

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Menopausa Precoce

Mariana Pires Batista Ferreira

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM **MEDICINA**

2016

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO



centro hospitalar
do Porto

Menopausa Precoce

Mariana Pires Batista Ferreira

Tese de Mestrado Integrado em Medicina apresentado ao
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto
Rua Jorge Viterbo Ferreira n.º 228,
4050-313 Porto, Portugal
marianapbferreira@sapo.pt

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Prof^ª. Doutora Rosália Maria Soares Cubal

Área científica de Ginecologia

Abstract

Introduction: Premature menopause (MP) or premature ovarian failure (FOP) is a common cause of infertility in women, and is characterised by amenorrhoea, hypo-oestrogenism and elevated gonadotrophin levels in women under the age of 40. Known causes include iatrogenic agents that cause permanent damage to the ovaries, such as chemotherapy, radiation therapy and surgery, autoimmune conditions, X-chromosome abnormalities and autosomal genetic conditions. Most women with FOP are deeply psychologically affected by diagnosis, partly due to the unexpected menopausal symptoms, but also due to infertility. Therefore, early detection would provide better opportunity for early intervention, improving the quality of life of these women.^[6]

Methods: This bibliographic review is based on the search of scientific articles in “PubMed” database, published in this area, respective selection and detailed analysis.

Conclusion: In the available publications verifies the existence of consensus on the etiology of early menopause, as well as the consequences that come from it. However, there is no uniformity regarding the definition and some authors consider MP, FOP and IOP similar concepts and others use these terms clearly. There is unanimity among authors regarding the need for an early and appropriate intervention with the female population affected by this disease.

Keywords: ”premature menopause”, “premature ovarian failure”, “aetiology premature menopause”, “premature ovarian insufficiency”, “consequences premature menopause”

Resumo

Introdução: A menopausa precoce (MP) ou falência ovárica precoce (FOP) é uma causa comum de infertilidade em mulheres e caracteriza-se por amenorreia, hipoestrogenismo e níveis elevados de gonadotrofinas em mulheres com idades inferiores a 40 anos. As causas conhecidas incluem agentes iatrogênicos que causam danos permanentes nos ovários, tais como a quimioterapia, radioterapia e cirurgia, doenças autoimunes, anomalias do cromossoma X e patologias genéticas autossômicas. A maioria das mulheres com FOP encontra-se profundamente afetada psicologicamente pelo diagnóstico, em parte devido aos sintomas de menopausa inesperados, mas também devido à infertilidade. Portanto, a detecção precoce proporciona uma melhor oportunidade para a intervenção precoce, melhorando a qualidade de vida destas mulheres. ^[6]

Métodos: Esta revisão bibliográfica baseia-se na pesquisa na base de dados “PubMed” de artigos científicos publicados nesta área, seleção e análise detalhada dos mesmos.

Conclusão: Nas publicações disponíveis verifica-se a existência de consenso em relação à etiologia da menopausa precoce, bem como às consequências que advêm da mesma. No entanto, não existe uniformidade relativamente à definição sendo que alguns autores consideram MP, FOP e IOP conceitos semelhantes e outros utilizam estes termos distintamente. Há unanimidade entre autores no que concerne à necessidade uma intervenção precoce e adequada junto da população feminina acometida por esta patologia.

Palavras-chave: “premature menopause”, “premature ovarian failure”, “aetiology premature menopause”, “premature ovarian insufficiency”, “consequences premature menopause”

Agradecimentos

À minha orientadora, Prof^a. Doutora Rosália Cubal, pelo incentivo, disponibilidade, orientação e revisão científica desta revisão bibliográfica.

Aos meus pais, irmã Sara, namorado Nuno e amigos por todo o apoio que me deram durante todo este longo percurso, considerando que sem o vosso apoio nunca teria conseguido alcançar todos os sucessos que obtive a nível académico e na minha vida.

Índice

Lista de abreviaturas.....	7
Introdução.....	8
Menopausa precoce, FOP, IOP, DOP	9
Desenvolvimento	10
Doenças autoimunes	10
Causas genéticas.....	11
Causas autossômicas/ Genes autossômicos	12
Anomalias do cromossoma X.....	14
Causas iatrogênicas: Quimioterapia, radioterapia e cirurgia pélvica	15
Causas infecciosas	17
Causas ambientais.....	17
Sintomatologia clínica e diagnóstico	18
Consequências	19
Consequências neurológicas.....	20
Consequências a nível do humor	20
Consequências a nível da densidade óssea.....	21
Consequências cardiovasculares	21
Conclusão.....	23
Referências bibliográficas	24

Lista de abreviaturas

MP- Menopausa precoce

FOP- Falência ovárica precoce

IOP- Insuficiência ovárica precoce

DOP- Disfunção ovárica precoce

AOAs- auto anticorpos ováricos

QT- Quimioterapia

RT- Radioterapia

IVF-ET- Transferência de embriões para fertilização in vitro

LH- Linfoma de Hodgkin

BSO- Salpingo-ooforectomia bilateral

DCV- Doença cardiovascular

Introdução

A menopausa precoce é definida como uma falência ovárica precoce (FOP), isto é, quando ocorre antes dos quarenta anos de idade, caracterizando-se por amenorreia com duração superior a 4 meses, associado a aumento dos níveis de gonadotrofinas, défice de estrogénio, anovulação e infertilidade. Pode ainda ser definida como falência ovárica que ocorre dois desvios-padrão em anos antes da idade média da menopausa da população em estudo, não sendo esta, no entanto, a definição mais aceite pela comunidade científica. ^[1] Esta pode ser espontânea ou induzida, sendo a última resultado de intervenções médicas, como quimioterapia, ou intervenções cirúrgicas, como ooforectomia bilateral. ^{[1]; [3]}

Afeta cerca de 1% das mulheres com idades inferiores a 40 anos e 0,1% das mulheres com menos de 30 anos, sendo um estado relativamente comum. É responsável por cerca de 4-18% das causas de amenorreia secundária e 10-28% das causas de amenorreia primária. ^{[2]; [5]; [25]}

O diagnóstico deverá ser sempre considerado em qualquer mulher que se apresente com uma história de amenorreia primária ou secundária ou oligomenorreia, distúrbios vasomotores ou outros sinais de défice estrogénico e pode ser confirmada pela deteção de um nível elevado de FSH sanguínea (níveis séricos de $FSH \geq 40$ mIU/mL, em duas medições distintas). ^{[1]; [3]} A apresentação mais comum é a amenorreia secundária e as principais consequências são infertilidade e stress psicológico. ^{[3]; [4]}

O número de mulheres com FOP está a aumentar, sendo a etiologia desta patologia o principal foco de estudo dos investigadores, em que se pode verificar uma ausência completa de oócitos, uma incapacidade dos folículos amadurecerem ou foliculogénese descontrolada. As causas podem ser cromossómicas, genéticas, autoimunes, metabólicas, infeções e iatrogénicas. ^[4] Independentemente da causa, mulheres que apresentam um défice estrogénico numa idade precoce relativamente àquela que caracteriza a idade «padrão» para a ocorrência da mesma, têm um risco aumentado de morbidade e mortalidade precoces. O término da menstruação pode, de fato, ocorrer apenas alguns anos após a menarca, sendo, contudo, a sua etiologia geralmente idiopática. ^[1]

