano total permite uma estimativa indireta do número de folículos primordiais disponíveis (LASS et al., 1997). Orientados por essas possibilidades, investigadores tem se dedicado ao estudo ecográfico dos ovários e sua correlação prognóstica com algumas situações clínicas – predição de resposta aos tratamentos de reprodução assistida (SHARARA & McCLAMROCK, 2001), síndrome dos ovários policísticos, rastreamento de neoplasias ovarianas (ZALEL et al., 1996) e correlação com o estado menopausal (FLAWS et al., 2001).

FLAWS et al., 2000, estudaram o volume ovariano e sua correlação com o estado menopausal em mulheres de 40 a 55 anos de idade. Identificaram que mulheres na pré-menopausa apresentaram maior volume ovariano do que mulheres na pós-menopausa de mesma faixa etária. Além do que, relatam que a utilização de contraceptivos hormonais orais associou-se a ovários de menor volume e que fatores como o tabagismo e a terapia de reposição hormonal não apresentaram influência no volume ovariano. Em contrapartida, outros autores verificaram redução significativa no volume ovariano associado à utilização da terapia de reposição hormonal (PAVLIK et al., 2000).

Com o intuito de observar a taxa de desaparecimento folicular, foram realizados estudos histopatológicos para avaliação do número de folículos

ovarianos remanescentes correlacionando-os com a idade da mulher. Apesar do pequeno tamanho amostral dessas observações, identificou-se maior perda folicular decorrente da aceleração na taxa de depleção folicular ao final da terceira e início da quarta décadas de vida (FADDY et al., 1992). Estudos recentes mostraram que a baixa contagem de folículos antrais através da ecografia endovaginal pode ser utilizada como indicador do estado pós-menopausal (FLAWS et al., 2001). Ainda não sabemos ao certo qual a correlação dessas modificações morfológicas com as modificações da produção hormonal da perimenopausa.

SHARARA & McCLAMROCK, 2001, identificaram maior incidência de infertilidade de causa indeterminada e maior concentração de FSH no terceiro dia do ciclo menstrual em mulheres jovens com volume ovariano abaixo de 3 cm³. Vários outros testes foram usados na tentativa de avaliar a reserva ovariana, ou seja, a população folicular remanescente. Em grande parte sua utilização tinha como objetivo identificar mulheres com redução da coorte folicular selecionável e conseqüentemente pior resposta à indução de ovulação. Entretanto a avaliação da acurácia do teste de estimulação com citrato de clomifeno (CCCT), teste de estimulação com agonista do GnRH (GAST) e dosagem basal do hormônio folículo estimulante mostrou que nenhum desses testes reflete com acurácia a reserva ovariana (GULEKLI et al., 2000).

Mensurações do volume ovariano demonstraram boa correlação com a resposta à estimulação ovariana em ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). Mulheres com volume ovariano

pequeno tiveram uma maior taxa de cancelamento dos ciclos e menores taxas de gravidez do que mulheres com volumes ovarianos maiores (AMBLE et al., 2001).

Existem vários estudos na literatura médica voltados ao estudo da menopausa e doenças correlatas, visando a melhoria da qualidade de vida da mulher. Entretanto, nota-se uma menor quantidade de estudos apreciando o período pré-menopausal, conseqüentemente com menor entendimento dos fatores determinantes da menopausa e das modificações que ocorrem nos anos que a antecedem. Os ovários das mulheres na pré-menopausa e menopausa são órgãos com atividade endócrina comprovada e ainda não foram adequadamente estudados, necessitando de maior avaliação das suas transformações ao longo da vida reprodutiva no que diz respeito a seu aspecto e modificações da sua atividade endócrina.

O conhecimento a respeito das características ultra-sonográficas do ovário de acordo com a idade e o estado menopausal da mulher, bem como da presença de folículos, pode permitir uma melhor compreensão dos fenômenos que envolvem a transição da vida reprodutiva para o período pós-menopausal. A perimenopausa é uma etapa que apresenta alterações hormonais de caráter variável, com duração de alguns anos, possível de ser avaliada através das modificações das características ovarianas no estroma e folículos. A ultra-sonografia endovaginal possibilita uma boa visualização dos ovários e reprodutibilidade na estimativa do volume ovariano, permitindo que se observe

as alterações que ocorrem na população de folículos e estroma ovariano (GILJA et al., 1999).

O estudo ecográfico das modificações do volume ovariano com a idade pode fornecer informações a respeito das modificações que ocorrem no estroma e na quantidade de folículos ovarianos. Considerando que a dosagem das gonadotrofinas hipofisárias apresenta valores variáveis para pacientes na mesma fase da transição menopausal, a existência de outros parâmetros como a estimativa do volume ovariano pode contribuir para identificar mais precocemente as pacientes com falência ovariana, mesmo apresentando ciclos menstruais esporadicamente, antes de critérios retrospectivos – como amenorréia de 1 ano.

A possibilidade de uma definição precoce do estado menopausal permitiria que os serviços e os profissionais de saúde estivessem mais capacitados a atender às necessidades dessas mulheres com orientações e apoio psicológico. Caso mostre-se como critério com boa acurácia, apresentaria ainda importância no auxílio do planejamento das gestações em mulheres após os trinta e cinco anos de idade. Dessa forma apresentaria aplicabilidade na prática clínica diária ajudando a identificar as pacientes com esgotamento da reserva folicular ovariana ainda na fase incipiente da falência ovariana.

O estudo proposto teve o objetivo avaliar as modificações do volume ovariano de acordo com o estado menopausal, verificando a possibilidade de utilizá-lo como parâmetro coadjuvante auxiliar na identificação do estado menopausal.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar as características morfológicas ultra-sonográficas dos ovários segundo o estado menopausal e a idade cronológica em mulheres de 40 a 55 anos de idade.

2.2. Objetivos específicos

1. Estudar as variações do volume ovariano e da contagem de folículos antrais controlados pela idade e estado menopausal.
2. Avaliar se o volume ovariano e a contagem de folículos antrais podem ser utilizados como parâmetros preditores do estado menopausal através da construção de curvas ROC.
3. Correlacionar os antecedentes de uso de contraceptivos hormonais, paridade, aleitamento materno, laqueadura tubária, tabagismo e terapia de reposição hormonal com o volume ovariano.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo de corte transversal.

3.2. Tamanho amostral

O cálculo do tamanho amostral foi realizado de acordo com a metodologia proposta por HSIEH et al. (1998), para estudos que envolvem análise de regressão linear múltipla. O parâmetro utilizado para esta determinação foi o coeficiente de determinação (R^2) em um modelo de regressão, onde a variável dependente é o volume ovariano estimado em cm^3 e a variável independente é a idade cronológica da mulher em anos completos. O estudo de FLAWS et al. (2000) estimou um valor de R^2 de 0,26 para um modelo de regressão assim ajustado.

Considerando-se um R^2 desta magnitude seriam necessárias 28 mulheres para o estudo, fixando uma probabilidade de erro tipo I (α) de 5% e uma probabilidade de erro tipo II (β) de 20%. No entanto, esse tamanho

amostral sofreu um acréscimo devido a inclusão de co-variáveis no estudo e considerou-se um coeficiente de correlação maior do que o identificado no referido estudo, de 0,80 , que é mais do que se esperava encontrar. Dessa forma, o tamanho amostral foi estimado em 140 mulheres.

3.3. Seleção dos Sujeitos

Foram sujeitos deste estudo uma amostra de mulheres assistidas pelo Setor de Ginecologia do Hospital-Maternidade Leonor Mendes de Barros, da Secretaria Estadual da Saúde do Município de São Paulo. A coleta de dados foi feita em pacientes com idade entre 40 e 55 anos de idade, que tiveram seus exames ecográficos solicitados pelos respectivos ginecologistas e por mulheres voluntárias motivadas pela divulgação local deste estudo. Após a compreensão do *“Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”* (Anexo 2), foi realizada uma ecografia por via endovaginal para determinar o volume ovariano e a contagem de folículos antrais, com o equipamento da marca ALOKA®, modelo SSD-1700, com transdutor multifrequencial de 5 a 7 mHz. Todos os exames foram realizados pelo pesquisador. As mulheres na pré-menopausa foram examinadas na fase folicular inicial, entre os dias sete e dez do ciclo menstrual.

Com a finalidade de assegurar a não interferência de outros fatores que não fossem o estado menopausal e a idade da mulher, foram determinados como critérios de exclusão:

- Ooforectomia ou ooforoplastia prévia.
- Presença de cisto ou massa ovariana anormal identificada pela ecografia endovaginal, com dimensões maiores que 20 mm.
- Gravidez.
- Doença inflamatória pélvica aguda.
- Tratamento anterior para infertilidade conjugal.
- Antecedente de cromossomopatias e disgenesia gonadal.
- Estado menopausal indeterminado: ausência de ciclos menstruais por um período maior ou igual a três meses e inferior a um ano.

Foram examinadas um total de 204 mulheres que satisfaziam as condições pré-estabelecidas. Após a confecção do banco de dados foram excluídas as mulheres em que não foi possível a identificação de ambos os ovários por ocasião da ecografia endovaginal. Foi também excluída uma paciente que apresentou menopausa precoce, com volume ovariano extremamente diminuído, com a intenção de que esta verificação não exercesse o papel de ponto influente no comportamento dos resultados. Portanto, um total de 192 mulheres foram incluídas na análise estatística.

3.4. Conceitos e variáveis

3.4.1. Conceitos

- Menopausa: é a última menstruação da mulher, retrospectivamente definida pela ausência de menstruações por um ano (WHO, 1996).
- Pós-menopausa: são aquelas mulheres que estão em idade compatível com a menopausa natural, em amenorréia há mais de um ano, com ou sem sintomas (neurovegetativos, neuropsíquicos ou genitais), ou com menos de um ano de amenorréia e que não apresentam sangramento de supressão após ingestão de 10mg de medroxiprogesterona por cinco ou dez dias (FEBRASGO, 2001).
- Pré-menopausa: mulheres com mais de 40 anos com sangramento irregular acompanhado ou não de sintomas (neurovegetativos, neuropsíquicos ou genitais) (FEBRASGO, 2001).

3.4.2. Variáveis

Variáveis dependentes:

Volume ovariano: o cálculo do volume do ovário foi feito de acordo com a fórmula para o cálculo de volume em corpos elipsóides (PASTORE et al., 1997).

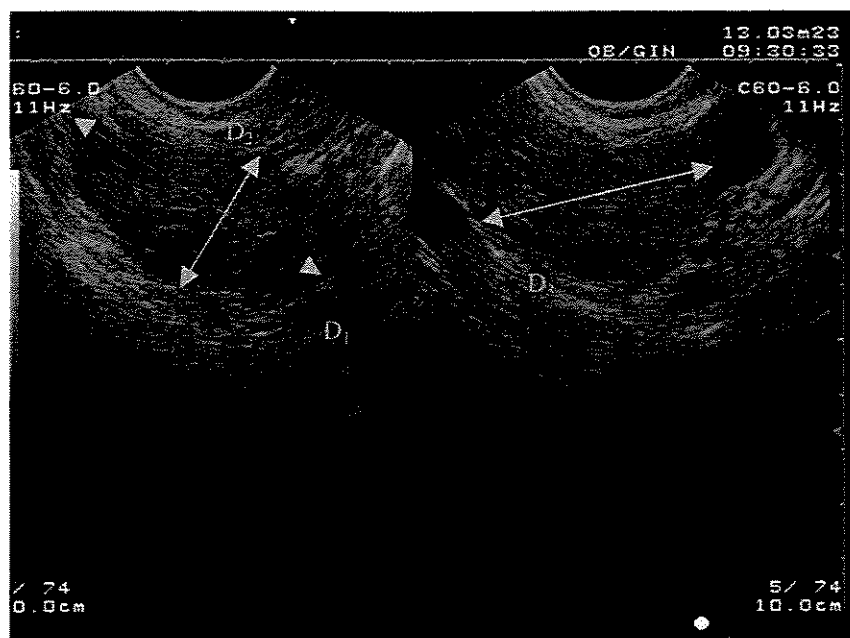


FIGURA 3.1. - Determinação dos diâmetros ovarianos

D₁: maior diâmetro ovariano.

D₂: maior diâmetro perpendicular a D₁.

D₃: maior diâmetro ortogonal após rotação de 90° do transdutor.

$$D_1 \times D_2 \times D_3 \times 0,523$$

Foi obtida a média dos volumes obtidos dos ovários direito e esquerdo e o volume ovariano médio foi utilizado para fins de análise. Quando apenas um dos ovários foi visualizado o seu volume foi utilizado na análise.

Contagem de folículos antrais: quantidade de folículos em estágio de antra identificados em ambos os ovários. Foi obtida a quantidade média de

folículos antrais identificados em ambos os ovários para fins de cálculo. Quando apenas um dos ovários foi visualizado, o número de folículos antrais identificados neste ovário foi utilizado para a análise.

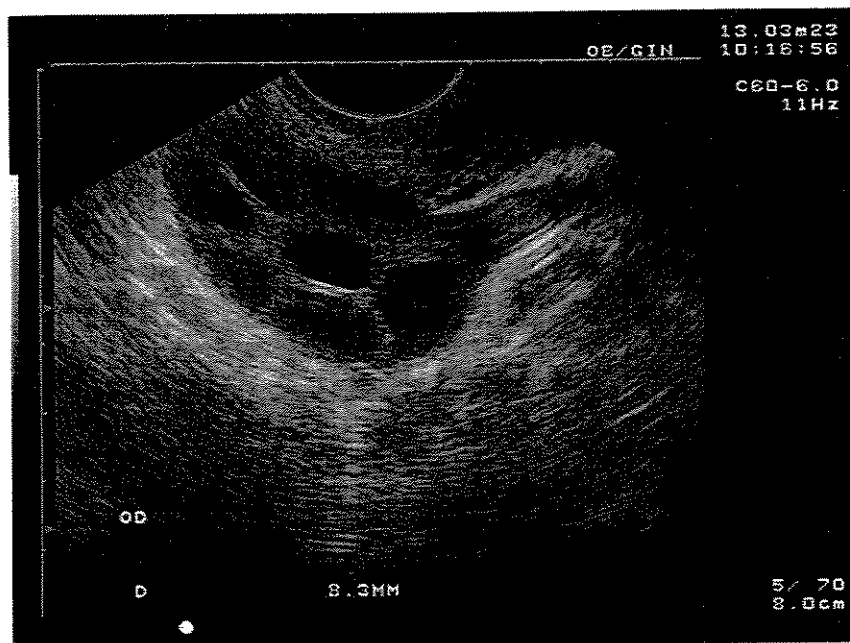


FIGURA 3.2. – Ecografia endovaginal identificando os folículos antrais

Variáveis independentes:

Idade: idade cronológica da mulher, avaliada em anos completos.

