UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

LÍVIA BARCELLOS CARVALHO GAZARRA

# MASSA ÓSSEA DE MULHERES COM INSUFICIÊNCIA OVARIANA PREMATURA: UM ESTUDO COMPARATIVO ENTRE TERAPIA HORMONAL E CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO

# *BONE MASS IN WOMEN WITH PREMATURE OVARIAN INSUFFICIENCY: A COMPARATIVE STUDY BETWEEN HORMONE THERAPY AND COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES*

CAMPINAS
2020

LÍVIA BARCELLOS CARVALHO GAZARRA

# MASSA ÓSSEA DE MULHERES COM INSUFICIÊNCIA OVARIANA PREMATURA: UM ESTUDO COMPARATIVO ENTRE TERAPIA HORMONAL E CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO

*BONE MASS IN WOMEN WITH PREMATURE OVARIAN INSUFFICIENCY: A COMPARATIVE STUDY BETWEEN HORMONE THERAPY AND COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES*

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências da Saúde, na área de Fisiopatologia Ginecológica.

*Dissertation submitted to Medical Sciences School of the University of Campinas for obtaining the title of Master in Health Sciences in the concentration area of Pathophysiology Gynecology.*

ORIENTADORA: PROF.ª DR.ª CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA
LÍVIA BARCELLOS CARVALHO GAZARRA, E ORIENTADA PELA
PROF.ª DR.ª CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO.

CAMPINAS
2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

G258m

Gazarra, Lívia Barcellos Carvalho, 1987-
Massa óssea de mulheres com insuficiência ovariana prematura : um estudo comparativo entre terapia hormonal e contraceptivo oral combinado / Lívia Barcellos Carvalho Gazarra. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Cristina Laguna Benetti Pinto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Insuficiência ovariana primária. 2. Anticoncepcionais orais combinados. 3. Densidade óssea. 4. Terapia hormonal. I. Pinto, Cristina Laguna Benetti, 1959-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Bone mass in women with premature ovarian insufficiency : a comparative study between hormone therapy and combined oral contraceptives
**Palavras-chave em inglês:**
Primary ovarian insufficiency
Contraceptives, Oral, Combined
Bone density
Hormonal therapy
**Área de concentração:** Fisiopatologia Ginecológica
**Titulação:** Mestra em Ciências da Saúde
**Banca examinadora:**
Cristina Laguna Benetti Pinto [Orientador]
Lúcia Helena Simões da Costa Paiva
Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva
**Data de defesa:** 26-08-2020
**Programa de Pós-Graduação:** Tocoginecologia

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**
- ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0002-5467-1534
- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/8478379178714817

# COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

**LÍVIA BARCELLOS CARVALHO GAZARRA**

**ORIENTADORA: Prof.ª Dr.ª Cristina Laguna Benetti Pinto**

## MEMBROS:

**1. PROF.ª DR.ª CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO**

**2. PROF.ª DR.ª LUCIA HELENA SIMÕES DA COSTA PAIVA**

**3. PROF.ª DR.ª ANA CAROLINA JAPUR DE SÁ ROSA E SILVA**

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

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

**Data de Defesa: 26/08/2020**

***Dedico este trabalho...***

*Aos meus pais,* ***LIZA*** *e* ***DANIEL****,*
*pelo amor incondicional e por sempre me*
*incentivarem a ser melhor e ir mais longe.*

*Aos meus irmãos,* ***FELIPE*** *e* ***HENRIQUE****,*
*por tornarem minha vida mais completa e divertida.*

*Ao meu marido* ***GABRIEL****,*
*por caminhar ao meu lado, por compartilhar*
*sonhos e por me fazer tão feliz.*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço a DEUS por me dar coragem e força para seguir e abençoar o meu caminho.*

*À Professora Dra. CRISTINA LAGUNA BENETTI PINTO, pelo carinho, ensinamentos e constante auxílio durante a orientação desta tese. Obrigada pela confiança e por ser uma grande incentivadora da minha vida acadêmica. Sua determinação e competência profissional aliadas ao exemplo de mãe e mulher, me inspiram a continuar nesse caminho.*

*À CAMILA BONACORDI, minha companheira de pesquisa, pela dedicação, por sempre estar pronta para ajudar e por tornar mais leve e divertido esse trabalho.*

*Às Professoras Doutoras que aceitaram compor a banca examinadora da defesa, Dra. LUCIA COSTA PAIVA e Dra. ANA CAROLINA JAPUR DE SÁ ROSA E SILVA, meu muito obrigada. Em especial, à Dra. LUCIA COSTA PAIVA e Dr. LUIZ BACCARO, que também contribuíram na qualificação da tese. Agradeço ainda Dra. CÁSSIA JULIATO e Dr. GUSTAVO MACIEL.*

*Aos professores da Pós-graduação pelo aprendizado durante esses anos.*

*Aos amigos da Pós-graduação, em especial THAÍS, VERÔNICA e MÍRIAN por compartilhar ideias e pelos momentos de descontração.*

*Ao HELYMAR MACHADO, estatístico, pela disponibilidade e ajuda em toda análise estatística deste estudo.*

*À MELISSA, secretária da Pós-graduação, pelo profissionalismo e auxílio em vários momentos.*

*À MÁRCIA, secretária da ginecologia, pela competência e boa vontade.*

*Aos amigos do Laboratório do Hospital Municipal de Paulínia, pela compreensão das minhas ausências e pelo incentivo.*

*A todos que contribuíram de alguma forma para conclusão deste trabalho. Especialmente, a todos os meus familiares e amigos, que entenderam minha ausência, por muitas vezes, para conclusão do Mestrado.*

## RESUMO

**Introdução:** Mulheres com insuficiência ovariana prematura (IOP) tornam-se deficientes em estrogênio em decorrência da perda da atividade ovariana antes dos 40 anos de idade. O hipoestrogenismo resulta em aumento da remodelação óssea, aumento da atividade osteoclástica e redução da densidade mineral óssea. Mulheres com IOP utilizam terapia hormonal (TH) por tempo prolongado. O contraceptivo oral combinado (COC) pode ser uma opção terapêutica bem aceita, porém pouco avaliada com relação à sua ação sobre a massa óssea. **Objetivo:** Avaliar o efeito do contraceptivo oral combinado sobre a densidade mineral óssea (DMO) de mulheres com IOP. **Métodos:** Estudo de coorte retrospectiva, observacional, com inclusão de mulheres com IOP que realizaram duas densitometrias com intervalo de 2 ±1 anos atendidas no ambulatório de ginecologia endócrina do Departamento de Tocoginecologia da Universidade Estadual de Campinas, Unicamp. Para cada par de densitometrias calculou-se a diferença entre valores de DMO final e inicial (delta) para coluna lombar, fêmur total e colo do fêmur. Os deltas foram agrupados, de acordo com o tratamento, em: grupo COC (etinilestradiol 30 mcg associado a levonorgestrel, uso contínuo), comparado a: grupo TH de menor dose (TH contendo estrogênio conjugado (EC) 0,625 mg contínuo associado a medroxiprogesterona, ou estradiol (E2) 1 mg contínuo associado a noretisterona), grupo TH de maior dose (TH contendo EC 1,25 mg contínuo associado a medroxiprogesterona ou E2 2 mg contínuo associado a noretisterona), grupo tibolona (2,5 mg diariamente) e grupo sem TH. Para análise do efeito dos tratamentos sobre a DMO ao longo do tempo utilizou-se Equações de Estimação Generalizada - *Generalized Estimating Equations* (GEE), com variáveis sem distribuição normal transformadas em postos (ranks). **Resultados:** Foram analisadas 420 densitometrias de mulheres com IOP com média de idade de 30,34 ± 9,24 anos e IMC 24,43 ± 4,52. No Grupo COC houve ganho de massa óssea na coluna lombar e fêmur total, resultado semelhante ao obtido para o tratamento TH de maior dose. Na coluna lombar, houve perda da DMO nos grupos que não utilizaram TH, TH de menor dose e tibolona. Para o fêmur total, verificou-se redução na DMO no Grupo TH de menor dose. Para o colo do fêmur, a DMO reduziu em todos os grupos, exceto para as mulheres que utilizaram tibolona, que eram em pequeno número. Considerando o resultado obtido no grupo tratado com COC como referência e comparado aos resultados obtidos nas mulheres de todos os outros grupos, observou-

se perda de DMO na coluna lombar nos Grupos sem TH (p=0,031) e TH de menor dose (p=0,037), além de redução da DMO do fêmur total no Grupo TH de menor dose (p=0,001). Enquanto que os resultados para TH de maior dose foram equivalentes ao COC tanto para coluna lombar quanto para o fêmur total. Para colo do fêmur, os resultados foram equiparáveis, isto é, não houve diferença nos resultados obtidos para todos os tipos de tratamentos quando comparados ao COC. **Conclusão:** O COC contendo 30 mcg de etinilestradiol usado continuamente mostrou-se superior ao uso de TH contendo menor dose estrogênica e similar ao uso de TH contendo maior dose estrogênica na preservação da massa óssea, podendo ser considerado uma alternativa para reposição hormonal de mulheres com IOP.

**Palavras-chave:** Insuficiência ovariana prematura, contraceptivo oral combinado, densidade mineral óssea, terapia hormonal, massa óssea.

## ABSTRACT

**Introduction:** Women with premature ovarian insufficiency (POI) become estrogen-deficient at an early age, with ovarian activity ceasing prior to forty years of age. Estrogen deficiency results in increased bone remodeling, increased osteoclast activity and reduced bone mineral density. Women with POI undergo hormone therapy (HT) for longer periods. Hormone therapy with combined oral contraceptives (COC) can be a well-accepted option, but their effect on bone mass need more research. Objective: to evaluate the effect of combined oral contraceptive on bone mineral density in women with POI. **Methods:** Retrospective, observational cohort study, including women with POI who had undergone two densitometry scans with an interval of 2 ±1 years seen at the endocrine gynecology outpatient clinic of the Department of Obstetrics and Gynecology, University of Campinas, Unicamp. The difference between final and initial (delta) BMD values was calculated for lumbar spine, total femur and femoral neck. The deltas were grouped by treatment for analysis: COC group (ethinylestradiol 30 mcg associated with levonorgestrel, continuous use), compared to low-dose group (conjugated estrogen (CE) 0.625 mg continuous plus medroxyprogesterone OR 17-beta estradiol (E2) 1 mg continuous plus norethisterone), high-dose group (CE 1.25 mg continuous plus medroxyprogesterone OR E2 2 mg continuous plus norethisterone), tibolone 2.5 mg daily group and group without hormonal therapy. For the analysis of the effect of treatments over time, we used Generalized Estimating Equations (GEE), with variables without normal distribution transformed into ranks. **Results:** A total of 420 BMD scans of women with POI with mean age of 30.34 ± 9.24 years, BMI 24.43 ± 4.52, were evaluated. The COC group presented improvement in BMD in lumbar spine and total femur over time, similar to the high-dose group. At the lumbar spine, BMD decreased in the untreated, low-dose and tibolone groups. Total femur BMD decreased in the low-dose group. At the femoral neck, BMD decreased in all groups except for the tibolone group, which presented a small sample size of women. Considering the result obtained in the group treated with COC as a reference and compared to the results obtained in women from all other groups, a loss of BMD was observed at the lumbar spine, in the untreated group (p=0.031) and in the group of women receiving low-dose HT (p=0.037). At the total femur, reduction in BMD was also observed in the low-dose HT group (p=0.001), while the results for a high-dose HT were equivalent to the COC for both the lumbar spine and the total femur. At the

femoral neck, the results were comparable, with no significant difference in the results obtained for all types of treatments when compared to the COC. **Conclusion:** COC containing 30 mcg of ethinyl estradiol used continuously showed to be superior to the low-dose HT, similar outcomes to that of high-dose of estrogen in the preservation of bone mass. Thus, COC can be considered an alternative treatment for hormone replacement in women with POI.

**Keywords:** premature ovarian insufficiency, combined oral contraceptive, bone mineral density, hormone therapy, bone mass.

# LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH – Hormônio Anti-Mülleriano

BMU – Unidades Multicelulares Básicas

CF – Colo do Fêmur

CL – Coluna Lombar

COC – Contraceptivo Oral Combinado

DXA – *Dual-energy X-ray absorptiometry (Absormetria de raios-X de dupla energia)*

DMO – Densidade Mineral Óssea

E2 – 17-beta estradiol

EC – Estrogênio Conjugado

EE – Etinilestradiol

ERα – Receptor de Estrogênio alfa

ERβ – Receptor de Estrogênio beta

ESHRE - *European Society of Human Reproduction and Embryology*

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

FT – Fêmur Total

GEE - *Generalized Estimating Equations* (Equações de Estimação Generalizadas)

IMC – Índice de Massa Corpórea

IL- Interleucina

IOP – Insuficiência Ovariana Prematura

M-CSF - Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos

TH – Terapia Hormonal

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TNF α – Fator de Necrose Tumoral alfa

SAME – Serviço de Arquivo Médico e Estatística

SAS – *Statistical Analysis System*

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

# SUMÁRIO

**1 - INTRODUÇÃO** ..... 13
**2 - OBJETIVOS** ..... 22
2.1 OBJETIVO GERAL ..... 22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 22
**3 - SUJEITOS E MÉTODOS** ..... 23
3.1 DESENHO DE ESTUDO ..... 23
3.2 TAMANHO DA AMOSTRA ..... 23
3.3 VARIÁVEIS E CONCEITOS ..... 23
3.3.1 Conceito ..... 23
3.3.2 Variável Independente ..... 23
3.3.3 Variável Dependente ..... 24
3.3.4 Variáveis Descritivas ..... 24
3.4 SELEÇÃO DOS SUJEITOS ..... 25
3.4.1 Critérios de inclusão ..... 25
3.4.2 Critérios de exclusão ..... 25
3.5 COLETA DE DADOS ..... 25
3.6 TÉCNICA ..... 26
3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS ..... 26
3.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS ..... 27
**4 - RESULTADOS** ..... 28
**Artigo** ..... 30
**5 - DISCUSSÃO** ..... 49
**6 - CONCLUSÕES** ..... 54
**7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ..... 55
**8 - ANEXOS** ..... 62
**ANEXO 1 – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA DA INSTITUIÇÃO** ..... 62
**ANEXO 2 - TABELAS DE COLETA DE DADOS** ..... 67
**ANEXO 3 – MODELOS DE LAUDO DENSITOMÉTRICO** ..... 69

## 1 - INTRODUÇÃO

A insuficiência ovariana prematura (IOP) é uma condição que se manifesta pela perda da atividade ovariana antes dos 40 anos de idade, caracterizada por distúrbio menstrual (amenorreia ou ciclos menstruais longos) e gonadotrofinas elevadas, com consequente baixo nível sérico de estradiol (1).

Foi inicialmente descrita em 1942 por Albright e colaboradores como Insuficiência Ovariana Primária, sendo que "primária" referia-se ao defeito primário localizado dentro do ovário. Desde então, diferentes nomes e definições tem sido utilizados (2). Assim, também é descrita como falência ovariana prematura (3), porém o termo parece estar em desuso, uma vez que “falência” passa ideia de completa interrupção da função ovariana, o que pode não condizer com situações em que a depleção dos folículos primordiais pode ter curso lento e gradativo (4, 5).