A idade da menopausa depende de vários fatores como a genética individual, fatores ambientais, socioeconómicos, reprodutivos, alimentares e estilo de vida, dos quais alguns, como nuliparidade, dieta vegetariana, tabagismo, ingestão elevada de gordura, colesterol, cafeína e exercícios vigorosos aceleram o início da mesma, estando, deste modo, associados a menopausa precoce, enquanto outros, como a paridade, uso prévio de pílulas anticoncecionais orais, etnia japonesa, ingestão de frutas e proteínas e consumo moderado de álcool a atrasam. A idade da menopausa é um importante fator de risco para morbidade e mortalidade a longo prazo e, portanto, há necessidade de identificar os fatores de risco modificáveis, como mudanças a nível dietético e estilo de vida. A menopausa tardia está

associada ao aumento do risco de cancro do endométrio e cancro da mama, enquanto a menopausa precoce aumenta o risco de doenças cardiovasculares e osteoporose. ^[6;39] O reconhecimento dos determinantes modificáveis da idade natural da menopausa é de extrema importância para aconselhar toda a população feminina adequadamente.

Na presente dissertação, procurou-se rever a literatura existente, no sentido de compreender quais as abordagens mais adequadas perante este quadro clínico. É crucial que a população, nomeadamente a população feminina, esteja ciente desta problemática, estando informada acerca da doença em si, da sintomatologia da mesma, das suas causas e consequências, para que possa lidar com a mesma da melhor maneira possível no seu quotidiano.

Menopausa precoce, FOP, IOP, DOP

O conceito apropriado para esta patologia é discutido em diversos artigos de revisão bibliográfica, sendo consensual que nenhum termo é perfeitamente adequado para definir o transtorno. Embora o termo FOP seja profusamente utilizado, há muitos médicos que preferem o termo menopausa precoce, sendo que menopausa precoce se refere a uma condição irreversível e permanente enquanto para alguns autores, na FOP, ovulação e gravidez podem ocorrer posteriormente, por vezes anos após o diagnóstico. Nos casos de reversibilidade da condição é preferível a utilização do termo DOP (disfunção ovárica precoce) ou IOP (insuficiência ovárica precoce), apesar de alguns artigos utilizarem todos os termos para se referirem à mesma patologia. ^[5]

Ao longo desta dissertação, os termos menopausa precoce e FOP serão utilizados indiferentemente, assumindo a natureza irreversível da patologia em si.

Desenvolvimento

A depleção folicular e a disfunção folicular correspondem aos dois mecanismos fisiopatológicos principais de FOP. [3] Os vários fatores descritos como possíveis causadores da depleção folicular variam desde uma diminuição do número de oócitos ao nascimento até a uma aceleração da atresia folicular, devido a mecanismos diversos, como toxinas ou mecanismos autoimunes. [2]; [3]; [4] Relativamente às causas da disfunção folicular foram descritas mutações do recetor da FSH, a luteinização inadequada relacionada com a baixa contagem folicular e a ooforite autoimune. [3]

A etiologia desta patologia varia em diferentes pacientes (Tabela 1): autoimunidade, nomeadamente nos casos de POF de início tardio, anormalidades cromossómicas / genéticas, nos quadros de apresentação precoce, fatores metabólicos / enzimáticos, infeções, toxinas ambientais e influências iatrogénicas estão relacionadas com o desenvolvimento da doença. No entanto, nenhuma destas causas parece predominar, aliás, a causa exata é indeterminada numa porção significativa de pacientes (90%), casos classificados como idiopáticos, apesar de *Faubion SS et al* afirmarem que a ooforectomia constitui a causa mais comum. [2]; [3]; [4]; [9]; [25]

A grande variedade de etiologias possíveis da FOP reflete o carácter heterogéneo desta patologia.

Tabela I: Causas de Menopausa Precoce

Causas de Menopausa Precoce
1. Doenças autoimunes
2. Anomalias genéticas
3. Iatrogenia: quimioterapia, radioterapia, cirurgia pélvica
4. Infeções
5. Causas ambientais

Doenças autoimunes

Entre os vários mecanismos responsáveis pela patogénese da FOP espontânea, os mecanismos genéticos e autoimunes desempenham um papel de importância crucial. [4] Os mecanismos autoimunes estão envolvidos na patogénese de 4-30 % dos casos de FOP, segundo *Ebrahimi M e Akbari Asbagh F* (3) e 30-60%, segundo *TC Okeke, UB Anyaehie e CC Ezenyeaku*, sendo uma das principais causas de aceleração da destruição dos folículos ovários. [1]; [4] As evidências existentes para uma etiologia autoimune são a demonstração de auto anticorpos ovários (AOAs), a presença de ooforite linfocítica e a associação com outras doenças autoimunes. [3] A FOP pode estar associada a doenças autoimunes de órgãos

específicas e não-específicas e a sua associação com glândulas endócrinas, tais como tireóide (hipotireoidismo), pâncreas e glândulas adrenais (doença de Addison) foi descrita. ^{[4] [5]} Vários alvos antigénicos ováricos foram identificados em pacientes com FOP, em que o oócito parece ser a célula alvo na maioria das vezes. A ooforite linfocítica caracteriza-se por infiltração linfocítica e células plasmáticas ao nível das células hilares, teca interna dos folículos em crescimento e corpo lúteo e cerca de 60-80% das pacientes com esta patologia têm anticorpos antiadrenais (CYP21), com doença de Addison associada. A doença de Addison, sendo uma patologia potencialmente fatal, é uma das doenças autoimunes mais comuns associadas a FOP (2-10% dos casos), sendo a sua deteção precoce recomendada em vários estudos. Há ainda associação com doenças autoimunes não endócrinas, como púrpura trombocitopénica idiopática, vitiligo, alopecia, anemia perniciosa, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, hepatite crónica ativa, anemia autoimune hemolítica, doença de Crohn e artrite reumatoide. ^[3]

O meio complementar de diagnóstico *gold standard* para a deteção de FOP autoimune é a biópsia do ovário. Este procedimento não é recomendado devido ao valor clínico desconhecido, custos elevados e riscos. Vários ensaios imunológicos têm sido propostos como possíveis ferramentas de diagnóstico substitutas, contudo não há qualquer teste serológico suficientemente sensível e específico clinicamente comprovado que confirme o diagnóstico da FOP autoimune ou que permita antecipar o risco de futuramente o paciente desenvolver POF ou outras doenças relacionadas. ^{[3]; [4]}

Alguns autores sugerem os possíveis efeitos da terapêutica imunomoduladora sobre a restituição da função ovárica e fertilidade num grupo selecionado de pacientes com FOP autoimune. No entanto, na maioria dos casos, este tratamento não consegue inverter o curso da doença. Vários estudos demonstram que o tratamento padrão para a infertilidade é menos eficaz na presença de autoimunidade ovárica. A lesão induzida por anticorpos pode ser um fator patogénico, sendo, contudo, a causa precisa desconhecida. ^[3]

Causas genéticas

Muitos genes que contribuem para o desenvolvimento de FOP foram identificados nos últimos anos, no entanto, poucos destes podem explicar uma proporção substancial de casos de FOP. Recentemente, tecnologias de sequenciamento de última geração permitiram identificar vários novos genes implicados na FOP. A identificação de vários genes causadores pode permitir a deteção precoce e proporcionar uma melhor oportunidade para uma intervenção antecipada e, além disso, a identificação de defeitos genéticos específicos será útil para o tratamento futuro.