Estado menopausal: situação em que a mulher encontra-se em relação à menopausa. Divido em duas categorias: pré-menopausa e pós-menopausa.

Uso de contraceptivos hormonais: utilização de contraceptivos hormonais (orais ou injetáveis) por pelo menos seis meses consecutivos ao longo da vida.

Segundo esse critério, as mulheres foram então classificadas em *usuárias* ou *não usuárias* de contraceptivos hormonais.

Uso de Terapia de reposição hormonal: utilização de TRH por pelo menos 6 meses consecutivos ao longo da vida. Segundo esse critério, as mulheres foram então classificadas em *usuárias* ou *não usuárias* de TRH.

Tabagismo: hábito de fumar independente do número de cigarros consumidos por dia ou maços por ano, nos últimos cinco anos (WITTEMAN et al., 1993). Foram então classificadas as mulheres em *fumantes* e *não fumantes*.

Fumantes: aquelas que ainda estão fumando ou as que abandonaram há menos de cinco anos.

Não Fumantes: aquelas que nunca fumaram ou as que pararam de fumar há mais de cinco anos (KWITEROVICH JR et al., 1992).

Variáveis de controle:

Escolaridade: constatação do nível de escolaridade das mulheres incluídas no estudo – *analfabetas*, *ensino fundamental*, *ensino médio* e *ensino superior*.

Cor da pele: derivação étnica da mulher auto-referida pela mulher. Categorias: *branca* e *não branca*.

Paridade: número de filhos nascidos acima de 25 semanas de idade gestacional (nulípara, um parto, dois partos três ou mais partos).

Aleitamento materno: prática do aleitamento natural por pelo menos quatro meses de vida, contabilizado em relação ao número de filhos que foram amamentados (nenhuma, uma vez, duas vezes, três ou mais vezes).

Laqueadura tubária: antecedente de cirurgia tubária com finalidade de esterilização definitiva. *Laqueadas e não laqueadas.*

3.5. Processamento e Análise dos dados

As fichas codificadas foram arquivadas em ordem numérica e os dados inseridos em uma planilha utilizando-se o programa EXCEL 2000, Microsoft Corporation®, com digitação dupla. A análise estatística foi realizada pelo programa S.A.S. versão 8 (SAS Institute, Carry, NC, USA).

A transformação logarítmica foi utilizada para corrigir a distribuição assimétrica do volume ovariano. A análise de variância ANOVA e a análise de regressão linear múltipla foram utilizadas para avaliar a correlação entre o comportamento das médias do logarítmo do volume ovariano segundo as diversas variáveis independentes de interesse.

Foram elaboradas curvas ROC (*Receiver operating characteristic curve*) para avaliar o desempenho do volume ovariano, contagem de folículos antrais e idade da mulher como critérios de identificação do estado menopausal, expresso em medidas de sensibilidade e especificidade. Foram estimados intervalos de confiança 95% exatos para estas medidas, conforme o método

proposto por HILGERS (1991), e os p valores foram comparados pelo teste de DeLong-DeLong-Clarke-Pearson (DELONG et al., 1988).

3.6. Aspectos Éticos

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios contidos na DECLARAÇÃO DE HELSINQUE (1990) e das Normas Regulamentadoras Para Pesquisas Envolvendo Seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. (BRASIL, 1996). Todas as mulheres foram esclarecidas de acordo com o "Termo de Consentimento Livre e Esclarecido" apresentado no Anexo 2, e somente foram incluídas no estudo após a compreensão do referido termo e consentimento voluntário para tal.

4. Artigos

4.1. ARTIGO 1

Marcelo Giacobbe, Aarão Mendes Pinto-Neto, Lúcia Helena Simões Costa-Paiva, Edson Zangiacomi Martinez – Ovarian volume, age and menopausal status. ***Menopause.***

4.2. ARTIGO 2

Marcelo Giacobbe, Aarão Mendes Pinto-Neto, Lúcia Helena Simões Costa-Paiva, Edson Zangiacomi Martinez – Age, ovarian volume, antral follicle count and menopausal status. ***Fertility and Sterility.***

4.3. ARTIGO 3

Marcelo Giacobbe, Aarão Mendes Pinto-Neto, Lúcia Helena Simões Costa-Paiva, Edson Zangiacomi Martinez –Volume ovariano em mulheres na pré e pós-menopausa: fatores associados. ***Reprodução e Climatério.***



HOSPITAL MATERNIDADE LEONOR MENDES DE
BARROS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Dear Mrs. Diane K. Graham
Menopause Managing Editor

We are pleased to submit the manuscript "Ovarian volume, age and menopausal status" to
Menopause. If you require any further information, please do not hesitate to get in touch with the address:

Marcelo Giacobbe, M. D.

Rua Vilela, 722 ap 13 – Tatuapé, CEP 03014-000, São Paulo-SP, Brazil.

Tel 55 11 6191 6529

E-mail: giacobbe@uol.com.br

MARCELO GIACOBBE

AARÃO MENDES PINTO-NETO

OVARIAN VOLUME, AGE AND MENOPAUSAL STATUS

Marcelo Giacobbe, MD * ** , Aarão Mendes Pinto-Neto, MD ** , Lucia Helena Simões
Costa-Paiva, MD** , Edson Zangiacomi Martinez **

* Leonor Mendes de Barros Maternity Hospital, São Paulo, Brazil.

**Tocogynecology Department of the Medical School of the State University of
Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, Brazil.

Correspondence:

Marcelo Giacobbe

Rua Vilela, 722 ap 13 – Tatuapé, CEP 03014-000, São Paulo-SP, Brazil.

Tel 55 11 6191 6529

E-mail: giacobbe@uol.com.br

ABSTRACT

Objective: The purposes of this study were to (1) verify whether ovarian volume differs according to chronological age and menopausal status in healthy women; (2) evaluate the sensitivity and specificity of ovarian volume alone and ovarian volume associated with age in predicting menopausal status.

Design: The subjects of this study were premenopausal (n=121) and postmenopausal (n=71) women aged between 40 and 55, who were interviewed about social, demographic and medical conditions. These women underwent transvaginal ultrasound to determine ovarian volume. Analysis of variance (ANOVA) was applied to evaluate the correlation between ovarian volume, age and menopausal status. ROC curves were elaborated to evaluate the sensitivity and specificity of ovarian volume and age related to menopausal status.

Results: The decline in ovarian volume was significant and uniform as age increased in both groups ($p=0.03$). Premenopausal women presented larger ovaries than did postmenopausal women. Menopausal status and age were correlated with ovarian volume. Menopausal status seemed more important than age in determining ovarian volume decrease ($R^2=0.36$) because age contributed little when added to a model already containing menopausal status. ROC curves indicated that ovarian volume and age were effective in determining menopausal status. The best cut-off points in terms of sensitivity and specificity were ovarian volume $< 4\text{cm}^3$ and age ≥ 48 years. The areas under the ROC curves of ovarian volume and ovarian volume plus age were similar.

Conclusion: Ovarian volume declines with age in premenopausal and postmenopausal women. The menopausal status is more important than age to determine ovarian volume. The data suggest that ovarian volume and age are quite accurate in predicting menopausal status.

Keywords: Ultrasound, Ovarian volume, Menopause, Age, Transvaginal, ROC curves

INTRODUCTION

Menopause is an important event in a woman's reproductive life. Several organic modifications take place that lead to a higher incidence of cardiovascular diseases, osteoporosis, genital prolapse and cognition disorders.¹ Menstrual cessation is expected to occur between ages 42 and 58.^{2, 3} It marks the end of a senescence process, which began about eight years before. Despite that, alterations in hormonal secretion are not always present in this preceding period and perimenopause endocrinology is often variable.⁴ As a result, the decline in ovarian function is clinically silent, except for a woman's decreased fertility.

The ovary is the most important source of estrogen. The ovarian follicles are a number of nonrenewable primordial structures having endocrine and reproductive functions throughout a woman's life span. Some authors studied ovarian biopsies and identified alterations in follicular density, finding a strong correlation between histologic results, the number of primordial follicles and clinical conditions presenting low ovarian reserve associated with reduced ovarian volume.^{5,6} These histologic stromal modifications and the number of follicles could be indirectly assessed using ovarian ultrasound measurements⁷. Transvaginal ultrasound produces good-quality images because of the anatomical proximity between the ovaries and the high-frequency probes. It allows performance of a detailed morphologic examination in a comfortable and non-invasive way.

Based on these possibilities, several authors have studied ovarian appearance and volume by ultrasound, in correlation with some clinical conditions—assisted reproductive

treatment ⁸, ovarian cancer ⁹ and menopausal status ¹⁰. Flaws et al.¹⁰ studied ovarian volume and its correlation with menopausal status. These authors found that ovarian volume decreases with age and premenopausal women have larger ovarian volumes than do postmenopausal women. Other authors verified a significant reduction in ovarian volume according to age and menopausal status ¹¹.

We believe that Flaws et al. ¹⁰ conducted one of the first studies proposing that ultrasound measurement of ovarian volume may be useful as a possible predictor of menopausal status in women. The authors clearly suggested the need to observe their findings in other populations. Motivated by their observations, we studied a sample of Brazilian women to (1) verify whether ovarian volume differs according to chronological age and menopausal status; (2) evaluate sensitivity and specificity of ovarian volume alone and ovarian volume associated with age in predicting menopausal status.

METHODS

Population and sample size

The subjects of this study were premenopausal and postmenopausal women aged between 40 to 55. All were volunteers from the Gynecology Division of Leonor-Mendes de Barros Hospital, São Paulo, Brazil. The Hospital Ethics Committee approved the study. Women agreed to participate after signing an *Informed Consent* and were interviewed about demographic, social and medical conditions. All ultrasound examinations were performed by a single observer using the SSD 1700 Aloka ultrasound equipment and a transvaginal 5 to 7-MHz multifrequency probe. Premenopausal women were examined in the early follicular phase of the menstrual cycle, between day 7 and 10. Some parameters were applied to exclude participants whose conditions could have impaired an accurate estimate of ovarian volume: unilateral oophorectomy, presence of cysts or ovarian masses larger than 20 mm, pregnancy, inflammatory pelvic disease, gonadal dysgenesis, undetermined menopausal status or secondary amenorrhea.

Sample size calculation was made according to the methodology proposed by Hsieh, Bloch and Larsen¹² for multiple regression studies. A determination coefficient (R^2) of 0.26 associated with a regression model having age as an independent variable and ovarian volume as a dependent variable was considered. This value for R^2 agrees with a study by Flaws et al¹⁰. Hypothetically, we estimated that we would need a minimum number of 140 women to perform the statistical analysis, with a type I error rate of 0.05 and a power of 80%. Two hundred and four women composed the preliminary sample. Eleven women were excluded from the database because both

ovaries were not found during ultrasound examinations. Another woman was also excluded owing to premature menopause (at age 36) and very small ovaries. This observation's influence therefore would be avoided and not distort the results. Consequently, 192 women were included in the statistical analysis.

Concepts, variables and data analysis

Menopause was defined as a woman's last menstruation followed by the absence of vaginal bleeding for 1 year¹³. Premenopause was defined as menstrual bleeding (regular or irregular) accompanied or not by symptoms in women aged 40 or older¹⁴.

We identified possible conditions which might be associated with changes in ovarian volume and studied the influence of these variables on the sample. We defined hormonal contraception (HC) as use of birth control pills for at least 6 months during a woman's life span. According to these criteria, women were categorized as *users* and *non-users*. In a similar way, we defined hormone replacement therapy (HRT) as estrogen or estrogen plus progestogen therapy for at least 6 months during a woman's life span. These women were also categorized as *users* and *non-users*. Cigarette smoking was defined as the habit of smoking in the last five years, categorizing women as *smokers* and *non-smokers*. These women were also inquired about tubal sterilization, breast-feeding and parity.

Statistical analysis was performed using the SAS version 8 software (SAS Institute, Cary, NC, USA). Ovarian volume was calculated using the formula: length x

height x width x 0.523. Right and left ovarian volumes were averaged to generate only a single ovarian volume. If only one ovary was identified during transvaginal ultrasound, this value was included in the analysis as the ovarian volume. Because of the highly skewed distribution of ovarian volume, a logarithmic transformation was applied. Analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the correlation between ovarian volume, age and menopausal status log-transformed values. Receiver operating characteristic (ROC) curves were elaborated to evaluate the sensitivity to identify postmenopausal status and specificity to exclude premenopausal status of ovarian volume and age. Exact 95% confidence intervals (95% CI) for sensitivity and specificity measurements were calculated by Hilgers'¹⁵ approach.

RESULTS

Demographics aspects

Demographic characteristics of women are presented in Table 1.

Ovarian volume description controlled by age and menopausal status

There was a significant decrease in ovarian volume with age in all women ($p=0.03$, adjusted by menopausal status in ANOVA). Premenopausal women presented larger ovaries than did postmenopausal women (premenopausal $\bar{X} = 6.97 \text{ cm}^3$ and postmenopausal $\bar{X} = 3.51 \text{ cm}^3$; $p<0.01$). Comparing R^2 from regression models, we verified that age contributed little to explain ovarian volume when it was added to a model already containing menopausal status. The ANOVA model with age alone presented $R^2=0.25$, whereas a model with menopausal status alone presented $R^2=0.36$ and a model with menopausal status and age, simultaneously, presented $R^2=0.37$ (Figure 1).