Do ponto de vista leigo, muitas vezes o termo “menopausa precoce” é utilizado, porém recomenda-se que este seja evitado pois menopausa é definida como “cessação permanente da menstruação”, normalmente manifestada em mulheres com idade em torno de 50 anos (4). Na IOP, diferentemente, a função ovariana é comprometida em mulheres com menos de 40 anos de idade, e nem sempre de modo definitivo, uma vez que aproximadamente 50% delas podem apresentar função ovariana intermitente e imprevisível por anos (6, 7). Recentemente uma reunião de consenso organizada pela *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) sugeriu que "insuficiência ovariana prematura" seria a denominação mais precisa (1).

Tem prevalência variável de acordo com a faixa etária, sendo tão menos frequente quanto mais nova é a mulher. Assim, de acordo com a literatura, aproximadamente 1% das mulheres com menos de 40 anos, 0,1% das mulheres com 30 anos e 0,01% das mulheres com 20 anos são afetadas pela IOP. Em mulheres com amenorreia primária, a prevalência de IOP é de 10% a 28%; naquelas com amenorreia secundária, a IOP ocorre em 4% a 18% (3, 8-10).

Independentemente da etiologia, sabe-se que a IOP ocorre através de dois mecanismos principais: disfunção e depleção folicular (4, 11). Disfunção folicular indica que, apesar de existirem folículos remanescentes nos ovários, um processo patológico impede seu funcionamento normal, seja por deficiência enzimática,

alteração de receptor ou causa idiopática (11). Na depleção folicular não há folículos primordiais em número capaz de manter a função do ovário. Essa condição pode ser devida a uma falha no conjunto inicial de folículos primordiais, dispêndio acelerado dos folículos, ou à destruição autoimune ou tóxica destes como alterações no mecanismo que regula a migração das células germinativas, a proliferação mitótica das oogônias e o início da meiose para formar os folículos primordiais (12). Dessa forma, a compreensão da etiopatogenia da IOP requer uma compreensão do processo de foliculogênese (11).

Como possíveis causas de IOP estão incluídas anormalidades cromossômicas, mutações genéticas, autoimunidade, distúrbios metabólicos e infecções (12). A iatrogenia decorrente de cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia, também é fator causal importante (12, 13), constituindo uma causa talvez em elevação. À medida que a sobrevivência após doenças malignas na infância aumentou, mais mulheres jovens estão experimentando os efeitos a longo prazo da quimioterapia ou radioterapia, dentre estas o risco de perda da função ovariana. Análises do *Childhood Cancer Study* mostraram que 6,3% das pacientes desenvolvem insuficiência ovariana aguda no momento do tratamento e outras 8% desenvolvem IOP em outros momentos, mais tardiamente (14, 15). Apesar da busca pela etiologia ser importante, inclusive para orientação das mulheres, grande parte dos casos permanece como de causa indefinida (12).

Os critérios clínicos para o diagnóstico de IOP são a ocorrência de sintomas referidos como amenorreia ou ciclos menstruais longos por pelo menos quatro meses em mulheres abaixo de 40 anos e níveis consistentemente aumentados de FSH acima de 25 UI/L, isto é, recomenda-se que a dosagem de FSH deva ser realizada duas vezes em intervalo de ao menos quatro semanas (1). Dadas as repercussões e implicações quanto a conduta em longo prazo, para o diagnóstico considera-se o nível sérico de FSH como o teste padrão-ouro (16), sendo medido em ocasiões diferentes para avaliar atividade ovariana intermitente (17). Embora o hormônio Anti-Mulleriano (AMH) possa ser utilizado em conjunto com os níveis de FSH e estrogênio para o diagnóstico de IOP, seu uso ainda está restrito a casos selecionados (1).

Para a maioria das mulheres não há sinais ou sintomas óbvios que antecedam a cessação dos períodos menstruais (18). Uma apresentação comum é a falha ao retomar a menstruação após a gravidez ou ao parar a utilização de um contraceptivo

hormonal. Nesta situação, o diagnóstico, para muitas mulheres, pode ser inesperado e angustiante, com sintomas desagradáveis, agravado pelo fato de uma possível infertilidade. Dessa forma, com frequência a descoberta da IOP pode ter um impacto psicológico ruim, e a importância emocional da condição é frequentemente subestimada (11).

Os sintomas podem variar consideravelmente de mulher para mulher e o distúrbio pode ocorrer abruptamente ou, em outras situações, pode se desenvolver gradualmente ao longo de vários anos (19, 20). Entre os sintomas clínicos, podem ser citados sintomas vasomotores (ondas de calor e sudorese), dispareunia, secura vaginal, insônia, alterações de humor, baixa concentração, secura nos olhos, frequência urinária alterada, baixa libido e falta de energia , como consequência do declínio prematuro dos níveis estrogênicos e, em menor grau, declínio na testosterona ovariana (21). No entanto, em mulheres com amenorreia primária, os sintomas vasomotores são menos frequentes, implicando que são predominantemente decorrentes de abstinência de estrogênio e não por deficiência do mesmo (22).

Embora o diagnóstico precoce da IOP seja importante para a prevenção de complicações como a osteoporose e, possivelmente, para a prevenção da doença cardíaca coronariana, muitas mulheres demoram para ter seu diagnóstico definitivamente firmado (cerca de cinco anos). Além disso, mais de 50% das jovens com IOP relataram ter consultado três ou mais clínicos antes de ter o diagnóstico confirmado (23).

Há evidências de que o hipoestrogenismo seja um fator de risco aumentado para doenças cardiovasculares (24). Uma metanálise de 2016 mostrou que as mulheres que sofreram menopausa antes dos 45 anos têm maior risco de doença cardíaca coronária, mortalidade cardiovascular e mortalidade geral em comparação com as mulheres que sofreram menopausa após os 50 anos (25). Comparadas com mulheres normais da mesma idade, mulheres com IOP tiveram função endotelial vascular alterada, fator precursor de aterosclerose (26).

Uma das consequências temidas a longo prazo na IOP é a osteoporose. O estrogênio tem um papel importante na regulação e manutenção da massa óssea de mulheres e sua deficiência resulta em redução na densidade mineral óssea (DMO) e risco aumentado de fraturas (2).

Nas mulheres, por ação dos estrogênios produzidos a partir do desenvolvimento puberal, há incremento no ganho de massa óssea (27). Embora o pico de massa óssea feminino seja atingido por volta dos 30 anos, a maior parte dele já é alcançada aos 18 anos de idade (28). A deficiência prolongada de estrogênio antes desta idade resulta em diminuição da acumulação máxima de massa óssea. A falha em atingir o pico de massa óssea resulta em aumento do risco de fratura e é uma grande preocupação na saúde de mulheres jovens com IOP, principalmente se o tratamento apropriado com TH não for iniciado precocemente, logo após o início da doença (26).

A deficiência de estrogênio causa aumento da remodelação óssea, com aumento tanto da reabsorção como da formação óssea, porém com taxa de reabsorção excedendo a de formação (29). Até agora, no entanto, permanece discutível se os estrogênios exercem sua influência positiva no osso exclusivamente através de suas ações antirreabsortivas bem estabelecidas ou se têm efeitos adicionais de formação óssea (30).

A remodelação óssea é um processo fisiológico constante no qual a formação é correspondente à reabsorção. O processo de remodelação ocorre em pequenos conjuntos de células chamadas de unidades multicelulares básicas de remodelação óssea (BMU), sendo caracterizado pelo conjunto das funções dos osteoclastos e osteoblastos (31). Um ciclo de remodelação começa com a ativação de uma nova BMU em uma superfície óssea previamente inativa. Esse processo envolve o desaparecimento de células do revestimento ósseo e sua substituição por osteoclastos multinucleados que geram lacunas de reabsorção na superfície endosteal do osso em um intervalo de duas semanas. A fase de reabsorção é então encerrada, provavelmente por apoptose dos osteoclastos e, após uma breve fase de reversão, são recrutados osteoblastos que preenchem a cavidade de reabsorção com osso novo. O resultado é a substituição de osso antigo por osso recentemente formado (32).

A deficiência de estrogênio afeta a remodelação óssea de várias maneiras. Primeiro, aumenta a frequência de ativação das BMUs, o que leva a uma maior rotatividade óssea (32). Segundo, induz um desequilíbrio na remodelação prolongando a fase de reabsorção (a apoptose dos osteoclastos é reduzida) e diminuindo a fase de formação na qual a apoptose dos osteoblastos é aumentada (33,

34). Além disso, o aumento do recrutamento de osteoclastos prolonga a progressão da BMU. Como consequência dessas alterações, o volume da cavidade de reabsorção é aumentado além da capacidade dos osteoblastos de reabastecê-la (32), isso resulta em uma diminuição da densidade óssea.

Mesmo sabendo que o estrogênio tem diversas ações que envolvem crescimento, diferenciação e função nos seus tecidos-alvo, os mecanismos pelos quais esse hormônio age não foram totalmente estabelecidos, mas sabe-se que muitos dos efeitos do estrogênio envolvem interação ligante/receptor (35).

A presença de receptores de estrogênio em células osteoblásticas humanas foi relatada pela primeira vez em 1988 por Eriksen e colaboradores (36) e posteriormente estendida aos osteoclastos (37) e osteócitos (38). Os receptores de estrogênio também são expressos em células imunes, como células T e monócitos (39, 40), que são importantes na regulação óssea.

As células ósseas, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, contêm ambos os receptores estrogênicos, alfa e beta, ou ERα e ERβ, mas suas distribuições no osso não são homogêneas (41). Estes receptores também estão expressos nas células precursoras dos osteoblastos. Nos seres humanos, ERα é a isoforma predominante no osso cortical, enquanto ERβ é a espécie predominante no osso trabecular (42). Porém, em geral, o ERα medeia a maioria das ações do estrogênio nas células ósseas (31). Em um estudo com camundongos, há evidências que a deleção específica de ERα acelera a perda óssea após a menopausa por um prolongamento na vida útil dos osteoclastos, resultante da perda de efeitos pró-apoptóticos dos estrógenos nessas células (41).

O mecanismo pelo qual a informação é traduzida a partir desses receptores ligados a ligantes é objeto de intensa pesquisa desde 1960. Agora está claro que a interação do complexo receptor hormonal com os elementos de resposta ao estrogênio leva à estimulação da transcrição de genes alvo (43). Os produtos dos genes alvo incluem proteínas reguladoras da transcrição e fatores do tipo citocinas que atuam por mecanismos autócrinos, parácrinos e/ou endócrinos. As ações biológicas dos estrogênios são mediadas pela função dessas proteínas nas células alvo ou vizinhas (44).

Entre as citocinas com propriedades de reabsorção moduladas pelo estrógeno estão IL-1, IL-6, M-CSF (fator estimulador de colônias de macrófagos), TNF-α (45). Em situações de hipoestrogenismo, não há bloqueio dessas citocinas, favorecendo a reabsorção óssea, principalmente pelo aumento do tamanho do pool de pré-osteoclastos na medula óssea (32).

Outro fator-chave que regula o desenvolvimento dos osteoclastos é o ativador de receptores do ligante do fator nuclear κappaB RANK-RANKL produzido por várias células no microambiente ósseo, incluindo osteócitos e células da linhagem osteoblástica (46). De fato, o RANKL é necessário e suficiente para a diferenciação dos osteoclastos, devido às concentrações permissivas de M-CSF, além de aumentar a atividade e prolongar a vida útil dos osteoclastos, diminuindo sua apoptose (47). Em um estudo de 2003, Eghbali-Fatourechi e colaboradores mostraram que, direta ou indiretamente, a deficiência de estrogênio aumenta a produção de RANKL em várias populações celulares no microambiente ósseo, contribuindo para o aumento da reabsorção óssea (48).

O aumento da reabsorção óssea, o afinamento e a perfuração trabecular e a perda de conexão entre as trabéculas restantes são as características dominantes da fase inicial de rápida perda óssea que se segue ao início da deficiência de estrogênio (49). A fase aguda é seguida por um período prolongado de perda óssea mais lenta, onde a mudança da microarquitetura dominante é o desbaste trabecular. Essa fase é devida em parte à atividade osteoblástica prejudicada, secundária ao aumento da apoptose de osteoblastos (50), devido à elevação na produção de citocinas inflamatórias IL-7 e TNF, também desencadeada pelo hipoestrogenismo (51, 52).

Assim, a deficiência de estrogênio em mulheres que sofrem de IOP tem um impacto negativo significativo na densidade mineral óssea, principalmente porque a deficiência estrogênica pode aparecer na fase de ganho intensivo de massa óssea (53), isto é, no período de obtenção do pico de massa óssea. Sendo a perda óssea associada à deficiência de estrogênio maior no osso trabecular do que no cortical, as mulheres com IOP geralmente apresentam uma diminuição mais significativa da DMO principalmente nas vértebras da coluna lombar (54). Nesta direção, Uygur e colaboradores relataram baixa densidade óssea na coluna lombar em 45 mulheres com IOP e cariótipo normal, comparadas com controles, mesmo com o tempo médio desde o diagnóstico de apenas dois anos (55).

Outros estudos também revelaram uma diminuição significativa da DMO em mulheres com IOP. Em 2009, um grande estudo realizado por Popat, incluindo 442 casos, confirmou que mulheres com IOP têm uma DMO mais baixa em comparação com mulheres de função gonadal preservada (56). De acordo com outro estudo, a baixa massa óssea é diagnosticada em cerca de 67% das mulheres com IOP (4).

Em estudo realizado no Brasil, 50 mulheres com IOP mostraram diminuição da densidade óssea na coluna lombar e no fêmur, sendo a coluna vertebral a mais afetada. Os autores mostraram que a redução da massa óssea da coluna lombar foi associada à idade das mulheres, à idade em que houve perda da função ovariana e ao tempo de insuficiência ovariana (53).

A redução na massa óssea é considerada um fator preditivo para o risco de fratura, sendo que a diminuição de 1 desvio padrão na medida da densidade óssea indica aumento no risco de fratura em 2,6 vezes (57). Porém, existem poucos dados sobre o risco de fraturas em mulheres com IOP (58). Estudos clínicos que compararam mulheres com menopausa em idade habitual com mulheres com menopausa em idade precoce relataram que o risco relativo de fratura é de aproximadamente 1,5 vezes maior em mulheres em que a menopausa ocorreu mais cedo (59). Em relação especifica à IOP, em que a insuficiência estrogênica é ainda mais precoce, os dados ainda são escassos. Considerando que o tratamento da IOP e da menopausa precoce é feito utilizando terapia hormonal, há estudos demonstrando que as taxas de fraturas podem ser reduzidas entre as que utilizam tal tratamento (26, 60, 61).

As repercussões do hipoestrogenismo sobre vários aspectos físicos, incluindo a perda óssea, além de sua influência negativa sobre qualidade e expectativa de vida, direcionam o tratamento da IOP, sendo a TH fortemente recomendada (62). As diretrizes recomendam o uso contínuo de TH desde o momento do diagnóstico até ao menos a média etária da menopausa habitual (1, 63). A reposição estrogênica visa não somente o alívio dos sintomas, mas tem vários outros objetivos tais como a prevenção da osteoporose, das alterações metabólicas e redução do risco de morbidade a longo prazo (64).

Em mulheres muito jovens com IOP, a reposição de estrogênio é necessária para alcançar características sexuais secundárias completas, crescimento adequado, densidade mineral óssea ideal e desenvolvimento uterino suficiente para uma possível reprodução futura (65). Para a TH das mulheres com IOP existem diferentes vias de

administração, doses e preparações de estrogênio e progestagênio, com resultados nem sempre concordantes em relação aos efeitos sobre a massa óssea (1, 66, 67).