[7] [24]

Parte do fenótipo da FOP é a infertilidade, portanto, facilmente se compreende que muitos distúrbios reprodutivos como FOP não têm histórias familiares grandes e, como tal, são difíceis de estudar usando métodos genéticos tradicionais, tais como estudo de *linkage*. Muitas das famílias estudadas recentemente têm um número de membros bastante reduzido e nas gerações mais recentes a FOP desenvolveu-se ainda antes das mulheres serem capazes de constituir família. [7]

Causas autossômicas/ Genes autossômicos

Foram observadas causas citogenéticas em pacientes com FOP. Pacientes com trissomia 18 e trissomia 13 também têm sido associados a casos de FOP. Alguns genes autossômicos são afetados por translocações autossômicas, embora seja algo raro na FOP, contudo, não foram identificados genes causais. Um destes genes (*INHA*) encontra-se numa estreita proximidade com o gene da inibina α no cromossoma 2q32.3, que tem sido associado à FOP. Essas translocações autossômicas podem ter ocorrido por acaso e podem aparecer esporadicamente nalgumas mulheres com FOP, sem desempenharem necessariamente um papel causal significativo. [5]

Dada a incapacidade de identificar genes quer por análise *linkage*, mapeamento de *breakpoints* ou deleções em causas citogenéticas de FOP, os investigadores tiveram de confiar em abordagens de genes candidatos para identificar genes potencialmente causadores. Genes candidatos são identificados através do seu papel na função do ovário e/ou do desenvolvimento folicular. O mais provável é que a FOP tenha surgido por um mecanismo que tenha simplesmente aumentado a taxa de atresia do oócito. Seria lógico considerar que as hormonas associadas ao eixo hipotalâmico-pituitário-gonadal iriam fornecer bons genes candidatos à regulação do processo de atresia do oócito. No entanto, as hormonas reprodutivas regulamentares fundamentais, tais como LH, FSH e os seus recetores, não foram associadas a causas frequentes de FOP. [5]

Os estudos existentes relativamente ao gene *INHA* colocam-no como um potencial candidato, com base na forte evidência biológica associada à sua função na regulação da perda folicular. Uma redução dos níveis circulantes de inibina, associada a um declínio na reserva folicular, provoca elevadas concentrações de FSH, aumento do recrutamento folicular e, conseqüentemente, um aumento da taxa de depleção dos folículos. Os padrões hormonais de pacientes com FOP, em comparação com mulheres férteis da mesma idade, também sugerem que a inibina seja causadora do mecanismo da doença. Portanto, segundo *Shelling*, uma mutação no *INHA* conduziria a um aumento da perda folicular, levando a FOP. Os seus estudos revelam que aproximadamente 5% das mulheres com FOP terá uma mutação específica (*INHA G769A*). Isto foi apenas relatado em alguns estudos e parecem haver

algumas diferenças étnicas. Há suporte funcional para a mutação *INHA G769A* desempenhar um efeito significativo sobre a função da inibina, embora seja provável que a mutação não seja a única causa genética, podendo fatores ambientais encontrar-se igualmente envolvidos, e, portanto, a mutação representa mais um fator de suscetibilidade para o desenvolvimento de FOP. [5]

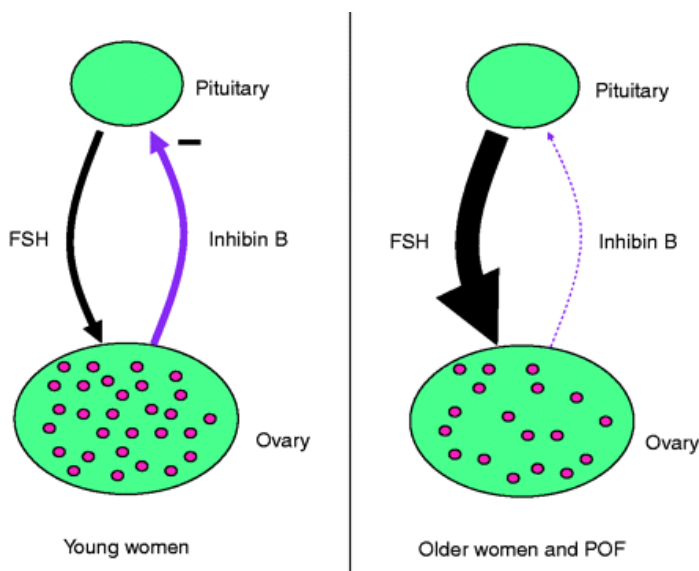


Figura I- Mulheres mais velhas com níveis foliculares reduzidos têm diminuição da produção de inibina B, assim com níveis de FSH aumentados, comparando com mulheres mais jovens. Do mesmo modo, foi colocada a hipótese de que uma mulher com mutação no gene *INHA*, e conseqüentemente inibina B anormal, teria igualmente níveis de FSH aumentados e perda folicular aumentada. (Shelling et al.)

Outros estudos genéticos, que utilizam a abordagem do gene candidato, têm sido realizados e muitas variantes de genes potencialmente causais foram identificadas. Muitas variantes raras de significado desconhecido foram identificadas, como, por exemplo, estudos em que vários grupos teriam variações genéticas em genes como *FOXO3a* (Watkins et al., 2006, Vinci et al., 2007, Gallardo et al. 2008), *BMP15 / GDF9* (Di Pasquale et al., 2004, Chand et al., 2006, Laissue et al., 2006) e *FOXL2* (De Baere et al., 2002, Harris et al., 2002, adega et al., 2004, Gersak et al., 2004). Alguns destes estudos identificaram com sucesso as mesmas variantes entre eles, confirmando assim o seu significado. No entanto, algumas variantes foram também encontradas nos controles: polimorfismos presumivelmente irrelevantes. Noutros casos, alguns estudos identificaram novas variantes raras de significado desconhecido, aparecendo apenas raramente em pacientes com FOP mas não nos controles, o que exigiria a realização de estudos maiores para determinar a sua importância. Muitas variantes genéticas importantes

têm sido associadas a FOP, no entanto parecem ser causas raras e não são suficientes para explicar a maior parte da base genética esperada no distúrbio. ^[5]