The sensitivity and specificity of ovarian volume as predictor parameters of menopausal status were presented in Table 2. The optimal performance in predicting postmenopausal status was achieved when using a 4 cm^3 ovarian volume (sensitivity = 73% and specificity = 81%) and age 48 plus a 4 cm^3 ovarian volume (sensitivity = 79% and specificity = 74%).

The areas under the ROC curves considering age alone and ovarian volume plus age were very similar (age = 0.89; ovarian volume plus age = 0.85). Even if we

associated chronological age cut-off points with ovarian volume determinations, the performance in predicting menopausal status would be almost the same (Figure 2).

DISCUSSION

The present study confirmed a decrease in ovarian volume as chronological age progressed. Premenopausal women presented larger ovaries than did postmenopausal women. Menopausal status and age were correlated with ovarian volume. However, it was also observed that menopausal status was more important than age in determining such ovarian volume behavior. The best sensitivity and specificity values for determining postmenopausal status were achieved when ovarian volume was $< 4.0 \text{ cm}^3$ associated with age ≥ 48 . Finally, ovarian volume alone or ovarian volume associated with chronological age proved to be accurate in predicting a woman's menopausal status.

Our results agreed with those of other investigators which described a significant reduction in ovarian volume according to increasing chronological age^{10,11}. Pavlik et al.¹¹ studied 13963 women aged between 25 and 91 and verified a significant decline in ovarian volume in women aged between 38 and 55. For this reason, our study included women aged between 40 and 55, representing the major attention period for diagnosis of menopausal status. Pavlik et al.¹¹ reported a premenopausal mean ovarian volume of 4.9 cm^3 and a postmenopausal mean ovarian volume of 2.2 cm^3 . In the present study, we verified a premenopausal mean ovarian volume of 6.9 cm^3 and a postmenopausal mean ovarian volume of 3.5 cm^3 . Therefore, ovarian volumes were larger when compared to the above mentioned study. These volumes probably differed because of variability in the studied populations. This difference might have resulted from the wider age range evaluated by those authors. Another factor might have influenced these differences. Our

study was carried out by a single observer and had been designed for a single well-defined purpose, including healthy women seeking preventive medical care.

A study conducted by Flaws et al.¹⁰ also found a significant decline in ovarian volume with age. These authors described mean ovarian volumes of 6 cm³ for women who were 40-44 years old, 4.4 cm³ for those 45-49 years old and 3.17 cm³ for those 50-54 years old. The Brazilian women population from this study presented mean ovarian volumes according to chronological age: 7.09 cm³ at age 40-44, 5.9 cm³ at age 45-49 and 3.59 cm³ at age 50-55 (table not presented). Hence, similar results were found in both populations. The authors also described that the mean ovarian volume differed according to menopausal status even after data were adjusted to chronological age or potential confounders, including smoking history, body mass index, racial oral contraceptive use and hormone replacement therapy. Because both age and menopausal status were associated with ovarian volume, R² values from regression models were compared to determine which variable would best explain the variance in ovarian volume. In the present study, the R² value for age alone was 0.25, whereas the R² value for menopausal status alone was 0.36. When age was added to a model that already contained menopausal status, we observed that age contributed little to the regression model for menopausal status alone. These results were similar to those reported by Flaws et al.¹⁰.

The major differences between the present study's results and those reported by Flaws et al.¹⁰ were the sensitivity and specificity values of ovarian volume in predicting menopausal status. We verified slightly lower values than they reported for all age and

ovarian volume cut-off points. When ovarian volume was associated with age, we verified lower sensitivity and specificity values than those observed by Flaws et al ¹⁰.

Because ovarian volume differed by menopausal status, we calculated sensitivity and specificity values of ovarian volume as a predictor of postmenopausal status. For example, using 4.0 cm³ as an ovarian volume cut-off point, sensitivity was 73% and specificity 81%. Adding age as a parameter did little to improve sensitivity and specificity values. This could be observed when we compared the area under the ROC curves. Similarity between curves was better observed in our study than in a study by Flaws et al. ¹⁰ because the symmetry of the ROC curve was preserved. Their data were plotted in a non-symmetrical curve and gave a visual impression that there were different performances according to the predictor parameter used. It seems that if they had constructed the ROC curve in a conventional way, this visual difference might have disappeared. These authors' final conclusion was that both ovarian volume and age were good predictors of menopausal status.

We believe that Flaws et al ¹⁰ were the pioneers who suggested ovarian volume estimate by ultrasound could be used to determine menopausal status in a sensitive and specific way. Despite the important information provided by their study, the authors exhibited lack of knowledge about the amount of inter-observer and intra-observer variability that were introduced by ultrasound examinations. They recognized that data collection possibly varied. In addition, they were uncertain about the incidence of uterine fibroids in the study which could have interfered in their results. Based on these observations, they suggested that it was necessary to study another female population to validate their findings and verify a possible data generalization. Interested to observe

this possibility, we selected healthy women who were seeking medical attention for preventive care, in a hospital in São Paulo, Brazil. Sample size calculation was made according to their results. The inter-observer variations were excluded, since a single examiner (a certified specialist) performed ultrasound examinations.

However, menopausal status might have been misclassified to some degree in women classified as premenopausal with irregular menses. Another possible limitation to the present study was the cross-sectional methodological design. Certainly, more research is needed and should be forthcoming and controlled to evaluate ovarian volume variability and its accuracy in determining menopausal status. However, we acknowledge that the present study is possibly the first to use the methodology proposed by Flaws et al.¹⁰ and mainly the first to confirm the accuracy of ultrasound examination in predicting menopausal status in another population of women.

Finally, in accordance with other authors, we verified that ultrasound assessment has proved to be a reliable tool for evaluating the ovary in several clinical situations, especially to determine menopausal status. In addition, it is available in almost all medical centers. We must obtain all information provided during ultrasound examination. Hormonal analysis and more sophisticated imaging methods could even be applied to evaluate menopausal status. However, those methods are more expensive and often fail to provide immediate information as simply as the ultrasound method. These characteristics may be significant in places such as Brazil, where health care planning is impaired due to economic problems.

CONCLUSION

Ovarian volume declines with age in premenopausal and postmenopausal women. The menopausal status is more important than age to determine ovarian volume. The data suggest that ovarian volume and age are quite accurate in predicting menopausal status.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. EUROPEAN MENOPAUSE SOCIETY CONSENSUS European consensus development conference on menopause. *Human Reprod* 1996; 11 (5): 975-79.
2. FRIES JF & CRAPO, LM The rectangularization of life. In: BYYNY, RL & SPEROFF, L – A clinical guide for the care of older women. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990 p 1.28
3. LAUFER L, DAVIDSON BJ, ROSS RK, LAGASSE LD, SIITERI PK, JUDD HL – Physical characteristics and sex hormone levels in patients with osteoporotic hip fractures or endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1983;145 (5): 585-90.
4. PRIOR JC – Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. *Endocrine reviews* 1998;19 (4): 397-428.
5. VITAL, V S, TELLEZ, S, ALVARADO, I – Clinical histologic correlation in reproductive pathology. *Obstet Gynecol* 2000;95:83.
6. LASS, A – Assessment of ovarian reserve—is there a role for ovarian biopsy? *Human Reprod.* 2001;16(6):1055-7.
7. LASS A, SILYE R, ABRAMS DC, KRAUSZ T, HOVATTA O, MARGARA R, WINSTON RM – Follicular density in ovarian biopsy in infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Human Reprod* 1997;12(5):1028-31.
8. SHARARA FI, McCLAMROCK, HD – Use of microdose GnRH agonist protocol in women with low ovarian volumes undergoing IVF. *Human Reprod* 2001;16(3):500-3.
9. ZALEL Y, TEPPER R, ALTARAS M, BEYTH Y – Transvaginal sonographic measurements of postmenopausal ovarian volume as a possible detection of ovarian neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75(7):668-71.

10. FLAWS JA, RHODES JC, LANGENBERG P, HIRSHFIELD AN, KJERULFF K, SHARARA FI – Ovarian volume and menopausal status. *Menopause* – 7(1):53.61, 2000.
11. PAVLIK EJ, DE PRIEST PD, GALLION HH, UELAND FR, REEDY MB, KRYSCIO RJ, VAN NAGELL JRJr – Ovarian volume related to age. *Gynecol Oncol* 2000; 77(3):410-12
12. HSIEH FY, BLOCH DA, LARSEN MD – A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. *Statistics in Medicine* 1998;17:1623-34.
13. WHO Scientific Group Research on the menopause in the 1990's A report of the WHO Scientific Group. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland, 1996;(79), 966-71.
14. FEBRASGO – Atenção Primária e Terapia de Reposição Hormonal no Climatério. *Projeto Diretrizes – Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina* 2001; 3-11.
15. HILGERS R A – Distribution-free confidence bounds for ROC curves. *Methods Information in Medicine* 1991; 30(2): 96-101.

Table 1. Demographic characteristics of pre- and postmenopausal women

Descriptors	<i>n (%)</i>	
Age	$\bar{X}$ = 46.8 years	
	Premenopause	$\bar{X}$ = 44.3 years
	Postmenopause	$\bar{X}$ = 50.9 years
Menopausal status	Premenopause	121 (63%)
	Postmenopause	71 (37%)
Skin color	White	142 (74%)
	Others	50 (26%)
Education	Illiterates	11 (6%)
	Junior High School	121 (63%)
	High School	57 (30%)
	University	3 (1%)
Parity	Nulliparous	14 (7%)
	1 delivery	24 (12%)
	2 deliveries	48 (25%)
	3 or more	107 (56%)
Breast-feeding	None	42 (22%)
	Once	32 (17%)
	Twice	46 (24%)
	3 or more	72 (37%)
Hormonal contraception	Non-users	70 (36%)
	Users	122 (64%)
Surgical sterilization	Yes	48 (25%)
	No	144 (75%)
Cigarette smoking	Smokers	52 (27%)
	Non-smokers	140 (73%)
Hormone replacement therapy	Non-users	155 (80%)
	Users	37 (20%)

$\bar{X}$: mean

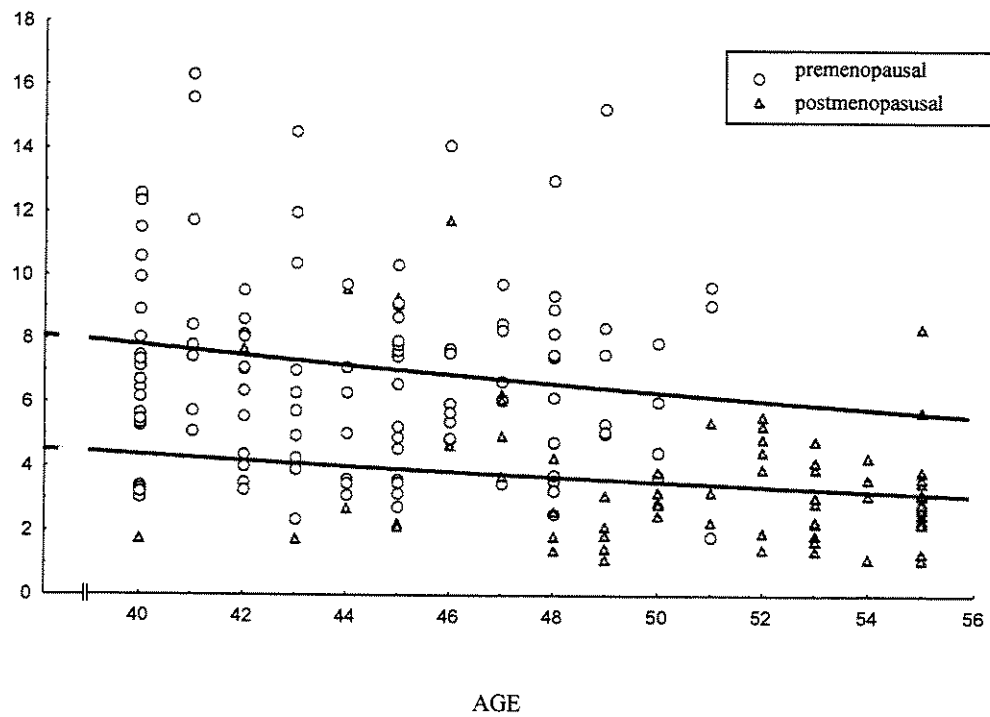


Figure 1.: Correlation between ovarian volume and age in premenopausal and postmenopausal women

Age alone: $R^2 = 0,25$

Menopausal status alone: $R^2 = 0,36$

Menopausal plus age $R^2 = 0,37$; $p = 0.03$ (ANOVA)

Table 2: Sensitivity and specificity of ovarian volume in predicting menopausal status

Ovarian volume	Accuracy			
	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI
< 3.0 cm ³	51	(37 – 63)	97	(92 – 99)
< 3.5 cm ³	61	(47 – 72)	87	(79 – 93)
< 4.0 cm ³	73	(59 – 83)	81	(73 – 88)
< 4.5 cm ³	78	(64 – 86)	78	(69 – 86)
< 5.0 cm ³	85	(72 – 92)	72	(63 – 81)
< 5.5 cm ³	87	(76 – 94)	65	(54 – 73)
< 6.0 cm ³	90	(79 – 96)	60	(49 – 69)
< 8.0 cm ³	94	(85 – 98)	31	(23 – 42)
< 3.0 cm ³ and ≥ 45 y	50	(36 – 63)	95	(87 – 99)
< 3.5 cm ³ and ≥ 45 y	61	(46 – 73)	88	(78 – 99)
< 4.0 cm ³ and ≥ 45 y	73	(58 – 83)	80	(68 – 88)
< 4.5 cm ³ and ≥ 45 y	79	(65 – 88)	78	(66 – 89)
< 5.0 cm ³ and ≥ 45 y	86	(74 – 93)	68	(55 – 82)
< 5.5 cm ³ and ≥ 45 y	89	(78 – 95)	60	(46 – 74)
< 6.0 cm ³ and ≥ 45 y	92	(82 – 97)	57	(43 – 71)
< 8.0 cm ³ and ≥ 45 y	96	(86 – 99)	30	(19 – 45)
< 3.0 cm ³ and ≥ 48 y	55	(40 – 69)	93	(79 – 99)
< 3.5 cm ³ and ≥ 48 y	68	(52 – 80)	85	(68 – 97)
< 4.0 cm ³ and ≥ 48 y	79	(64 – 81)	74	(55 – 90)
< 4.5 cm ³ and ≥ 48 y	86	(72 – 93)	70	(51 – 88)
< 5.0 cm ³ and ≥ 48 y	91	(78 – 97)	63	(43 – 83)
< 5.5 cm ³ and ≥ 48 y	95	(83 – 98)	52	(33 – 74)
< 6.0 cm ³ and ≥ 48 y	98	(89 – 99)	52	(33 – 74)
< 8.0 cm ³ and ≥ 48 y	98	(89 – 99)	30	(25 – 53)