Em um estudo realizado em 2010, os autores mostraram que o estradiol transdérmico cíclico (100 µg / dia na primeira semana e 150 µg / dia nas semanas 2 a 4, associado a 200 mg de progesterona vaginal duas vezes ao dia durante as semanas 3 a 4 ou 10 mg de diidrogesterona oral duas vezes ao dia), utilizado por 12 meses, melhorou a DMO, reduziu os marcadores de reabsorção óssea e aumentou os marcadores de formação óssea em um pequeno grupo de mulheres jovens com IOP (68).

Um outro estudo que acompanhou jovens mulheres com IOP por dois anos, revelou que em 9 pacientes que receberam estrogênio conjugado (EC) na dose de 0,625 mg, um aumento significativo foi observado na DMO total do quadril durante o primeiro ano da administração da TH, se mantendo estável no segundo ano (69). Por outro lado, um estudo de coorte que avaliou a DMO na coluna lombar e no colo do fêmur em 72 mulheres, média de idade de 34 anos, que receberam diferentes formulações de TH ao longo de 8 anos, mostrou que, embora tenha sido possível manter a densidade mineral óssea, os tratamentos não foram suficientes para reverter a perda óssea previamente existente (70).

Apesar das evidências disponíveis, a melhor formulação hormonal, dose e regime da TH ainda não estão claros (71). Uma alternativa por vezes indicada são os contraceptivos hormonais. Em mulheres com IOP não completamente estabelecida, que ainda apresentam risco de, e não desejam gestação, os contraceptivos orais combinados constituem uma opção pelo seu efeito contraceptivo (64). Além disso, seu uso pode ser uma alternativa considerada para muitas mulheres que acreditam que o COC é mais “socialmente aceitável” do que a TH (72).

Até o momento, poucos estudos compararam os efeitos da TH convencional com o tratamento utilizando COC, em relação aos seus efeitos sobre a massa óssea. Em um ensaio clínico randomizado que incluiu mulheres em sua maioria com síndrome de Turner ou IOP iatrogênica, o tratamento com estradiol transdérmico na dose de 100 µg e 150 µg produziu um aumento significativo no z-score da DMO da coluna lombar, o que não aconteceu com o uso do COC, que foi prescrito em regime de 21 dias de uso com pausa de 7 dias (68).

Em outro ensaio clínico randomizado, com inclusão de pequeno número de mulheres, a TH (2 mg de E2 oral associado a levonorgestrel) comparativamente ao COC (30 mcg de etinilestradiol associado a levonorgestrel em regime de uso por 21 dias com pausa de 7 dias) mostrou-se superior apenas na DMO da coluna lombar, não havendo diferença nos resultados obtidos para o fêmur ou nos marcadores ósseos (72). Importante ressaltar que o regime utilizado diferiu entre os dois grupos de tratamento, havendo pausa do estrogênio apenas no grupo que utilizou COC.

O etinilestradiol (EE) é um estrogênio sintético presente em grande parte das formulações dos contraceptivos orais combinados. Os efeitos específicos sobre a massa óssea do EE, associado a diferentes progestagênios nas formulações dos COC, não são bem conhecidos. No entanto, há evidência que os COC não diminuem a massa óssea em adolescentes com função gonadal normal, embora estudos comparando doses de 20 e 30 mcg de EE tenham mostrado que, com doses menores, o pico de massa óssea pode não ser atingido em adolescentes (73, 74). Quando o COC foi utilizado em jovens mulheres hipoestrogênicas por anorexia nervosa, um estudo de 2019, mostrou melhora na massa óssea e normalização de marcadores de reabsorção (75). Também há evidências de melhora na massa óssea de mulheres com hipogonadismo hipogonadotrófico tratadas com contraceptivos combinados contendo 20 ou 30 mcg de EE (76).

Considerando os resultados da literatura nem sempre concordantes, é possível inferir que estudos que analisem os efeitos do COC sobre a massa óssea de mulheres com IOP poderão contribuir para aumentar as opções terapêuticas hormonais. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do uso do COC contínuo comparativamente a terapias hormonais convencionais sobre a densidade óssea em mulheres com IOP.

# 2 - OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta ao tratamento com contraceptivo oral combinado em uso contínuo sobre a densidade mineral óssea de mulheres com insuficiência ovariana prematura, comparativamente a outros tratamentos hormonais.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a variação da densidade mineral óssea da coluna lombar, colo femoral e fêmur total de mulheres com IOP em uso contínuo de um contraceptivo oral combinado contendo 30 mcg de etinilestradiol associado a 150 mg de levonorgestrel comparativamente a diferentes doses e formulações de terapias hormonais convencionais.

- Avaliar o percentual de perda e ganho de massa óssea de mulheres com IOP em uso contínuo de contraceptivo oral combinado comparativamente a diferentes doses e formulações de terapias hormonais convencionais.

# 3 - SUJEITOS E MÉTODOS

## 3.1 DESENHO DE ESTUDO

Estudo de coorte observacional retrospectivo.

## 3.2 TAMANHO DA AMOSTRA

Foi utilizada uma amostra de conveniência com inclusão de mulheres com diagnóstico de insuficiência ovariana prematura, atendidas no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2016, no Ambulatório de Ginecologia Endócrina do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, e que preenchessem os critérios de inclusão e exclusão.

## 3.3 VARIÁVEIS E CONCEITOS

### 3.3.1 Conceito

Insuficiência Ovariana Prematura (IOP): disfunção ovariana caracterizada por níveis séricos de FSH elevados e acima de 25 UI/L ao menos em dois momentos e em intervalo superior a 1 mês, associado a ciclos menstruais irregulares e longos ou amenorreia, em mulheres abaixo dos 40 anos de idade (1).

### 3.3.2 Variável Independente

- Terapia hormonal: tratamento hormonal utilizado para mulheres com IOP para minimizar os efeitos do hipoestrogenismo e classificado, de acordo com sua composição, em:
- Contraceptivo oral combinado contendo 30 mcg de etinilestradiol associado a 150 mg de levonorgestrel, sendo utilizado na dose de 1 comprimido ao dia por via oral, continuamente.
- Terapia hormonal de menor dose: formulação hormonal contendo 0,625 mg de estrogênio conjugado ou 1 mg de estradiol, sendo utilizado 1 vez ao dia,

continuamente, associados respectivamente a medroxiprogesterona ou noretisterona.

- Terapia hormonal de maior dose: formulação hormonal contendo 1,25 mg de estrogênio conjugado ou 2 mg de estradiol, sendo utilizado uma vez ao dia, continuamente, associados, respectivamente a medroxiprogesterona ou noretisterona.
- Tibolona na dose de 2,5 mg, utilizado uma vez ao dia, continuamente.

### 3.3.3 Variável Dependente

- Densidade mineral óssea medida na coluna lombar (CL, segmentos L1-L4), colo femoral (CF) e fêmur total (FT), medida através de exame de densitometria utilizando densitômetro de dupla absorção – DXA (dual-energy X-ray absorptiometry) e avaliada em:

- Valores absolutos, em gramas, de conteúdo mineral ósseo por centímetro quadrado de osso analisado (g/cm²).
- Valores relativos em T-score, correspondendo ao número de desvios-padrões da média do adulto jovem.
- Valores relativos em Z-score, correspondendo ao número de desvios-padrões da média de uma população do mesmo sexo e raça do indivíduo.

### 3.3.4 Variáveis Descritivas

- Idade: número de anos completos por ocasião da avaliação da massa óssea.
- Peso: em quilogramas, aferido com o sujeito em posição ortostática, sem calçados, por meio de uma balança de precisão.
- Altura: em metros, definida como a medida do indivíduo em posição ortostática, dos pés à cabeça.
- Índice de Massa Corpórea (IMC): critério de avaliação do grau de obesidade de um indivíduo, calculado através da fórmula: peso (em quilogramas) dividido pelo quadrado da altura (em metros) e expresso em kg/m².

- Tempo de tratamento hormonal: definido como o número de anos de uso de tratamento hormonal.

## 3.4 SELEÇÃO DOS SUJEITOS

Para a seleção dos sujeitos, foram avaliados os prontuários de mulheres com diagnóstico de IOP atendidas no ambulatório de Ginecologia Endócrina do Departamento de Tocoginecologia da Universidade Estadual de Campinas, que haviam sido atendidas entre 2000 e 2016, sendo incluídas as que preenchessem os critérios de inclusão e exclusão descritos a seguir. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição, com parecer nº 08623412.7.0000.5404 (Anexo 1).

### 3.4.1 Critérios de inclusão

- Mulheres com diagnóstico de IOP, independente da causa da perda de função gonadal;
- Duas densitometrias com intervalo de 2 (±1) anos entre elas.

### 3.4.2 Critérios de exclusão

- Limitação à deambulação.
- Doenças com ação deletéria sobre a massa óssea (hipertireoidismo, hiperparatireoidismo, doenças gastrointestinais que interfiram com a absorção do cálcio).
- Uso de medicação com ação deletéria sobre a massa óssea (uso crônico de glicocorticoides e diuréticos tiazídicos).

## 3.5 COLETA DE DADOS

Foram colhidos dados de mulheres com IOP que apresentavam duas ou mais densitometrias com intervalo 2 (±1) anos entre elas.

No momento da realização da densitometria, foram colhidas as variáveis: idade, altura, peso, IMC, tipo de tratamento hormonal utilizado, além dos resultados da DMO

na coluna lombar (CL, segmento L1-L4), colo do fêmur (CF) e fêmur total (FT). Também foi calculado o tempo de uso de TH até a realização da DMO.

Foi criada uma tabela no Excel (Anexo 2) em que foram inseridos os dados das densitometrias das mulheres, além dos dados clínicos acima citados, informações sobre o tipo de tratamento hormonal para IOP. Para os tratamentos de IOP constavam: etinilestradiol 30 mcg associado a levonorgestrel, terapia hormonal contendo EC nas doses de 0,625 mg e 1,25 mg, E2 1 mg e 2 mg, tibolona 2,5 mg ou ainda mulheres com IOP sem terapia hormonal. Os agrupamentos das terapias hormonais foram descritos acima.

Os resultados das densitometrias foram colhidos e agrupados em pares, com intervalo de 2 anos, e a diferença destes pares foi chamada de delta. Uma mesma mulher poderia apresentar mais de um par de densitometria. Os deltas foram agrupados de acordo com o tipo de tratamento que a mulher utilizou, de acordo com a descrição.

## 3.6 TÉCNICA

**Densitometria óssea:**

A densitometria foi realizada no Setor de Medicina Nuclear do Hospital das Clinicas - Unicamp. O exame foi realizado com o sujeito deitado sobre a mesa do equipamento, utilizando densitômetro GE Lunar DPX-NT (GE-Lunar Corp., Madison, WI, EUA), sendo obtida a medida da densidade mineral óssea para a coluna lombar (CL), seguimento de vértebras L1-L4, colo femoral (CF) e fêmur total (FT), com resultados expressos em g/cm², T-score e Z-score (Anexo 3). A limitação de peso do sujeito era de 120 kg, por questões técnicas do densitômetro utilizado.

## 3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Para o processamento e análise estatística foi utilizado o programa SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.2. Os dados obtidos foram digitados no programa Excel for Windows, versão 2016, sendo revistos por duas

vezes, por pessoas diferentes, a fim de identificar e corrigir os erros de entrada dos dados. A seguir, um revisor analisou a consistência dos dados.

Para descrever o perfil da amostra segundo as variáveis numéricas em estudo foram feitas estatísticas descritivas com valores de média, desvio padrão e mediana. Alterações na densidade mineral óssea em resposta a cada tratamento foram analisadas através da diferença entre duas densitometrias, isto é, a diferença obtida através da subtração dos valores de DMO (g/cm²) no momento final menos o valor obtido no momento inicial para cada intervalo de 2 (±1) anos. Os valores obtidos através desta diferença foram denominados como “deltas”.

Para avaliar a influência dos tratamentos e dos fatores de interesse sobre a DMO das mulheres ao longo do tempo foi utilizada a análise de equações de estimação generalizadas (EEG ou *Generalized Estimating Equations - GEE*), com as variáveis sem distribuição normal transformadas em postos (ranks). O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, ou seja, $p<0,05$.

## 3.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os sujeitos de pesquisa foram selecionados a partir de revisão de prontuários e após a aprovação pelo Comitê de Ética da Instituição com número CAAE nº 08623412.7.0000.5404 (Anexo 1). A pesquisa segue as orientações preconizadas pela “Declaração de Helsinque” de 1964 e suas modificações (77) e pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (78). Houve dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se tratar de pesquisa retrospectiva, com dificuldade de localização dos sujeitos.

# 4 - RESULTADOS

## Publicação do Artigo

Menopause. 2020 Jun 22. doi: 10.1097/GME.0000000000001592. Online ahead of print.

### Bone mass in women with premature ovarian insufficiency: a comparative study between hormone therapy and combined oral contraceptives

Lívia B Carvalho Gazarra [1], Camila L Bonacordi, Daniela A Yela, Cristina Laguna Benetti-Pinto

Affiliations + expand

PMID: 32576798 DOI: 10.1097/GME.0000000000001592

#### Abstract

**Objective:** The aim of the study was to evaluate whether combined oral contraceptives (COCs) can be used as hormone therapy (HT) to preserve bone mineral density (BMD) in women with premature ovarian insufficiency (POI).

**Methods:** An observational study of women with POI comparing the use of COC (ethinylestradiol 30 µg + levonorgestrel, continuously) with: low-dose HT (continuous conjugated estrogen 0.625 mg plus medroxyprogesterone or continuous estradiol [E2] 1 mg + norethisterone), high-dose HT (continuous conjugated estrogen 1.25 mg + medroxyprogesterone or continuous E2 2 mg + norethisterone), tibolone 2.5 mg, or no treatment. Bone density scans were performed every 2 ± 1 years. The difference between final and initial (delta) BMD values was calculated for the lumbar spine, total femur, and femoral neck. Generalized estimating equations were used to analyze the effect of treatment over time. Variables without normal distribution were transformed into ranks.

FULL TEXT LINKS

Wolters Kluwer

ACTIONS

Cite

Favorites

SHARE

PAGE NAVIGATION

Title & authors

Abstract

Similar articles

LinkOut - more resources

04/30/2020

MENO-D-20-00075R2, entitled "Bone mass in women with premature ovarian insufficiency: a comparative study between hormone therapy and combined oral contraceptives"

Dear Dr. Benetti-Pinto:

I am pleased to inform you that your manuscript has now been accepted for publication in Menopause - The Journal of The North American Menopause Society. All manuscript materials will be forwarded (once complete) to the production staff for placement in Volume 27.10, which is the October 2020 issue. Your manuscript will also appear on the Menopause web site in the Publish Ahead of Print section approximately 8-10 weeks from the date of acceptance after proofs have been finalized and approved.

Thank you for submitting your interesting and important work to the journal.

Sincerely,

Isaac Schiff, MD
Editor-in-Chief, Menopause

## Artigo

Bone mass in women with premature ovarian insufficiency: a comparative study between hormone therapy and combined oral contraceptives

Running Title: Combined oral contraceptive in women with POI

Lívia B Carvalho Gazarra[1], pharmacist
Camila L Bonacordi[1], M.D.
Daniela A Yela, M.D[1]., PhD
Cristina L Benetti-Pinto[1] M.D., PhD

[1]Department of Obstetrics and Gynecology, University of Campinas, Brazil.