Anomalias do cromossoma X

As anomalias do cromossoma X constituem um número significativo de causas genéticas de FOP, aproximadamente 5% dos casos segundo *Shelling* e 12% segundo Chapman. ^{[5]; [7]} Estas, geralmente, envolvem deleções, translocações e alterações numéricas, como a síndrome de Turner. As mulheres com síndrome de Turner (cariótipo 45, XO) têm, inicialmente, uma reserva normal de folículos ovários, que é rapidamente perdida antes da puberdade. Inicialmente pensava-se que estes defeitos no cromossoma X poderiam excluir ou perturbar genes importantes na reprodução, por isso, deveria ser relativamente fácil encontrar os genes defeituosos. Deleções em pacientes com FOP foram localizadas no cromossoma *Xq21.3-Xq27* (FOP1), enquanto translocações equilibradas X autossômicas, foram localizados no *Xq13.3-q21.1* (FOP2). ^{[5];[8]} Estudos têm mostrado que a deleção do braço curto e o braço longo do cromossoma X resulta em amenorreia primária precoce ou secundária. Estas observações sugerem que os genes importantes para a função normal do ovário estão localizados em ambos os braços do cromossoma X. [8] No entanto, ainda nenhum gene foi consistentemente encontrado nestas regiões do cromossoma X para que pudesse ser envolvido na FOP. Verifica-se que talvez algum defeito estrutural que envolva o cromossoma X possa alterar a sua dinâmica, o que interfere com o emparelhamento normal de cromossomas durante a meiose, levando a atresia folicular acelerada. ^[6]

Também foram identificadas translocações de regiões heterocromáticas no cromossoma Y, no derivado do cromossoma X, que afetaram a inativação do cromossoma X. A presença de um cromossoma Y no genoma de uma mulher é um claro sinal de anomalia cromossômica que geralmente provoca a formação de tumores em cariótipos com mosaïcismo. *Pouresmaeili et al* relataram o caso de uma paciente com FOP que tinha uma aneuploidia deste tipo. Um desequilíbrio desconhecido do gene ligado ao X é uma causa de FOP esperada nestas pacientes. ^[8]

O gene FMR1 localiza-se no cromossoma Xq27 e é responsável pelo síndrome X frágil. Se tiver um número de repetições inferior a 45 é considerado normal, enquanto que se for superior a 200 é considerado uma mutação completa e o sexo masculino vai desenvolver síndrome X frágil. Expansões entre 45 a 200 repetições de uma repetição CGG no 5'-UTR do gene correspondem a pré-mutações. As mulheres com a mutação completa ou aquelas que se encontram na faixa normal de repetições terão um risco médio de desenvolver POF, enquanto que aquelas com a pré-mutação têm um risco dez vezes maior de desenvolver esta patologia.

As anomalias cromossômicas do restante cromossoma X parecem não interagir com o gene FMR1 nem terem qualquer contributo para o desenvolvimento de FOP. [6]; [23]

Concluindo, muitos genes estão associados ao desenvolvimento, formação e função do sistema reprodutivo feminino. Polimorfismos desses genes são utilizados para o diagnóstico de FOP em mulheres com cariótipos normais. O que poderia ser útil para o rastreio e diagnóstico precoce de mutações nestes genes seria o estudo da associação de polimorfismos do gene numa grande população de pacientes e um rastreamento aprofundado do genoma incluindo exões, intrões e regiões a montante e a jusante reguladoras, regiões 5'UTR e 3'UTR. Felizmente, é relativamente fácil recolher um grande número de pacientes para testar genes candidatos devido à frequência considerável de FOP entre as mulheres férteis (1%) e a tecnologia utilizada para o rastreio da mutação também está a evoluir rapidamente. É, no entanto, difícil encontrar um único gene candidato para uma doença complexa. [8]

Pequenas variantes genéticas podem interagir com outras variantes (epistasia) e também interagir com fatores ambientais, como dieta, tabagismo, hormonas, a exposição à poluição e outros fatores de estilo de vida. Além disso, mesmo em grandes estudos, a magnitude do efeito de polimorfismos nucleotídicos singulares (SNPs) identificados apenas explicam uma pequena proporção do efeito genético total. [6]

A identificação do papel de alguns genes importantes na etiologia da FOP é um processo laborioso devido ao seu envolvimento em várias funções biológicas. A análise genética através de testes de todo o genoma que utilizam a tecnologia de *microarray* pode identificar genes candidatos em pacientes com FOP. Este tipo de informação é útil para aconselhamento genético e determinação do risco da FOP em familiares de uma paciente em particular. Várias ferramentas analíticas, tais como *genome-wide association study* (GWAS), poderiam ser utilizadas para encontrar variações genéticas associadas à doença. [8]; [6] É útil rastrear as mulheres em risco de FOP em idade precoce para preservar sua fertilidade com as novas tecnologias disponíveis, sabendo que futuramente testes genéticos mais simples e mais baratos estarão disponíveis para o diagnóstico precoce da FOP, possibilitando uma melhoria da vida destas mulheres. [8]

Causas iatrogénicas: Quimioterapia, radioterapia e cirurgia pélvica

A FOP iatrogénica aumentou ao longo do tempo, devido à melhoria e sucesso no tratamento de cancro em crianças, adolescentes e mulheres em idade reprodutiva e ao aumento na prática da ooforectomia bilateral profilática no momento da histerectomia. A radiosensibilidade do oócito é estimada em, aproximadamente, 2 Gray, sendo que, uma dose de radiação ≥ 6 Gray produz insuficiência ovárica em praticamente todos os indivíduos com idades superiores a 40

anos. O efeito da radioterapia é dependente da dose e da idade e do campo da terapia de radiação. A transposição lateral dos ovários, para fora do campo de radiação, em mulheres jovens que requerem irradiação pélvica ajuda a preservar a sua função ovárica. Os mecanismos exatos envolvidos na falência ovárica induzida por quimioterapia (QT) não são conhecidos, no entanto, sabe-se que as funções das células da granulosa e oócitos podem ser afetadas pelos agentes quimioterápicos. Os pacientes na pré-puberdade são relativamente resistentes a este efeito de quimioterapia. A dosagem sérica da hormona antimulleriana, como um marcador bioquímico da reserva ovárica, pode ser útil para avaliar a gonadotoxicidade dos diferentes regimes de quimioterapia. Embora vários investigadores tenham demonstrado que o agonista da GnRH pode inibir a falência ovárica induzida por QT em modelos animais, ainda se trata de algo controverso nos ser humano. Os possíveis mecanismos explicativos seriam uma diminuição do nível de FSH, efeito direto no ovário independentemente do efeito supressor sobre os níveis de gonadotropinas, aumento intragonadal de moléculas anti-apoptóticas, redução da perfusão útero-ovário devido a um hipostrogenismo, e diminuição da exposição dos ovários aos agentes quimioterápicos. A supressão ovárica por agonistas da GnRH é oferecida a todos os pacientes do sexo feminino antes de iniciarem a quimioterapia para doenças malignas. O Comité de Prática da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM) concluiu que apenas a eficiência do *IVF-ET*, e criopreservação de embriões, foram comprovados em mulheres submetidas a quimioterapia. As outras intervenções, incluindo supressão de GnRH análogo, a utilização de estradiol ou glucocorticoides, hiperestimulação ovárica e de oócitos ou criopreservação de tecido do ovário, encontram-se ainda sob investigação pela ASRM (Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva).^[13]

Foram avaliados os efeitos adversos a nível endócrino e reprodutivo em adultos que sobreviveram a uma doença oncológica na infância, sendo que a prevalência cumulativa estimada aos 50 anos foi de 86,5% para disfunção hipofisária e de 31,1% para FOP.^[11]