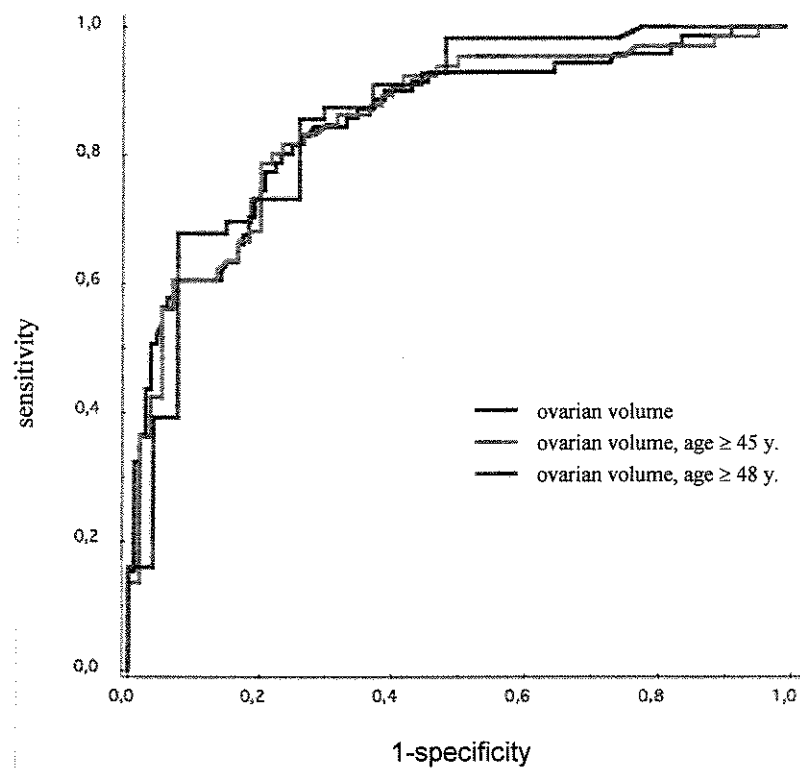


Figure 2: ROC curves – sensitivity and specificity of ovarian volume and ovarian volume plus different age cut-off points in predicting postmenopausal status



HOSPITAL MATERNIDADE LEONOR MENDES DE
BARROS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Dear Alan H. DeCherney, M.D.

Editor in Chief Fertility and Sterility

We are pleased to submit the manuscript "Age, ovarian volume, menopausal status and antral follicle count" to *Fertility and Sterility*®. If you require any further information, please do not hesitate to get in touch with the address:

Marcelo Giacobbe, M. D.

Rua Vilela, 722 ap 13 – Tatuapé, CEP 03014-000, São Paulo-SP, Brazil.

Tel 55 11 6191 6529

E-mail: giacobbe@uol.com.br

MARCELO GIACOBBE

AARÃO MENDES PINTO-NETO

AGE, OVARIAN VOLUME, MENOPAUSAL STATUS AND ANTRAL FOLLICLE COUNT

Marcelo Giacobbe, MD * ** , Aarão Mendes Pinto-Neto, MD ** , Lucia Helena Simões Costa-Paiva, MD** , Edson Zangiacomi Martinez **

* Leonor Mendes de Barros Maternity Hospital, São Paulo, Brazil.

**Tocogynecology Department of the Medical School of the State University of Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, Brazil.

Correspondence:

Marcelo Giacobbe

Rua Vilela, 722 ap 13 – Tatuapé, CEP 03014-000, São Paulo-SP, Brazil.

Tel 55 11 6191 6529

E-mail: giacobbe@uol.com.br

This study compared accuracy of ovarian volume, antral follicle count and age to predict menopausal status. Ovarian volume, antral follicle count and chronological may be useful parameters to predict menopausal status with similar accuracy.

Objective: To compare the accuracy of ovarian volume, antral follicle count and age in predicting menopausal status in healthy women.

Design: Cross-sectional study.

Setting: Gynecology Division at the Leonor Mendes de Barros Maternity Hospital.

Patients: Premenopausal (n=121) and postmenopausal (n=71) healthy women aged between 40 and 55.

Intervention: Patients were submitted to a medical interview and transvaginal ultrasound examination.

Main outcome measure: The ovarian volume (cm³), antral follicle count and chronological age were recorded in both groups and the accuracy of these parameters in predicting menopausal status were compared.

Results: Premenopausal women presented larger ovaries than postmenopausal women (p< 0.01).

Premenopausal women had a higher number of antral follicles than postmenopausal women (p<0.01). ROC curves showed that ovarian volume, age and antral follicle count had similar sensitivity and specificity in predicting menopausal status. The best cut-off points were observed when ovarian volume was 4cm³, age was ≥ 48 and antral follicle count was ≤ 2 follicles.

Conclusions: Ovarian volume, antral follicle count and chronological age may be useful parameters for predicting menopausal status with similar accuracy.

Keywords: Ultrasound, Ovarian volume, Follicle count, Menopause, Transvaginal, ROC curves

INTRODUCTION

The ovaries are composed of nonrenewable endowments of primordial follicles. Some primordial follicles are selected to develop and ovulate. During a woman's reproductive life, some primordial follicles will mature but many others will degenerate (undergo atresia) in a poorly understood process. Some studies have observed a decline in the number of follicles with age, primarily in the late thirties (1). The model of follicle disappearance was exponential and a threshold of approximately 1000 follicles was necessary to achieve menopause (2). The time preceding normal menopause was associated with a decline in ovarian function. Perimenopause has a complex endocrinology. Thus, hormonal changes such as elevated FSH and LH levels are not diagnostic of perimenopause and normal hormone levels were identified during this period (3).

Small ovarian volumes and low antral follicle count were associated with ovarian ageing (4, 2). Ovarian biopsy is a very invasive diagnostic method for determining follicle density, although it enables the investigation of ovarian reserve (5). Recent publications suggested the use of ultrasound ovarian volume and antral follicle count as parameters for determining menopausal status (6, 7). Thus, based on a simple coadjuvant method for estimating menopausal status and testing the validity of these parameters, this study aimed to verify the accuracy of chronological age, ovarian volume and antral follicle count in predicting menopausal status.

MATERIAL AND METHODS

The subjects of this study were premenopausal and postmenopausal women aged between 40 and 55 from the Gynecology Division of Leonor-Mendes de Barros Maternity Hospital, São Paulo, Brazil. All subjects agreed to participate in this study after signing an *Informed Consent*. Exclusion criteria were unilateral oophorectomy, presence of cysts or ovarian masses larger than 20 mm, pregnancy, inflammatory pelvic disease, gonadal dysgenesis, undetermined menopausal status and secondary amenorrhea.

We interviewed 204 women about demographic, social and medical conditions. These women were then submitted to a transvaginal ultrasound. All examinations were performed by a single observer. A 5 to 7 MHz-transvaginal multifrequency probe was employed. Eleven women were excluded because both ovaries were not found during ultrasound examinations. Another woman was also excluded because of premature menopause (at age 36). Thus, 192 women were included in the statistical analysis.

The sample size calculation was performed according to the methodology proposed by Hsieh, Bloch and Larsen (8) for multiple regression studies. According to a study by Flaws et al. (6) the determination coefficient is 0.26 (R^2) considering a regression model with age as an independent variable and ovarian volume as a dependent variable. Thus, a minimum of 140 women were required to perform statistical analysis, which had a type I error rate of 0.05 and a power of 80%.

Menopause was defined as absence of vaginal bleeding for 1 year (9). Premenopause was defined as menstrual bleeding (regular or irregular) accompanied or not by symptoms (10) in women aged 40 or older.

Ovarian volume was calculated using the formula: length x height x width x 0.523. Right and left ovarian volumes were averaged to generate only a single ovarian volume. If only one ovary was identified during transvaginal ultrasound, this value was included in the analysis as ovarian volume. Antral follicle count was obtained after scanning the ovaries for small, echo-free areas of approximately 3 to 8 mm in diameter. In a similar way, follicle count was averaged if both ovaries were visible or count was obtained from the only visible ovary.

Statistical analysis was performed using the SAS version 8 software (SAS Institute, Cary, NC, USA). Logarithmic transformation was applied to ovarian volume due its highly skewed distribution. Analysis of variance (ANOVA) and linear regression models were used to evaluate the correlation between log-transformed values of ovarian volume and independent variables. A receiver operating characteristic (ROC) curve was elaborated to evaluate the sensitivity and specificity measures for identifying postmenopausal status. Exact 95% confidence intervals (95% CI) for the sensitivity and specificity measures were calculated by Hilgers' approach (8) and *p* values were compared using DeLong-DeLong-Clarke-Pearson test (11). The Hospital Ethics Committee approved this study.

RESULTS

Social and demographic aspects concerning the subjects of this study are described in Table 1. We noticed that ovarian volume decreased according to age. Also, ovarian volume was significantly larger in premenopausal women than in postmenopausal ones (Table 2).

Accuracy of age, ovarian volume and antral follicle count in predicting menopausal status

The performance of age, ovarian volume and antral follicle count in classifying women according to their menopausal status were described by sensitivity and specificity measures (Table 3).

ROC curves were elaborated to evaluate the accuracy of these parameters in determining menopausal status. Several cut-off points were calculated to verify the best association between sensitivity and specificity. Age ≥ 48 y. had 79% sensitivity and 76% specificity. Ovarian volume $< 4 \text{ cm}^3$ achieved 73% sensitivity and 81% specificity. And the best association obtained for antral follicle count was ≤ 2 follicles with 89% sensitivity and 49% specificity (Figure 1).

All three curves were compared through the area under the ROC curves, respectively. There were no differences between age versus ovarian volume curves ($p=0,24$) and ovarian volume versus antral follicle count ($p=0.06$). It seemed that age was more effective for determining menopausal status than antral follicle count alone ($p=0.01$). Despite the latter information, these curves were closely equivalent to the parameters of menopausal status.

DISCUSSION

The objective of this study was to compare the accuracy between age, ovarian volume and antral follicle count in predicting menopausal status in healthy women. We confirmed that premenopausal women had significantly larger ovaries than postmenopausal women. Also, a higher number of antral follicles were verified in premenopausal women than in postmenopausal ones. Age, ovarian volume and antral follicle count were correlated with menopausal status. The best sensitivity and specificity values to determine postmenopausal status were obtained at age ≥ 48 , with ovarian volume $< 4 \text{ cm}^3$ and antral follicle count ≤ 2 . Finally, it was identified that age, ovarian volume and antral follicle count were accurate in predicting menopausal status.

Recent publications suggested using ovarian volume, age and antral follicle count as predictors of menopausal status (6, 7). Flaws et al. (7) tested whether ovarian volume and antral follicle count were more specific markers of menopausal status than age and FSH levels. These authors reported that ovarian volume and antral follicle count presented similar sensitivity and specificity for indicating postmenopausal status than did FSH levels and age. The results of the present study were obtained from another population of healthy women and confirmed the observations made by those authors.

The events which lead to menopause are uncertain. Some authors suggested that follicle depletion is associated with menopausal status, since premenopausal women with regular menstrual cycles have a higher number of follicles than postmenopausal women (13). It has been considered that we need 1000 follicles or more to achieve the onset of menopause and the decline in follicle numbers is significant after the middle

thirties (2, 14). Women with small ovaries show signs suggestive of follicle depletion: higher levels of basal follicle-stimulating hormone (FSH), low oocyte recovery rates and a poor response to ovulation induction. Thus, ultrasound used for measuring ovarian volume may be a reliable and non-invasive tool to indirectly evaluate the number of primordial follicles (15).

Visualization of antral follicles in a woman aged 40 or older perhaps could provide information about her reproductive capability. There is an increasing number of women who are delaying their first pregnancy until their late thirties and early forties. Ovarian reserve is complex to evaluate. We expected antral follicle count to be much more accurate in predicting menopausal status, than what we observed in this study, when compared to age and ovarian volume. However, other studies should be conducted to confirm these findings, mainly if the subjects belong to a population of infertile patients.

The human ovary has a nonrenewable number of primordial follicles. During a woman's reproductive life, the number of primordial follicles is reduced owing to the process of atresia and recruitment for ovulation. The decline in primordial follicles appears to be an exponential rate with high rates of follicular atresia and low rates of follicular growth in the ageing ovary (1). Microanatomical histologic examinations in women aged between 43 and 72 showed a decrease in primordial follicles, a reduction in the number and caliber of the vascular network and signs of evident ovarian atrophy and fibrosis in postmenopausal women (16) These histologic findings closely explain the ultrasound pattern found in an ageing ovary, which appears as hypoechoic ovoid echoes with follicle reduction that sometimes is difficult to observe. Those authors' results

agreed with our findings, which identified a significantly low average number of antral follicles in postmenopausal women's ovaries by ultrasound examination. This evidence reinforces the positive correlation between transvaginal ultrasound examination and ovarian histology.

This study may have been limited because another marker of menopausal status (FSH level, for example) was absent. However, we selected only women whose menopausal status was clearly defined by clinical criteria. Another possible limitation might have been caused by the methodological design employed in the present study. In contrast, we verified that age, ovarian volume and antral follicle count showed good sensitivity and specificity for predicting menopausal status. This ensures the need for more prospective research on ultrasound use to test the accuracy of these parameters in other populations of healthy women.