The authors declare that there is no conflict of interest.
The authors declare that partial results were presented in: World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases – April 4-7, 2019, France.

Financial Support: none

Corresponding author:
Cristina Laguna Benetti-Pinto,
Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP
Rua Alexander Fleming n°101, CEP: 13083-970, Campinas, SP, Brazil
Phone and fax: +55 (19) 3521-9306
E-mail: laguna.unicamp@gmail.com

Abstract

Objective: To evaluate whether combined oral contraceptives (COC) can be used as hormone therapy (HT) to preserve bone mineral density (BMD) in women with premature ovarian insufficiency (POI). Methods: An observational study of women with POI comparing the use of COC (ethinylestradiol 30 mcg + levonorgestrel, continuously) with: low-dose HT (continuous conjugated estrogen [CE] 0.625 mg plus medroxyprogesterone OR continuous estradiol [E2] 1 mg + norethisterone), high-dose HT (continuous CE 1.25 mg + medroxyprogesterone OR continuous E2 2 mg + norethisterone), tibolone 2.5 mg, or no treatment. Bone density scans were performed every 2±1 years. The difference between final and initial (delta) BMD values was calculated for the lumbar spine, total femur and femoral neck. Generalized estimating equations were used to analyze the effect of treatment over time. Variables without normal distribution were transformed into ranks. Results: Overall, 420 scans (210 deltas) of 119 women were analyzed. The women were 30.3 ±9.2 years old (mean ±SD). BMD deltas at the lumbar spine and total femur were grater in the COC and high-dose HT groups. At the lumbar spine, the differences between two scans were greater in COC group when compared to low-dose: -0.043 [95%CI-0.062; -0.024), untreated: -0.056 [-0.080; -0.032] and tibolone: -0.050 [-0.094; -0.006] groups. Total femur BMD decreases and the delta were lower in low-dose group -0.038 [-0.052; -0.024] when compared to COC. Conclusion: Continuous COC was associated with increased BMD in women with POI compared to low-dose HT, with similar improvement in the COC and high-dose HT groups.

Keywords: premature ovarian insufficiency, combined oral contraceptive, bone mineral density, hormone therapy, bone mass.

Introduction

Women with premature ovarian insufficiency (POI) become estrogen-deficient at an early age, with ovarian activity ceasing prior to forty years of age (1). The condition presents with signs and symptoms such as hot flashes, vaginal dryness, altered sexual function (1), and changes to sleep patterns (2). Additionally, there are mood swings, with an increased risk of depression (3) and more difficult psychosocial adjustment (4). A reduction in cognitive function has also been

detected, leading to an increased risk of dementia and Parkinson's disease, and causing a consequently negative impact on self-esteem and quality of life (5, 6). The repercussions of estrogen deficiency also affect fertility, the cardiovascular system, bone loss and neurological function, in addition to increasing early mortality rates (7-10).

In the bones, estrogens play a role in homeostasis during growth and in adult life. The anabolic and anticatabolic effects of estrogens result from various mechanisms including regulation of the generation and apoptosis of osteoblasts and osteoclasts, and prolongation of the life of osteocytes (11). During puberty, decreased estrogenic action results in a reduction in the bone mass peak. Although bone mass can increase up to around 30 years of age, around 90% of peak bone mass is acquired by 18 years of age (12, 13). Estrogen deficiency accelerates the modulation of bone resorption through increased osteoclastic activity, also stimulating the increase in osteoblastic activity, albeit at lower proportions (14). In POI, estrogen deficiency is, therefore, associated with a reduction in bone mineral density (BMD) at an early age, particularly at the lumbar spine (11, 13, 15).

The treatment of POI consists principally of prolonged hormone therapy aimed at reducing the effects of estrogen deficiency (14) on the young female body. Basically, two types of estrogen are used in hormone therapy (HT): estradiol (E2) and conjugated estrogens (CE). Ethinylestradiol (EE), a synthetic estrogen present in the majority of combined oral contraceptives (COC), has been used almost empirically to treat women with POI; however, although there is evidence of the effect of COCs on the bone mass of women with normal ovarian function (16) and in women who use them for contraception, there are few data in relation to women with POI (17).

This study was developed to evaluate the association between the continuous use of a COC and the bone mass variation in women with POI compared to other conventional hormone therapies.

## Methods

A retrospective, observational, longitudinal cohort study was conducted using data collected from the medical records of women with a diagnosis of POI. The study was carried out using the archives from the Gynecological Endocrinology Clinic of the Department of Obstetrics and

Gynecology, University of Campinas, Brazil. The institution's internal review board approved the study protocol under document CAAE 08623412.7.0000.5404.

Women with POI who had undergone two or more BMD scans with an interval of 2 ± 1 years between them were included in the study. Diagnosis of POI was based on reported hormonal imbalance characterized by amenorrhea or menstrual cycles of more than 120 days occurring prior to 40 years of age, and at least two follicle stimulating hormone (FSH) measurements, performed with an interval of 30 days between them, showing serum levels >25 IU/L (14). Once we evaluated the association between HT and the bone mass variation, we only included women with a consistently use of HT or that one without any kind of HT during the interval of BMD analyzes (group without HT). Women with mobility issues and those in use of any medication (e.g. glucocorticoids) or with any disease (e.g. malabsorption syndrome, hypothyroidism) that could have a negative impact on bone mass were excluded from the study.

The variables analyzed were: age at ovarian insufficiency (rated only for women with secondary amenorrhea, in which case their age at the last menstrual period was taken into account), and age at initiation of HT. The following variables were collected from the records taken at the time the BMD scan was performed: age, height, weight, body mass index (BMI), type of HT used, and duration of HT. In addition, the results of the BMD scan at the lumbar spine (L1-L4 vertebrae), femoral neck and total femur were collected.

In relation to the forms of HT used in the study, the COC evaluated contained 30 mcg of EE together with levonorgestrel in a continuous-use regimen. The other forms of HT used were separated into three groups for comparison with the COC: 1) a low-dose estrogen/progestin combination (0.625 mg of CE used continuously together with medroxyprogesterone acetate or 1 mg E2 used continuously together with norethisterone); 2) a high-dose estrogen/progestin combination (1.25 mg of CE used continuously together with medroxyprogesterone acetate or 2 mg E2 used continuously together with norethisterone); and 3) tibolone 2.5 mg daily. A control group consisting of women who were not using HT was also included in the study.

Sample size

A convenience sample of women who had been diagnosed with POI between January 2000 and December 2016 at the Gynecological Endocrinology Clinic of the University of Campinas and who met the inclusion criteria and had none of the exclusion criteria was included in the study.

Bone mineral density

BMD was measured by dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy, GE Medical Systems, Madison, WI, USA) at the lumbar spine (L1-L4), femoral neck and total femur, and described as g/cm$^2$, T-scores and Z-scores.

Statistical analysis

Descriptive statistics were performed for the numerical variables using means, standard deviations and medians. Changes in BMD were analyzed from the difference between two BMD scans, i.e. the difference obtained by subtracting the BMD value obtained at baseline from that obtained at the end of the period for each two-year interval (±1) and for each treatment group, with the results being referred to as deltas.

To evaluate the effect of treatment on the BMD of the women over time, a generalized estimating equation (GEE) was calculated using the variation (delta) in BMD obtained for the women treated with COC as a reference to be compared with the deltas obtained with the other treatments. The variables without normal distribution were transformed into ranks (age, height, weight, BMI, BMD and deltas). The significance level adopted throughout the statistical analysis was $p<0.05$. The entire statistical analysis was conducted using SAS for Windows, version 9.2.

Results

The medical records of 255 women with POI were initially evaluated. Of these, 119 women were selected for the study following application of the inclusion/exclusion criteria (Figure 1). A total of 420 BMD scans were evaluated, with analysis of the lumbar spine, femoral neck and total femur, resulting in 210 deltas.

At the time of inclusion in the study, the mean age of the women was 30.34 ±9.24 years; mean BMI was 24.4 ±4.52 kg/m$^2$; and mean BMD measurements at the lumbar spine (L1-L4), femoral neck and total femur were 0.97 ±0.17, 0.87 ±0.16 and 0.90 ±0.15 g/cm$^2$, respectively (Table 1). Median ± SD for each HT group is also included.

To evaluate response to the different treatments, 90 BMD scans (45 deltas) were analyzed for the continuous COC group (30 mcg EE), 184 (92 deltas) for the low-dose HT group (0.625 mg CE or 1 mg E2), 90 (45 deltas) for the high-dose HT group (1.25 mg CE or 2 mg E2), 16 (8 deltas) for the tibolone 2.5 mg group and 40 scans (20 deltas) for the group of women not in use of HT. Positive values show bone mass gain, negative values indicate loss of bone mass.

In the group of women treated with a COC, an increase in bone mass was found at the lumbar spine and total femur. Likewise, the group treated with high-dose HT also showed an improvement in bone mass at the lumbar spine and total femur, although this positive impact was less pronounced than that found in the COC group. At the lumbar spine, there was a loss of BMD in the untreated group, in the low-dose HT group and in the group of women using tibolone. BMD at the femoral neck decreased in all the treatment groups with the exception of the tibolone group. For the total femur, there was a reduction in BMD only in the low-dose HT group (Table 2).

When the differences between the two scans (delta, g/cm$^2$) were compared, taking the COC group as a reference, results were poorer, with a loss of BMD at the lumbar spine, in the untreated group ($p<0.001$), in the group of women receiving low-dose HT ($p<0.001$) and in the group treated with tibolone ($p=0.026$). For the total femur, compared to the group of women using COC, results were also poorer, with a reduction in BMD, in the untreated group ($p=0.014$), in the low-dose HT group ($p<0.001$) and in the high-dose HT group ($p=0.038$). For the femoral neck, no statistically significant differences were found in the response of BMD to the different treatments (Table 3 and Figure 2). The results adjusted for age, BMI and HT duration are also shown in table 3. A similar analysis was performed to compare the z-scores and t-scores between the group of women using the COC and the groups using other treatments or no treatment (Figure 2) .

For the women using COC continuously for two years, there was a mean increase in BMD at the lumbar spine of 2.5 ±6.5% compared to an increase of 1.8 ±9.9% in the group of women using the high-dose HT. For the other groups, there was a loss of BMD of -1.3 ±11.5% in the low-dose HT group, of -2.2 ±5.3% for the tibolone group and of -3.3 ±5.4% for the untreated group. For the total femur, there was an increase in BMD of 2.4 ± 4.6% in the group of women treated with COC compared to an increase of 0.9 ±5.8%, 2.2 ±3.3% and 0.02 ±0.02%, respectively, for those treated with high-dose HT and tibolone, and those untreated.

Discussion

The present study analyzed the difference in BMD in response to hormonal treatment in women with POI, comparing the association of the continuous use of a COC containing 30 mcg of EE to other conventional hormonal treatments. Treatment with COC proved effective, generating an increase in BMD at the lumbar spine and total femur. As expected, an improvement in BMD at the lumbar spine and total femur (although smaller in magnitude) was also obtained with treatment using high doses of natural estrogen, i.e. E2 at a dose of 2 mg or CE at a dose of 1.25 mg, both used continuously. On the other hand, the COC was unquestionably more effective than the use of these estrogens at lower doses. The small sample size of women using tibolone limits the conclusions that can be drawn with respect to this form of HT. However, these results need to be considered preliminary in clinical practice.

It is known that the repercussions of estrogen on bone mass require time to produce measurable changes in densitometry and that different parts of the skeleton respond in different ways to estrogen. The lumbar spine, formed predominantly by trabecular bone, is more metabolically active and a larger proportion is undergoing remodeling compared to the femur, formed predominantly by cortical bone (18). Thus, agents such as estrogen, which affect bone formation and resorption, influence it to a much greater extent and more quickly (19, 20), which leads us to assume that the lumbar spine, being more sensitive to estrogen, has changed faster in response to treatment than the femur. This may also be an explanation for the femoral neck not showing bone mass gain in any group, except the group treated with tibolone, but having a very small number of women limits any conclusions. Perhaps analyzes with intervals between densitometry for a period longer than two years, could also reveal bone mass gain in the femoral neck.

Studies show that HT containing E2 has beneficial effects on bone mass density. It acts by inhibiting osteoclasts and reducing the rate of bone remodeling (21, 22). In women with POI, depending on the age at which ovarian function ceases, prolonged estrogen deficiency may affect peak bone mass or be responsible for early bone loss. Both situations may be associated with an increased fracture risk (23). There is evidence that better compliance with HT is associated with better preservation of bone mass, with BMD loss having been documented in women who interrupt treatment (24). However, due to the heterogeneity of the formulations

used insofar as dosage, routes of administration and schedules of use are concerned, a systematic review concluded that there are insufficient data to allow any conclusions to be reached regarding the optimal HT to maximize results on bone mass density (25).

Considering that the response of BMD to estrogen is dose-dependent, in the case of early ovarian insufficiency, the relevant medical societies around the world have suggested the use of higher doses of estrogen than those used in standard HT for the menopause (22). The recommendations of the European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) are that HT for adult women with POI should contain E2 at the dose of 2 to 4 mg per day (14). In addition, with a view to maintaining physiological estradiol levels in women of reproductive age, some studies have suggested that the dose of choice for the transdermal route should be 100 mcg (14, 26).

Taking these recommendations into consideration, although conventional HT was used in the present study in women with POI, few long-term evaluations on the repercussions on bone mass density have been conducted. One study in which women with POI using different HT formulations similar to those analyzed in the present study were followed up for eight years reported that associations of CE and medroxyprogesterone acetate, E2 and norethisterone, and EE and levonorgestrel were effective in preserving bone mass density; however, they were insufficient to reduce the percentage of women with low BMD or osteoporosis (27). Those findings could, however, have been affected by the fact that many women had used lower doses of estrogen (1 mg of E2 or 0.625 mg of CE daily) than those currently recommended. In this respect, the findings of the present study show that the women using the lower dose of HT had a loss of BMD at the lumbar spine, femoral neck and total femur.

Based on current evidence in women with POI, there is a movement towards the physiological replacement of hormones via transdermal (28), which has the advantage of avoiding the hepatic first-pass effect of oral estrogen in clotting factors (29). Despite the advantage, it is a treatment that is usually more expensive when compared to oral therapies. COCs are generally prescribed for women with ovarian insufficiency who nevertheless run a certain risk of ovulation and who do not wish to conceive. Furthermore, it is important to also take into consideration the fact that in Brazil the COC used here are supplied free of charge within the public healthcare system or are cheaper to purchase than other hormonal treatments. In addition, when prescribed as a form of hormone therapy, they are generally well accepted by young women. The literature reports

that COC tend to be seen by women as a simpler and more socially acceptable form of medication (30). Although these reasons may influence their use, it must be recognized that there is little evidence of their effectiveness in preserving bone mass. In contrast to the findings of the present study that show an improvement in bone mass with COC that was similar to that found with the high-dose HT, a randomized clinical trial conducted with a small sample of women with POI treated with 2 mg of oral E2 associated with levonorgestrel daily or a COC containing 30 mcg of EE associated with levonorgestrel for 21 days a month followed by a 7-day pause (21/7 schedule) showed that the increase in bone mass at the lumbar spine was greater in the group treated with E2 (31). Another study that compared a daily dose of 100-150 mcg of transdermal E2 together with cyclic progestogens and treatment with a COC containing 30 mcg of EE associated with norethisterone on a 21/7 schedule reported that bone mass protection was better after 12 months of follow up with the E2 treatment (19). The authors found a significant increase in bone formation markers with transdermal estradiol, but for the oral contraceptive regimen, this was not shown. An important point, however, is that those results involve a prescribed COC schedule in which the women remained hypoestrogenic during the 7-day pause, i.e. for around 25% of the time. Therefore, the use of COC on a continuous schedule could be associated with improvement in bone mass, as reflected in the results of the present study in which there was an increase in bone mass at least similar to that found with the higher dose of HT.