Mulheres jovens com o diagnóstico de cancro de mama e que realizam tratamento sistémico com diferentes regimes quimioterápicos irão ter um grande número de efeitos adversos, tais como amenorreia, que sendo permanente em muitos dos casos inicia uma menopausa precoce. A FOP que resulta de quimioterapia depende quer da idade da paciente quer do tipo de tratamento a que esta foi submetida.^{[12]; [13]} Em mulheres com menos de 40 anos, um regime de ciclofosfamida, metotrexato e 5-fluorouracilo durante 6 meses está associado a um risco de menopausa precoce de 30-40%; nas mulheres com idades superiores a 40 anos, este risco é superior a 80%, atingindo em alguns casos o valor de 96%. A terapêutica adjuvante com tamoxifeno também foi identificada como fator de risco para menopausa precoce em jovens sobreviventes a cancro da mama.^{[12]; [20]}

Diferentes regimes quimioterápicos podem contribuir de diferentes formas para o desenvolvimento de FOP em mulheres em idade reprodutiva com neoplasia da mama. *J.P. Long et al.* avaliaram como dois regimes de quimioterapia diferentes, CAF (tegafur + pirarubicina + ifosfamida) e DTC (docetaxel + pirarubicina + ifosfamida), afetam o desenvolvimento da FOP, concluindo que ambos poderiam contribuir para a instalação desta patologia, sendo que os efeitos adversos a nível ovárico do regime DTC são mais preocupantes que aqueles causados pelo CAF. ^[10]

As opções terapêuticas atualmente disponíveis para o linfoma de Hodgkin (LH), alteraram o seu prognóstico, mas a longo prazo podem ter vários efeitos secundários, incluindo insuficiência gonadal. Foi demonstrado que a QT alquilosante e a radioterapia pélvica constituem fatores de risco de menopausa precoce após LH. ^[18]

Estudos revelam que mulheres submetidas a ooforectomia unilateral entraram em menopausa mais precocemente (em média aos 49,6 anos) do que as mulheres sem ooforectomia unilateral (em média aos 50,7 anos). ^[17]

Causas infecciosas

A ooforite de Mumps (parotidite) é considerada ser uma causa de FOP. A verdadeira incidência de falência ovárica pós-ovarite é desconhecida. Na grande maioria das mulheres afetadas, há retorno de função ovárica posteriormente à recuperação. Há igualmente descrições de infecções virais e microbianas, como a tuberculose, varicela, Citomegalovírus, Malária e Shigella que conseqüentemente suscitam a POF. ^[13]

Causas ambientais

Vários estudos demonstram que medicação antineoplásica, gases anestésicos, óxido de etileno, mercúrio, monóxido de carbono, solventes orgânicos, fumo de tabaco ambiental (ETS), campo eletromagnético (EMF), stress mecânico, radiação ionizante e trabalho por turnos, especialmente trabalho noturno, constituem importantes fatores de risco no que concerne à problemática menopausa precoce. ^[16] O tabaco constitui a toxina mais estudada com efeitos a nível da função ovárica e, em média, os fumadores do sexo feminino entram em menopausa mais cedo do que os não-fumadores, sugerindo um possível efeito negativo do tabagismo sobre a função ovárica. *Chang et al* relataram um risco aumentado de FOP idiopática com o tabagismo, risco este que também tem sido descrito em mulheres com epilepsia. ^[13]

De fato, o tabagismo constitui um fator de risco modificável que influencia a idade da menopausa, tendo *Hee Jung Yang et al* investigado os efeitos das características associadas ao tabagismo na idade da menopausa em mulheres coreanas, concluindo que fumadoras têm

a menopausa mais precocemente que não-fumadoras e o risco de apresentarem menopausa precoce era superior. ^[14]

Cheryl S. Rosenfeld et al estudaram o efeito de *Endocrine-disrupting chemicals (EDC)*, produtos químicos ou combinações de produtos químicos que interferem com qualquer aspeto da ação hormonal in vivo, nomeadamente, PCB (polychlorinated biphenylse), derivados fenólicos (como poluentes industriais), pesticidas organofosforados, dioxinas (subprodutos da combustão), entre outros, relativamente à idade da menopausa num grupo de mulheres, tendo chegado à conclusão que mulheres que apresentam quantidades elevadas de determinadas substâncias na urina, após terem sido expostas a um dos *EDCs* referidos, têm a menopausa 1,9 a 3,8 anos mais cedo do que aquelas com níveis mais baixos dessas substâncias químicas. ^[15] Sabe-se que existe uma associação entre um baixo nível cumulativo de exposição ao chumbo e uma idade mais precoce da menopausa. ^[21] Dados estatísticos revelam que cerca de metade dos funcionários do Ministério da Saúde são mulheres e muitos deles trabalham em serviços hospitalares, tais como bloco operatório, setor de quimioterapia, serviços de radiologia e radioterapia, entre outros. Fatores de risco ocupacionais incluem características físicas, químicas, biológicas e os riscos ergonómicos, tais como radiações ionizantes, gases anestésicos, agentes quimioterápicos, óxido de etileno, solventes. *Seyedeh Negar Assadi* concluiu que profissionais da área da saúde têm maior risco de sintomas caraterísticos do início da menopausa, sudorese, ansiedade e irritabilidade. ^[16]

Sintomatologia clínica e diagnóstico

Para a maioria das mulheres, não há sinais óbvios ou sintomas que precedam a cessação dos períodos menstruais, sendo que a maioria tem uma história menstrual normal, idade da menarca e fertilidade possivelmente antes do início dos sintomas FOP. Uma apresentação comum corresponde a mulheres que não conseguem menstruar novamente após uma gravidez ou depois de parar de tomar o anticoncepcional oral. Para a maioria das mulheres, representa um diagnóstico inesperado e angustiante, com sintomas desagradáveis, que é agravado pela infertilidade que o caracteriza. O diagnóstico da FOP pode ter um impacto psicológico bastante prejudicial e esta importância a nível emocional desta patologia é muitas vezes subestimada. Um diagnóstico definitivo de FOP é difícil de fazer e os critérios para definir FOP nem sempre corresponde ao padrão habitual esperado. Geralmente, o diagnóstico é feito com base em amenorreia com uma duração de 3-6 meses, pela demonstração das concentrações sanguíneas de FSH superiores a 40 mIU / ml em pelo menos dois momentos diferentes separados por vários meses (para excluir a atividade do ovário intermitente como uma causa de gonadotrofinas elevadas) e os baixos níveis de estradiol, geralmente de 50 pg / ml, em mulheres com folículos ausentes ou não-funcionantes. É necessário excluir outras causas de

amenorreia como, por exemplo, gravidez, síndrome do ovário policístico, hiperprolactinemia e disfunção da tireóide. As mulheres que apresentam insuficiência ovárica de início mais tardio, devem ser rastreadas para a verificação da existência de títulos elevados de anticorpos anti-suprarrenais e anti-tiroideus, para excluir falha adrenal ou autoimune da tireóide, que podem ocorrer um ano após a FOP. É também relevante a realização de um raio-X da glândula pituitária para afastar a existência de possíveis tumores da mesma. Nas análises sanguíneas importa verificar a glicemia e o cálcio sérico e ainda pedir a realização de uma densitometria óssea. Muitas mulheres com FOP encontram-se bastante angustiadas com a quantidade de tempo necessária para a confirmação de um diagnóstico, podendo demorar em alguns casos 5 anos a ser estabelecido o diagnóstico.^{[1]; [6]}