Finally, ultrasound has become one of the most important diagnostic tools for women. It is also appropriate to mention that ultrasound use may provide important anatomic information and it has a strong positive correlation with endocrine and histopathologic alterations. Since ultrasound examination has become more available, its potential needs to be more applied in clinical practice. Also, it is not as expensive as hormone laboratory measurements and other imaging diagnostic methods. It may signify better health care planning for communities with limited resources.

In this study, data indicated that age, ovarian volume and antral follicle count may be useful parameters and are accurate in predicting menopausal status in healthy women.

REFERENCES

1. FADY, M J. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol Cel Endocrinol* 2000; 163:43-48.
2. FADDY MJ, GOSDEN R G. A model confirming the decline in follicle numbers to the age of the menopause in women. *Human Reprod* 1996;11(7):1484-6.
3. PRIOR J C. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. *Endocrine reviews* 1998;19 (4): 397-428.
4. TEPPER R, ZALEL Y, MARKOV S, COHEN I, BEYTH Y. Ovarian volume in postmenopausal women – suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74(3): 208-211.
5. LASS A. Assessment of ovarian reserve – is there a role for ovarian biopsy? *Human Reprod* 2001; 16(6): 1055-1057.
6. FLAWS JA, RHODES JC, LANGENBERG P, HIRSHFIELD AN, KJERULFF K, SHARARA FI – Ovarian volume and menopausal status. *Menopause* – 7(1):53.61, 2000.
7. FLAWS JA, LANGENBERG P, BABUS JK, HIRSHFIELD AN, SHARARA FI – Ovarian volume and follicle counts as indicators of menopausal status. *Menopause* 2001;8(3):175-80.

8. HILGERS R A – Distribution-free confidence bounds for ROC curves. *Methods Information in Medicine* 1991; 30(2): 96-101.
9. WHO Scientific Group Research on the menopause in the 1990's A report of the WHO Scientific Group. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland, 1996;(79), 966-71.
10. FEBRASGO – Atenção Primária e Terapia de Reposição Hormonal no Climatério. *Projeto Diretrizes – Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina* 2001; 3-11.
11. DELONG E R, DELONG D M, CLARKE-PEARSON D L. Comparing the areas under two or more correlated Receiver Operating Characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988; 44:837-845.
12. KALANTARIDOU S N, NELSON L M. Premature ovarian failure is not premature menopause. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 900:393-402.
13. RICHARDSON S J, SENIKAS V, NELSON JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Meta* 1997;65(6):1231-7.

14. FADDY MJ, GOSDEN RG, GOUGEON A, RICHARDSON SJ, NELSON JF – Accelerated disappearance of ovarian follicles in midlife: implications for forecasting menopause. *Human Reprod* 1992; 7:1342-46.
15. LASS A, SKULL J, MCVEIGH E, MARGARA R, WINSTON RM – Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in vitro fertilization can predict poor response. *Human Reprod* 1997;12(2):294-7.
16. MOTTA P M, HEYN R, MAKABE S – Three-dimensional microanatomical dynamics of the ovary in postreproductive aged women. *Ferti Steril* 2002; 78(2): 360-70.

Table 1: Demographic and social aspects of the study population

Descriptors		<i>n (%)</i>
Age	$\bar{X} = 46,8$ years	
	Premenopause $\bar{X} = 44,3$ years	
	Postmenopause $\bar{X} = 50,9$ years	
Menopausal status	Premenopause	121 (63%)
	Postmenopause	71 (37%)
Skin color	White	142 (74%)
	Others	50 (26%)
Education	Illiterates	11 (6%)
	Junior High School	121 (63%)
	High School	57 (30%)
	University	3 (1%)
Cigarette smoking	Smokers	52 (27%)
	Non-smokers	140 (73%)
Hormonal contraception	Non-users	70 (36%)
	Users	122 (64%)
Hormone replacement therapy	Non-users	155 (80%)
	Users	37 (20%)

Table 2: Average ovarian volume and antral follicle count in premenopausal and postmenopausal women

Menopausal Status	<i>n</i>	Ovarian volume*		Antral follicle count**	
		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
Premenopause	121	6,97	3,06	2.44	2.04
Postmenopause	71	3,51	2,07	0.81	1.21

SD: standard deviation

* $p < 0.01$

** $p < 0.01$ ANOVA

Table 3: Accuracy of age, ovarian volume and antral follicle count in predicting menopausal status

Parameters	Accuracy			
	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI
Age (years)				
≥ 42 y.	99	(92 – 99)	26	(17 – 35)
≥ 44 y.	96	(87 – 99)	43	(33 – 53)
≥ 46 y.	88	(77 – 94)	63	(53 – 72)
≥ 48 y.	79	(67 – 88)	76	(66 – 83)
≥ 50 y.	68	(54 – 78)	94	(87 – 97)
Ovarian volume				
< 3.0 cm ³	51	(37 - 63)	97	(92 - 99)
< 3.5 cm ³	61	(47 – 72)	87	(79 – 93)
< 4.0 cm ³	73	(59 – 83)	81	(73 – 88)
< 4.5 cm ³	78	(64 – 86)	78	(69 – 86)
< 5.0 cm ³	85	(72 – 92)	72	(63 – 81)
< 5.5 cm ³	87	(76 – 94)	65	(54 – 73)
< 6.0 cm ³	90	(79 – 96)	60	(49 – 69)
< 8.0 cm ³	94	(85 – 98)	31	(23 – 42)
Antral follicle count				
≤ 0	48	(34 – 60)	92	(84 – 96)
≤ 1	80	(68 – 89)	69	(58 – 77)
≤ 2	89	(78 – 95)	42	(32 – 52)
≤ 3	94	(85 – 98)	26	(18 – 36)
≤ 4	97	(89 – 99)	14	(8 – 22)
≤ 5	100	(94 – 100)	7	(2 – 12)
≤ 6	100	(94 – 100)	3	(1 – 8)

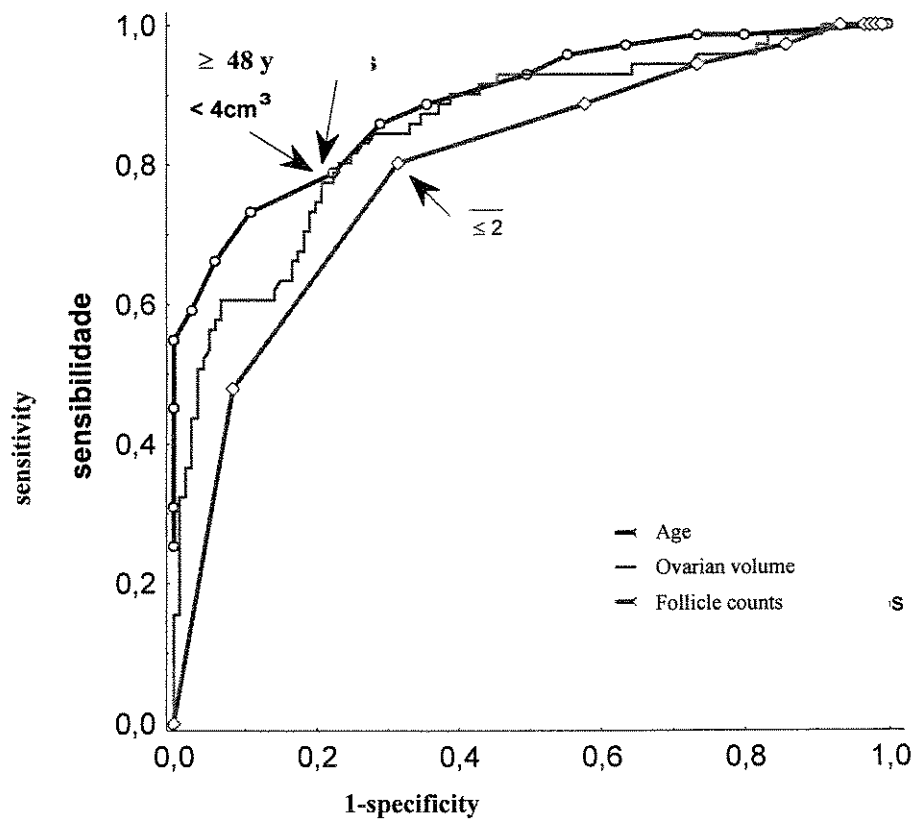


Figure 1: Receiver operating characteristic curves for parameters employed to predict menopausal status. Areas under ROC curves:

Age = 0.89

Ovarian volume = 0.85

Antral follicle count = 0.79



HOSPITAL MATERNIDADE LEONOR MENDES DE
BARROS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Prezado Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani,

Temos a satisfação de submeter o artigo "Volume ovariano em mulheres na pré e pós-menopausa: fatores associados" para vossa apreciação visando sua publicação na revista *Reprodução & Climatério*. Para qualquer esclarecimento adicional os autores podem ser contatados no endereço:

Marcelo Giacobbe
Rua Vilela, 722 apartamento 13
Tatuapé – São Paulo – SP
CEP 03314-000
e-mail: giacobbe@uol.com.br

Atenciosamente

São Paulo, 28 de janeiro de 2003.

MARCELO GIAÇOBBE

AARÃO MENDES PINTO-NETO

**VOLUME OVARIANO EM MULHERES NA PRÉ E PÓS-MENOPAUSA:
FATORES ASSOCIADOS**

**(OVARIAN VOLUME IN PREMENOPAUSAL AND POSTMENOPAUSAL
WOMEN: RELATED FACTORS)**

Marcelo Giacobbe*, **, Aarão Mendes Pinto-Neto**, Lucia Helena Simões Costa-
Paiva**, Edson Zangiacomi Martinez**.

* Hospital-Maternidade Leonor Mendes de Barros, São Paulo, Brasil.

**Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, Brasil.

Correspondência:

Marcelo Giacobbe

Rua Vilela, 722 ap 13 – Tatuapé, CEP 03014-000, São Paulo-SP, Brasil.

Tel (11) 6191 6529

E-mail: giacobbe@uol.com.br

RESUMO

Objetivo: o objetivo deste estudo foi (1) avaliar o comportamento do volume ovariano de acordo com a idade e o estado menopausal em mulheres climatéricas; (2) verificar a possível correlação dos antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade com o volume ovariano.

Casuística e metodologia: os sujeitos deste estudo foram mulheres na pré-menopausa (n=121) e na pós-menopausa (n=71) entre 40 e 55 anos de idade. Estas mulheres foram entrevistadas sobre suas condições médicas, sociais e demográficas. Após esta entrevista, foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e as voluntárias em participar deste estudo foram também submetidas a uma ecografia por via endovaginal para avaliação do volume ovariano. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar a correlação entre a idade, volume ovariano, estado menopausal e as demais variáveis independentes.

Resultados: verificou-se diminuição do volume ovariano de acordo com a idade independente do estado menopausal. As mulheres pré menopausadas apresentaram ovários com volume maior do que as mulheres pós-menopausadas. O estado menopausal mostrou-se mais importante que a idade na determinação do comportamento do volume ovariano ($R^2=0.36$). Não foi identificada correlação entre o tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade com o volume ovariano em mulheres pré e pós-menopausadas.

Conclusão: A idade e o estado menopausal apresentam correlação com o volume ovariano. Antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade não são associados com alterações do volume ovariano em mulheres climatéricas.

Unitermos: ultra-som, volume ovariano, ovário, menopausa.

Resumo Conciso: são estudadas a idade, estado menopausal, tabagismo, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e sua correlação com o comportamento do volume ovariano em mulheres climatéricas

INTRODUÇÃO

A transição da vida reprodutiva para o período não reprodutivo ocorre de maneira pouco compreendida. As modificações orgânicas que envolvem esta transição exercem influências em aspectos emocionais, sociais e de saúde, que são fundamentais para a manutenção da qualidade de vida. Os anos seguintes à menopausa estão relacionados com um aumento na incidência de doenças cardiovasculares, artrites, osteoporose, depressão, insônia e distopias genitais (European Menopause Society Consensus, 1996).

Admite-se que fisiologicamente a menopausa ocorra entre os 42 e 58 anos (Laufer et al. 1983; Fries & Crapo, 1990). É o estágio final de um processo de senescência fisiológica que começa em torno de 6 a 8 anos antes. Entretanto, alterações da secreção hormonal nem sempre podem ser observadas nesta fase e a endocrinologia deste período de transição menopausal apresenta-se frequentemente de forma inconstante (Prior, 1998). Dessa forma, esse período inicial de falência da função ovariana é clinicamente silencioso, exceto pelo declínio da fecundidade da mulher.

A avaliação ultra-sonográfica dos ovários tem sido utilizada com sucesso devido a sua boa correlação prognóstica com algumas situações clínicas, como – predição de resposta aos tratamentos de reprodução assistida (Sharara & McClamrock, 2001), síndrome dos ovários policísticos, rastreamento de neoplasias ovarianas (Zalel et al., 1996) e determinação do estado menopausal (Flaws et al., 2001).

Todavia, não é grande o conhecimento a respeito do comportamento do volume ovariano em mulheres climatéricas sadias e da influência de algumas variáveis

correlacionadas com o estado menopausal que poderiam estar relacionadas com alterações do volume ovariano. Este estudo teve o objetivo de (1) avaliar o comportamento do volume ovariano de acordo com a idade e o estado menopausal em mulheres climatéricas; (2) verificar a possível correlação dos antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade com o volume ovariano.

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

População e tamanho amostral

Foram sujeitos deste estudo mulheres pré-menopausadas e pós-menopausadas que procuraram atendimento médico com finalidade preventiva na Divisão de Ginecologia do Hospital-Maternidade Leonor Mendes de Barros, São Paulo, Brasil.