In agreement with the results of the present study, a study on a combined oral contraceptive prescribed for young women with anorexia nervosa showed recovery of bone mass, with bone resorption markers returning to normal levels (32). Also in women with hypogonadotropic hypogonadism, combined oral contraceptives containing 20 or 30 mcg of EE resulted in an improvement in bone mass (33). In those studies, however, results were not compared with conventional HT using natural estrogen.

A strongpoint of the present study was the fact that the COC was compared with different formulations of HT, including the most used forms. Another strength is the number of women in the sample. In addition, all the women included in the study were followed up in the same tertiary unit, thus guaranteeing the uniformity of the sample and use of the recommended treatment. A further strongpoint refers to the importance of the results, which, by suggesting that the COC is effective in preserving bone mass, may encourage physicians to prescribe this form of therapy and women to comply with treatment. The limitations of the study that must be

mentioned include the convenience sampling and the fact that it was conducted retrospectively through an analysis of health records and that the variation in bone density was evaluated over a relatively short period of time (2 ±1 years). Further prospective studies, in different centers, with a randomized clinical trial design will, therefore, be required to control for possible risks of bias regarding the different treatments, thus providing a better level of evidence.

Potential Clinical Value

To evaluate the association between the continuous use of a combined oral contraceptive and bone mass variation in women with premature ovarian insufficiency compared to other conventional hormone therapies

Conclusion

Continuous use of a combined oral contraceptive can be considered as an option for HT in women with premature ovarian insufficiency, according the preliminary results of this study. Indeed, the formulation containing 30 mcg of ethinylestradiol together with 150 mg of levonorgestrel, used continuously, was found to be as effective on BMD at the lumbar spine as HT containing estradiol at a dose of 2 mg or CE at a dose of 1.25 mg, also for continuous use, together with progestogens, and better than these with respect to total femur BMD measurements.

Acknowledgments

The authors would like to thank Helymar da Costa Machado, statistician at UNICAMP Women's Hospital, for the contribution with the statistical analysis.

Referências

1. de Almeida DM, Benetti-Pinto CL, Makuch MY. Sexual function of women with premature ovarian failure. Menopause. 2011;18(3):262-6.

2. Benetti-Pinto CL, Menezes C, Yela DA, Cardoso TM. Sleep quality and fatigue in women with premature ovarian insufficiency receiving hormone therapy: a comparative study. Menopause. 2019.

3. Schmidt PJ, Luff JA, Haq NA, Vanderhoof VH, Koziol DE, Calis KA, et al. Depression in women with spontaneous 46, XX primary ovarian insufficiency. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(2):E278-87.
4. Mann E, Singer D, Pitkin J, Panay N, Hunter MS. Psychosocial adjustment in women with premature menopause: a cross-sectional survey. Climacteric. 2012;15(5):481-9.
5. Benetti-Pinto CL, de Almeida DM, Makuch MY. Quality of life in women with premature ovarian failure. Gynecol Endocrinol. 2011;27(9):645-9.
6. Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure. J Fam Plann Reprod Health Care. 2011;37(1):35-42.
7. Ossewaarde ME, Bots ML, Verbeek AL, Peeters PH, van der Graaf Y, Grobbee DE, et al. Age at menopause, cause-specific mortality and total life expectancy. Epidemiology. 2005;16(4):556-62.
8. Amagai Y, Ishikawa S, Gotoh T, Kayaba K, Nakamura Y, Kajii E. Age at menopause and mortality in Japan: the Jichi Medical School Cohort Study. J Epidemiol. 2006;16(4):161-6.
9. Hong JS, Yi SW, Kang HC, Jee SH, Kang HG, Bayasgalan G, et al. Age at menopause and cause-specific mortality in South Korean women: Kangwha Cohort Study. Maturitas. 2007;56(4):411-9.
10. Faubion SS, Kuhle CL, Shuster LT, Rocca WA. Long-term health consequences of premature or early menopause and considerations for management. Climacteric. 2015;18(4):483-91.
11. Popat VB, Calis KA, Vanderhoof VH, Cizza G, Reynolds JC, Sebring N, et al. Bone mineral density in estrogen-deficient young women. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(7):2277-83.
12. Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J, Rao DS. Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. J Bone Miner Res. 1995;10(3):466-73.
13. Leite-Silva P, Bedone A, Pinto-Neto AM, Costa JV, Costa-Paiva L. Factors associated with bone density in young women with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. Arch Gynecol Obstet. 2009;280(2):177-81.
14. Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. Hum Reprod. 2016;31(5):926-37.
15. Popat VB, Calis KA, Kalantaridou SN, Vanderhoof VH, Koziol D, Troendle JF, et al. Bone mineral density in young women with primary ovarian insufficiency: results of a three-year randomized controlled trial of physiological transdermal estradiol and testosterone replacement. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(9):3418-26.
16. Nappi C, Bifulco G, Tommaselli GA, Gargano V, Di Carlo C. Hormonal contraception and bone metabolism: a systematic review. Contraception. 2012;86(6):606-21.
17. Nelson LM, Covington SN, Rebar RW. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. Fertil Steril. 2005;83(5):1327-32.

18. Hosie CJ, Hart DM, Smith DA, Al-Azzawi F. Differential effect of long-term oestrogen therapy on trabecular and cortical bone. Maturitas. 1989;11(2):137-45.
19. Crofton PM, Evans N, Bath LE, Warner P, Whitehead TJ, Critchley HO, et al. Physiological versus standard sex steroid replacement in young women with premature ovarian failure: effects on bone mass acquisition and turnover. Clin Endocrinol (Oxf). 2010;73(6):707-14.
20. Miller KL. Hormone replacement therapy in the elderly. Clin Obstet Gynecol. 1996;39(4):912-32.
21. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. Osteoporos Int. 2013;24(1):23-57.
22. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. Menopause. 2017;24(7):728-53.
23. Sullivan SD, Sarrel PM, Nelson LM. Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause. Fertil Steril. 2016;106(7):1588-99.
24. Bachelot A, Nicolas C, Gricourt S, Dulon J, Leban M, Golmard JL, et al. Poor Compliance to Hormone Therapy and Decreased Bone Mineral Density in Women with Premature Ovarian Insufficiency. PLoS One. 112016.
25. Burgos N, Cintron D, Latortue-Albino P, Serrano V, Gutierrez RR, Faubion S, et al. Estrogen-Based Hormone Therapy in Women with Primary Ovarian Insufficiency: A Systematic Review. Endocrine. 2017;58(3):413-25.
26. Nelson LM. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. N Engl J Med. 2009;360(6):606-14.
27. Benetti-Pinto CL, Ferreira VB, Yela DA. Long-term follow-up of bone density in women with primary ovarian insufficiency. Menopause. 2015;22(9):946-9.
28. Martin LA, Porter AG, Pelligrini VA, Schnatz PF, Jiang X, Kleinstreuer N, et al. A design thinking approach to primary ovarian insufficiency. Panminerva Med. 2017;59(1):15-32.
29. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, Randle D, Lu JK, Eggena P, et al. Biologic effects of transdermal estradiol. N Engl J Med. 1986;314(25):1615-20.
30. Maclaran K, Panay N. Current concepts in premature ovarian insufficiency. Womens Health (Lond). 2015;11(2):169-82.
31. Cartwright B, Robinson J, Seed PT, Fogelman I, Rymer J. Hormone Replacement Therapy Versus the Combined Oral Contraceptive Pill in Premature Ovarian Failure: A Randomized Controlled Trial of the Effects on Bone Mineral Density. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(9):3497-505.
32. Maimoun L, Renard E, Lefebvre P, Bertet H, Philibert P, Seneque M, et al. Oral contraceptives partially protect from bone loss in young women with anorexia nervosa. Fertil Steril. 2019;111(5):1020-9.e2.

33. Castelo-Branco C, Vicente JJ, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Casals E, Vanrell JA. Bone mineral density in young, hypothalamic oligoamenorrheic women treated with oral contraceptives. J Reprod Med. 2001;46(10):875-9.

Table and Figure Legends

Figure 1 - Flow chart summarizes the search process with inclusion and exclusion criteria.

Figure 2 - Comparison between deltas of densitometry in relation to treatments, using the COC group as a reference.

Table 1 - Characterization of women with premature ovarian insufficiency.

Table 2 – Difference between two bone densitometries (delta, in g/cm²) for lumbar spine, femoral neck and total femur for the different treatments used in women with POI.

Table 3 - Differences in BMD means between treatments with the COC group as a reference, without adjustment and adjusted for age, BMI and HT duration covariates, through GEE - Generalized Estimating Equations

Table 1. Characterization of women with premature ovarian insufficiency

| | Mean | Standard Deviation | Median |
|---|---|---|---|
| **Age** | 30.34 | 9.24 | 31.00 |
| **Height** | 60.94 | 12.72 | 61.00 |
| **Weight** | 1.58 | 0.09 | 1.58 |
| **BMI** | 24.43 | 4.52 | 24.06 |
| **BMD LS (L1-L4) g/cm²** | 0.97 | 0.17 | 0.97 |
| **BMD LS (L1-L4) z-score** | -1.48 | 1.30 | -1.60 |
| **BMD LS (L1-L4) t-score** | -1.38 | 1.26 | -1.40 |
| **BMD femoral neck g/cm²** | 0.87 | 0.16 | 0.86 |
| **BMD femoral neck z-score** | -0.55 | 1.14 | -0.55 |
| **BMD femoral neck t-score** | -0.60 | 1.29 | -0.60 |
| **BMD total femur g/cm²** | 0.90 | 0.15 | 0.88 |
| **BMD total femur z-score** | -0.70 | 1.17 | -0.80 |
| **BMD total femur t-score** | -0.66 | 1.22 | -0.80 |

BMI = body mass index; BMD = bone mineral density; LS (L1-L4) = lumbar spine in the L1-L4 segment.

Table 2. Difference between two bone densitometries (delta, in g/cm²) for lumbar spine, femoral neck and total femur for the different treatments used in women with POI.

| HT (N) | BMD | Mean ± SD (95% CI) | Median |
|---|---|---|---|
| **COC (45)** | Lumbar Spine (L1-L4) | 0.018 ± 0.056 (0.001; 0.035) | 0.023 |
| | Femoral Neck | -0.008 ± 0.075 (-0.031; 0.015) | 0.005 |
| | Total Femur | 0.019 ± 0.037 (0.007;0.031) | 0.017 |
| **Low-dose HT (92)** | Lumbar Spine (L1-L4) | -0.021 ± 0.093 (-0.041;-0.002) | -0.004 |
| | Femoral Neck | -0.022 ± 0.117 (-0.047; 0.003) | -0.005 |
| | Total Femur | -0.016 ± 0.057 (-0.029; -0.003) | -0.004 |
| **High-dose HT (45)** | Lumbar Spine (L1-L4) | 0.012 ± 0.093 (-0.016;0.040) | 0.022 |
| | Femoral Neck | -0.010 ± 0.080 (-0.035; 0.014) | 0.008 |
| | Total Femur | 0.005 ± 0.053 (-0.012;0.022) | 0.013 |
| **Tibolone (8)** | Lumbar Spine (L1-L4) | -0.024 ± 0.060 (-0.074; 0.026) | -0.018 |
| | Femoral Neck | 0.005 ± 0.049 (-0.036;0.047) | 0.009 |
| | Total Femur | 0.020 ± 0.029 (-0.004;0.044) | 0.018 |
| **No treatment (20)** | Lumbar Spine (L1-L4) | -0.034 ± 0.055 (-0.060; -0.009) | -0.034 |
| | Femoral Neck | -0.020 ± 0.071 (-0.050; 0.010) | -0.005 |
| | Total Femur | 0.000 ± 0.031 (-0.013;0.013) | 0.007 |

COC = combined oral contraceptive - ethinylestradiol 30 mcg; HT = hormone therapy; Low-dose = conjugated estrogen 0.625 mg or estradiol 1 mg; High-dose = conjugated estrogen 1.25 mg or estradiol 2 mg; SD = Standard Deviation; BMD = bone mineral density. Data shown as mean (95% confidence interval).

Table 3. Differences in BMD means between treatments with the COC group as a reference, without adjustment and adjusted for age, BMI and HT duration covariates, through GEE - Generalized Estimating Equations

| | **Without adjustment** | **Adjusted** |
|---|---|---|
| | **Mean differences (95% CI)** | **Mean differences (95% CI)** |
| **Lumbar spine** | | |
| **COC** | 0.000 ------ | 0.00 ------ |
| **Low-dose** | -0.043 (-0.062; -0.024); P<0.001 | -0.024 (-0.046; -0.002); P=0.037 |
| **High-dose** | -0.009 (-0.030; 0.012); P=0.412 | -0.003 (-0.025; 0.020); P=0.824 |
| **Tibolone** | -0.050 (-0.094; -0.006); P=0.026 | -0.026 (-0.072; 0.021); P=0.277 |
| **No treatment** | -0.056 (-0.080;-0.032); P<0.001 | -0.032 (-0.062; -0.003); P=0.031 |
| **Femoral neck** | | |
| **COC** | 0.000 ------ | 0.000 ------ |
| **Low-dose** | -0.021 (-0.045; 0.003); P=0.085 | -0.020 (-0.047; 0.007); P=0.143 |
| **High-dose** | -0.009 (-0.028; 0.011); P=0.395 | -0.006 (-0.026; 0.015); P=0.593 |
| **Tibolone** | 0.012 (-0.025; 0.048); P=0,538 | 0.022 (-0.018; 0.062); P=0.282 |
| **No treatment** | -0.020 (-0.047; 0.007); P=0.143 | -0.015 (-0.053; 0.024); P=0.455 |
| **Total femur** | | |
| **COC** | 0.000 ------ | 0.000 ------ |
| **Low-dose** | -0.038 (-0.052; -0.024); P<0.001 | -0.029 (-0.046; -0.012); P=0.001 |
| **High-dose** | -0.015 (-0.029; -0.001); P=0.038 | -0.012 (-0.026; 0.002); P=0.100 |
| **Tibolone** | -0.001 (-0.021; 0.018); P=0.893 | 0.012 (-0.012; 0.035); P=0.328 |
| **No treatment** | -0.018 (-0.032; -0.004); P=0.014 | -0.009 (-0.029; 0.011); P=0.357 |

COC = combined oral contraceptive; P values = comparison of each treatment with COC.