A redução do número de folículos antrais em pacientes com FOP pode ser confirmada por ultra-sonografia pélvica. Um novo método de diagnóstico consiste na medição da hormona antimulleriana (AMH) produzida pelos folículos antrais, que se encontra diminuída em pacientes com FOP. A medição de auto-anticorpos anti-supra-renais, anti-ováricos e anti-tiroideus podem ser úteis no diagnóstico da deficiência do sistema imunitário levando a FOP. Após a confirmação do diagnóstico da POF, cariotipagem e análise da permutação FMR1 devem ser feitos para excluir as principais causas genéticas.^[9]

A duração dos sintomas vasomotores, tais como afrontamentos, suores noturnos, palpitações, cefaleias, ganho ponderal, secreta vaginal, dispareunia, urgência e incontinência de esforço, é importante para que as mulheres possam tomar decisões acerca do tratamento que será instituído. Geralmente duram mais de 7 anos, durante a transição da menopausa, em mais de metade das mulheres e persistem durante 4,5 anos após o último período menstrual. Características individuais (por exemplo, sentimentos negativos na pré-menopausa) da mulher estão relacionados com sintomas vasomotores mais duradouros.^[18] Outros sintomas frequentes incluem cefaleias, depressão, ansiedade, irritabilidade, atrofia cutânea, artralguas, pseudociese, dificuldade de concentração e alterações no padrão normal de sono.^[1]

Consequências

As consequências a nível da saúde da mulher devidas a menopausa precoce podem ser divididas em consequências a curto prazo, que incluem sintomas vasomotores e problemas psicológicos, incluindo irritabilidade, esquecimento, insónia e falta de concentração; consequências a longo prazo incluem infertilidade, osteoporose e um aumento do risco de morte prematura, doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral.^{[1]; [21]; [24]}

A salpingo-ooforectomia bilateral (BSO), realizada antes da idade natural da menopausa está associada a algumas destas consequências, incluindo o aumento da mortalidade geral, doença cardíaca coronária (CHD), demência, parkinsonismo, osteoporose, distúrbios de humor, e

disfunção sexual, entre outras. No entanto, uma percentagem significativa de mulheres continuam a ser sujeitas a BSO eletiva aquando da histerectomia devido a doenças benignas (23% das mulheres 40-44 anos e 45% das mulheres 45-49 anos).^[25]

Consequências neurológicas

A ooforectomia realizada antes da menopausa aumenta o risco para o dobro de desenvolver alterações cognitivas ou demência e aumento da neuropatologia (placas neuríticas), associada a doença de Alzheimer, para idades mais precoces de ooforectomia. Foi reconhecido um efeito atenuante da terapêutica estrogénica sobre o declínio da cognição global associada a ooforectomia precoce em mulheres que foram tratadas no prazo de 5 anos após a menopausa com uma duração de pelo menos 10 anos. A terapêutica estrogénica pode, de fato, ter efeitos neuroprotetores quando realizada próximo da transição da menopausa, enquanto que, quando realizada em mulheres mais velhas pode ter efeitos prejudiciais e pode aumentar o risco de disfunção cognitiva ou demência. Contudo, estabelecer uma relação causal entre privação de estrogénios devido ao início de ooforectomia e disfunção cognitiva ou demência é difícil e os efeitos podem ser modificados por fatores genéticos, bem como por fatores não genéticos, como o álcool ou o uso de tabaco, obesidade ou diabetes. Um risco aumentado de parkinsonismo encontra-se associado a ooforectomia uni ou bilateral antes da idade natural da menopausa e a terapêutica com estrogénio não atenua esta associação.^{[25]; [26]; [27]} O risco de glaucoma encontra-se aumentado em mulheres submetidas a ooforectomia antes dos 43 anos de idade e o risco não parece ser reduzida pelo uso de terapêutica estrogénica. A perda estrogénica acelera o envelhecimento precoce do nervo ótico e aumenta suscetibilidade a alterações glaucomatosas. Além disso, o risco de degeneração macular também se encontra aumentado nestas mulheres.^[25]

Consequências a nível do humor

É descrito um risco aumentado de depressão, ansiedade, somatização, sensibilidade, agressividade e sofrimento psicológico para mulheres em MP, nomeadamente para aquelas sujeitas a ooforectomia bilateral, mas os dados específicos relativos à idade são limitados. O aumento do risco foi maior para a mulheres e este não foi atenuado pela terapêutica estrogénica.^{[1] [25]} Embora as mulheres afetadas por MP possam ou não sofrer stress emocional grave, muitas vezes necessitam de orientação e apoio emocional.^{[25]; [31]} Sabe-se também que mulheres com níveis elevados de ansiedade na pré-menopausa não estão em risco aumentado de níveis ainda mais elevados em fases específicas da transição menopáusica, enquanto que mulheres com baixos níveis de ansiedade na pré-menopausa poderão ser mais suscetíveis a alta ansiedade durante e após a transição menopáusica do que antes desta transição.^[32]

Consequências a nível da densidade óssea

Devido a alterações hormonais que ocorrem durante a menopausa e que afetam a densidade mineral óssea, as mulheres pertencem a um grupo de risco aumentado de osteoporose, sendo necessárias intervenções a nível da prevenção primária, secundária e terciária, em que o papel crucial é desempenhado pela educação para a saúde e educação nutricional. Relativamente à educação nutricional, é necessário familiarizar as pacientes com recomendações nutricionais (que inclui suplementação adequada de cálcio e vitamina D, para além de todos os outros componentes relacionados com a nutrição), que constituem o elemento básico da prevenção da osteoporose, o que irá melhorar o seu metabolismo ósseo. A prevenção primária orientada para um grupo de risco específico para o desenvolvimento de osteoporose, incluindo mulheres peri ou pós-menopáusicas, deve ser proporcionado em cooperação com profissionais médicos dos diferentes níveis e deve focar-se em ocasionar mudanças positivas nas pacientes, tanto no que diz respeito a hábitos alimentares como atividades físicas. ^[28] A prevenção de quedas, para evitar fraturas, deve também constituir uma rotina no atendimento de mulheres na pós-menopausa, pois aproximadamente um terço das mulheres com idade acima dos 60 anos cai pelo menos uma vez ao ano, sendo o tabagismo o único indicador clínico de risco para queda, devendo, portanto, aconselhar-se a cessação tabágica a estas mulheres. ^[33] Existe uma relação direta entre a deficiência de estrogénio, menopausa e aumento da incidência de fraturas em mulheres. ^{[1]; [36]} Este risco é ainda maior em mulheres que habitam em áreas empobrecidas. ^[35] A perda de densidade óssea que ocorre na menopausa é descrita durante um período de 5-7 anos, com início cerca de 2-3 anos antes da menopausa, atingindo o pico nos primeiros três anos após a mesma. Em mulheres com MP induzida, ou seja, naquelas sujeitas a salpingo-ooforectomia bilateral, esta perda é duas vezes superior àquelas com menopausas natural. ^[25]