Após a compreensão do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi realizada uma entrevista sobre suas condições médicas, sociais e demográficas, seguida de uma ecografia por via endovaginal com a finalidade de determinar o volume ovariano. Todos os exames foram realizados pelo pesquisador. As mulheres na pré-menopausa foram examinadas na fase folicular inicial, entre os dias 7 e 10 do ciclo menstrual. Foram excluídas do estudo aquelas que apresentaram condições que poderiam influenciar a estimativa do volume ovariano, como ooforectomia ou ooforoplastia prévia, presença de cisto ou massa ovariana anormal com dimensões maiores que 20 mm, gravidez, doença inflamatória pélvica aguda, tratamento anterior para infertilidade conjugal, antecedente de cromossomopatias, disgenesia gonadal, estado menopausal indeterminado e amenorréia secundária.

O cálculo do tamanho amostral foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Hsieh, Bloch & Larsen (1998) para estudos que envolvem análise de regressão linear múltipla. O parâmetro utilizado para esta determinação foi o coeficiente de determinação (R^2) em um modelo de regressão, onde a variável dependente é o volume ovariano estimado em cm^3 e a variável independente é a idade cronológica da

mulher em anos completos. O estudo de Flaws et al. (2000) estimou um valor de R^2 de 0,26 para um modelo de regressão assim ajustado.

Dessa forma, estimou-se inicialmente um tamanho amostral de 140 mulheres considerando um erro do tipo I de 0.05 e poder estatístico de 80%. Foram examinadas um total de 204 mulheres que satisfaziam as condições pré-estabelecidas. Foram excluídas 11 mulheres as quais não foi possível a identificação de ambos os ovários por ocasião da ecografia endovaginal. Foi também excluída uma paciente que apresentou menopausa precoce, com volume ovariano extremamente diminuído, com a intenção de que esta verificação não exercesse o papel de ponto influente no comportamento dos resultados. Portanto, um total de 192 mulheres foram incluídas na análise estatística.

Conceitos, variáveis e análise estatística

Menopausa foi definida como a última menstruação da mulher, retrospectivamente definida pela ausência de menstruações por 1 ano (WHO, 1996). Pré-menopausa foi definida como mulheres com mais de 40 anos com sangramento irregular acompanhado ou não de sintomas neurovegetativos, neuropsíquicos ou genitais (FEBRASGO, 2001).

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa SAS, versão 8 (SAS Institute, Cary, NC, USA). O cálculo do volume do ovário foi feito de acordo com a fórmula para o cálculo de volume em corpos elipsóides: comprimento x largura x profundidade x 0.523. Foi obtida a média dos volumes obtidos dos ovários direito e esquerdo e o volume ovariano médio foi utilizado para fins de análise. Quando apenas um dos ovários foi visualizado o seu volume foi utilizado na análise. Em relação ao uso

de contraceptivos hormonais considerou-se como usuária aquela que relata a utilização de contraceptivos hormonais (orais ou injetáveis) por pelo menos 6 meses consecutivos ao longo da vida. Dessa forma, as mulheres foram então classificadas em usuárias ou não usuárias de contraceptivos hormonais. Com a terapia de reposição hormonal considerou-se também um período mínimo de utilização de TRH de 6 meses consecutivos ao longo da vida. Segundo esse critério, as mulheres foram classificadas em usuárias ou não usuárias de TRH. O hábito de fumar, independente do número de cigarros consumidos por dia ou maços por ano, foi inquerido em relação aos últimos 5 anos (Witteman, 1993). Foram então classificadas as mulheres em fumantes (aquelas que ainda estão fumando ou as que abandonaram há menos de 5 anos) e não fumantes. A escolaridade, cor da pele e a paridade foram também investigadas.

A transformação logarítmica foi utilizada para corrigir a distribuição assimétrica do volume ovariano. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar a correlação entre o comportamento das médias do logarítmo do volume ovariano com a idade, estado menopausal e as diversas variáveis independentes de interesse.

RESULTADOS

Volume ovariano, idade e estado menopausal

Verificou-se uma diminuição da média volume ovariano com a progressão da idade para todas as mulheres. Essa diminuição foi significativa em função do aumento da idade ($p=0.03$; Tabela 1). A análise de variância mostrou que o estado menopausal influencia o comportamento do volume ovariano independentemente da idade. As mulheres pré-menopausadas apresentaram volumes médios do ovário significativamente maiores do que as mulheres pós-menopausadas ($p=0.01$; Tabela 2). Uma vez que a idade e o estado menopausal associaram-se ao comportamento do volume ovariano, valores do coeficiente de determinação (R^2) de um modelo de regressão foram comparados entre si para verificar qual das variáveis apresentaria maior força de associação. O R^2 para a idade isoladamente foi de 0.25, enquanto que o R^2 para o estado menopausal isolado foi de 0.36. A associação da idade ao modelo que já continha previamente o estado menopausal mostrou que a idade pouco acrescentou ao valor do coeficiente de determinação ($R^2=0.37$).

Antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade e sua correlação com o volume ovariano.

Os antecedentes de uso de métodos contraceptivos, cor da pele, paridade, aleitamento materno, laqueadura tubária, tabagismo e uso de terapia de reposição hormonal não apresentaram correlação consistente com o comportamento do volume ovariano nas mulheres pré e pós-menopausadas (Tabela 3 e 4).

DISCUSSÃO

Este estudo confirmou que ocorre redução do volume ovariano de acordo com a idade da mulher e que mulheres na pré-menopausa apresentaram ovários de maior volume que os de mulheres na pós-menopausa. Verificou-se também que o estado menopausal e a idade correlacionaram-se com o comportamento do volume ovariano e que o estado menopausal foi o principal responsável na determinação deste comportamento. Finalmente, estudou-se a correlação entre diversas variáveis com o volume ovariano em mulheres pré e pós-menopausadas. Evidenciou-se que não houve influência de variáveis como o tabagismo, métodos contraceptivos, uso de terapia de reposição hormonal, amamentação e paridade no volume ovariano de mulheres climatéricas.

Outros autores também verificaram que o volume ovariano diminui com a progressão da idade (Pavlik et al., 2000). Eles verificaram que esta redução foi significativa entre 38 e 55 anos de idade. Esses resultados são concordantes com os resultados deste estudo. Entretanto, aqueles autores descreveram volumes ovarianos em média maiores tanto para as mulheres pré-menopausadas quanto para as pós-menopausadas do que os observados no presente estudo. Alguns fatores poderiam explicar essas diferenças, como as variações entre as populações estudadas e talvez a maior variação inter e intra-observador.

Wehba et al. (1996) estudaram o comportamento do volume ovariano até oito anos de pós-menopausa. Eles verificaram uma redução importante no volume ovariano no primeiro ano pós-menopausa, sendo este período seguido de uma redução discreta no

volume ovariano que voltaria a acentuar-se após 4 anos de pós-menopausa. Os resultados deste estudo mostraram que a redução do volume ovariano foi constante e significativa até 55 anos de idade. Talvez as diferenças entre os resultados deste estudo e os daqueles autores seja decorrente do seu maior período de observação pós-menopausa. Considerando a idade média da ocorrência da menopausa ao redor de 51 anos de idade (Faddy & Gosden, 1996), o presente estudo teve seu enfoque no período de transição menopausal e nos primeiros anos pós-menopausa.

Flaws et al. (2000) também estudou o comportamento do volume ovariano de acordo com algumas variáveis possivelmente confundidoras que poderiam influenciar o comportamento do volume ovariano. Eles relataram que o volume ovariano não foi consistentemente associado ao tabagismo e uso de terapia de reposição hormonal. Entretanto, o uso de contraceptivos hormonais associou-se a ovários com volume menor do que nas não usuárias. Esses resultados diferem dos resultados encontrados neste estudo. Apesar de diferenças nos critérios de inclusão e exclusão poderem ser responsáveis por esses resultados discordantes, a questão é que os motivos pelos quais a utilização de contraceptivos hormonais reduziria o volume ovariano é desconhecida. Paradoxalmente, a utilização de TRH não associou-se a variações no volume ovariano. O motivo pelo qual a utilização da associação estro-progestativa na pré-menopausa produziria diminuição do volume ovariano diferentemente do que essa mesma associação não acarretaria variações nas dimensões dos ovários na pós-menopausa permanece sem explicação.

O período pós-menopausal associa-se a maior incidência de doenças cardiovasculares, osteoporose e distúrbios cognitivos do que no período pré-menopausal.

Diante deste maior risco de doenças, o acompanhamento médico associado à realização de propedêutica diagnóstica auxiliar com finalidade de rastreamento deve ser rotineira. Entretanto, a variabilidade dos níveis hormonais na perimenopausa torna difícil a interpretação desses resultados que acabam contribuindo pouco para a determinação do estado menopausal. Recentes publicações sugeriram a possibilidade de utilizar a estimativa ultra-sonográfica do volume ovariano e a contagem dos folículos antrais com sensibilidade e especificidade comparáveis à utilização da idade e dos níveis plasmáticos de FSH na determinação do estado menopausal. (Flaws et al., 2001).

A utilização da tecnologia do ultra-som na avaliação da mulher climatérica, não somente para a descrição morfológica dos órgãos examinados, mas com enfoque voltado na correlação do volume ovariano com o estado menopausal apresenta vantagem não somente na relação custo-benefício, mas também pode encurtar o tempo envolvido no diagnóstico do climatério. As dosagens hormonais além de apresentar variabilidade nos resultados durante a perimenopausa e serem mais custosas, têm disponibilidade de resultados após vários dias em comparação com a interpretação imediata e não invasiva do exame ultra-sonográfico.

CONCLUSÃO

A idade e o estado menopausal apresentam correlação com o volume ovariano. Antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade não apresentam correlação com o volume ovariano em mulheres climatéricas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

European menopause society consensus. European consensus development conference on menopause. **Human Reprod**, 11 (5): 975-79, 1996.

Faddy M J & Gosden R G – A model conforming the decline in follicle numbers to the age of the menopause in women. **Human Reprod** – 11(7): 1484-86, 1996.

FEBRASGO – Atenção Primária e Terapia de Reposição Hormonal no Climatério.
Projeto Diretrizes – Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina
– 3-11, 2001.

Flaws JA, Langenberg P, Babus JK, Hirshfield AN, Sharara F I – Ovarian volume and follicle counts as indicators of menopausal status. **Menopause** – 8(3): 175-80, 2001.

Flaws J A, Rhodes J C, Langenberg P, Hirshfield A N, Kjerulff K, Sharara F I – Ovarian volume and menopausal status. **Menopause** – 7(1):53-61, 2000.

Fries J F & Crapo, L.M. The rectangularization of life. IN: Byyny, R L & Speroff, L – **A clinical guide for the care of older women**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990. p. 1-28.

Hsieh F Y, Bloch D A, Larsen M D – A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. **Statistics in Medicine** – 17:1623-34, 1998.

Laufer L, Davidson B J, Ross R K, Lagasse L.D, Siiteri P K, Judd H.L. – Physical characteristics and sex hormone levels in patients with osteoporotic hip fractures or endometrial cancer. **Am J Obstet Gynecol** – 145 (5): 585-90, 1983.

Pavlik E J, De Priest PD, Gallion H H, Ueland F.R, Reedy M B, Kryscio R J, Van Nagell J R Jr – Ovarian volume related to age. **Gynecol Oncol** – 77(3):410-12, 2000.

Prior J.C – Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. **Endocrine reviews** – 19 (4): 397-428, 1998.

Sharara F I, McClamrock, H D – Use of microdose GnRH agonist protocol in women with low ovarian volumes undergoing IVF. **Human Reprod** – 16(3):500-3, 2001.

Wehba S, Fernandes C E, Ferreira J A S, Azevedo L H, Machado R B, Lunardelli J, Lima S R R, Ivamoto V – Transvaginal sonography assessment of ovarian volumes in postmenopausal women. **São Paulo Med J** – 114(3): 1152-5, 1996.

WHO Scientific Group. Research on the menopause in the 1990's. A report of the WHO Scientific Group. **World Health Organization**, Geneva, Switzerland, (79), 966-71, 1996.

Witteman J C, Grobbee D E, Valkenburg H A, VAN Hemert A M, Stijnen T, Hofman A - Cigarette smoking and the development and progression of aortic atherosclerosis. A 9-year population-based follow-up study in women. **Circulation** – 88(5pt1): 2156-62, 1993.

Zalel Y, Tepper R, Altaras M, Beyth Y – Transvaginal sonographic measurements of postmenopausal ovarian volume as a possible detection of ovarian neoplasia. **Acta Obstet Gynecol Scand** – 75(7):668-71, 1996.

ABSTRACT

Objective: the aim of this study was to (1) evaluate ovarian volume behavior according to age and menopausal status in climateric women; (2) verify the correlation between smoking history, skin color, breast feeding, hormone replacement therapy, contraceptive methods and parity with ovarian volume.

Casuistic and Methodology: The subjects of this study were premenopausal (n=121) and postmenopausal (n=71) women between 40 and 55 years old. They were interviewed about social, demographic and medical conditions. They were also submitted to a transvaginal ultrasound in order to determine ovarian volume. Analysis of variance (ANOVA) was applied to evaluate correlation between age, ovarian volume, menopausal status and further independent variables.

Results: Ovarian volume declined with age despite menopausal status. Premenopausal women presented bigger ovaries than postmenopausal ones. The menopausal status seemed to be more important than age in determining such decrease in ovarian volume ($R^2 = 0.36$). It was not observed correlation between smoking history, skin color, breast feeding, hormone replacement therapy, contraceptive methods and parity in premenopausal and postmenopausal women.

Conclusion: Age and menopausal status present correlation with ovarian volume. Further independent variables such smoking history, skin color, breast feeding, hormone replacement therapy, contraceptive methods and parity are not associated with ovarian volume alterations.

Uniterms: ultrasound, ovarian volume, ovary, menopause

Tabela 1: Médias do volume ovariano de acordo com estratos de idade em mulheres climatéricas

Idade	<i>n</i>	Volume ovariano			
		$\bar{X}$	DP	(min. – máx.)	
40 a 44 anos	66	7.09	3.39	(1.74 -	16.30)
45 a 49 anos	72	5.98	3.01	(1.13 -	15.24)
50 a 55 anos	54	3.59	1.90	(1.13 -	9.65)

DP: desvio padrão; $p=0.03$

ANOVA

Tabela 2: Médias do volume ovariano em cm³ nas mulheres pré e pós-menopausadas

Estado Menopausal	<i>n</i>	Volume ovariano	
		$\bar{X}$	DP
Pré-menopausa	121	6,97	3,06
Pós-menopausa	71	3,51	2,07

Tabela 3. Correlação entre o volume ovariano e o uso de contraceptivos hormonais, cor da pele, paridade, aleitamento materno, laqueadura tubária e tabagismo nas mulheres na pré-menopausa

Descritor	n	Volume ovário		p
		$\bar{X}$	DP	
Contraceptivos hormonais				0,54
Não usuárias	39	7,29	3,14	
Usuárias	82	6,81	3,03	
Cor da pele				0,17
Branca	84	6,69	2,76	
Não branca	37	7,94	3,67	
Paridade				0,31
Nulíparas	10	8,43	3,59	
1 parto	26	7,12	3,23	
2 partos	29	6,34	3,07	
3 ou mais partos	66	6,99	2,92	
Aleitamento materno				0,54
Sim	97	7,03	3,06	
Não	24	6,69	3,12	
Laqueadura tubária				0,22
Sim	34	7,3	2,21	
Não	87	6,42	3,42	
Tabagismo				0,72
Fumantes	36	7,11	3,22	
Não fumantes	85	6,91	3,01	
ANOVA				

Tabela 4. Correlação entre o volume ovariano e o uso de contraceptivos hormonais, cor da pele, paridade, aleitamento materno, laqueadura tubária, tabagismo e terapia de reposição hormonal nas mulheres na pós-menopausa

Descritor	n	Volume ovário DP		p
Contraceptivos hormonais				0,74
Não usuárias	31	3,36	1,84	
Usuárias	40	3,62	2,25	
Cor da pele				0,12
Branca	58	3,72	2,19	
Não branca	13	2,84	1,15	
Paridade				0,77
Nulíparas	3	3,74	2,31	
1 parto	8	3,08	1,89	
2 partos	19	3,58	2,73	
3 ou mais partos	41	3,55	1,80	
Aleitamento materno				0,20
Sim	53	3,33	1,98	
Não	18	3,84	2,41	
Laqueadura tubária				0,87
Sim	14	3,30	2,11	
Não	57	3,55	2,04	
Tabagismo				0,58
Fumantes	16	3,92	2,42	
Não fumantes	55	3,39	1,97	
Terapia de reposição hormonal				0,50
Não usuárias	38	3,76	2,36	
Usuárias	33	3,16	1,64	
ANOVA				

5. Discussão

A menopausa é a última menstruação na vida da mulher e está compreendida dentro do período do climatério. O diagnóstico da menopausa tem sido feito tradicionalmente de forma retrospectiva, ou seja, é necessário que se constate a ausência de menstruações por um ano para que se possa estabelecer sua ocorrência. Recentemente, maior importância tem sido dada ao diagnóstico eminentemente clínico da menopausa pela dificuldade da utilização de outros marcadores confiáveis. Em situações especiais, como por exemplo, em pacientes jovens submetidas a histerectomia ou em suspeita de menopausa precoce, a dosagem dos níveis de FSH pode ser útil como parâmetro coadjuvante ao diagnóstico (FEBRASGO, 2001).

Entretanto, na prática clínica diária, as mulheres com ou sem irregularidade menstrual questionam o profissional da saúde a respeito da sua situação em relação aos períodos do climatério e se há necessidade da realização da avaliação dos seus níveis hormonais para tal. Torna-se difícil a utilização da dosagem dos níveis de FSH como parâmetro exclusivo uma vez que seus valores podem estar normais ou aumentados no período da transição

menopausal, ou seja, a dosagem dos níveis séricos do FSH não pode ser considerado como marcador fidedigno.

A ultra-sonografia consagrou-se como método diagnóstico na avaliação da saúde da mulher devido a sua confiabilidade, baixa invasividade e boa tolerabilidade, entre outras características, sendo atualmente um exame disponível na grande maioria dos centros médicos em nosso país. Estas características tornam o exame ultra-sonográfico factível de ser utilizado em diversas situações clínicas e é grande o número de mulheres que o fazem rotineiramente para avaliação dos órgãos genitais internos. A estimativa do volume ovariano pode ser utilizada como parâmetro auxiliar ao questionamento à respeito do estado menopausal da mulher.

Os objetivos destes estudos foram avaliar o desempenho do ultra-som em definir o estado menopausal da seguinte forma: verificar se o volume ovariano difere de acordo com a idade e o estado menopausal; avaliar a sensibilidade e especificidade do volume ovariano e do volume ovariano associado a idade em predizer o estado menopausal; comparar a acurácia volume ovariano, idade e contagem de folículos antrais em predizer o estado menopausal e verificar a correlação de fatores associados ao climatério com o volume ovariano.

Verificou-se nestes estudos que mulheres na pré-menopausa apresentaram volume ovariano maior que na pós-menopausa. Além disso, o estado menopausal e a idade mostraram correlação com o comportamento do

volume ovariano. O estado menopausal mostrou ser mais importante na determinação do comportamento do volume ovariano devido ao maior coeficiente de determinação comparativamente ao da idade. Os parâmetros idade, volume ovariano e contagem de folículos antrais mostraram-se ser sensíveis e específicos na determinação do estado menopausal, com desempenho semelhante entre si. Os melhores pontos de corte para o estabelecimento desta boa acurácia foram obtidos quando a idade ≥ 48 anos, volume ovariano $< 4 \text{ cm}^3$ e a contagem de folículos antrais ≤ 2 folículos. Não foi identificada correlação entre o tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade com o volume ovariano em mulheres pré e pós-menopausadas.

Segundo o estudo de PAVLIK et al. (2000), ocorre diminuição do volume ovariano com a idade, de forma significativa entre 38 e 55 anos de idade. Esse intervalo etário é justamente o período onde é mais importante o diagnóstico do estado menopausal. Esses autores relataram médias de volume ovariano menores do que as médias de volume ovariano encontradas no presente estudo. Entre as possíveis causas para essas diferenças estão a maior variação inter e intra-observador daquele estudo, uma vez que foi um estudo realizado em diferentes serviços de saúde, por vários observadores que participavam de um programa de prevenção do câncer ovariano. Outro fator possivelmente envolvido é que eles estudaram uma população composta por mulheres com maior amplitude de idade (entre 25 e 91 anos) do que a população deste estudo.

Uma publicação recente sugeriu a utilização da estimativa do volume ovariano para a determinação do estado menopausal (FLAWS et al., 2000). Apesar das informações fornecidas por este estudo algumas limitações puderam ser identificadas. A população estudada pertencia a uma amostra de mulheres que foi inicialmente selecionada para um estudo de fatores de risco para o crescimento de mioma uterino. Consequentemente, não se sabe ao certo qual a consequência da incidência de mioma uterino verificada naquela população na estimativa do volume ovariano. Dependendo das dimensões e da localização dos miomas, pode-se ter dificuldade na visualização dos ovários. Além do mais, os autores apresentam seus resultados em uma curva ROC construída de maneira não simétrica, podendo dar a impressão visual de diferenças na acurácia do volume ovariano isoladamente em comparação com a acurácia do volume ovariano associado a diferentes pontos de corte de idade. O estudo atual foi realizado com propósito definido, selecionando uma população de mulheres sadias que procuraram atendimento médico com finalidade preventiva e a estimativa do volume ovariano foi realizado por um único observador.

Os eventos que se associam à idade de ocorrência da menopausa são incertos. A análise de dados de literatura mostra que alguns fatores podem estar correlacionados com a idade na menopausa. Alguns autores relatam que a paridade associa-se a uma idade mais tardia na menopausa (STANFORD et al., 1987; KATO et al., 1998). Tal fato poderia ocorrer devido aos longos períodos de anovulação consequentes a elevada paridade. Porém, outros autores não

verificaram esta associação entre idade na menopausa e paridade (BRAND e LEHERT, 1978). O tabagismo tem sido descrito como fator associado à ocorrência na menopausa cerca de dois anos mais precocemente em fumantes do que não fumantes (CRAMER et al., 1995; BROMBERGER et al., 1997). Em adição, o uso prolongado de contraceptivos hormonais tem sido associado a idade mais tardia na menopausa (RIZK et al., 1998). Entretanto, este estudo avaliou a correlação de fatores como a paridade, métodos contraceptivos hormonais e não hormonais, tabagismo e amamentação com o volume ovariano. Observou-se que estes fatores não apresentaram correlação com o volume ovariano em mulheres na pré e pós-menopausa. Apesar da possível correlação de alguns destes fatores com a idade da menopausa, é possível que isto ocorra por alterações a nível não-ovariano.

Acreditamos que os resultados obtidos com estes estudos poderão contribuir para o diagnóstico simplificado do estado menopausal. Apesar da limitação metodológica envolvida em estudos de corte transversal, os resultados destes estudos identificaram parâmetros que poderão ser utilizados no diagnóstico do estado menopausal de maneira sensível e específica. De certo que a realização de estudos prospectivos é necessária para verificar o desempenho desses parâmetros em outras populações.

Finalmente, o diagnóstico do estado menopausal por qualquer critério que não seja o critério clínico retrospectivo da amenorréia por 1 ano é assunto polêmico. Os resultados destes estudos mostram que a idade, volume ovariano e a contagem de folículos antrais podem ser parâmetros coadjuvantes neste

diagnóstico. Considerando ainda a vasta utilização da ultra-sonografia na avaliação da saúde da mulher, os resultados destes estudos apoiam que o exame ultra-sonográfico pode também fornecer informações adicionais a respeito da predição do estado menopausal de maneira a simplificar a propedêutica da mulher no climatério. A realização de dosagens hormonais também pode ser útil no diagnóstico do estado menopausal. Entretanto, são mais custosas economicamente, não são parâmetros fidedignos e não apresentam a interpretação imediata e de maneira tão simples quanto o método ultra-sonográfico. Estas características são particularmente importantes em lugares onde a escassez de recursos financeiros pode interferir com o adequado planejamento das estratégias de saúde.

Consideramos que os resultados desses estudos representam uma contribuição à assistência da mulher climatérica isoladamente, bem como aos serviços e profissionais da saúde preocupados com a preservação do bem estar da mulher nos aspectos biológicos, psicológicos e sociais.

6. Conclusões

1. O volume ovariano diminuiu em função do aumento da idade e do estado menopausal. Mulheres na pré-menopausa apresentaram ovários com maior volume do que mulheres na pós-menopausa. O estado menopausal mostrou-se mais importante que a idade na determinação do volume ovariano. A idade e o volume ovariano apresentaram boa sensibilidade e especificidade para predizer o estado menopausal.
2. A contagem de folículos antrais foi maior em mulheres na pré-menopausa do que na pós-menopausa. O volume ovariano, idade e contagem de folículos antrais apresentaram boa e comparável acurácia para predizer o estado menopausal.
3. Antecedentes de tabagismo, cor da pele, amamentação, uso de terapia de reposição hormonal, métodos contraceptivos e paridade não são associados com alterações do volume ovariano em mulheres na pré e pós-menopausa.

7. Referências Bibliográficas

AMBLE, A. K.; MONDRAGON, E.C.; BENITEZ, C.Q.G.;VILLA, G.B. Estúdio del volumen ovárico como factor predictivo de reserva ovular em respuesta a la estimulación exógena com gonadotropinas y su correlación con el desarrollo óvulo/embrionario en los resultados de FIVTE/ICSI. *Gin Obstet Mex*, 69:24-9, 2001.

BAKER,T.G.; SUM, O.W. Development of the ovary and oogenesys. *Clin Obstet Gynaecol*, 3:3-26, 1976.

BRAND, P.C. e LEHERT, P.H. A new way of looking at environmental variables that may affect the age at menopause. *Maturitas*, 1:121-32, 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde Conselho Nacional de Saúde Resolução nº 196, de outubro de 1996. *Circulation - 88(5 Pt 1)*: 2156-62, 1996.

BROMBERGER,J.T.; MATTHEWS, K.A.; KULLER, L.H.; WING, R.R.; MEILAHN, E.N.; PLANTINGA, P. Prospective study of the determinants of age at menopause. *Am J Epidemiol*, 145:124-33, 1997.

BURGER, H.G.; DUDLEY, E.C.; HOPPER, J.L.; GROOME, N.; GUTHRIE, J.R.; GREEN, A.; DENNERSTEIN, L. Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol*, 84:4025-30, 1999.

CRAMER, D.W.; HARLOW, B.L.; XU, H.; FRAER, C.; BARBIERI, R. Cross-sectional and case-controlled analyses of the association between smoking and early menopause. *Maturitas*, 22:79-87, 1995.

DECLARACION DE HELSINKI. Recomendaciones para guiar a los medicos en la investigacion biomedica em seres humanos. *Bol of Sanit Panam*, 108 (5-6), 1990.

DELONG, E.R.; DELONG, D.M.; CLARKE-PEARSON, D.L. Comparing the Areas Under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach. *Biometrics*, 44: 837-45, 1988.

DUDLEY, E.C.; HOPPER, J.L.; TAFFE, J.; GUTHRIE, J.R.; BURGE, H.G.; DENNERSTEIN, L. Using longitudinal data to define the perimenopause by menstrual cycle characteristics. *Climacteric*, 1:18-25, 1998.

EUROPEAN MENOPAUSE SOCIETY CONSENSUS. European consensus development conference on menopause. *Human Reprod*, 11: 975-9, 1996.

FADDY, M.J.; GOSDEN, R.G.; GOUGEON, A.; RICHARDSON, S.J.; NELSON, J.F. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Human Reprod*, 7:1342-6, 1992.

FADY, M.J. Follicle dynamics during ovarian ageing. ***Mol Cel Endocrinol***, 163:43-8, 2000.

FRIES, J.F.; CRAPO, L.M. The rectangularization of life. In: BYYNY, R.L.; SPEROFF, L. A clinical guide for the care of older women. Baltimore: Willians & Wilkins; 1990. p.1-28.

FEBRASGO – Atenção Primária e Terapia de Reposição Hormonal no Climatério. ***Projeto Diretrizes – Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina***, 3-11, 2001.

FLAWS, J.A.; RHODES, J.C.; LANGENBERG, P.; HIRSHFIELD, A.N.; KJERULFF, K.; SHARARA, F.I. Ovarian volume and menopausal status. ***Menopause***, 7:53-61, 2000.

FLAWS, J.A.; LANGENBERG, P.; BABUS, J.K.; HIRSHFIELD, A.N.; SHARARA, F.I. Ovarian volume and follicle counts as indicators of menopausal status. ***Menopause***, 8:175-80, 2001.

GILJA, O.H.; HAUSKEN, T.; BERSTAD, A.; ODEGAARD, S. Measurements of organ volume by ultrasonography. ***Proc Inst Mech Engrs***, 213:247-59, 1999.

GULEKLI, B.; BULBUL, Y.; ONVURAL, A.; YORUKOGLU, K.; POSACI, C.; DEMIR, N.; ERTEN, O. Accuracy of ovarian reserve tests. ***Human Reprod***, 15:1423-4, 2000.

HILGERS, R.A. Distribution-free confidence bounds for ROC curves. ***Methods Inform Med***, 30: 96-101, 1991.

HSIEH, F.Y.; BLOCH, D.A.; LARSEN, M.D. A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. **Statist Med**, 17:1623-34, 1998.

KALANTARIDOU, S.N.; NELSON, L.M. Premature ovarian failure is not premature menopause. **Ann NnnAbd u** , 96:393-402, 2000.

KATO, I.; TONIOLO, P.; AKHNEDKHANOV, A.; KOENIG, K. L.; SHORE, R.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A. Prospective study of factors influencing the onset of natural menopause. **Am J Epidemiol**, 51:1271-6, 1998.

KWITEROVICH JR, P.O.; CORESH, J.; SMITH, H.H.; BACHORIK, P.S.; DERBY, C.A.; PEARSON, T.A. Comparison of the plasma levels of apolipoproteins B and A-1, and other risk factors in men and women with premature coronary artery disease. **Am J Cardiol**, 69:1015-21, 1992.

LASS, A.; SILYE, R.; ABRAMS, D.C.; KRAUSZ, T.; HOVATTA, O.; MARGARA, R.; WINSTON, R.M. Follicular density in ovarian biopsy in infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. **Human Reprod**, 12:1028-31, 1997.

LASS, A. Assessment of ovarian reserve—is there a role for ovarian biopsy? **Human Reprod**, 16:1055-7, 2001.

LAUFER, L.; DAVIDSON, B.J. ROSS, R.K.; LAGASSE, L.D.; SIITERI, P.K.; JUDD, H.L. Physical characteristics and sex hormone levels in patients with osteoporotic hip fractures or endometrial cancer. **Am J Obstet Gynecol**, 145:585-90. 1983.

MOTTA, P.M.; HEYN, R.; MAKABE, S. Three-dimensional microanatomical dynamics of the ovary in postreproductive aged women. **Fertil Steril**, 78:360-70, 2002.

PASTORE, A.R.; SOUZA, E.V.; CERRI, G.G. Sistematização do exame pélvico ginecológico. In: PASTORE, A.R.; CERRI, G.G. In: **Ultra-sonografia obstétrica – ginecologia**. São Paulo: Sarvier; 1997. p.499-504.

PAVLIK, E.J.; DE PRIEST, P.D.; GALLION, H.H.; UELAND, F.R.; REEDY, M.B.; KRYSCIO R J , VAN NAGELL Jr, J.R. Ovarian volume related to age. **Gynecol Oncol**, 77:410-2, 2000.

PEDRO, A.O.; PINTO-NETO, A.M.; PAIVA, L.H.S.C.; OSIS, M.J.; HARDY, E. Idade de ocorrência da menopausa natural em mulheres brasileiras: resultados de um inquérito populacional domiciliar. **Caderno de Saúde Pública**, 19(1). Aceito para publicação em 20/07/2000.

PRIOR, J.C. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. **Endocrine Rev**, 19:397-428, 1998.

RICHARDSON, S.J.; SENIKAS, V.; NELSON, J.F. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. **J Clin Endocrinol Meta**, 65:1231-7, 1997.

RIZK, D.E.E.; BENER, A.; EZIMOKHAI, M.; HASSAN, M.Y.; MICALLEF, R. The age and symptomatology of natural menopause among United Arab Emirates women. **Maturitas**, 29:197-202, 1998.

SHARARA, F.I.; McCLAMROCK, H.D. Use of microdose GnRH agonist protocol in women with low ovarian volumes undergoing IVF. **Human Reprod**, 16:500-3, 2001.

SOULES, M.R.; SHERMAN, S.; PARROTT, E.; REBAR, R.; SANTORO, N.; UTIAN, W.; WOODS, N. Executive summary: Stages of reproductive aging workshop (STRAW). *Fertil Steril*, 75:874-8, 2001.

STANFORD, J.L.; HARTGE, P.; BRINTON, L.A.; HOOVER, R.N.; BROOKMEYER, R. Factors influencing the age at natural menopause. *J Chron Dis*, 40:995-1002, 1987.

TAFFE, J. & DENNERSTEIN, L. Retrospective self-report compared with menstrual diary data prospectively kept during the menopausal transition. *Climacteric*, 3:183-91, 2000.

TEPPER, R.; ZALEL, Y.; MARKOV, S.; COHEN, I.; BEYTH, Y. Ovarian volume in postmenopausal women – suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 74:208-211, 1995.

VITAL, V.S.; TELLEZ, S.; ALVARADO, I. Clinical histologic correlation in reproductive pathology. *Obstet Gynecol*, 95:83, 2000.

WHO Scientific Group Research on the menopause in the 1990's A report of the WHO Scientific Group. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland, (79), 966-71, 1996.

WEHBA, S.; FERNANDES, C.E.; FERREIRA, J.A.S.; AZEVEDO, L.H. MACHADO, R.B.; LUNARDELLI, J. et al. Transvaginal sonography assessment of ovarian volumes in postmenopausal women. *Spa Porto Med J*, 114:1152-5, 1996.

WITTEMAN, J.C.; GROBBEE, D.E.; VALKENBURG, H.A.; VAN HEMERT, A.M.; STIJNEN, T.; HOFMAN, A. Cigarette smoking and the development and progression of aortic atherosclerosis. A 9-year population-based follow-up study
Circulation, 88:2156-62, 1993.

ZALEL, Y.; TEPPER, R.; ALTARAS, M.; BEYTH, Y. Transvaginal sonographic measurements of postmenopausal ovarian volume as a possible detection of ovarian neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 75:668-71, 1996.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatizaç o de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98
(alterada em 2002).

9. Anexos

ANEXO 1

"CHECK LIST"

AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA OVARIANA E ESTADO MENOPAUSAL

NOME:

REGISTRO HMLMB:

NÚMERO:

Verificar as seguintes características :

ACEITA EXCLUÍDA

	Não	Sim
1. Idade abaixo de 40 anos ou acima 55 anos	☐	☐
2. Ooforectomia ou ooforoplastia prévia	☐	☐
3. Cisto ou massa ovariana > 20 mm	☐	☐
4. Gravidez	☐	☐
5. Doença inflamatória pélvica aguda	☐	☐
6. Infertilidade conjugal	☐	☐
7. Antecedente de cromossomopatias	☐	☐
8. Estado menopausal indeterminado	☐	☐

ANEXO 2

“TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO”

AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA OVARIANA E ESTADO MENOPAUSAL

NAME: _____

REGISTRO HMLMB: |_|_|_|_|_|_| **NÚMERO:** |_|_|_|_|

Declaro que fui convidada a fazer parte do estudo " AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA OVARIANA E ESTADO MENOPAUSAL ", e fui orientada pelo Dr. Marcelo Giacobbe do seguinte:

- Minha participação consiste de uma entrevista e da realização de um ultra-som por via endovaginal com a finalidade de medir os ovários.
- Minha identificação pessoal não será revelada e os dados coletados não serão utilizados para outras finalidades.
- Posso interromper a qualquer instante a realização do exame e isto será imediatamente atendido pelo médico examinador. Esta atitude, bem como se eu decidir não participar deste estudo não afetará em nada meu atendimento neste Hospital.

- Posso solicitar esclarecimentos a qualquer momento durante a realização do exame ou após o término, podendo contatar o Dr. Marcelo no telefone 292 4188 ramal 246 ou o “Comitê De Ética e Pesquisa do Hospital-Maternidade Leonor Mendes de Barros” no ramal 249.
- Declaro estar ciente do que me foi exposto e minha assinatura indica que, de livre e espontânea vontade, concordei em participar.

Data: / /

(ASSINATURA VOLUNTÁRIA)

Eu certifico que expliquei todo o documento acima, bem como os possíveis riscos e benefícios da participação.

Marcelo Giacobbe.

Data: / /

(ASSINATURA DO PESQUISADOR)

“QUESTIONÁRIO”

b) ESCOLARIDADE:

() ANALFABETO

() ENSINO FUNDAMENTAL {() COMPLETO () INCOMPLETO}

() ENSINO MÉDIO {() COMPLETO () INCOMPLETO}

() ENSINO SUPERIOR {() COMPLETO () INCOMPLETO}

2) ANTECEDENTES MENSTRUAIS E GESTACIONAIS

GESTAÇÕES: _____ PARTOS: _____ ABORTOS: _____

ALEITAMENTO MATERNO (aleitamento por pelo menos 4 meses consecutivos):

Número de vezes () 0 () 1 () 2 () 3 ou mais

A SRA. AINDA APRESENTA MENSTRUAÇÕES ESPONTÂNEAS ?

() SIM () regulares () irregulares

() NÃO HÁ QUANTO TEMPO? _____ meses

APRESENTA ALGUMA MODIFICAÇÃO NA REGULARIDADE DE SEUS CICLOS
MENSTRUAIS NOS ÚLTIMOS MESES?

() SIM QUAL: _____ () NÃO

3) A SRA. USA TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL?

a) () NUNCA USOU

b) () USOU NO PASSADO, MAS NO MOMENTO NÃO MAIS

MEDICAÇÃO: _____

TEMPO DE USO: _____ ANOS E _____ MESES

NÃO USA HÁ : _____ ANOS E _____ MESES

c) () USUÁRIA ATUAL

MEDICAÇÃO: _____

TEMPO DE USO: _____ ANOS E _____ MESES

d) COMO ERAM AS MENSTRUAÇÕES DURANTE O USO DE TRH ?

regulares () irregulares () sem menstruações ()

4) ESTADO MENOPAUSAL

codificação: _____

Pré-menopausa () Pós-menopausa () Indeterminado ()

5) MÉTODOS CONTRACEPTIVOS

CONTRACEPTIVOS HORMONAIS (PÍLULA ANTICONCEPCIONAL OU INJEÇÃO):

a) () NUNCA USOU OUTRO MÉTODO UTILIZADO: () DIU

() DIAFRAGMA

() MÉTODOS NATURAIS

() PRESERVATIVO

() LAQUEADURA TUBÁRIA

() VASECTOMIA

() OUTROS: _____

b) () USOU NO PASSADO, MAS NO MOMENTO NÃO

TEMPO DE USO: _____ ANOS E _____ MESES

tipo: pílula () injetável () NÃO USA HÁ : _____ ANOS E _____ MESES

c) () USUÁRIA ATUAL TEMPO DE USO: _____ ANOS E _____ MESES

tipo: pílula () injetável ()

6) TABAGISMO

() FUMANTE (TODAS AS QUE FUMAM OU PARARAM DE FUMAR HÁ MENOS DE 5 ANOS)

() NÃO FUMANTE (NUNCA FUMARAM OU QUE PARARAM DE FUMAR HÁ MAIS DE 5 ANOS)

7) EXAME ULTRA-SONOGRÁFICO

Útero: _____ - verso-flexão, eixo mediano e contornos regulares. Ecotextura homogênea.

Dimensões (mm):

Longitudinal	AP	Transverso	Volume (ml)

Endométrio: _____ mm de espessura.

Ovários

Direito: dimensões (mm): _____ Quantidade de folículos antrais: _____

Longitudinal	AP	Transverso	Volume (ml)

Esquerdo: dimensões (mm): _____ Quantidade de folículos antrais: _____

Longitudinal	AP	Transverso	Volume (ml)

Observações:

$\bar{x}$ volume ovariano: _____

$\bar{x}$ folículos antrais: _____

ANEXO 4

Carta Aprovação Comitê Ética em Pesquisa



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DA SAÚDE DE REGIÕES METROPOLITANAS DA GRANDE SÃO PAULO
UNIDADE DE GESTÃO ASSISTENCIAL IV - U.G.A. IV
HOSPITAL MATERNIDADE LEONOR MENDES DE BARROS
Av. Celso Garcia, 2477 Belenzinho São Paulo
tel: 292-4188 fax: 6694-4925

São Paulo, 08 de agosto de 2002

Para
Marcelo Giacobbe

Prezado Senhor,

O Comitê de Ética em Pesquisa do HMLMB, vem pelo presente informar que a pesquisa **AValiação ECOGRÁFICA DO VOLUME OVARIANO E SUA RELAÇÃO COM O ESTADO MENOPAUSAL** foi aprovada, atendendo a Resolução 196/96.

Salientamos que a responsabilidade ética junto ao Conselho Profissional é atribuída ao pesquisador. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após assinado pelo sujeito pesquisado deverá permanecer arquivado por um período de 5 anos.

Este Comitê sente-se no direito de interromper o estudo científico, caso os princípios éticos não venham a ser cumpridos. O pesquisador deverá apresentar relatório semestral das atividades ao Comitê.

Atenciosamente,

Assinatura manuscrita de Prof. Dr. Valdir Tadini.
Prof. Dr. Valdir Tadini
Comitê Ética em Pesquisa do HMLMB