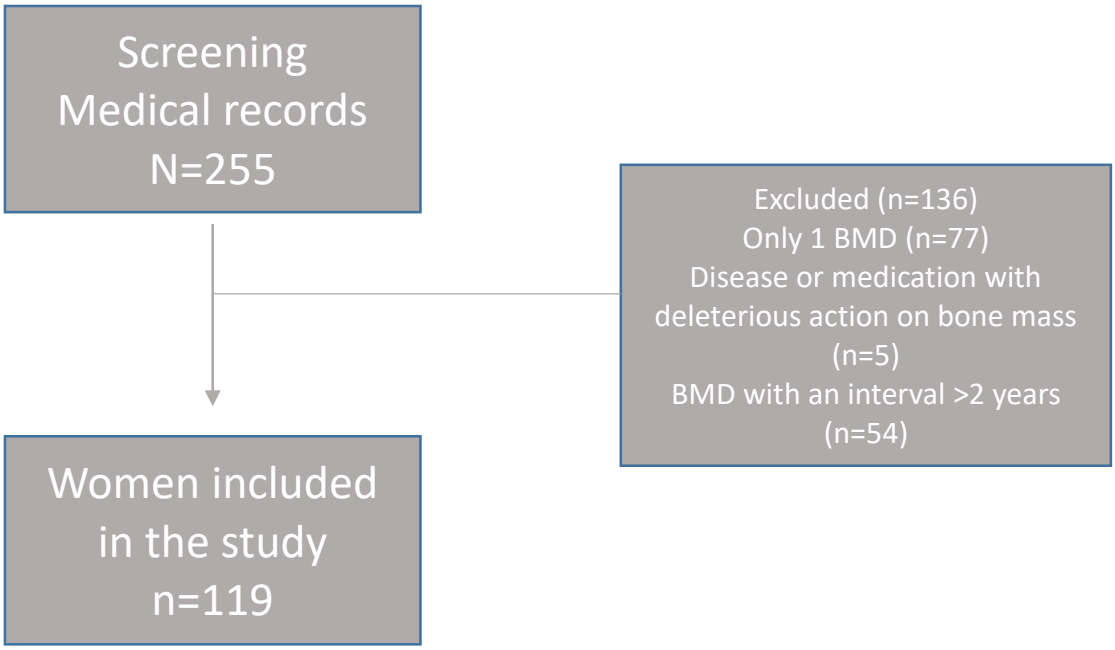



Figure 1. Flow chart summarizes the search process with inclusion and exclusion criteria

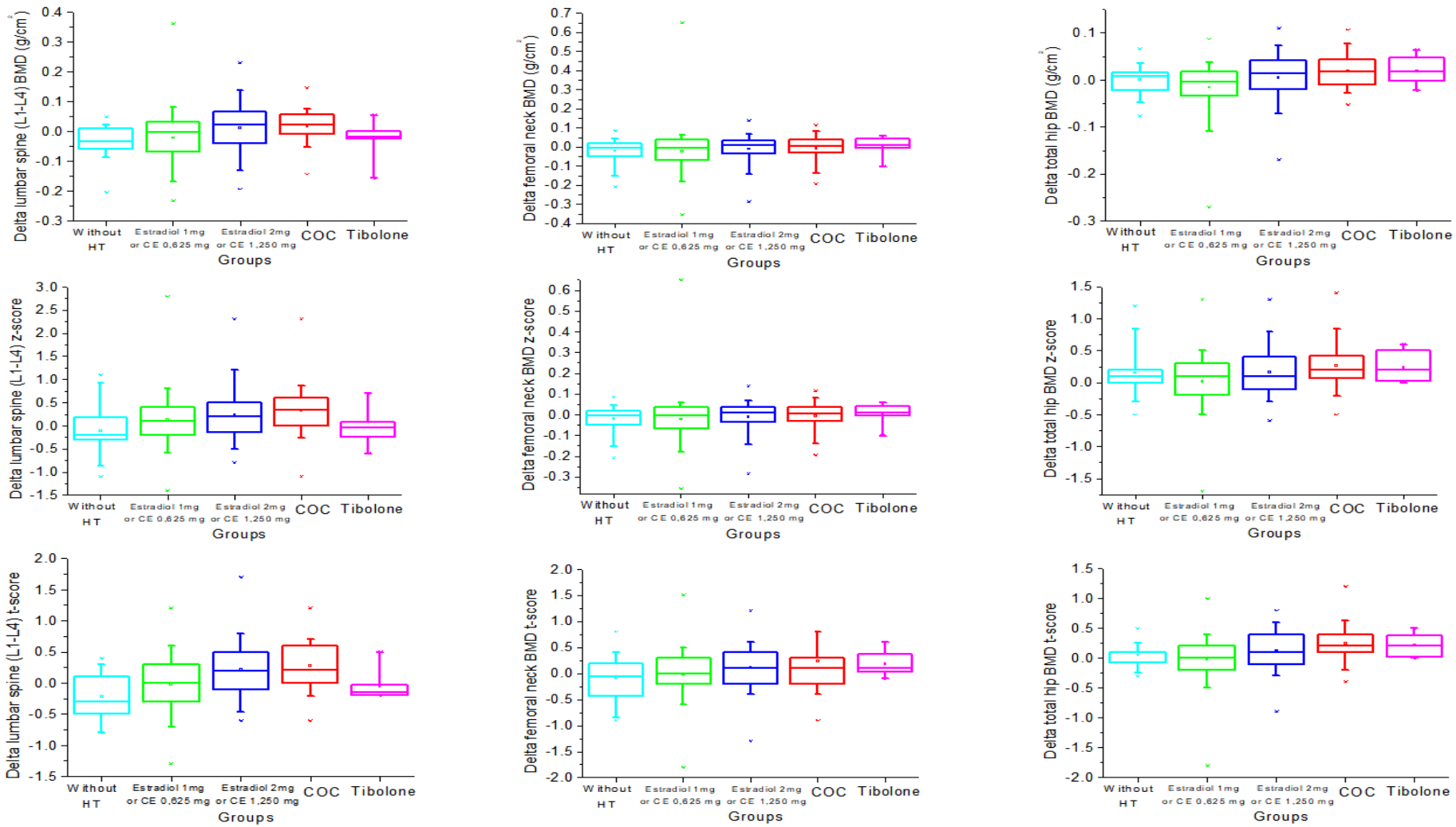



Figure 2. Comparison between deltas of densitometry in relation to treatments, using the COC group as a reference.

HT – hormone therapy

## 5 - DISCUSSÃO

Mulheres com IOP estão precocemente submetidas ao hipoestrogenismo decorrente da perda da função ovariana, com repercussões em todo o seu organismo. Desta forma, o tratamento baseia-se primordialmente na administração de hormônios gonadais, em especial no uso de estrogênio. A literatura é, porém, escassa em conclusões que norteiem a escolha de tipo, regime, doses e vias de administração da TH.

A reposição estrogênica é feita basicamente a partir do uso de estradiol ou estrogênios conjugados, tendo como objetivo reduzir os efeitos deletérios do hipoestrogenismo. Porém, tanto a prescrição como o uso esbarram por vezes em resistência dos profissionais de saúde e das pacientes, que muitas vezes, erroneamente, transferem resultados de estudos com mulheres mais velhas, após a menopausa, para as com IOP. Buscar caminhos que vençam esta resistência pode auxiliar no controle dos problemas de saúde decorrentes da insuficiência ovariana.

Além das terapias hormonais convencionalmente prescritas, há um grupo de mulheres com IOP em que a função ovariana pode não estar definitivamente afetada. Neste grupo, eventualmente pode haver ovulação e, portanto, risco de gestação. Nesta situação, os contraceptivos hormonais estariam indicados, sempre contendo estrogênio em sua composição. Além disso, os contraceptivos orais combinados apresentam boa aceitação em jovens mulheres, que o consideram uma medicação mais simples e mais socialmente aceitável, podendo ser um método indicado no tratamento da IOP (64). Contudo, preocupações foram levantadas sobre o ressurgimento dos sintomas e efeitos a longo prazo da deficiência de estrogênio na semana sem pílulas. Afim de evitar isso, no nosso serviço o COC é prescrito continuamente em mulheres com IOP. Devido a presença de poucos estudos sobre os efeitos do COC na massa óssea, nosso estudo teve o objetivo de avaliar a resposta ao tratamento com contraceptivo oral combinado em uso contínuo sobre a densidade mineral óssea de mulheres com insuficiência ovariana prematura, comparativamente a outros tratamentos hormonais convencionais.

Verificamos que o COC contendo 30 mcg de EE em uso contínuo foi benéfico para mulheres com IOP, gerando ganho de massa óssea na coluna lombar e fêmur total. O uso do COC mostrou, para a DMO da coluna lombar, resultados semelhantes aos obtidos com o tratamento com estrogênio natural em doses mais altas, isto é, E2 na dose de 2 mg e EC na dose de 1,25 mg, ambos usados continuamente. Além disso, na coluna lombar, o COC foi mais efetivo que o uso destes estrogênios em doses mais baixas (E2 na dose de 1 mg e EC na dose de 0,625 mg) e em mulheres sem tratamento. No fêmur total, tanto para o COC quanto para a TH de maior dose, evidenciou-se ganho de massa óssea.

Nosso achado, de uma possível similaridade no resultado do COC ao da TH convencional de maior dose sobre a massa óssea, tem significativa importância, pois há poucos estudos comparando as duas terapias (68, 72). Ressaltamos que um estudo da literatura mostrou dados divergentes, sendo a resposta ao COC inferior à TH, porém com o COC prescrito no regime 21/7. Considerando que quando o COC é utilizado de maneira convencional, no regime de 21 dias com intervalo de 7 dias, a mulher fica hipoestrogênica durante a pausa, isto é, em 25% do tempo. É possível supor, considerando que o hipoestrogenismo tem efeito deletério sobre a massa óssea, que este período sem uso de estrogênio possa se refletir no menor ganho de massa óssea em períodos longos de uso, e nos resultados conflitantes da literatura.

As repercussões do estrogênio sobre a massa óssea requerem um tempo para produzir alterações mensuráveis à densitometria. Analisamos um intervalo de dois anos entre as densitometrias, em resposta aos tratamentos. É bem reconhecido que diferentes partes do esqueleto respondem de diferentes maneiras ao estrogênio. A coluna lombar é formada predominantemente por osso trabecular, enquanto o colo do fêmur é formado predominantemente por osso cortical. Dessa forma, o estrogênio afeta a DMO desses locais em diferentes graus. A literatura diz que parece ser preferível monitorar o osso em uma área que contém uma proporção significativa de osso trabecular (79), uma vez que o osso trabecular é mais metabolicamente ativo e uma proporção maior está em remodelação em comparação com o osso cortical. Assim, agentes como o estrogênio, que afetam a formação e reabsorção óssea, influenciam-no em um grau muito maior e mais rapidamente (68, 80), o que nos leva a supor que a coluna lombar, sendo mais sensível ao estrogênio, mudou mais rapidamente em resposta ao tratamento do que o fêmur, apesar do ganho de massa

óssea ter sido pouco maior na coluna lombar em relação ao fêmur total em mulheres tratadas com COC. Isso também pode ser uma explicação para o colo do fêmur não ter apresentado ganho de massa óssea em nenhum grupo, exceto o grupo tratado com tibolona, mas por este tratamento ter sido utilizado por um número muito pequeno de mulheres, há limitação a quaisquer conclusões. Talvez análises com intervalos entre as densitometrias por períodos maiores que dois anos, poderiam revelar ganho de massa óssea também no colo do fêmur.

Alguns estudos mostram que não tratar a IOP causa redução na densidade óssea (72), fato que foi evidenciado em nossos resultados, uma vez que as mulheres que não utilizaram nenhum tratamento com estrogênio apresentaram perda de massa óssea na coluna lombar e colo do fêmur. Dessa forma, diretrizes recomendam que mulheres com IOP devem fazer uso de TH desde o momento do diagnóstico da IOP até a idade média da menopausa (81) para evitar perda óssea, reduzir risco cardiovascular e aliviar os sintomas decorrentes do hipoestrogenismo (72, 82). Contudo, a adesão entre as mulheres com IOP costuma ser baixa. A literatura relata que 40% delas descontinuam a terapia dentro do primeiro ano de tratamento (68, 83). Dessa forma, as preferências da paciente pela melhor via, medicamento e tipo de terapia hormonal devem ser consideradas na escolha do tratamento. A continuação da terapia é crucial na prevenção de complicações a longo prazo e saúde geral das mulheres com IOP.

A depender da idade em que a perda da função ovariana ocorra, a deficiência estrogênica prolongada pode comprometer o pico de massa óssea ou ser responsável pela perda óssea precoce. Ambas as situações podem associar-se ao aumento do risco de fraturas (26). Considerando que os estrógenos são importantes no processo de remodelação óssea e atuam através da inibição de osteoclastos, consequentemente, sua deficiência resulta em um desequilíbrio no processo de remodelação óssea (63, 84). Desta forma, estudos mostram que a TH é benéfica para a massa óssea, reduzindo o risco de osteopenia e osteoporose (72).

Dados de literatura que contemplam a ação estrogênica sobre o osso geralmente referem-se ao estradiol ou aos estrogênios conjugados, estrogênios considerados naturais (69, 85). Os estrogênios utilizados no nosso estudo ainda incluem o etinilestradiol, um estrogênio sintético. Ainda que ambos atuem através de

receptores de estrogênio, podem ter efeitos teciduais diferentes, embora haja poucos dados publicados sobre isso (72, 74). Estudar a farmacocinética dos diferentes tipos de estrogênios pode ser considerado para pesquisas futuras a fim de ajudar a avaliar se os diferentes efeitos estão relacionados às diferenças nas equivalências de doses ou devido aos efeitos inerentes aos diferentes estrogênios.

Apesar do grande número de composições hormonais disponíveis no que se refere a dose, via de administração e regime de uso, ainda não há consenso para a escolha da melhor terapia hormonal para a população por nós estudada, com o objetivo de maximizar os resultados sobre a massa óssea (86). Um grande estudo que acompanhou por oito anos mulheres com IOP utilizando diversas formulações de TH, estas foram capazes de manter a massa óssea, porém não foram suficientes para reduzir o percentual de mulheres com densidade mineral óssea baixa ou com osteoporose (70), resultado que pode ter sido influenciado por muitas mulheres terem utilizado estrogênio em doses mais baixas (1 mg E2 ou 0,625 mg de EC diariamente) do que as doses atualmente recomendadas. Nesta mesma direção, pode-se verificar que, nos nossos resultados atuais, as mulheres que utilizaram TH de menor dose apresentaram perda na densidade óssea da coluna lombar e do fêmur.

Considerando que a resposta da densidade mineral óssea ao estrogênio é dose dependente, sociedades mundiais têm indicado, na perda da função ovariana precoce, a utilização de doses mais altas de estrogênio do que as consideradas padrão para o climatério (63). A *European Society for Human Reproduction and Embryology* recomenda que a TH para mulheres adultas com IOP deva conter E2 na dose de 2 a 4mg por dia (1). Um fato a se considerar é que a TH foi desenvolvida para mulheres na menopausa em idade habitual, sendo que as apresentações e estratégias disponíveis podem não ser adequadas para mulheres jovens com IOP. Muitas mulheres vão usar a TH por um longo período e exigirá escolhas adequadas e seguras.

Quanto à discussão quanto ao uso de COC, sua prescrição é usualmente indicada em mulheres com IOP que não desejam correr risco de uma gestação (64). Além disso, é importante considerar que o COC que utilizamos em nosso serviço é fornecido pelo sistema de saúde pública de nosso país ou tem um custo mais baixo comparado a outros tratamentos hormonais, sendo ainda uma terapêutica com melhor

aceitação por mulheres jovens. Embora, essas razões possam nortear seu uso, é preciso reconhecer que há poucas evidências de sua eficácia na massa óssea.