Consequências cardiovasculares

A menopausa precoce está associada a um risco aumentado de doença cardiovascular (DCV) e morte, sendo os estrogénios protetores contra DCV. As mulheres com menopausa natural ou induzida cirurgicamente antes dos 40 anos de idade têm o dobro do risco de angina e maior gravidade de angina um ano pós-enfarte agudo do miocárdio (EAM) em comparação a mulheres com menopausa aos 50 anos ou mais. Além disso, as mulheres jovens com FOP têm um prejuízo significativo da função endotelial vascular, com restauração da mesma após seis meses do início da terapêutica hormonal. Também existe uma associação entre a menopausa precoce e risco de insuficiência cardíaca de 66% nas mulheres com menopausa em idades inferiores a 45 anos de idade. Ainda não é claro se a deficiência estrogénica desempenha um papel na etiologia da insuficiência cardíaca em mulheres ou se outros fatores de risco cardiovascular possam contribuir para menopausa precoce, bem como para o risco de doença

cardiovascular. A salpingo-ooforectomia antes da idade natural da menopausa está associada a mortalidade precoce, devido principalmente a um aumento do risco de doença das artérias coronárias. O risco diminui progressivamente com o aumento da idade da realização da ooforectomia. O risco de acidente vascular cerebral (AVC) em mulheres com menopausa precoce ainda permanece um tema controverso, mas vários estudos demonstraram que a menopausa precoce está associada a um risco aumentado de acidente vascular cerebral, nomeadamente o AVC isquémico. Embora a terapêutica estrogénica represente um risco aumentado de AVC em mulheres mais velhas, parece ter um papel protetor em mulheres com idades inferiores a 50 anos. A menopausa precoce está associada a um risco aumentado de eventos cardiovasculares e mortalidade, em que a salpingo-ooforectomia bilateral a desempenhar um fator de risco agravado relativamente à menopausa precoce natural. A terapêutica hormonal parece reduzir o risco cardiovascular na menopausa precoce natural e induzida cirurgicamente. ^{[25]; [40]; [41]}

Conclusão

O diagnóstico de FOP pode ser algo inesperado e perturbador e uma situação com a qual muitas mulheres não sabem lidar, manifestando sentimentos de tristeza, depressão e ansiedade, que são frequentemente subestimados. Esta situação agrava-se ainda mais quando o casal ainda não teve filhos e tinha intenção de o fazer.

A menopausa precoce é uma patologia de carácter heterogéneo de origem multifatorial, relativamente comum na sociedade atual, afetando 1% das mulheres com idade inferior a 40 anos e pode ser causada por mutações num ou mais genes, doenças autoimunes, tratamentos quimioterápicos ou radioterápicos, intervenções cirúrgicas, infeções e pode ainda não ser identificado o fator causal numa grande maioria dos casos (idiopática). As mulheres com MP têm um risco aumentado de morte prematura, osteoporose, doença cardíaca isquémica, angina e infertilidade.

É importante realçar a importância desta patologia, principalmente em mulheres jovens, dado que é uma situação que quando detetada precocemente pode evitar muitas das consequências da mesma, ou pelo menos atenuar, sendo o grande objetivo atuar sobre fatores de risco que estão na sua origem e intervir junta da população feminina para que esta se encontre o mais informada possível relativamente a esta temática.

Na bibliografia pesquisada é possível encontrar consensos no que se refere à etiologia e fatores de risco para o desenvolvimento de MP, assim como na necessidade de intervenção precoce. Porém, apesar de toda a evolução na literatura, focando nas causas genéticas etiológicas, verifica-se ainda a inexistência de capacidade para identificar todas as mutações relevantes no genoma humano, o que seria, obviamente, um passo importante na identificação de toda a variação genética que determinaria a MP. A capacidade de completar a sequência de DNA de um paciente com MP identificando todos os potenciais causadores e variantes genéticas associadas, torna a eventual análise completa do genoma do indivíduo um objetivo importante. Até à data, poucos projetos de sequenciamento genómico têm sido realizados, mas é algo que se vai tornar cada vez mais comum ao longo dos próximos anos.

Referências bibliográficas

1. TC Okeke, UB Anyaehie, CC Ezenyeaku (2013). Premature menopause. *Ann Med Health Sci Res*; 3(1): 90–95.
2. Yarde F, Broekmans FJ, van der Pal-de Bruin KM, Schönbeck Y, te Velde ER, Stein AD, Lumey LH (2013). Prenatal famine, birthweight, reproductive performance and age at menopause: the Dutch hunger winter families study. *Hum Reprod*; 28(12): 3328–3336.
3. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F (2015). The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med*; 13(8):461-72.
4. Vrinda Khole (2010). Does ovarian autoimmunity play a role in the pathophysiology of premature ovarian insufficiency? *J Midlife Health*; 1(1): 9–13.
5. Shelling AN (2010). Premature ovarian failure. *Reproduction*.; 140(5):633-4.
6. Sievert LL¹, Murphy L, Morrison LA, Reza AM, Brown DE (2013). Age at menopause and determinants of hysterectomy and menopause in a multi-ethnic community: the Hilo Women's Health Study. *Maturitas*; 76(4):334-41
7. Chapman C, Cree L, Shelling AN (2015). The genetics of premature ovarian failure: current perspectives. *Int J Womens Health*; 7:799-810.
8. Farkhondeh Pouresmaeili, Ph.D, Zahra Fazeli, M.Sc (2014). Premature Ovarian Failure: A Critical Condition in The Reproductive Potential with Various Genetic Causes. *Int J Fertil Steril*; 8(1): 1–12.
9. Murray A, Schoemaker MJ, Bennett CE, Ennis S, Macpherson JN, Jones M, Morris DH, Orr N, Ashworth A, Jacobs PA, Swerdlow AJ (2014). Population-based estimates of the prevalence of FMR1 expansion mutations in women with early menopause and primary ovarian insufficiency. *Genet Med*.; 16(1):19-24.
10. Long JP, Wan F, Zhang F, Zhou J, Don LF (2016). DTC chemotherapy regimen is associated with higher incidence of premature ovarian failure in women of reproductive age with breast cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.; 20(6):1087-92.
11. Hudson MM¹, Ness KK, Gurney JG, Mulrooney DA, Chemaitilly W, Krull KR, Green DM, Armstrong GT, Nottage KA, Jones KE, Sklar CA, Srivastava DK, Robison LL (2013). Clinical ascertainment of health outcomes among adults treated for childhood cancer. *JAMA*.; 309(22):2371-81.
12. Shoshana M. Rosenberg, Ann H. Partridge (2013). Premature menopause in young breast cancer: effects on quality of life and treatment interventions. *J Thorac Dis*; 5(Suppl 1): S55–S61.

13. Mahbod Ebrahimi, M.D, Firoozeh Akbari Asbagh, M.D (2011). Pathogenesis and Causes of Premature Ovarian Failure: An Update. *Int J Fertil Steril*; 5(2): 54–65.
14. Yang HJ , Suh PS , Kim SJ , Lee SY Effects of Smoking on Menopausal Age: Results From the Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2007 to 2012. *Journal of Preventive Medicine and Public Health = Yebang Uihakhoe chi* [2015, 48(4):216-224].
15. Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, Kannan K, Roehl KA, Cooper AR (2015). Persistent organic pollutants and early menopause in U.S. women. *PLoS One*;10(1):e0116057.
16. Seyedeh Negar Assadi(2014). Risk of early menopausal symptoms in clinical workers. *Iran J Nurs Midwifery Res*; 19(6): 569–573.
17. Bjelland EK, Wilkosz P, Tanbo TG, Eskild A (2014). Is unilateral oophorectomy associated with age at menopause? A population study (the HUNT2 Survey). *Hum Reprod*;29(4):835-41.
18. Swerdlow AJ, Cooke R, Bates A, Cunningham D, Falk SJ, Gilson D, Hancock BW, Harris SJ, Horwich A, Hoskin PJ, Linch DC, Lister A, Lucraft HH, Radford J, Stevens AM, Syndikus I, Williams MV; England and Wales Hodgkin Lymphoma Follow-up Group (2014). Risk of premature menopause after treatment for Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst.*;106(9). pii: dju207.
19. Avis NE, Crawford SL, Greendale G, Bromberger JT, Everson-Rose SA, Gold EB, Hess R, Joffe H, Kravitz HM, Tepper PG, Thurston RC (2015). Study of Women's Health Across the Nation. Duration of menopausal vasomotor symptoms over the menopause transition. *JAMA Intern Med*;175(4):531-9.
20. Philip Savage, Rosie Cooke, Jenny O'Nions, Jon Krell, Amy Kwan, Michelle Camarata, Gairin Dancy, Dee Short, Michael J. Seckl, Anthony Swerdlow (2014). Tumors on Risks of Second Malignancy and Early Menopause. *Journal of clinical oncology*.
21. Eum KD, Weisskopf MG, Nie LH, Hu H, Korrick SA (2014). Cumulative lead exposure and age at menopause in the Nurses' Health Study cohort. *Environ Health Perspect*;122(3):229-34.
22. Theodora Koromila, Panagiotis Georgoulas, Zoe Dailiana, Evangelia E Ntzani, Stavroula Samara, Chris Chassanidis, Vassiliki Aleporou-Marinou, Panagoula Kollia (2013). *CER1* gene variations associated with bone mineral density, bone markers, and early menopause in postmenopausal women. *Hum Genomics*; 7(1): 21.
23. Murray A, Schoemaker MJ, Bennett CE, Ennis S, Macpherson JN, Jones M, Morris DH, Orr N, Ashworth A, Jacobs PA, Swerdlow AJ (2014). Population-based estimates of the prevalence of FMR1 expansion mutations in women with early menopause and primary ovarian insufficiency. *Genet Med*;16(1):19-24.

24. Maziar Rahmani, Madalene A. Earp, Fahimeh Ramezani Tehrani, Mehran Ataee, Jackson Wu, Martin Trembl, Ramona Nudischer, Sara P-Behnam, ReproGen Consortium, John R.B. Perry, Joanne M. Murabito¹⁰, Fereidoun Azizi², Angela Brooks-Wilson (2013). Shared genetic factors for age at natural menopause in Iranian and European women. *Hum. Reprod.* 28 (7): 1987-1994.
25. Faubion SS, Kuhle CL, Shuster LT, Rocca WA (2015). Long-term health consequences of premature or early menopause and considerations for management. *Climacteric*;18(4):483-91.
26. Ryan J¹, Scali J, Carrière I, Amieva H, Rouaud O, Berr C, Ritchie K, Ancelin ML (2014). Impact of a premature menopause on cognitive function in later life. *BJOG*;121(13):1729-39
27. Scott EL, Zhang QG, Vadlamudi RK, Brann DW (2014). Premature menopause and risk of neurological disease: basic mechanisms and clinical implications. *Mol Cell Endocrinol*;389(1-2):2-6
28. Woźniak-Holecka J, Sobczyk K (2014). Nutritional education in the primary prevention of osteoporosis in perimenopausal and postmenopausal women. *Prz Menopauzalny*;13(1):56-63.
29. Jyoti Thulkar and Shalini Singh (2015). Overview of research studies on osteoporosis in menopausal women since the last decade. *J Midlife Health*; 6(3): 104–107.
30. Grzegorz Stachowiak, Tomasz Pertyński, Magdalena Pertyńska-Marczewska (2015). Metabolic disorders in menopause. *Prz Menopauzalny*; 14(1): 59–64.
31. Wendy K. Marsh, Bernice Gershenson, Anthony J. Rothschild (2015). Symptom severity of bipolar disorder during the menopausal transition. *Int J Bipolar Disord*; 3: 17.
32. Bromberger JT, Kravitz HM, Chang Y, Randolph JF Jr, Avis NE, Gold EB, Matthews KA (2013). Does risk for anxiety increase during the menopausal transition? Study of women's health across the nation. *Menopause*;20(5):488-95
33. Nahas EA, Omodei MS, Cangussu LM, Nahas-Neto J (2013). Evaluation of risk factors of falls in early postmenopausal women. *Rev Bras Ginecol Obstet*;35(11):490-6.
34. Canonico M, Plu-Bureau G, O'Sullivan MJ, Stefanick ML, Cochrane B, Scarabin PY, Manson JE (2014). Age at menopause, reproductive history, and venous thromboembolism risk among postmenopausal women: the Women's Health Initiative Hormone Therapy clinical trials. *Menopause*;21(3):214-20.
35. Londono J, Valencia P, Santos AM, Gutiérrez LF, Baquero R, Valle-Oñate R (2013). Risk factors and prevalence of osteoporosis in premenopausal women from poor economic backgrounds in Colombia. *Int J Womens Health*;5:425-30
36. Török-Oance R (2013). A Study of Risk Factors and T- Score Variability in Romanian Women with Postmenopausal Osteoporosis. *Iran J Public Health*;42(12):1387-97.

37. Pfeifer EC, Crowson CS, Amin S, Gabriel SE, Matteson EL (2014).The influence of early menopause on cardiovascular risk in women with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*;41(7):1270-5.
38. Udo T, McKee SA, White MA, Masheb RM, Barnes RD, Grilo CM (2014). Menopause and metabolic syndrome in obese individuals with binge eating disorder. *Eat Behav*;15(2):182-5.
39. Sapre S, Thakur R (2014). Lifestyle and dietary factors determine age at natural menopause. *J Midlife Health*;5(1):3-5.
40. Prentice RL (2014). Postmenopausal hormone therapy and the risks of coronary heart disease, breast cancer, and stroke. *Semin Reprod Med*;32(6):419-25.
41. Ebong IA, Watson KE, Goff DC Jr, Bluemke DA, Srikanthan P, Horwich T, Bertoni AG (2014).Age at menopause and incident heart failure: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Menopause*;21(6):585-91