Na mesma direção dos nossos resultados, o contraceptivo combinado prescrito para jovens mulheres com anorexia nervosa mostrou recuperação da massa óssea, com normalização de marcadores de reabsorção (75). Em mulheres com hipogonadismo hipogonadotrófico, os contraceptivos combinados contendo 20 ou 30 mcg de EE mostraram equivalente melhora na massa óssea (76). Um ensaio clínico randomizado, com um pequeno número de mulheres, realizado em 2016, apesar de utilizar o COC em regime de 21 dias e pausa de 7 dias, a TH (2 mg de E2 oral associado a levonorgestrel) foi superior ao COC apenas na coluna lombar, não havendo diferença no fêmur e nos marcadores ósseos (72).

Em comparação com dados disponíveis na literatura, podemos ressaltar como ponto forte do nosso estudo a comparação do COC com diferentes formulações de TH, que estão entre as mais utilizadas, e o número de sujeitos de nossa amostra. Além disso, todas a mulheres incluídas faziam seguimento no mesmo serviço terciário, o que garante a uniformidade da amostra e da conduta indicada.

Como pontos fracos do nosso estudo, é preciso citar que se trata de um estudo retrospectivo com análise de dados de prontuários, com análise de variação de massa óssea em tempo relativamente curto (2 ±1 anos). Considerando a questão da escolha do melhor tratamento para IOP, não é possível basear as decisões ou diretrizes de tratamento em um único estudo. É preciso considerar que a terapia deve ser individualizada de acordo com os fatores idade, desejo da mulher de manter o sangramento menstrual, risco ou desejo de gravidez, comorbidades, acessibilidade e possibilidade de aderência à medicação.

Para responder às incertezas ainda presentes na literatura, estudos prospectivos futuros, desenhados como ensaios clínicos randomizados, para controle de vieses, provavelmente multicêntricos devido à prevalência da IOP, produzirão resultados com melhor nível de evidência para confirmar ou refutar nossos achados da similaridade do COC em relação à TH de maior dose na densidade mineral óssea de diferentes sítios, seja coluna lombar ou fêmur, em mulheres com insuficiência ovariana prematura.

## 6 - CONCLUSÕES

Avaliar a variação da densidade mineral óssea da coluna lombar, colo femoral e fêmur total de mulheres com IOP em uso contínuo de um contraceptivo oral combinado contendo 30 mcg de etinilestradiol associado a 150 mg de levonorgestrel comparativamente a diferentes doses e formulações de terapias hormonais convencionais.

- O contraceptivo oral combinado contendo 30 mcg de etinilestradiol em regime de uso contínuo se mostrou tão eficiente na densidade mineral óssea da CL quanto a TH contendo 2 mg de estradiol ou 1,25 mg de estrogênio conjugado, também em regime contínuo, e superior à TH de menor dose (1 mg de E2 ou 0,625 mg de EC), além de ser melhor do que não usar TH. Para o FT, o COC foi mais efetivo que a TH de menor dose. Para o CF, não se verificou diferença na resposta da DMO entre os diferentes grupos de tratamento e o COC. O baixo número de mulheres utilizando tibolona limita conclusões quanto aos resultados para esta forma de TH.

Avaliar o percentual de perda e ganho de massa óssea de mulheres com IOP em uso contínuo de contraceptivo oral combinado comparativamente a diferentes doses e formulações de terapias hormonais convencionais.

- Para as mulheres que utilizaram COC verificou-se ganho médio de 2,5 ± 6,5% na densidade óssea da CL em intervalo de 2 (±1) anos, enquanto que o grupo tratado com TH de maior dose obteve ganho de 1,8 ± 9,9%. Para os demais grupos, houve perda de DMO, sendo estes percentuais de -1,3 ± 11,5% para as mulheres tratadas com TH menor dose, -2,2 ± 5,3% para tibolona e -3,3 ± 5,4% para o grupo de mulheres que se manteve sem tratamento. Para o FT, houve ganho de 2,4 ± 4,6% na densidade óssea de mulheres tratadas com COC, enquanto que o aumento na densidade óssea foi de 0,9 ± 5,8%, 2,2 ± 3,3% e 0,02 ± 0,02% respectivamente para as tratadas com TH maior dose, tibolona e sem tratamento. Para o colo do fêmur verificou-se perdas de -2,2%, -0,60%, -0,52%, nos grupos sem TH, maior dose e COC respectivamente, e enquanto nos grupos de menor dose e tibolona verificou-se ganho de 0,09% e 0,74%, respectivamente.

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. Hum Reprod. 2016;31(5):926-37.
2. Hamoda H. The British Menopause Society and Women's Health Concern recommendations on the management of women with premature ovarian insufficiency. Post Reprod Health. 2017;23(1):22-35.
3. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. Obstet Gynecol. 1986;67(4):604-6.
4. Nelson LM, Covington SN, Rebar RW. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. Fertil Steril. 2005;83(5):1327-32.
5. van Kasteren YM, Schoemaker J. Premature ovarian failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. Hum Reprod Update. 1999;5(5):483-92.
6. Rebar RW, Erickson GF, Yen SS. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. Fertil Steril. 1982;37(1):35-41.
7. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. Fertil Steril. 1990;53(5):804-10.
8. Anasti JN. Premature ovarian failure: an update. Fertil Steril. 1998;70(1):1-15.
9. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. Horm Res. 2007;68(4):196-202.
10. Beck-Peccoz P, Persani L. Premature ovarian failure. Orphanet J Rare Dis. 2006;1:9.
11. Shelling AN. Premature ovarian failure. Reproduction. 2010;140(5):633-41.
12. Nelson LM. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. N Engl J Med. 2009;360(6):606-14.
13. Vujovic S. Aetiology of premature ovarian failure. Menopause Int. 2009;15(2):72-5.
14. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Kasper C, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. J Natl Cancer Inst. 2006;98(13):890-6.

15. Chemaitilly W, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Yasui Y, et al. Acute ovarian failure in the childhood cancer survivor study. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(5):1723-8.
16. Rudnicka E, Kruszewska J, Klicka K, Kowalczyk J, Grymowicz M, Skorska J, et al. Premature ovarian insufficiency - aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. Prz Menopauzalny. 2018;17(3):105-8.
17. Rebar RW. Premature ovarian failure. Obstet Gynecol. 2009;113(6):1355-63.
18. Woad KJ, Watkins WJ, Prendergast D, Shelling AN. The genetic basis of premature ovarian failure. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2006;46(3):242-4.
19. Timmreck LS, Reindollar RH. Contemporary issues in primary amenorrhea. Obstet Gynecol Clin North Am. 2003;30(2):287-302.
20. Hickey M, Balen A. Menstrual disorders in adolescence: investigation and management. Hum Reprod Update. 2003;9(5):493-504.
21. Torrealday S, Kodaman P, Pal L. Premature Ovarian Insufficiency - an update on recent advances in understanding and management. F1000Res. 2017;6:2069.
22. Kovanci E, Schutt AK. Premature ovarian failure: clinical presentation and treatment. Obstet Gynecol Clin North Am. 2015;42(1):153-61.
23. Alzubaidi NH, Chapin HL, Vanderhoof VH, Calis KA, Nelson LM. Meeting the needs of young women with secondary amenorrhea and spontaneous premature ovarian failure. Obstet Gynecol. 2002;99(5 Pt 1):720-5.
24. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. N Engl J Med. 1987;316(18):1105-10.
25. Muka T, Oliver-Williams C, Kunutsor S, Laven JS, Fauser BC, Chowdhury R, et al. Association of Age at Onset of Menopause and Time Since Onset of Menopause With Cardiovascular Outcomes, Intermediate Vascular Traits, and All-Cause Mortality: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Cardiol. 2016;1(7):767-76.
26. Sullivan SD, Sarrel PM, Nelson LM. Hormone replacement therapy in young women with primary ovarian insufficiency and early menopause. Fertil Steril. 2016;106(7):1588-99.
27. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, et al. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of

osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. J Clin Invest. 1994;93(2):799-808.
28. Bachrach LK. Acquisition of optimal bone mass in childhood and adolescence. Trends Endocrinol Metab. 2001;12(1):22-8.
29. Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, O'Brien CA, Bodenner DL, Han L, et al. Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. Cell. 2001;104(5):719-30.
30. Almeida M, Iyer S, Martin-Millan M, Bartell SM, Han L, Ambrogini E, et al. Estrogen receptor-alpha signaling in osteoblast progenitors stimulates cortical bone accrual. J Clin Invest. 2013;123(1):394-404.
31. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. J Clin Invest. 2006;116(5):1186-94.
32. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. Endocr Rev. 2002;23(3):279-302.
33. Hughes DE, Dai A, Tiffee JC, Li HH, Mundy GR, Boyce BF. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. Nat Med. 1996;2(10):1132-6.
34. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev. 2000;21(2):115-37.
35. Compston JE. Sex steroids and bone. Physiol Rev. 2001;81(1):419-47.
36. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, et al. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. Science. 1988;241(4861):84-6.
37. Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, Riggs BL, Spelsberg TC. Avian osteoclasts as estrogen target cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(15):6613-7.
38. Tomkinson A, Gevers EF, Wit JM, Reeve J, Noble BS. The role of estrogen in the control of rat osteocyte apoptosis. J Bone Miner Res. 1998;13(8):1243-50.
39. Harkonen PL, Vaananen HK. Monocyte-macrophage system as a target for estrogen and selective estrogen receptor modulators. Ann N Y Acad Sci. 2006;1089:218-27.
40. Kovats S. Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways. Cell Immunol. 2015;294(2):63-9.

41. Almeida M, Laurent MR, Dubois V, Claessens F, O'Brien CA, Bouillon R, et al. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology. Physiol Rev. 2017;97(1):135-87.
42. Khalid AB, Krum SA. Estrogen Receptors Alpha and Beta in Bone. Bone. 2016;87:130-5.
43. Smith CL, O'Malley BW. Coregulator function: a key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. Endocr Rev. 2004;25(1):45-71.
44. Stein B, Yang MX. Repression of the interleukin-6 promoter by estrogen receptor is mediated by NF-kappa B and C/EBP beta. Mol Cell Biol. 1995;15(9):4971-9.
45. Zallone A. Direct and indirect estrogen actions on osteoblasts and osteoclasts. Ann N Y Acad Sci. 2006;1068:173-9.
46. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. Endocr Rev. 2008;29(2):155-92.
47. Khosla S, Monroe DG. Regulation of Bone Metabolism by Sex Steroids. Cold Spring Harb Perspect Med. 2018;8(1).
48. Eghbali-Fatourechi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. J Clin Invest. 2003;111(8):1221-30.
49. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O'Fallon WM, Riggs BL. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. J Bone Miner Res. 1990;5(4):311-9.
50. Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: the critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. J Bone Miner Res. 2005;20(2):177-84.
51. Weitzmann MN, Roggia C, Toraldo G, Weitzmann L, Pacifici R. Increased production of IL-7 uncouples bone formation from bone resorption during estrogen deficiency. J Clin Invest. 2002;110(11):1643-50.
52. Gilbert L, He X, Farmer P, Boden S, Kozlowski M, Rubin J, et al. Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor-alpha. Endocrinology. 2000;141(11):3956-64.

53. Leite-Silva P, Bedone A, Pinto-Neto AM, Costa JV, Costa-Paiva L. Factors associated with bone density in young women with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. Arch Gynecol Obstet. 2009;280(2):177-81.
54. Szeliga A, Maciejewska-Jeske M, Meczekalski B. Bone health and evaluation of bone mineral density in patients with premature ovarian insufficiency. Prz Menopauzalny. 2018;17(3):112-6.
55. Uygur D, Sengul O, Bayar D, Erdinc S, Batioglu S, Mollamahmutoglu L. Bone loss in young women with premature ovarian failure. Arch Gynecol Obstet. 2005;273(1):17-9.
56. Popat VB, Calis KA, Vanderhoof VH, Cizza G, Reynolds JC, Sebring N, et al. Bone mineral density in estrogen-deficient young women. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(7):2277-83.
57. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, et al. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Lancet. 1993;341(8837):72-5.
58. Podfigurna-Stopa A, Czyzyk A, Grymowicz M, Smolarczyk R, Katulski K, Czajkowski K, et al. Premature ovarian insufficiency: the context of long-term effects. J Endocrinol Invest. 2016;39(9):983-90.
59. van Der Voort DJ, van Der Weijer PH, Barentsen R. Early menopause: increased fracture risk at older age. Osteoporos Int. 2003;14(6):525-30.
60. Gallagher JC. Effect of early menopause on bone mineral density and fractures. Menopause. 2007;14(3 Pt 2):567-71.
61. Tuppurainen M, Kroger H, Honkanen R, Puntila E, Huopio J, Saarikoski S, et al. Risks of perimenopausal fractures--a prospective population-based study. Acta Obstet Gynecol Scand. 1995;74(8):624-8.
62. Webber L, Anderson RA, Davies M, Janse F, Vermeulen N. HRT for women with premature ovarian insufficiency: a comprehensive review. Hum Reprod Open. 2017;2017(2):hox007.
63. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. Menopause. 2017;24(7):728-53.
64. Maclaran K, Panay N. Current concepts in premature ovarian insufficiency. Womens Health (Lond). 2015;11(2):169-82.

65. Gelbaya T, Vitthala S, Nardo L, Seif M. Optimizing hormone therapy for future reproductive performance in women with premature ovarian failure. Gynecol Endocrinol. 2011;27(1):1-7.
66. Burgos N, Cintron D, Latortue-Albino P, Serrano V, Rodriguez Gutierrez R, Faubion S, et al. Estrogen-based hormone therapy in women with primary ovarian insufficiency: a systematic review. Endocrine. 2017;58(3):413-25.
67. Popat VB, Calis KA, Kalantaridou SN, Vanderhoof VH, Koziol D, Troendle JF, et al. Bone mineral density in young women with primary ovarian insufficiency: results of a three-year randomized controlled trial of physiological transdermal estradiol and testosterone replacement. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(9):3418-26.
68. Crofton PM, Evans N, Bath LE, Warner P, Whitehead TJ, Critchley HO, et al. Physiological versus standard sex steroid replacement in young women with premature ovarian failure: effects on bone mass acquisition and turnover. Clin Endocrinol (Oxf). 2010;73(6):707-14.
69. Papagianni V, Deligeoroglou E, Makrakis E, Botsis D, Creatsas G. Response to hormonal treatment of young females with primary or very premature ovarian failure. Gynecol Endocrinol. 2011;27(5):291-9.
70. Benetti-Pinto CL, Ferreira VB, Yela DA. Long-term follow-up of bone density in women with primary ovarian insufficiency. Menopause. 2015;22(9):946-9.
71. Sassarini J, Lumsden MA, Critchley HO. Sex hormone replacement in ovarian failure - new treatment concepts. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2015;29(1):105-14.
72. Cartwright B, Robinson J, Seed PT, Fogelman I, Rymer J. Hormone Replacement Therapy Versus the Combined Oral Contraceptive Pill in Premature Ovarian Failure: A Randomized Controlled Trial of the Effects on Bone Mineral Density. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(9):3497-505.
73. Agostino H, Di Meglio G. Low-dose oral contraceptives in adolescents: how low can you go? J Pediatr Adolesc Gynecol. 2010;23(4):195-201.
74. Stanczyk FZ, Archer DF, Bhavnani BR. Ethinyl estradiol and 17beta-estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. Contraception. 2013;87(6):706-27.
75. Maimoun L, Renard E, Lefebvre P, Bertet H, Philibert P, Seneque M, et al. Oral contraceptives partially protect from bone loss in young women with anorexia nervosa. Fertil Steril. 2019;111(5):1020-9.e2.

76. Castelo-Branco C, Vicente JJ, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Casals E, Vanrell JA. Bone mineral density in young, hypothalamic oligoamenorrheic women treated with oral contraceptives. J Reprod Med. 2001;46(10):875-9.
77. Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial (WMA): Associação Médica Brasileira (AMB); 2013 [Available from: http://www.amb.org.br/_arquivos/_downloads/491535001395167888_DoHBrazilianPortugueseVersionRev.pdf.
78. Resolução Nº 466: Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde; 12 de Dezembro de 2012 [Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html.
79. Hosie CJ, Hart DM, Smith DA, Al-Azzawi F. Differential effect of long-term oestrogen therapy on trabecular and cortical bone. Maturitas. 1989;11(2):137-45.
80. Miller KL. Hormone replacement therapy in the elderly. Clin Obstet Gynecol. 1996;39(4):912-32.
81. Machura P, Grymowicz M, Rudnicka E, Pieta W, Calik-Ksepka A, Skorska J, et al. Premature ovarian insufficiency - hormone replacement therapy and management of long-term consequences. Prz Menopauzalny. 2018;17(3):135-8.
82. Vujovic S, Brincat M, Erel T, Gambacciani M, Lambrinoudaki I, Moen MH, et al. EMAS position statement: Managing women with premature ovarian failure. Maturitas. 2010;67(1):91-3.
83. Bachelot A, Nicolas C, Gricourt S, Dulon J, Leban M, Golmard JL, et al. Poor Compliance to Hormone Therapy and Decreased Bone Mineral Density in Women with Premature Ovarian Insufficiency. PLoS One. 112016.
84. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. Osteoporos Int. 2013;24(1):23-57.
85. Giraldo H, Benetti-Pinto C, Ferreira V, Garmes H, Yela D, Giraldo P. Standard hormone therapy is inadequate for bone density in premature ovarian insufficiency. Gynecol Endocrinol. 2017;33(4):283-6.
86. Burgos N, Cintron D, Latortue-Albino P, Serrano V, Gutierrez RR, Faubion S, et al. Estrogen-Based Hormone Therapy in Women with Primary Ovarian Insufficiency: A Systematic Review. Endocrine. 2017;58(3):413-25.

# 8 - ANEXOS

## ANEXO 1 – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA DA INSTITUIÇÃO

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Análise de parâmetros clínicos, metabólicos e laboratoriais de mulheres com falência ovariana prematura **Pesquisador:** Cristina Benetti Laguna Pinto **Área Temática:**
**Versão:** 1

**CAAE:** 08623412.7.0000.5404

**Instituição Proponente:** Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - CAISM

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:**
143.688 **Data da**
**Relatoria:** 23/10/2012

**Apresentação do Projeto:**

A pesquisadora informa que a falência ovariana prematura é caracterizada por hipoestrogenismo e hipergonadotropismo, acometendo cerca de 1% da população feminina com idade inferior a 40 anos e na maioria dos casos a etiologia é desconhecida. Como pode reduzir a expectativa de vida dessas mulheres, é necessário que sejam analisados alguns parâmetros clínicos, metabólicos e laboratoriais das submetidas à terapia de reposição hormonal, a fim de se avaliar a eficácia do tratamento. O estudo objetiva avaliar alguns parâmetros clínicos, metabólicos e laboratoriais antes e após dois ou mais anos de terapia de reposição hormonal em mulheres com diagnóstico de falência ovariana prematura e comparar os resultados segundo os diferentes esquemas terapêuticos. Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo em que serão coletados dados dos cerca de 120 prontuários de mulheres com diagnóstico de falência ovariana prematura atendidas no Ambulatório de

Endocrinologia Ginecológica do Departamento de Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP no período de 2000 a 2012. Os dados serão apresentados como média ± desvio padrão e será aplicado para comparar as variáveis normais teste de análise de variância para medidas repetidas (ANOVA); para as variáveis não normais, o teste de Friedman (anova para medidas repetidas ¿ não paramétrico). Para fazer a correlação entre os parâmetros clínicos (IMC, medida da cintura e do quadril, pressão arterial), metabólicos (glicemia de jejum, triglicérides, colesterol total, HDL e LDL colesterol) e medidas de densidade mineral óssea (na coluna lombar e no colo do fêmur) e a idade do diagnóstico da FOP, a idade do início da terapia hormonal, o tempo decorrido entre a idade do diagnóstico e o início da terapia será usada a Correlação de Speerman.

## Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o comportamento de alguns parâmetros clínicos, metabólicos e laboratoriais antes e após dois ou mais anos de terapia de reposição hormonal em mulheres com diagnóstico de falência ovariana prematura e comparar os resultados segundo os diferentes esquemas terapêuticos.

Objetivo Secundário:

1.Avaliar os parâmetros clínicos peso, IMC, PAS, PAD, relação cintura e quadril de mulheres com FOP no momento do diagnóstico e após 2 ou mais anos.

2. Avaliar a densidade óssea da coluna lombar, colo femural e fêmur total de mulheres com FOP no momento do diagnóstico e após 2 ou mais anos.

3. Avaliar o colesterol total, LDL e HDL circulantes, triglicérides e glicemia de mulheres com FOP no momento do diagnóstico e após 2 ou mais anos.

4. Comparar os parâmetros acima para as mulheres com reposição hormonal com 1 mg de estradiol, 2 mg de estradiol, ambos associados ou não a progestagênios ou utilizando contraceptivos orais combinados.

5.Avaliar a idade do diagnóstico da FOP , a idade de início da terapia hormonal,

o tempo decorrido desde a idade do diagnóstico e o início da terapia hormonal, e correlacioná-los com os parâmetros clínicos, metabólicos e laboratoriais descritos acima.

## Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Por se tratar de estudo retrospectivo, a pesquisa não apresenta riscos para os sujeitos, sendo garantido o anonimato na coleta das informações. Da mesma forma, não haverá benefícios diretos, sendo que o presente estudo poderá preencher parte de uma lacuna nessa área do conhecimento científico e permitirá, a partir da análise dos efeitos a longo prazo da terapia de reposição hormonal sobre as mulheres com FOP, a adequação das doses hormonais e das vias de administração, com

maximização da eficácia terapêutica e minimização dos riscos dos tratamentos a que essas mulheres são submetidas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de estudo retrospectivo em que serão incluídos 120 prontuários de mulheres com falência ovariana prematura tratadas no CAISM/ Unicamp no período de 2000 a 2012. Segundo a pesquisadora, embora sugira-se doses de estrógeno maiores que as utilizadas nas mulheres com menopausa, faltam dados sobre a quantidade adequada de estradiol a ser administrado para prevenir sequelas da FOP, assim como são escassos os estudos comparando diferentes vias de administração especificamente nesta população. A via transdérmica evita o efeito de primeira passagem e os efeitos sobre fatores de coagulação de triglicerídeos. Hoje, uma opção bastante utilizada mas menos estudada é a prescrição de contraceptivos orais como método terapêutico. Também não há estudos que assegurem ou não o desenvolvimento de câncer de mama em decorrência da utilização de TH em pacientes muito jovens e por tempo prolongado, o que dificulta a aderência ao tratamento.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Folha de rosto assinada pela pesquisadora e pelo responsável da instituição proponente. Protocolo de pesquisa com todos os itens preenchidos e complementado por documento com detalhamento do estudo. É solicitada a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, tendo em vista tratar-se de um projeto de estudo retrospectivo, com coleta de dados a partir de prontuários de mulheres portadoras de falência ovariana prematura. Os critérios de inclusão e exclusão estão bem definidos, assim como os métodos.

**Recomendações:**

No cronograma, observar que o início do estudo somente poderá ser realizado após aprovação pelo CEP, conforme compromisso do pesquisador com a resolução 196/96 (artigo IX.2 ¿a¿).

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado com dispensa do TCLE.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O projeto apresenta-se bem redigido, com metodologia adequada. Os critérios de inclusão, exclusão e descontinuação dos sujeitos estão bem definidos; cálculo do tamanho amostral e análise estatística muito bem embasados por cálculos estatísticos. Os aspectos éticos estão bem discutidos no corpo do projeto e foi solicitada dispensa de TCLE. O orçamento é detalhado. Considero o projeto adequado a esse tipo de estudo.

CAMPINAS, 12 de Novembro de 2012

**Assinador por:**
**Carlos Eduardo Steiner**
**(Coordenador)**

# ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA – ADENDO AO CEP

A Declaração de Helsinki de 2013 (VII)) e o Código de Ética Médica nortearão toda a realização da pesquisa.

A confidencialidade das informações coletadas dos registros das mulheres incluídas no estudo será garantida pela manutenção da criação de um número seqüencial de cadastro, que será utilizado para a identificação do caso nos arquivos de uso dos pesquisadores. Cada paciente será identificada com um único número.

Esta pesquisa está previamente cadastrada na Plataforma Brasil e foi submetida ao parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FCM/UNICAMP, sob o número 143.688 e data de relatoria em 23/10/2012. A conclusão foi um parecer aprovando o projeto, com dispensa do TCLE e sem necessidade de aprovação no CONEP. A orientadora do projeto é a Prof. Dra. Cristina Laguna Benetti Pinto. O novo pesquisador incluído será Antonio Henrique Soares Telini, médico do 3º e último ano do

programa de residência médica de Obstetrícia e Ginecologia da FCM/Unicamp. O estudo mantém-se de caráter retrospectivo, com um subgrupo da mesma casuística utilizada previamente. No entanto, atualmente, é necessária a atualização do banco de dados até 2016, já que, na ocasião da aprovação do projeto, a revisão dos prontuários da casuística foi solicitada até o ano de 2012 apenas. Assim, fica pendente o parecer do CEP acerca deste adendo, a fim de se iniciar a coleta de dados no período estendido solicitado no mesmo.

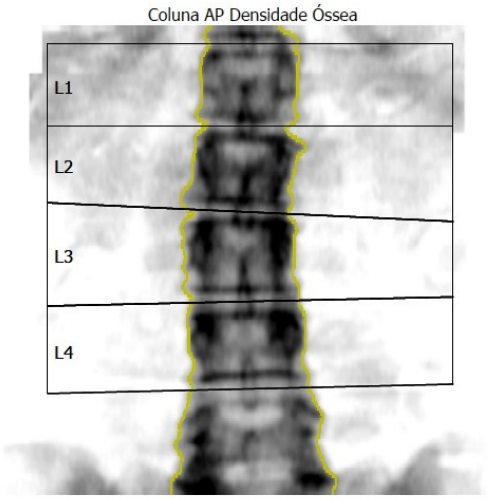
Parecer favorável: 143.688 de 23/20/2012 e 1.711.472 - FCM/UNICAMP

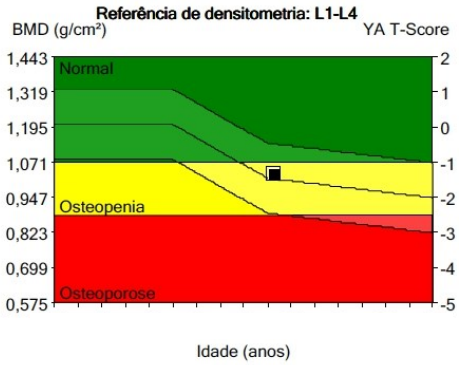
# ANEXO 2 - TABELAS DE COLETA DE DADOS

| IDENTIFICAÇÃO | IDADE | PESO (kg) | ALTURA (m) | IMC | DMO CL1-L4 G/CM² | DMO CL1-L4 Z SCORE | DMO CL1-L4 T SCORE | DMO colo F g/cm2 | DMO colo F Z score | DMO colo F T score | DMO F total g/cm2 | DMO F total Z score | DMO F total T score | TH-VIA | TH-DOSE | TTO Ca e Vit D |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |

| IDENTIFICAÇÃO | INICIAIS | DATA NASCIMENTO | ITT | IDADE AMNORREIA | TIPO AMNORREIA | E2 | FSH | LH | PUBARCA | MENARCA | TELARCA | CARIÓTIPO | COR | CAUSA IOP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |

# ANEXO 3 – MODELOS DE LAUDO DENSITOMÉTRICO

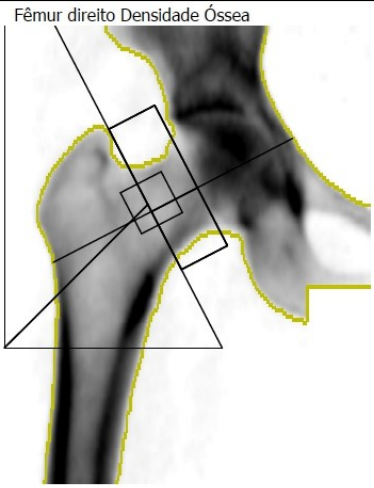


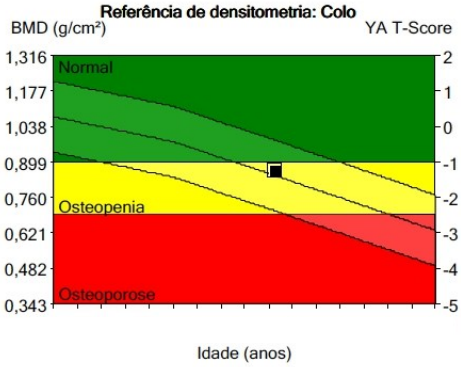




| Região | BMD [1] (g/cm²) | Jovem Adulto [2] (%) | T-Score | Corr. Etária [3] (%) | Z-Score |
|---|---|---|---|---|---|
| L1 | 0,885 | 78 | -2,1 | 91 | -0,7 |
| L2 | 1,047 | 87 | -1,3 | 101 | 0,1 |
| L3 | 1,100 | 91 | -0,9 | 105 | 0,5 |
| L4 | 1,049 | 87 | -1,3 | 101 | 0,1 |
| L1-L2 | 0,971 | 83 | -1,7 | 97 | -0,3 |
| L1-L3 | 1,019 | 86 | -1,3 | 101 | 0,1 |
| L1-L4 | 1,027 | 86 | -1,4 | 101 | 0,1 |
| L2-L3 | 1,075 | 89 | -1,1 | 103 | 0,3 |
| L2-L4 | 1,066 | 88 | -1,2 | 102 | 0,2 |
| L3-L4 | 1,074 | 89 | -1,1 | 103 | 0,3 |

COMENTÁRIOS:

Fêmur direito Densidade Óssea






| Região | BMD[1] (g/cm²) | Jovem Adulto[2] (%) | T-Score | Corr. Etária[3] (%) | Z-Score |
|---|---|---|---|---|---|
| Colo | 0,861 | 83 | -1,3 | 102 | 0,1 |
| Total | 0,949 | 94 | -0,5 | 109 | 0,6 |

**Comparação do Comprimento do Eixo do Quadril (mm)**

(Direito = 94,0 mm) (Média = 102,4 mm)

COMENTÁRIOS: