

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia

(PPG-FARMATEC)

**Inovações Metodológicas para Estimar
Densidade da mama em Distintas Composições
Mamárias**

Orientadora: Prof^ª. Associada Diana Rodrigues de Pina Miranda

Coorientador: Dr. Allan Felipe Fattori Alves

Discente: Alexandre Locci Nogueira dos Santos

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia (PPG-FARMATEC).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Inovações Metodológicas para Estimar a Densidade da Mama
em Distintas Composições Mamárias.**

ORIENTADORA: PROF^a ASSOCIADA DIANA RODRIGUES DE PINA MIRANDA

COORIENTADOR: PROF^o DR. ALLAN FELIPE FATTORI ALVES

DISCENTE: ALEXANDRE LOCCI NOGUEIRA DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia (PPG-FARMATEC).

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santos, Alexandre Locci Nogueira dos.

Inovações metodológicas para estimar densidade da mama em distintas composições mamárias / Alexandre Locci Nogueira dos Santos. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Diana Rodrigues de Pina

Coorientador: Allan Felipe Fattori Alves

Capes: 20903006

1. Densidade da mama. 2. Radiologia. 3. Ressonância magnética. 4. Mamografia.

Palavras-chave: Densidade da mama; Mamografia; Radiologia computadorizada; Radiologia digital; Ressonância magnética.

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo.

Aos meus pais Marcus Vinicius Nogueira dos Santos e Rita de Cássia Locci Nogueira dos Santos, por estarem presente sempre que eu precisava, por todos os momentos em que pude contar com eles, sempre me aconselhando da melhor forma. Certamente foram fundamentais em todas as etapas da minha vida.

A Prof^a Associada Diana Rodrigues de Pina, pela orientação, pelas oportunidades que abriu na minha vida, pelo auxílio no desenvolvimento do estudo que resultou nesta dissertação, por todos os seus valiosos conselhos e pela nossa amizade. Foram inúmeros conselhos, puxadas de orelha, mas sempre visando o meu crescimento. Agradeço demais a oportunidade que tive em fazer parte de um grupo de estudos tão completo como esse.

Ao meu coorientador Dr. Allan Felipe Fattori Alves, que sem dúvidas foi uma peça fundamental nesses dois anos, sempre me aconselhando e tirando dúvidas sempre que precisei. Agradeço a paciência e a resiliência nesse processo.

Ao Professor Titular José Ricardo de Arruda Miranda, por sempre estar aberto a tirar nossas dúvidas, por ceder o laboratório onde consegui desempenhar meu projeto de pesquisa. Conviver com o pessoal do Biomagnetismo, certamente ampliou meus conhecimentos e serviu de grande valia nesse processo de mestrado.

A todos os integrantes que pertencem ou pertenceram ao Grupo do Laboratório de Física Aplicada ao Radiodiagnóstico (LAFAR).

Ao Abner Alves, Raissa Guassu, Letícia Cotinguiba, Sergio Augusto, Gustavo Serafim, André Próspero, pelas brincadeiras, conversas e convívio no decorrer desses dois anos. Agradeço a presença de todos nesse processo.

Aos todos os professores do Departamento de Física e Biofísica, pelos valiosos ensinamentos.

Aos professores e servidores do setor de Diagnóstico por imagem do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB-UNESP). Em especial ao Dr. André Petean Trindade e Dr. Eduardo Pessoa, que foram responsáveis por ceder o banco de dados e auxiliar nas quantificações deste estudo.

Ao corpo técnico do setor de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

Aos meus amigos Thiago Sinigoi, Ana Luiza Mazini e Flávia Sinigoi, que foram amizades que Botucatu me proporcionou, que certamente levarei para a vida toda. Agradeço por todos os momentos que estivemos juntos, nesse período foi bastante significativo a presença de vocês.

A todas as pessoas que não foram citadas, mas de alguma forma ajudaram a desenvolver esta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), com número de financiamento: 88887.496450/2020-00 e 88887.657637/2021-00

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	8
INTRODUÇÃO, JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TEMA	10
SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA	18
OBJETIVO	50
CONCLUSÃO.....	51
ARTIGO SUBMETIDO	53
ABSTRACT	55
INTRODUCTION	56
METHODOLOGY	61
DATABASE.....	61
VALIDATION	62
DIAGNOSTIC IMAGING EQUIPMENTS	63
QUANTIFICATION OF BREAST DENSITY IN MAMMOGRAMS.....	63
ANALYSIS OF LIPOSUBSTITUTION OF BREAST TISSUE	68
STATISTICAL ANALYSIS	72
RESULTS	73
DISCUSSION	75
CONCLUSIONS.....	80
FUNDING	81
REFERENCES.....	81

ESTA DISSERTAÇÃO SERÁ APRESENTADA EM FORMA DE ARTIGO

RESUMO

A mama é uma glândula sudorípara modificada, e apresenta em sua composição elementos como, gordura, glândulas, componentes fibrosos e uma rede vascular. A densidade mamária, considerada um biomarcador do câncer, está diretamente relacionada com o risco aumentado de desenvolver câncer de mama. A mamografia continua a ser a mais importante técnica de imagem para as mamas. Trata-se do método de escolha para o rastreamento populacional do câncer de mama em mulheres assintomáticas. Sendo a primeira técnica de imagem indicada para avaliar a maioria das alterações clínicas mamárias, podendo levar ao diagnóstico precoce do câncer de mama. Entretanto uma atenção especial deve ser dada à um órgão tão radio sensível como a mama. Devemos considerar possíveis efeitos biológicos devidos à radiação em pacientes que realizam um exame mamográfico bienalmente (a partir dos 50 anos) até a expectativa de vida da mulher (em torno de 79 anos). Rotineiramente a composição mamária é realizada de maneira subjetiva por especialistas da área de radiologia, onde este apresenta um score de 25% entre distintas mamas. Esta pesquisa teve como objetivo o desenvolvimento de uma ferramenta computacional para estimar com precisão o percentual da densidade mamária, em exames de mamografia (CR e FFDM) e avaliar a lipossustituição dos tecidos da mama ao longo dos anos de vida da paciente. Foi utilizado um algoritmo, previamente desenvolvido pelo grupo de pesquisa, o qual segmenta a área do tecido fibroglandular da imagem mamográfica. As imagens obtidas foram classificadas conforme a área de tecido fibroglandular e comparados com a avaliação do BI-RADS. Uma correspondência da lipossustituição mamária deve ser

obtido, utilizando um banco de dados de 5000 exames do HCFMB-UNESP. Os resultados que foram obtidos nessa pesquisa podem auxiliar diretamente na prática clínica, determinando a correta quantidade de cada tecido mamário, e consequentemente a correta porcentagem de densidade mamária, podendo ajudar a selecionar precocemente indivíduos que apresentam elevado risco de desenvolvimento de câncer e assim iniciar intervenções de forma preventiva. As análises estatísticas de regressão linear entre a quantificação da densidade mamária na mamografia e a quantificação da densidade mamária na ressonância magnética apresentaram coeficiente de correlação $R^2 = 0,8491$. A diferença percentual média entre os dois métodos foi de $3,73\% \pm 5,66\%$. Os coeficientes de correlação de Pearson adquiridos foram de 0,9214. Esses resultados mostraram uma forte associação entre o percentual de densidade mamária obtido pela metodologia da mamografia e os resultados obtidos pela análise direta de ressonância magnética. A metodologia desenvolvida para mensurar a densidade mamária apresentou boa correlação com a verdade fundamental. Podendo ser utilizada em sistemas de mamografia CR e FFDM utilizando imagens processadas, auxiliando assim o médico radiologista no diagnóstico. Em paralelo, analisamos a lipossustituição dos tecidos constituintes da mama ao longo dos anos de rastreamento do câncer de mama. Portanto, como nosso banco de dados é composto por mulheres assintomáticas, pudemos analisar esse comportamento de lipossustituição tecidual ao longo dos anos de vida da mulher.

INTRODUÇÃO, JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TEMA

O câncer de mama, é uma doença formada devido a proliferação desordenada de células anormais da mama (1). Essas células ao se multiplicarem, formam tumores com potencial de invadir outros órgãos(1). Existem vários tipos de câncer de mama, como: carcinoma ductal in situ, câncer de mama invasivo, câncer de mama triplo negativo, câncer de mama inflamatório, doença de Paget, angiossarcoma e tumor de Filoide. Alguns se desenvolvem mais rapidamente e outros mais lentamente. Porém a maioria tem um bom prognóstico, se tratados antecipadamente. Esse tipo de câncer, também atinge a população masculina, porém é mais raro, atingindo apenas 1% de todos os casos da doença(2). No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) oferece o tratamento para o câncer de mama, em hospitais especializados(3).

Atualmente para o ano de 2021, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima-se 66.280 novos casos por ano, para o triênio 2020 – 2022. Desse número estimado, 18.295 vindo a óbitos (sendo 18.068 mulheres e 227 homens).

No âmbito mundial, a American Câncer Society estima 268.600 mulheres que serão diagnosticadas com câncer de mama invasivo (4).

De acordo com o INCA (Instituto Nacional de Câncer) o desenvolvimento do câncer de mama ocorre não apenas por um fator, mas sim por um conjunto de fatores. Essas condições são separadas em fatores ambientais e comportamentais, que são: obesidade, inatividade física, consumo exacerbado de bebida alcoólica, exposição frequente a radiação ionizante para tratamento (radioterapia) ou exames diagnósticos (tomografia, raios-X, mamografia) e tabagismo. Há também a condição de fatores da história reprodutiva e hormonal que são: primeira menstruação antes dos 12 anos, não ter filhos, a primeira gravidez após os 35 anos, menopausa após os 55 anos, uso de contraceptivos por longos períodos de tempos (estrógeno e progesterona) e ter feito

reposição hormonal pós-menopausa por mais de 5 anos. E por fim, condições familiares, ou seja, fatores hereditários e genéticos, são eles: histórico familiar de câncer de mama ou câncer de ovário, casos de câncer de mama antes dos 50 anos, histórico de câncer de mama em homens da família e alteração genética dos genes BRCA1 e BRCA2.

Os genes BRCA1 e BRCA2 são genes/proteínas supressores de tumor. A principal ação é reparar o DNA danificado, portanto desempenham um papel que garante a estabilidade do material genético. Quando esses genes sofrem alguma alteração, a reparação do DNA não ocorre de maneira adequada, portanto perde a capacidade de reparação. Assim as células tem maior probabilidade de desenvolver alterações genéticas que podem levar ao desenvolvimento do câncer de mama ou câncer de ovário em idades mais jovens(5).

De acordo com o INCA como maneira de prevenção, podemos contar com certas práticas que podem causar até 30% de redução das chances de desenvolvimento do câncer de mama, com as seguintes práticas: Atividades físicas; manter o peso corporal adequado; evitar o consumo de bebidas alcoólicas; amamentar o bebê o máximo de tempo possível; evitar o tabagismo.

Contudo nenhum desses fatores retiram a necessidade de sempre realizar o autoexame e iniciar o rastreamento do câncer de mama na idade adequada(6). Para o rastreamento o exame mais indicado é a mamografia, devido à alta resolução espacial, ou seja, a alta capacidade de detectar pequenas estruturas e diferenciar estruturas próximas(7, 8). O exame de mamografia é capaz de identificar alterações antes mesmo do surgimento de sintomas(9). De acordo com o ministério da saúde, é recomendado para mulheres assintomáticas que iniciem a mamografia de rastreamento a partir dos 50 anos, até os 69 anos. Sendo realizado bienalmente quando classificadas entre BI-RADS

1 ou 2, ou seja, normal ou achado benigno respectivamente. Dentro dessas duas classificações o risco de câncer é de 0% e a recomendação é exame de rotina normal. A classificação BI-RADS completa está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Categoria do Bi-RADS, recomendações e risco de câncer.

Categoria	Impressão Diagnóstica	Recomendação	Risco de Câncer
0	Exame inconclusivo	Complementar o estudo	Exame incompleto
1	Normal	Exame de rotina	0
2	Achado benigno	Exame de rotina	0
3	Achado provavelmente benigno	Realizar controle precoce (em 6, 12, 24 e 36 meses)	≤ 2
4	Achado suspeito	Prosseguir investigação: realizar biopsia	3 – 94%
4A	Suspeita leve	Prosseguir investigação: realizar biopsia	3% a 10%
4B	Suspeita moderada	Prosseguir investigação: realizar biopsia	11% a 50%
4C	Suspeita forte	Prosseguir investigação: realizar biopsia	51% a 94%
5	Achado altamente suspeito	Prosseguir investigação: realizar biopsia	≥ 95%
6	Achado investigado previamente e com resultado positivo (câncer)	Tratamento adequado	100%

Fonte: American College of Radiology; Colégio Brasileiro de Radiologia, 20168.

Na estatística mundial, há o aumento do número de casos de câncer mamário, todavia, os países altamente desenvolvidos mostram um declínio das taxas de

mortalidade pelo câncer de mama, reflexo direto da combinação de melhoria na detecção precoce, por meio de rastreamento populacional, e intervenções terapêuticas mais eficazes. (3)

O CBR (Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem), recomenda que, a realização de exames de mamografia seja anual visando o melhor rastreamento do câncer de mama, esses exames devem ser realizados em mulheres cuja as faixas etárias sejam de 40-74 anos. Essas recomendações são seguidas mundialmente, priorizando o uso da técnica digital, quando possível e realizada bienalmente (a cada 2 anos) em mulheres abaixo dos 50 anos. (4)

Muitos fatores estão associados ao desenvolvimento do câncer de mama como citados acima, pois tais fatores influenciam diretamente na lipossustituição tardia dos tecidos constituintes da mama(10). Logo, há diversos estudos que constatarem a densidade mamária como sendo um preditor para o desenvolvimento de um câncer de 4 a 6 vezes mais, ou sendo responsável pelo mascaramento do tumor(8, 9). O mascaramento do tumor está relacionado a radiopacidade dos tecidos. O tecido fibroglandular quando analisado na imagem de mamografia tem uma intensidade de pixel muito próxima da intensidade de pixel de uma microcalcificação, portanto isso dificulta o diagnóstico médico visual. A Figura 1 é um gráfico de coeficiente de atenuação linear por energia(7, 8).

Nesta figura, podemos analisar que a atenuação do tecido fibroglandular é diferente da atenuação do tecido adiposo, o que facilita a diferenciação desses tecidos visualmente. Contudo, quando analisamos o tecido fibroglandular com por exemplo um carcinoma ductal infiltrativo, vemos que a atenuação desses dois tecidos é bem próxima, o que dificulta a distinção visualmente. Dificultando assim o diagnóstico médico.

Atualmente o diagnóstico é realizado por profissionais da área de radiologia, onde estes classificam a densidade da mama em um score de 25%(7). A densidade mamária (DM), é a correlação entre à quantidade de tecido fibroglandular (estroma e epitélio) que constitui a mama, o qual é radiopaco em um exame mamográfico, e áreas que representam tecido adiposo(11). Uma alta DM, representa uma mama, cuja sua área total é constituída por uma porcentagem de tecido fibrograndular maior que a porcentagem de tecido adiposo, assim sendo denominada uma mama densa, dessa forma a divisão é: até 25% constitui uma mama adiposa, de 25-50% mama com áreas densas esparsadas, de 50-75% mama heterogeneamente densa e acima de 75% mama extremamente densa (5–7).

8

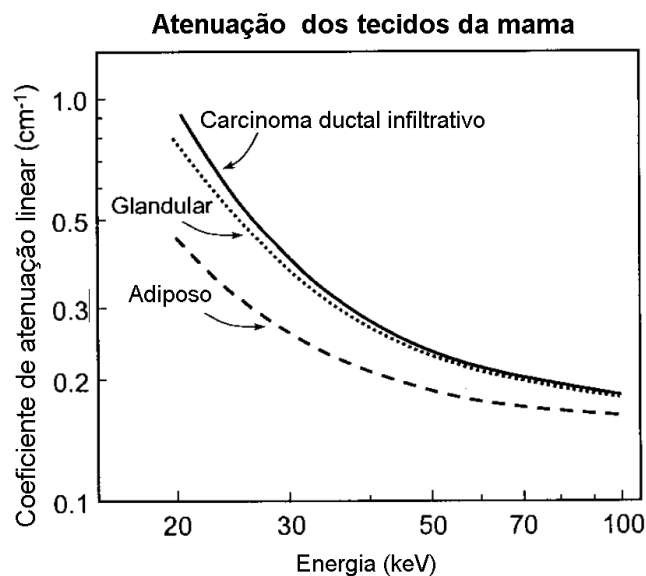


Figura 1: Atenuação dos tecidos da mama em função da energia (12).

A diminuição da DM por terapia hormonal e dieta adequada, é uma das formas de reduzir os riscos de câncer (13,14). Naturalmente, a DM costuma diminuir conforme o

aumento da idade, ocorrendo o processo de lipossustituição mamária, sendo esse é um padrão observado numa maioria populacional, sendo visto algumas variações de indivíduo para indivíduo(15,16).

A lipossustituição é gradual, com um aumento de tecido adiposo próximo de 2% ao ano. Mulheres na faixa dos 30 anos de idade, possuem mamas mais densas, com quase 90% de tecido fibroglandular disposto em todo volume mamário, mulheres com 40 anos já apresentam 70% de tecido fibroglandular e por volta dos 65 anos, essa proporção cai para 50% (17).

Atualmente, a quantificação de DM é de natureza subjetiva, sendo interpretada por um especialista na área de radiologia, o qual visualiza e determina clinicamente a porcentagem de cada tecido, constatando densidade mamária através da imagem gerada pela mamografia, classificando-a em grupos com *score* de 25%, deixando assim, uma informação de densidade muito abrangente, podendo acomodar certos pacientes em grupos não tão precisos (18). As informações de DM são classificadas no BI-RADS (*Breast Imaging and Reporting Data System*) (19), dividido em 4 categorias, correspondendo a quantidade de tecido fibroglandular da mama, sua última edição, publicada em 2013, trouxe alterações quanto a quantificação dos componentes mamários, substituindo as porcentagens por uma análise subjetiva descrita pelo radiologista.

Existe, portanto, a necessidade de métodos mais quantitativos de medir a densidade mamária que pode ser realizado de forma automática. Dessa forma, o interesse está crescendo no desenvolvimento de métodos automatizados (10, 12). Apesar do surgimento de uma série de métodos para quantificar a densidade volumétrica a partir de exames de mamografia, estes apresentam problemas com precisão e reprodutibilidade (12).

Determinar a correta quantidade de cada tecido mamário, e consequentemente a correta porcentagem de densidade mamária, pode ajudar a selecionar precocemente indivíduos que apresentam elevado risco de desenvolvimento de câncer e assim iniciar intervenções de forma preventiva. Essa quantificação também pode promover o monitoramento da eficácia de tais intervenções (20).

Vários métodos computacionais assistidos foram desenvolvidos com o objetivo de quantificar a DM, permitindo a extração de informações como a localização de áreas densas e adiposas (21,22). Todavia, os métodos propostos até então para quantificar a DM necessitam de informações complementares e específicas, são essas informações: espessura da mama comprimida e parâmetros usados durante a aquisição da imagem mamográfica (23).

Porém, equipamentos que utilizam o sistema de radiologia computadorizada (CR- traduzido livremente do inglês como *Computed Radiography*), esses parâmetros não são armazenados na imagem DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*), impedindo que tais metodologias de quantificação sejam aplicadas de maneira bem sucedida.

Há também, métodos que utilizam imagens não processadas para a quantificação da DM, contudo, devido ao grande tamanho de armazenamento magnético, imagens não processadas são constantemente excluídas, permanecendo disponíveis no sistemas apenas as imagens processadas (5,24). Dessa forma, esses métodos, acabam limitados a existência de tais imagens e impedem sua aplicação em estudos retrospectivos de banco de dados de imagens (5).

Nesta pesquisa, a composição mamária foi estimada utilizando um algoritmo, previamente desenvolvido, com alta confiabilidade e capacidade de reprodução, para segmentar a área do tecido fibroglandular e adiposo da imagem mamográfica, sendo

possível estimar a DM com precisão. Foram associados diferentes métodos de processamento de imagem, que foram utilizados com o intuito de otimizar a visualização e realizar as quantificações do tecido fibroglandular em imagens de mamografia. Uma das originalidades deste estudo, foi a segmentação precisa dos tecidos mamários, através do método de Otsu juntamente com a ferramenta de SdNR (do inglês-*Signal difference to Noise Ratio*), onde a primeira ferramenta classifica automaticamente o threshold que será utilizado para a classificação dos tecidos mamários e a segunda estima a espessura dos tecidos de interesse segmentados. Os dados de DM obtidos foram classificadas considerando a porcentagem de tecido fibroglandular e comparando com a classificação do BI-RADS 4ª edição. Por fim, foi realizada uma avaliação do comportamento da composição mamária, levando em conta a lipossustituição natural da mama em função da idade da paciente.

Esta pesquisa servirá de suporte para estudos futuros, como por exemplo a estimar com maior precisão a dose glandular média, pois para que essa pesquisa ocorra, a densidade da mama deve ser quantificada de forma mais precisa e objetiva.

SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

ANATOMIA E FISIOLOGIA MAMÁRIA

A mama é uma glândula sudorípara modificada, e apresenta em sua composição elementos como, gordura, glândulas, componentes fibrosos e uma rede vascular. Todas as mudanças fisiológicas que ocorrem ao longo da vida da mulher em resposta à hormônios, como gravidez e lactação, podem gerar um processo de involução, o qual é visto no exame de mamografia, por isso essas mudanças precisam ser estudadas e compreendidas pelos profissionais (13). A mama é constituída por um conjunto de 15 a 20 lobos mamários, que são representados por 20 ductos terminais que podem se exteriorizar através do mamilo (14). Outro componente das mamas é a coleção de glândulas decorrentes da epiderme, as quais ficam situadas entre a fáscia superficial e a parte anterior do tórax. É durante o segundo mês de gestação que ocorre a formação das mamas, duas linhas se formam na parede da ectoderme do feto que se estendem da axila até a virilha, são as chamadas de linhas de leite, conforme demonstrada na Figura 2, e a partir desta linha, qualquer glândula mamária pode se desenvolver em ao longo de seus pontos (15). De forma natural, as linhas de leite desaparecem ao decorrer do desenvolvimento do embrião, porém algumas porções podem persistir no peitoral, e quando este fenômeno ocorre, pode haver o aparecimento de seis acessórios (polimastia) ou mamilos acessórios (polietalia) em qualquer ponto das linhas de leite, no entanto, trata-se de uma condição de aparecimento raro, afetando menos de 1% dos bebês (16).

Um dos primeiros pontos da linha do leite se formam a partir do crescimento da ectoderme, induzindo ao desenvolvimento de cada mama. Os principais ductos lactíferos se desenvolvem abrindo-se em um raso poço mamária e durante a infância se originam os mamilos (16).

Nos homens também pode ocorrer o desenvolvimento das mamas, a chamada Ginecomastia, porém, diferentemente das mulheres, este fenômeno pode ocorrer devido à desbalanços hormonais, originados por doenças, consumo excessivo de álcool ou doenças, e podem se desenvolver na puberdade ou na vida adulta. Outro termo que se emprega aos homens também é a Pseudoginecomastia, neste caso, o que ocorre é a formação e depósito de tecido adiposo na parede anterior do peito, e de forma externa, se parece fielmente coma verdadeira Ginecomastia, no entanto, o alargamento do tecido é devido a deposição de gordura (17).

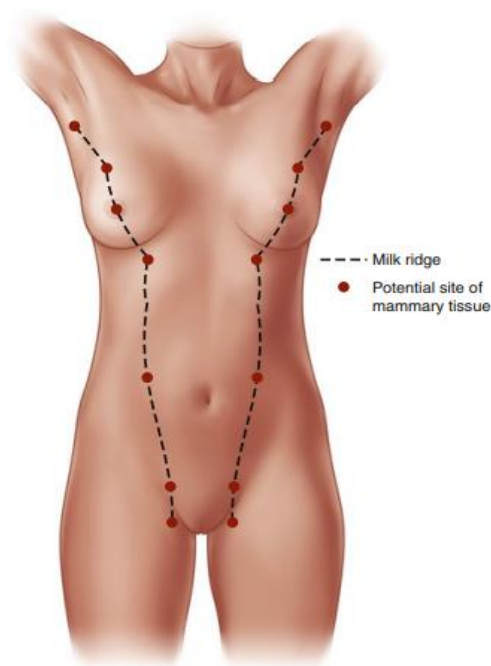


Figura 2: Imagem ilustrativa da “linha do leite” (DARLINGTON, A.J, 2015)

Os principais ductos lactíferos, se formam na mulher no nascimento, e as glândulas permanecem subdesenvolvidas até o momento da puberdade. Até esse período de puberdade, as mamas também são subdesenvolvidas, pois para se desenvolverem precisam sofrer ação de hormônios ovarianos, como estrógeno e progesterona. É neste período da vida da mulher que ocorre o crescimento das mamas, devido ao desenvolvimento das glândulas, bem como pelo aumento da deposição de tecido adiposo (16).

A anatomia mamária pode ser dividida em duas partes macroscópica e microscópica. Macroscopicamente, a mama pode ser dividida em duas principais partes, compreendendo o componente glandular e os outros tecidos de sustentação das mamas, incluindo gordura, fáscia e músculos. O tecido mamário se estende abaixo da axila como uma projeção triangular, chamada de cauda axilar (17).

Abaixo da pele existe uma camada superficial da fáscia, que divide entre superficiais e profundas. As camadas profundas estão diretamente ligadas com a fáscia do músculo peitoral maior, permitindo uma leve movimentação das mamas. O peito fica apoiado no ligamento de Cooper e também pela pele e camadas do músculo peitoral maior (16).

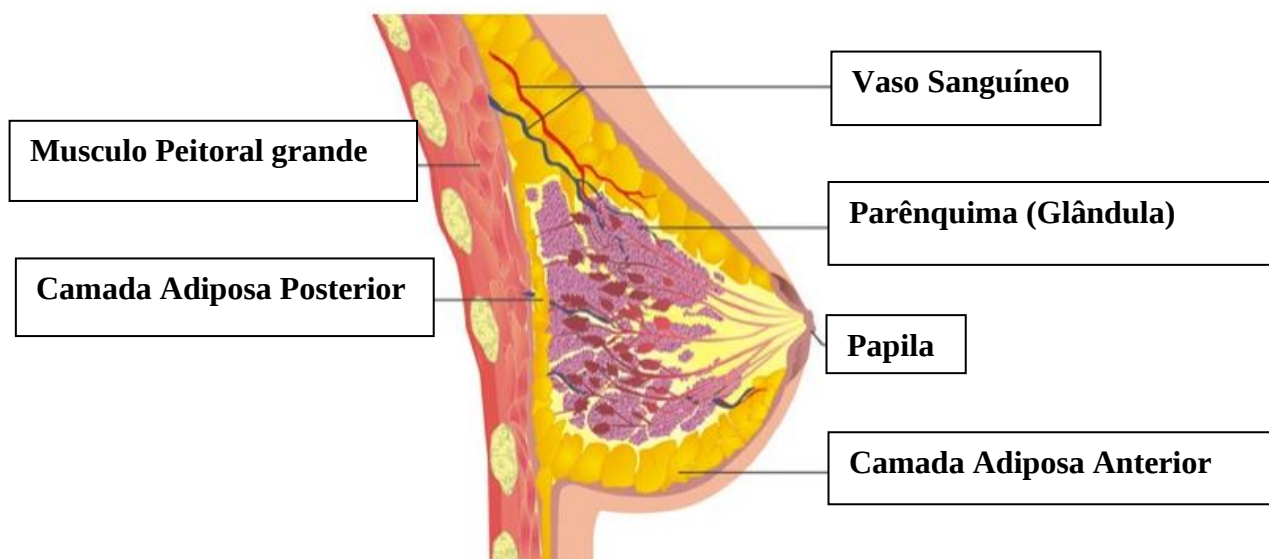


Figura 3: Anatomia interna e externa da mama. Instituto Nacional de Câncer
José Alencar Gomes da Silva, 2019.

É de grande importância conhecer a anatomia externa da mama para um correto posicionamento para o exame de mamografia e a anatomia interna quando se for analisar as imagens obtidas. No exame de mamografia a gordura irá se tornar os ductos lactíferos. O desenvolvimento inicial dos mamilos (17).

Já a anatomia microscópica abrange as unidades funcionais das mamas, composta pelos ácinis, ductos intralobulares e extralobulares. Nestas unidades é que são formados mais de 90% das doenças benignas de mamas. Os ácinis e ductos são formados por três camadas como membrana basal, camada mioepitelial e forro epitelial. A parte glandular que compõe a mama consiste de 15-20 lóbulos que se irradiam do mamilo e cada um destes são compostos de 10-100 lóbulos que contém ácinis, onde o leite é produzido e armazenado durante a lactação. O leite é transportado por uma rede de ductos galactóforos que se comunicam com cada lóbulo, que se dilatam e formam a ampola ou sinus que termina na superfície do mamilo, conforme ilustrado na Figura 4 (15).

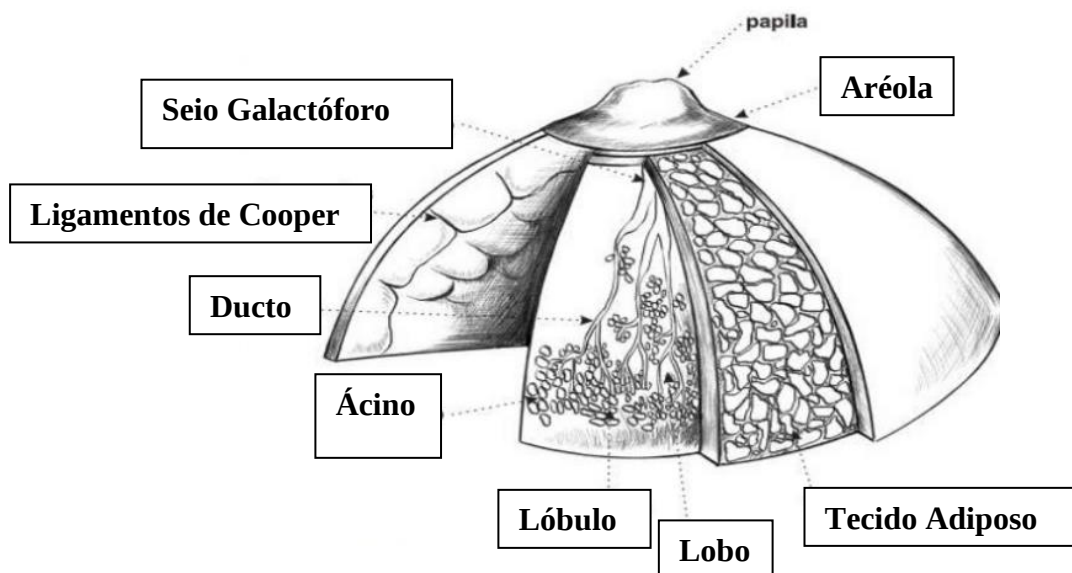


Figura 4: Estruturas funcionais da mama. Blog Faculdade da Serra Gaúcha, 2011.

O suprimento sanguíneo venoso nas mamas é realizado principalmente através das veias axilares e também através das veias mamárias e torácicas. As veias superficiais drenam através da veia torácica interna, já os sistemas de veias profundas drenam para as veias torácicas internas, torácica lateral, veia axilar e veias intercostais. No geral, a irrigação sanguínea nas mamas é em grande parte realizado por artérias. O suprimento sanguíneo arterial provém do plexo subdérmico, que se comunica com os vasos do paquênquima. No entanto, a oferta principal de sangue é realizada por ramos da artéria mamária interna, correspondendo por volta de 60% do suprimento sanguíneo das mamas. De forma resumida as principais artérias que levam sangue para as mamas são artéria toracoacromial, artéria torácica lateral e artérias intercostais. Além do suprimento sanguíneo das mamas, pode-se destacar como anatomia microscópica o suprimento nervoso no tecido mamário. Este, por sua vez, advém dos ramos cutâneos laterais e anteriores do segundo ao sexto nervos intercostais (13, 16).

Outro componente é o suprimento linfático, se iniciando no plexo perilobular situado no tecido conjuntivo do peito, desta forma, a linfa flui ao lado dos ductos lactíferos. Os linfonodos podem estar presentes ao longo destes ductos. A linfa então, é drenada para os grupos de linfonodos axilares, subescapulares, central peitoral e nódulos parasteranais (15).

DENSIDADE MAMÁRIA E FATORES INFLUENCIADORES DO CANCER

Há grande aceitação entre a comunidade científica que existe relação entre medidas de composição do tecido mamário e o aumento do risco de câncer de mama, por isso a classificação da densidade do tecido poder ser utilizado como um biomarcador para o risco de desenvolvimento do câncer de mama (18, 19). Quanto maior for a densidade mamária, menor será a sensibilidade de detecção do exame de mamografia, pois grande composição de tecido fibroglandular pode esconder um câncer. Visto que a densidade pode influenciar diretamente no risco de câncer, este mascaramento pode ser danoso para as pacientes, nestes casos, utiliza-se a Ultrassonografia (US), como exame complementar (11, 20).

Em mamas classificadas como densas, há grande quantidade de tecido fibroglandular, e em mamas classificadas como pouco densas, há predomínio de tecido adiposo. A proporção varia de acordo com a Tabela 1, proposta pelo Breast Imaging Reporting and Data System – BI-RADS (20).

Ao decorrer dos anos, ao passo que a mulher envelhece, o nível dos hormônios circulantes como estrógeno e progesterona caem, e com isso ocorre uma substituição do tecido mamário da mulher, há um aumento do tecido adiposo se comparado com o tecido fibroglandular. Há vários outros fatores que podem se relacionar com a composição/densidade mamária, como idade, índice de massa corporal (IMC), paridade e tempo de reposição hormonal (TRH)(21).

Devido ao exame de mamografia, o câncer de mama é detectado nos estágios iniciais, aumentando assim a possibilidade de cura. No entanto, o tecido fibroglandular,

presente majoritariamente em mamas densas, faz com que a sensibilidade do exame seja diminuída, amplificando as chances de um resultado falso-negativo, ocasionando um risco maior de se desenvolver um câncer de mama. Desta forma, para obter um diagnóstico preciso, é necessário analisar vários exames de imagem, como Ultrassonografia (US) e Ressonância Magnética (RM)(11).

BI-RADS

A classificação BI-RADS (do inglês - *Breast Imaging Reporting and Data System*) é normalmente utilizada na prática clínica para relatar de forma qualitativa a densidade mamográfica (22). Este método pretende padronizar a terminologia da avaliação de mamografia (23). O BI-RADS é definido em quatro categorias de composição mamária: predominantemente adiposa (menor que 25% de tecido glandular), parcialmente adiposa (entre 26 a 50% de tecido glandular), padrão denso e heterogêneo (entre 51 a 75% de tecido glandular) e muito denso (mais que 76% de tecido glandular) (Nicholson et al., 2006). Estudos mostram que o BI-RADS possui grande potencial para ser usado como modelo de avaliação do risco de desenvolver câncer de mama (22). Entretanto, esta forma qualitativa mostra-se muito variável intra e inter-observador (7). Neste estudo, os valores de densidade da mama obtidos através da quantificação pela mamografia serão comparados ao método de classificação qualitativo BI-RADS associado a cada exame de mamografia. A tabela 2 mostra como são as classificações qualitativas do exame de mamografia.

Tabela 2 - Classificação da densidade mamária

Classificação Mamária	%Tecido Adiposo	%Tecido Fibroglandular
Predomínio de tecido adiposo	-	<25%
Presença de Áreas Densas Esparsas	-	25-50%
Heterogeneamente densas	-	51-75%

Mamas densas	-	>75%
--------------	---	------

Fonte: ALVARES, B.R, *et al.*, 2012

O BI-RADS, foi criado em 1993, sendo esse o ano da publicação de sua primeira edição, tendo a segunda, terceira e quarta edição publicadas em 1995, 1998 e 2003 respectivamente. A quinta edição, publicada em 2013, trouxe alterações em relação as classificações da composição mamária, retirando as especificações das porcentagens das 4 categorias em que as composições são distribuídas, e substituindo-as por descrições que levam em consideração a interpretação das imagens pelo profissional de radiologia (19).

Tabela 3: Comparação da classificação da composição mamária entre a quarta edição e a quinta edição do BI-RADS. (19).

4ª Edição	5ª Edição
(A) Quase inteiramente adiposa (< 25%).	(A) Mama quase inteiramente adiposa.
(B) Tecido Fibroglandular disperso (25 - 50%).	(B) Áreas dispersas de tecido fibroglandular.
(C) Densidade Heterogênea (50-70%).	(C) Mama heterogeneamente densa, pode ser opaca em pequenos pontos.
(D) Extremamente Densa (>75%).	(D) Mama extremamente densa, com baixa sensibilidade na mamografia.

EXAME DE MAMOGRAFIA

O exame de mamografia é uma técnica amplamente utilizada para detecção e rastreamento do câncer de mama em pacientes assintomáticas, tratando-se de um método que possibilita o rastreamento populacional, o exame pode auxiliar o diagnóstico precoce do câncer e se mostra fielmente a contribuir para a redução da mortalidade de pacientes. O exame é altamente sensível e permite a detecção até mesmo de alterações mais sutis que podem passar despercebidas durante o exame clínico (24). A mamografia pode ser dividida em convencional e digital. O primeiro é um método mais antigo que utiliza chasis com filmes radiográficos e telas intensificadoras, já o segundo, a mamografia digital, a qual é representada por sistemas computadorizados (CR – *computed radiography*), e e sistemas de radiografia direta (DR – *direct radiography*) (24).

Além do exame de mamografia, tido pela sociedade médica como “Padrão ouro” para o rastreamento do câncer de mama, são recomendadas mais duas técnicas preventivas, como o auto-exame e o exame clínico realizado pelo profissional (6).

Esta técnica é benéfica para as pacientes, pois apesar de sua capacidade de detecção precoce de alterações, também utiliza baixas doses de radiação ionizante. No entanto, há grande dificuldade quanto a interpretação da característica do tecido mamário, podendo ocorrer resultados falso-negativos, principalmente em mamas com aspecto denso. Nestes casos, utiliza-se a ultrassonografia (US) como exame complementar e técnicas com contraste como a Tomografia Computadorizada (TC) e Ressonância Magnética (RM), embora de grande utilidade, são exames caros (20). O exame de mamografia é recomendado pela Sociedade Brasileira de Mastologia, que seja

realizado bienalmente, para mulheres a partir de 40 anos. Apesar do grande alcance, ainda há grande taxa de mulheres que nunca realizaram o exame (24). A partir de estudos realizados por Amorin, V. M.S, *et al.*, pressupõe que a não realização de exames de mamografia na cidade de Campinas, São Paulo, está diretamente relacionado com questões sociais e raciais (AMORIN, V.M.S, *at al.*, 2008).

A portaria que preconiza a regulamentação e diretrizes para a correta execução do exame de mamografia no território Brasileiro é a 453/1998. Através desta, fica exposta a necessidade de estabelecer mecanismos de monitoramento da qualidade em mamografia, bem como calcular indicadores para o monitoramento dos resultados dos exames mamográficos, permitindo a padronização, ampliação e o monitoramento das informações sobre o rastreamento do câncer de mama em todo o país (25).

FORMAÇÃO DA IMAGEM EM MAMOGRAFIA

Atualmente existem dois tipos de formação de imagem nos equipamentos mamográficos. A primeira geração é formada pelo placa de imagem e caracteriza a mamografia computadorizada, e a segunda geração é representada pelos receptores digitais e define a mamografia digital(26).

O modo de obtenção da imagem mamográfica (receptor digital versus filme) determina a maioria das diferenças entre a mamografia convencional e a digital. Na mamografia convencional, o filme representa o meio de aquisição, de exposição e de armazenamento da imagem mamográfica, e apesar de gerar imagens com alta resolução espacial e contraste, há pouca margem para melhorias(26).

Na mamografia digital, os processos de aquisição, exposição e armazenamento são separados e podem ser aperfeiçoados individualmente; além disto, a análise das imagens mamográficas digitais em estações de trabalho com monitores da alta resolução permite uma série de processamentos que podem melhorar o contraste das imagens. A mamografia digital também facilita a incorporação de uma série de novas tecnologias como o CAD (computer aided detection), a tomossíntese, o uso de contraste intravenoso e a interpretação a distância do exame (telerradiologia).

O exame de mamografia é altamente eficaz devido a sua alta resolução espacial. Capaz de detectar cânceres em estágios iniciais, antes mesmo do aparecimento dos sintomas. Essa modalidade de exame de imagem, tem como principal função imagear mulheres assintomáticas e sintomáticas, a partir de uma determinada idade. O exame é realizado em duas projeções: crânio caudal (CC) e médio lateral-oblíqua (MLO), tanto na mama esquerda, quanto na direita. Essa modalidade é utilizada principalmente para detecção de patologias da mama. Contudo, é também utilizada para exames pré cirúrgicos da região suspeita, para assim, guiar biópsias(27).

EQUIPAMENTO DE MAMOGRAFIA

O equipamento de mamografia é muito semelhante com o aparelho de radiologia convencional. As características específicas de um equipamento de mamografia, se dá pela anatomia da mama. Os dois principais tecidos mamários e patológicos, possuem coeficientes de atenuação linear próximos, dificultando assim a distinção dessas estruturas em estágios iniciais das lesões, como mostrado na figura 1t. Sendo assim, como se trata também de uma estrutura com poucos centímetros de espessura, não há a necessidade de um feixe de energia como utilizado normalmente no radiodiagnóstico

(40 a 120kVp). Para a mama, a utiliza-se energias mais baixas (23 a 35kVp). Desta forma, o contraste do exame de mamografia requer o uso de um espectro específico, o qual possa enfatizar as diferentes composições dos tecidos mamários. Sendo assim, a escolha da combinação ânodo/filtro deve ser exclusiva para mamografia. Além da energia específica, o equipamento de mamografia também deve possuir resolução para altas frequências de forma a exibir estruturas com aproximadamente 50µm. Outra característica que distingue o equipamento é a utilização de uma bandeja de compressão a qual possui a função de diminuir a espessura total da mama(28).

MAMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

A mamografia computadorizada utiliza uma tecnologia que permite que um aparelho de mamografia convencional faça a emissão de imagens digitalizadas. Dessa forma, a bandeja em que normalmente ficaria o filme é trocada por um chassi eletrônico, de modo que apenas o chassi do aparelho tem tecnologia digital. Depois da realização do exame, que segue os mesmos procedimentos da mamografia convencional, as informações armazenadas no chassi são interpretadas pelo computador, se tornando visíveis na tela, sem necessidade de impressão. A aceitação da CR nos centros de diagnóstico por imagem se deve a sua ampla faixa dinâmica, sua natureza digital e fácil portabilidade do mesmo. Sua ampla faixa dinâmica é a principal vantagem em relação ao sistema tela-filme(29).

Embora a tecnologia CR seja capaz de produzir imagens com tons de cinza adequados mesmo quando utilizados altos e baixos níveis de exposição, os esforços de garantia de qualidade ainda devem estar presentes para garantir níveis de exposição tão baixos quanto razoavelmente exequíveis(28, 29).

Na aquisição de imagens pela técnica de CR, é utilizado um detector baseado no princípio da luminescência fotoestimulada. Os fósforos fotoestimuláveis (PSPs) armazenam energia de raios-X absorvendo-a em "armadilhas" na estrutura cristalina. Esta energia armazenada constitui a imagem latente. Com o passar do tempo, a imagem latente desaparece espontaneamente através do processo de fosforescência. O material PSP pode armazenar imagens latentes por muito tempo e, normalmente, após 8 horas de exposição, ainda contém 75% da informação. O processo de luminescência foto-induzida (PSL) pode liberar parte da energia aprisionada imediatamente se excitada com luz de comprimento de onda apropriado. Por esse motivo, as placas PSP também são conhecidas como fósforos de armazenamento ou placas de imagem (IP). A luz emitida constitui o sinal usado para criar a imagem digital.

MAMOGRAFIA DIGITAL

O aparelho de mamografia digital também utiliza a radiação para obter imagens, com a diferença que o aparelho é desenvolvido de maneira que não são necessários intermediários para tornar as imagens digitais. Durante a realização dos exames, a imagem é obtida através da interação entre fótons de raios-x e detectores desenvolvidos para este objetivo. Dessa forma, os aparelhos possuem alta tecnologia e as imagens geradas são mais nítidas, limpas e capazes de registrar pequenas microcalcificações ou lesões. Para a paciente, o aparelho de mamografia digital exige uma compressão menor das mamas, o que causa menos dor durante a realização. Ao contrário do mamógrafo convencional, o aparelho de mamografia digital não utiliza filmes. As imagens registradas podem ser aumentadas, reduzidas e ajustadas no computador, o que melhora o diagnóstico.

DIFERENÇA ENTRE A MAMOGRAFIA DIGITAL E A MAMOGRAFIA CONVENCIONAL

A principal diferença da mamografia digital em relação à mamografia convencional (ou mamografia digitalizada), é que ela permite detectar o câncer de mama quando o tumor ainda não é palpável, isto é, quando possui menos que 1 centímetro de tamanho. Nesta fase do tumor (denominada de fase subclínica), além dele não poder ser palpável, ele pode permanecer entre 6 a 11 anos sem apresentar qualquer sinal ou sintoma da doença, dificultando o diagnóstico precoce de um possível câncer. Entretanto, é neste estágio que o tumor já sofreu cerca de 20 duplicações celulares, já podendo ser identificado em um exame mais profundo e preciso das mamas como a mencionada mamografia digital. É nesse sentido que este exame se mostra bastante eficaz: se o tumor for descoberto ainda em seu estágio inicial e for considerado maligno, as chances de cura são de cerca de 98% se a paciente receber o tratamento correto(30). Na mamografia digital, os filmes são substituídos por detectores que capturam a imagem e a envia para visualização em um computador com monitor para imagens médicas que, entre algumas qualidades especiais, possui alta resolução, no qual se pode realizar o diagnóstico e depois, imprimir a imagem em filme.

Pereira et al. (2019), em sua pesquisa fala que os mamógrafos dispõem de um avanço tecnológico e analógico, sistema de radiografia computadorizada (CR) e sistema de radiografia direta (DR), no qual a única diferença entre os dois é o modo de obtenção de imagem, permitindo processamentos de imagens e incrementos de novas tecnologias(31).

No sistema CR, pode-se dizer que a transição é mais simples do sistema écran-filme para imagens digitais. O filme é substituído por uma Placa de Imagem (PI), que é

colocado em um chassi que a protege. Depois que a imagem é coletada, pode ser reiniciado e retornar ao serviço normalmente (31).

De acordo com a literatura, o material que compõe a placa de imagem tem a propriedade de colocar os elétrons em armadilhas quando absorvem energia no processo de irradiação, assim, formando a imagem latente. O processo de retirar os elétrons das armadilhas libera fótons com comprimentos de onda próximos ao da luz azul, quais são direcionados a um tubo fotomultiplicador, convertidos em sinal elétrico e armazenados como imagem digital, esse processo é chamado de luminescência fotoestimulável (32).

Claus et al. (2019) descrevem que o sistema CR, para aquisição de imagem, possibilita para os profissionais maior redução da dose em pacientes devido a resposta do detector de imagem digital estar linearmente relacionada com a dose de radiação.

Pereira et al. (2019) explicam que o sistema CR utiliza um detector fotoestimulável que é processado por um sistema a laser, enquanto o sistema direto faz a leitura imediata do sinal gerado pela interação da radiação com a matéria, mesmo utilizando de sinais elétricos, para diferenciação dos tons de cinza, ambos diferem-se no modo de aquisição de imagem(33).

De acordo com Furquim e Costa (2009), os sistemas DR são consideradas unidades seladas, e diferente do que acontece em sistemas écran-filme e computadorizados, eles capturam raios X de forma mais direta e produzem uma imagem digital(32).

Comparativamente, os sistemas DR direto e indireto possuem aproximadamente ganho de conversão de raios X e ruído eletrônico aproximados. Uma vantagem do

sistema digital direto em relação ao indireto é que pode ser fabricado com tamanhos de pixel menores. No caso da mamografia, esta diferença pode chegar a 30%(32).

Pereira et al. (2019), enuncia que o controle de qualidade das imagens obtidas por esses sistemas, são de suprema importância, pois possibilita maior exatidão e precisão diagnóstica, concedendo visualizar detalhes na resolução e contrastes diferentes e espessuras(33).

LIPOSSUBSTITUIÇÃO

A lipossustituição é gradual, com um aumento de tecido adiposo próximo de 2% ao ano. Mulheres na faixa dos 30 anos de idade, possuem mamas mais densas, com quase 90% de tecido fibroglandular disposto em todo volume mamário, mulheres com 40 anos já apresentam 70% de tecido fibroglandular e por volta dos 65 anos, essa proporção cai para 50% (34).

MÉTODO DE OTSU (THRESHOLD DE OTSU)

O método de Otsu, é um algoritmo de limiarização, utilizado na busca de um limite (*threshold*) ideal para a separação dos elementos que estão posicionados na frente e no fundo de uma imagem em escalas de cinza e assim, atribuir a cor branca ou preta para cada um deles, sendo proposto em 1979 por Nobuyuki Otsu, funcionando especialmente bem para imagens que possuem histogramas bimodais (35).

O conceito anteriormente aplicado era de promover uma iteração de todos os valores possíveis para o *threshold* na imagem, criando intervalos dinâmicos, buscando aquele que minimiza a soma da variância intraclasse da imagem. O valor final corresponde ao melhor threshold para o caso, que separa frente e fundo e atribui cores para cada classe(35).

O cálculo realizado para determinar a variância intraclasse para um threshold t é mostrado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, onde o valor selecionado, será o threshold que realizará a binarização.

$$\sigma_w^2 = w_b \sigma_b^2 + w_f \sigma_f^2 \quad \text{Equação 1.}$$

Equação 1: Cálculo para determinar a variância intraclasse de um Threshold t possível, onde W é o peso atribuído a cada classe (probabilidade de um pixel pertencer a classe b (background) ou f (foreground)).

Otsu, 1979 (37), no entanto, constatou que o método demonstrado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, é um computacionalmente custoso, exigindo os valores das médias e dos pesos correspondentes a cada classe. Sendo assim, o método

substitui os cálculos anteriores, pela **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, afim de diminuir custo computacional do algoritmo(35).

$$\begin{aligned}\sigma_B^2 &= \sigma^2 - \sigma_w^2 \\ &= w_b(\mu_b - \mu)^2 + w_f(\mu_f - \mu)^2\end{aligned}$$

Onde:

$$\mu = w_b\mu_b + w_f\mu_f$$

Dessa forma:

$$w_bw_f(\mu_b - \mu_f)^2 \quad \text{Equação 2.}$$

Equação 2: Método proposto por Otsu para o Threshold.

Nesse caso, Otsu propõe a maximização da variância interclasse, sendo o mesmo valor de *threshold* que minimiza a variância intraclasse, resultando num melhor desempenho computacional e na limiarização ideal. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, é possível visualizar os intervalos dinâmicos intraclases e o intervalo interclasses, usado no método de Otsu (36).

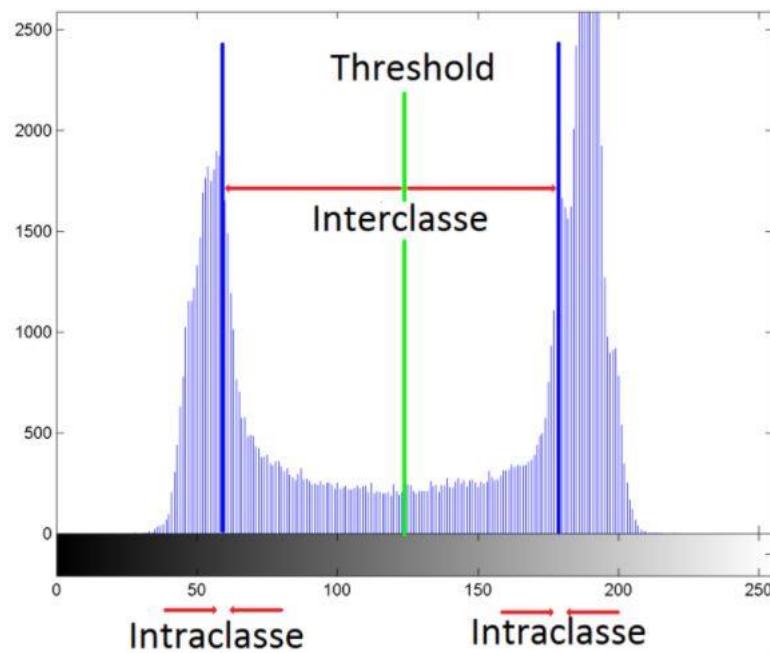


Figura 5: Exemplo de histograma formado pela imagem em tons de cinza, e análise interclasse e intraclasses usadas nos métodos de limiarização.(35)

Dessa forma, o método se inicia calculando o histograma de tons de cinza da imagem de entrada. Após isso, cada valor de *threshold* possível é calculado a partir dos pesos e médias para as classes da frente e do fundo da imagem, sendo esses os valores para o cálculo da variância interclasses. Ao fim das iterações, é escolhido o *threshold* que possui o máximo valor para variância interclasses. Assim, dará início a iteração de cada pixel do painel de imagem, afim de verificar seu valor. Cada valor de pixel passará por uma verificação, caso seu valor seja igual ou superior ao valor atribuído ao *threshold*, ele redefine a cor desse pixel como branca, se contrário (valor do pixel inferior ao *threshold*), a cor redefinida será preta (35). Esse algoritmo retornará a imagem binarizada, conforme mostrado no fluxograma da figura 6.

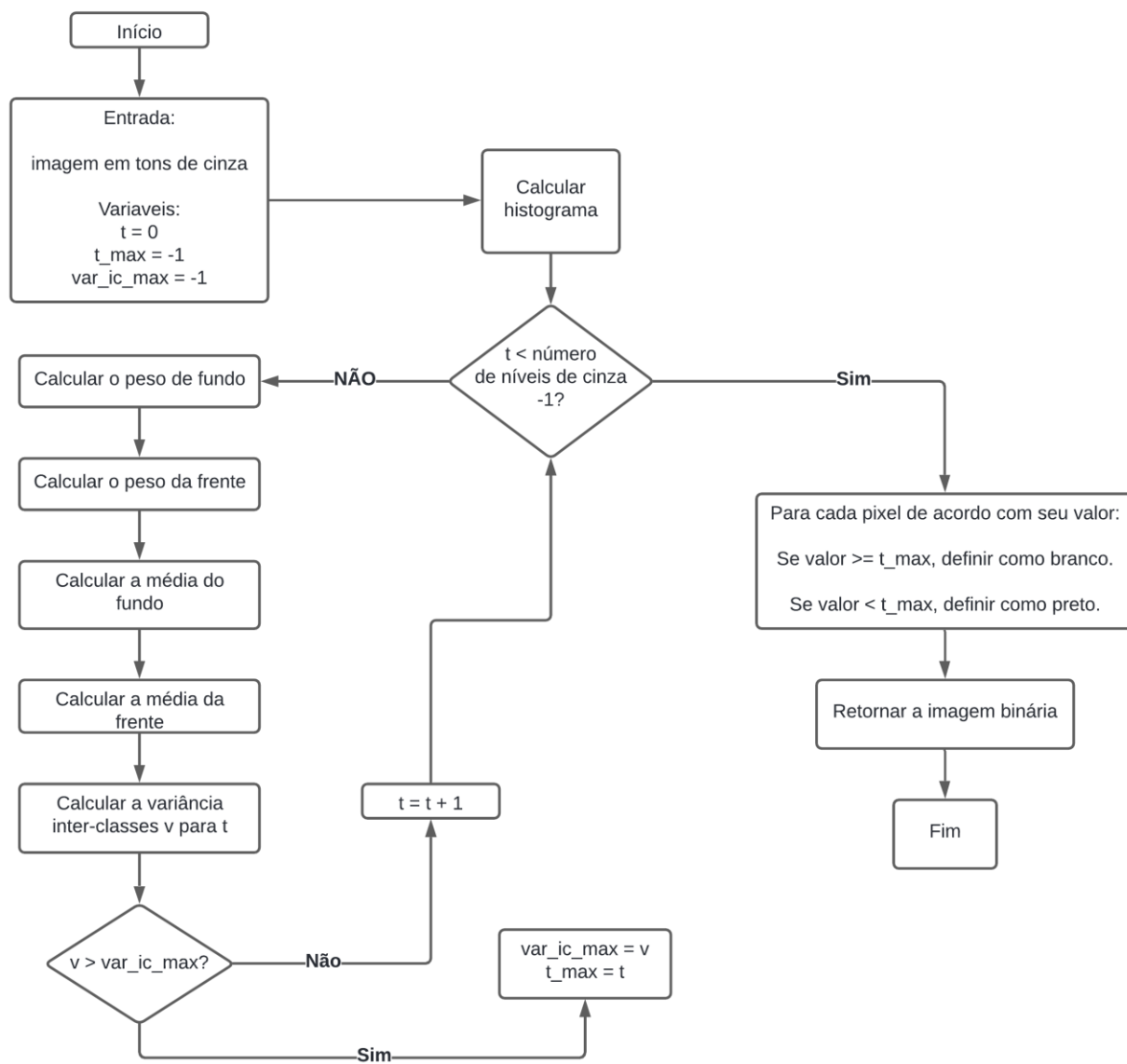


Figura 6: Fluxograma do Algoritmo do Método de Otsu para Threshold.

A simplicidade do método de Otsu, se mostra vantajoso, podendo ser implementada em poucas linhas de código após seu entendimento matemático(35).

Nesse trabalho o método foi implementado, com o objetivo de determinar um *threshold* automático, a partir de uma imagem já segmentada como entrada, assim, para o método utilizado, o limiar dado pelo threshold de Otsu é usado como uma máscara,

aumentando a precisão a separação dos elementos do fundo e da frente da imagem afim de analisar o volume mamário e diferenciar as estruturas da mama a partir de uma imagem bidimensional de mamografia.

Sendo assim, após a passagem do filtro de mediana na imagem original (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**-A), temos uma imagem composta apenas por tecido biológico (**Erro! Fonte de referência não encontrada.** -B), dessa forma máscara de binarização é aplicada, e assim indica as áreas de tecido fibrograndular (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**-C), sendo essa a entrada para aplicação da máscara de Otsu construída a partir do *threshold*. Por fim, a máscara de Otsu indica as áreas da mama correspondentes ao tecido adiposo (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**-D). O filtro de mediana executa a filtragem mediana, onde cada pixel de saída contém o valor mediano na vizinhança m-por-n em torno do pixel correspondente na imagem de entrada.

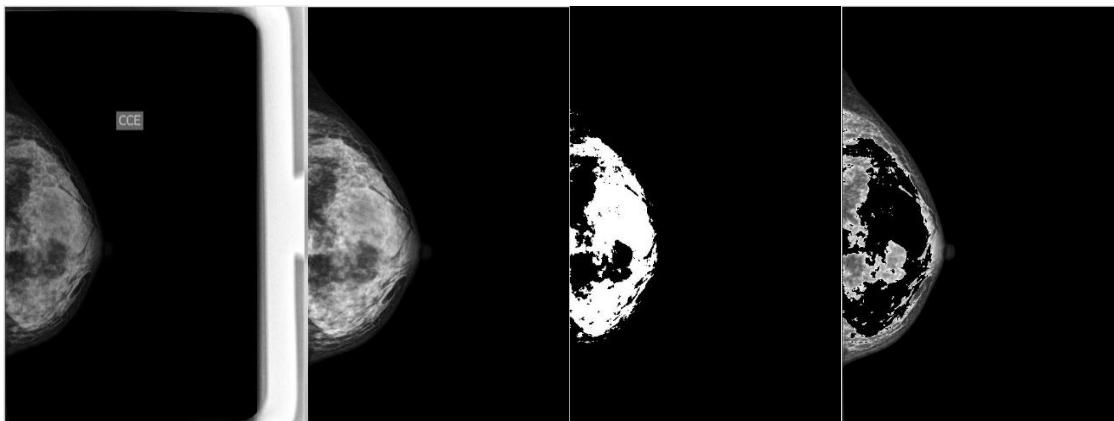


Figura 7: Imagem de entrada do algoritmo em formato DICOM usadas para a geração final da máscara de Otsu. A) Imagem original; B) Imagem gerada pelo filtro de mediana apenas com as estruturas biológicas correspondente a mama; C) Imagem gerada pela máscara de binarização destacando em branco a região de tecido fibroglandular; D) Imagem gerada com a máscara de Otsu retirando o tecido fibroglandular

RELAÇÃO SINAL RUÍDO DIFERENCIAL (SdNR)

A SdNR (do inglês, Signal difference to Noise Ratio) é definida como a capacidade de detecção de um objeto com relação a um fundo (BG- do inglês background) (Bernhardt et al., 2006), sendo utilizada para descrever a magnitude relativa de informações úteis e o ruído que prejudica a detecção desta diferença (Wu et al., 2013). É definido como a razão entre a diferença do sinal médio de um objeto de interesse (μ_{obj}) e o BG (μ_{BG}), e o desvio padrão do ruído no BG (σ_{BG}) como mostra equação 3 (37):

$$SdNR = \frac{\mu_{obj} - \mu_{BG}}{\sigma_{BG}} \quad \text{Equação 3.}$$

Esta definição tem a vantagem de ser independente das rotinas de processamento de imagens lineares, tal como a mudança da janela de contraste (38). O parâmetro SdNR tem sido utilizado para comparar e avaliar a capacidade de discriminar diferentes tecidos (39).

No presente trabalho, o SDNR foi medido nas imagens de mamografia de pacientes e de fantoma, de modo a diferenciar o tecido fibroglandular e tecido adiposo, sendo o tecido adiposo a ser classificado como BG. A partir de relação dos valores obtidos no fantoma, foi estimada a espessura dos tecidos em questão, permitindo, portanto, quantificar o volume de DM no exame.

A quantidade de tecido fibroglandular e adiposo dentro de cada pixel foi estimada através do SDNR. O valor de referência B e seu desvio padrão C foram calculados usando valores médios de pixels para pixels atribuídos como adiposos. Pixels atribuídos como fibroglandular foram usados como A para o cálculo de SDNR. O SDNR foi calculado para cada pixel.

Com base no SDNR para cada pixel fibroglandular e na relação obtida no estudo do fantoma, o PDM foi determinado diretamente. Para isso, o valor de SDNR de cada pixel fibroglandular foi multiplicado pela calibração da curva adquirida, resultando no valor de PDM para o pixel estudado. Dividindo a soma de cada pixel de densidade da mama pelo pixel total da mama dá uma estimativa do PDM para todo o exame.

A informação final dada ao observador é o PDM e uma ilustração da distribuição do tecido fibroglandular, simulando um cenário 3D dentro da mamografia.

BANCO DE DADOS

Este estudo retrospectivo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) das instituições afiliadas do autor (protocolo CAAE 50547315.8.0000.5411). Para a primeira parte do nosso estudo, os critérios de inclusão foram: pacientes assintomáticas com pelo menos 18 anos de idade e que realizaram mamografia de rastreamento entre 2015 e 2020 e com classificação BI-RADS (Breast Imaging-Reporting and Data System) de 1 ou 2 (achado negativo ou benigno, respectivamente). Apenas para a etapa de validação adicionamos a exigência de incluir pacientes que também realizaram exames de ressonância magnética de mama menos de dois meses após a mamografia. Os critérios de exclusão foram compostos por pacientes com histórico de câncer de mama ou mastectomia. A etapa de validação envolveu 45 pares de mamografias e exames de ressonância magnética selecionados de um grupo de 500 pacientes que preencheram os critérios. A idade dos pacientes variou de 40 a 77 anos. Para fins de quantificação, uma única imagem craniocaudal (CC) da mamografia, mama esquerda ou direita, foi usada para cada paciente.

Após a validação, na segunda etapa, o algoritmo foi aplicado no processo de quantificação de 200 exames CR e 85 FFDM. Os critérios de inclusão e exclusão foram os mesmos, exceto pela exigência de dois meses entre a mamografia e a RM, pois essa condição era necessária apenas para validação.

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA

A etapa de validação teve como objetivo fornecer uma quantificação mais precisa do tecido fibroglandular e adiposo na mamografia para estimar o percentual de densidade mamária (PDM). Os resultados foram comparados entre as quantificações mamográficas e de ressonância magnética das mesmas pacientes. Ressalta-se que, para esta etapa, as pacientes deveriam ter sido submetidas a mamografia e ressonância magnética no prazo máximo de dois meses, a fim de minimizar possíveis alterações na densidade mamária, como a lipossustituição. O exame de ressonância magnética seguido de um exame de mamografia, normalmente é realizado quando se inicia um processo mais a fundo do rastreamento do câncer de mama. Neste estudo, como se trata de mulheres assintomáticas, utilizamos exames de ressonância para a validação, porém da mama que não tinha suspeita de lesão. A segunda etapa do estudo foi a aplicação do algoritmo de quantificação do exame mamográfico em um banco de dados mais robusto. Esta metodologia foi utilizada para analisar a quantificação e classificação de acordo com a tabela BI-RADS versão 4. Avaliamos a reprodutibilidade e a precisão do algoritmo. Também analisamos o comportamento da lipossustituição dos tecidos mamários ao longo dos anos. Além do processo de validação do algoritmo com a ressonância magnética, contamos com o auxílio de um médico radiologista com ampla experiência na área, com mais de 15 anos de atividade profissional. Este processo foi realizado em duas etapas, onde o médico analisou as imagens e as classificou com score de 25% (0% - 25%; 25% - 50%; 50% - 75% e 75% - 100%), em quartis. Após a comparação do diagnóstico médico e a quantificação objetiva do algoritmo, o médico avaliou a metodologia como sendo confiável. Pois além de expor a porcentagem de

densidade da mama ao final, ele também mostra em imagem o que foi considerado como tecido fibroglandular, como mostra a tabela 4.

Tabela 4: Análise da densidade da mama através da avaliação do médico radiologista e a quantificação realizada através do algoritmo. Ambas comparadas com a tabela BI-RADS versão 4.

Análise Subjetiva 1	Análise Subjetiva 2	Análise Objetiva	BI-RADS Subjetivo	BI-RADS Objetiva	Tipo de Mama
até 25%	Até 25%	34,78%	1	2	Áreas densas esparsas
25% - 50%	50% - 75%	46,00%	2	2	Áreas densas esparsas
até 25%	50% - 75%	54,96%	3	3	Heterogeneamente densas
50% - 75%	Mais que 75%	63,34%	3	3	Heterogeneamente densas
25% - 50%	Mais que 75%	54,62%	3	3	Heterogeneamente densas
25% - 50%	Até 25%	27,99%	1	2	Áreas densas esparsas
até 25%	25% - 50%	43,44%	2	2	Áreas densas esparsas
25% - 50%	Mais que 75%	50,25%	4	3	Heterogeneamente densas
50% - 75%	25% - 50%	43,97%	2	2	Áreas densas esparsas
até 25%	25% - 50%	12,97%	2	1	Adiposa
até 25%	Mais que 75%	61,68%	4	3	Heterogeneamente densas
50% - 75%	50% - 75%	50,25%	3	3	Heterogeneamente densas
25% - 50%	Até 25%	39,32%	1	2	Áreas densas esparsas
até 25%	50% - 75%	48,17%	3	2	Áreas densas esparsas
até 25%	25% - 50%	37,90%	2	2	Áreas densas esparsas
até 25%	Até 25%	28,35%	1	2	Áreas densas esparsas
até 25%	25% - 50%	20,84%	2	1	Adiposa
até 25%	25% - 50%	11,80%	2	1	Adiposa
50% - 75%	25% - 50%	40,48%	2	2	Áreas densas esparsas
50% - 75%	25% - 50%	39,45%	2	2	Áreas densas esparsas

50% - 75%	Até 25%	47,43%	2	2	Áreas densas esparsas
50% - 75%	25% - 50%	32,77%	2	2	Áreas densas esparsas
até 25%	Até 25%	42,18%	1	2	Áreas densas esparsas
até 25%	25% - 50%	44,34%	2	2	Áreas densas esparsas
25% - 50%	50% - 75%	55,03%	3	3	Heterogeneamente densas
50% - 75%	50% - 75%	56,87%	2	3	Heterogeneamente densas
até 25%	25% - 50%	29,28%	2	2	Áreas densas esparsas
25% - 50%	Até 25%	40,08%	2	2	Áreas densas esparsas
25% - 50%	50% - 75%	46,52%	2	2	Áreas densas esparsas
Até 25%	Até 25%	14,27%	1	1	Adiposa

EQUIPAMENTOS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM

Neste estudo, foram utilizados dois sistemas de mamografia e um aparelho de ressonância magnética. O sistema de mamografia CR utilizado foi um Senographe 600T (GE Healthcare, Milwaukee, WI) com um digitalizador de imagem CR-85X (Agfa-Gevaert Group, Mortsels, BE). Todas as exposições foram realizadas com uma combinação de anodo/filtro de molibdênio (Mo)/(Mo) com controle automático de exposição e uma placa de imagem Agfa ($18 \times 24 \text{ cm}^2$ ou $24 \times 30 \text{ cm}^2$) com distância de pixel de $50 \mu\text{m}$. As imagens mamográficas utilizadas foram processadas.

O sistema FFDM utilizado foi um Siemens Mammomat Fusion. Mamografia digital de campo completo com detector plano, baseada em cintilador de iodeto de cério acoplado a matriz de transistor de filme fino (TFT) com tecnologia de silício amorfo. Todas as exposições foram realizadas com uma combinação anodo/filtro, Tungstênio (W)/Ródio (Rh), com controle automático de exposição, com receptor de imagem ($34,0$ (largura) $\times$ $27,7$ (profundidade) $\times$ $5,4$ (altura) cm).

Também usamos um scanner de ressonância magnética de 3 Tesla (Siemens Healthcare, Erlangen, Alemanha), com uma bobina de mama dedicada (CP Breast Array, Siemens, Erlangen, Alemanha). Foi utilizada RM ponderada em T1 pré-contraste sem sequência de saturação de gordura.

OBJETIVO

Esta pesquisa tem como objetivo, desenvolver uma metodologia computacional que quantifica objetivamente a porcentagem de densidade da mama em distintas composições mamárias em exames de mamografia CR e FFDM. Analisando a lipossustituição dos tecidos constituintes da mama ao longo do envelhecimento.

CONCLUSÃO

- Neste trabalho, propusemos um método objetivo, confiável e reprodutível para estimar o percentual da DM em exames de mamografia CR e FFDM. Foi proposto uma abordagem baseada no realce do tecido mamário da imagem processada, seguido de segmentação dos tecidos por meio de limiarização de Otsu e estimativa de densidade mamária com auxílio da ferramenta computacional SdNR. Os resultados da estimativa da DM em mamografia foram comparados medindo os tecidos mamários em exames de RM. Foi observada baixa diferença entre a mamografia e a RM.

- O estudo mostra resultados que consentem com as principais evidências científicas apontadas pelos colégios de radiologia brasileiro e americano (CBR e ACR), que recomendam o início do rastreamento aos 40 anos, pela mama já ter uma porcentagem lipossustituída possibilitando a visualização da mamografia.

- A utilização do algoritmo quantificador de composição mamária mostra-se confiável, reprodutível e de baixo custo, apresentando as porcentagens de tecido fibroglandular e adiposo, sendo capaz de precisar as quantidades de cada tecido, além de expor em imagem a área que foi considerada como fibroglandular.

- A lipossustituição mamária foi observada conforme cada faixa etária proposta nesse estudo, sendo possível analisar o comportamento de cada grupo através de suas médias e estimar um padrão de composição mamária para cada idade, podendo assim colaborar para a detecção de pacientes com DM elevada para sua faixa etária, possibilitando uma intervenção precoce para redução dessa DM.

- Como conclusão, os resultados mostraram pequena diferença entre a metodologia desenvolvida para os sistemas de mamografia e as medidas de RM. Nossa

ferramenta demonstrou ser eficiente e aplicável para a estimativa de DM. A ferramenta pode ser utilizada para fins de pesquisa e na rotina clínica para auxiliar os médicos nas decisões diagnósticas. O algoritmo fornece uma quantificação objetiva que corrobora a análise de densidade mamária BI-RADS.

- O método de quantificação objetiva através do algoritmo, mostra-se uma ferramenta promissora, e possível de ser implementada em estudos e na rotina hospitalar, pela utilização da imagem no formato DICOM, e pelo baixo tempo de processamento, afim de auxiliar o radiologista na classificação BI-RADS das imagens, aumentando a precisão diagnóstica e colaborando para detecção precoce do câncer de mama. Além de servir de suporte para pesquisas futuras como por exemplo a estimativa da dose glandular média (DGM).

Portanto como esta dissertação será apresentada em formato de artigo, o tópico abaixo será destinado ao artigo no formato da revista científica: *Physica Medica European Journal of Medical Physics*.

ARTIGO SUBMETIDO

COMO ESTA DISSERTAÇÃO SERÁ APRESENTADA EM FORMA DE ARTIGO, ABAIXO ESTÁ O FORMATO DO ARTIGO APRESENTADO, DE ACORDO COM AS NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA PHYSICA MEDICA EUROPEAN JOURNAL OF MEDICAL PHYSICS.

FORMATO DA REVISTA ONDE O ARTIGO FOI SUBMETIDO.

- Full length articles - 10,000 words (excluding the abstract, figure captions and references)
- The abstract should be no longer than 250 words.
- All necessary files have been uploaded:
- **MANUSCRIPT:**
 - Include keywords
 - All figures (include relevant captions)
 - All tables (including titles, description, footnotes)
 - Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
 - Indicate clearly if color should be used for any figures in print
- Graphical abstracts / highlights files (where applicable)
- Supplemental files (where applicable)
- **FURTHER CONSIDERATIONS:**
 - Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
 - All references mentioned in the reference list are cited in the text, and vice versa
 - Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the internet)
 - A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
 - Journal policies detailed in this guide have been reviewed
 - Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements
- **ARTICLE STRUCTURE**
 - Abstract the abstract may be structured in sub-sections (purpose, methods, results, conclusions).

- A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, references should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.
- At the end of the abstract, key words (not more than four) must be included to be used for indexing and bibliography searching.
- **INTRODUCTION**
 - State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.
 - Take particular care in describing the motivations for the study and its interest for the current research in the field.
- **RESULTS**
 - Results should be clear and concise.
 - They should contain a description of the findings of the study, without a repetition of the ways in which those findings have been obtained (which should appear in the material and methods section) and without authors' own comments on those findings (which should appear in the discussion section).
- **DISCUSSION**
 - This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined results and discussion section is not considered appropriate, unless for technical notes. Avoid extensive citations and discussion of published literature.
- **CONCLUSIONS**
 - The main conclusions of the study should be presented in a short conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a discussion section.
- **REFERENCES, FIGURES AND TABLES**

- The manuscript should not contain an unnecessary high number of references, figures and tables, but be adequate for the type of manuscript submission (full length article, review article, technical note, letter).

ARTIGO:

Abstract

Purpose: Develop a computational methodology to accurately estimate the percentage of breast density volume in mammography exams and analyze the liposubstitution over the years. **Method:** In this study, we developed a computational tool to estimate the percentage breast density in mammography exams. At first, the algorithm was validated comparing the quantification between mammograms and MRI exams, from the same patients. Then, the algorithm was applied to a larger database of CR and FFDM exams. A total of 245 CR, 85 FFDM and 45 MRI exams were used. The algorithm removes the DICOM header information and then the image goes through a median filter, a process of binarizing the images to form adipose and fibroglandular tissue masks. Finally, the calculation of percentages is given by the ratio between the average of image pixels and the total image. **Results:** Statistical linear regression analyzes between quantification of breast density on mammography and quantification of breast density on magnetic resonance had a correlation coefficient of $R^2 = 0.8491$. The mean percentage difference between the two methods was $3.73\% \pm 5.66\%$. The acquired Pearson correlation coefficients were 0.9214. These results showed a strong association between the

percentage of breast density obtained by mammography methodology and the results obtained by direct MRI analysis. **Conclusion:** The methodology developed to measure breast density showed a good correlation with the fundamental truth. It can be used in CR and FFDM mammography systems using processed images, thus helping the radiologist in the diagnosis. In parallel, we analyzed the liposubstitution of the constituent tissues of the breast over the years of breast cancer screening. Therefore, as our database is composed of asymptomatic women, we were able to analyze this tissue liposubstitution behavior over the years of a woman's life.

Keywords: Mammography, Computed Radiography, Full Field Digital Mammography, Breast Density, Signal difference-to-noise ratio, Magnetic Resonance Imaging.

Introduction

Breast cancer (BC) is the most frequent type of cancer amongst women, with more than 2.1 million new cases in world each year, being the leading death cause in this group (40). According to the National Cancer Institute (INCA), in Brazil approximately 2.3 million new cases of BC were estimated in 2020, representing 24.5% of new cancer cases in women. It is also the most frequent cause of death from cancer in this population, with 684,996 deaths estimated for that year (15.5% of cancer deaths in women). In Brazil, according to estimates, there will be more than 60,000 new cases in 2021. Despite significant medical initiatives, mortality remains high in the country, reflecting a trend observed in low and middle-income countries, where diagnosis occurs in advanced stages of the disease. Thus, the result is a decrease in the quality of life and survival of patients diagnosed with the disease (3). Although there is an increase in the

number of breast cancer cases worldwide(41),highly developed countries show a decline in breast cancer mortality rates, a direct reflection of the combination of improved early detection, population tracking, and more effective therapeutic interventions (42). Thus, breast cancer has become a global public health problem and, due to this high incidence, government programs to encourage screening and early diagnosis are necessary (2).

Screening is the process of looking for a particular type of cancer in its early stages before it can cause any symptoms or metastases(43). Breast cancer (BC) screening depends on a set of factors, which are: technical aspects, operational limitations, observer ability, viewing conditions and equipment capacity to detect cancer (which varies according to breast density). The sensitivity of the mammography exam is lower in dense breasts than those with a predominance of adipose tissue(44). The composition of the breast tissues, on the other hand, depends on some variables such as age, weight, body mass index, time after menopause, levels of follicle-stimulating hormones, menarche before 12 years of age, diet, family history, use of medicines for hormone replacement, sedentary lifestyle and the use of ionizing radiation (45-47).

Several conditions are associated with the increased risk of developing BC, such as age, endocrine factors, reproductive history, behavioral, environmental elements, and genetics (46-48). Dense breast tissue has the most substantial independent risk factors to predict breast cancer development (46, 48-53). Women with increased breast density (BD) are 4 to 6 times more likely to develop cancer (50, 54).

The determination of breast density (BD) demands clinical interest due to implications in risk estimation and screening program stratification(22). Breast density (BD) changes through time are also close related to an increase in cancer risk (8). Currently, the used diagnosis methodology is a subjective measure by specialists in radiology (45, 49). Much effort has been devoted to the development of computer-based quantitative and objective methods of BD measurement (55). Methods for objective mammographic density measurement are divided into two subtypes: area and volume.

There are different technologies for detecting cancer in mammography: computerized radiology (CR), Full field digital mammography (FFDM), and tomosynthesis. However, although in developed countries they no longer use the CR system, this technology is still used on a large scale in Brazil. (30, 56).

There are other technologies for BC screening, such as Magnetic Resonance Image (MRI) and ultrasound. Magnetic resonance imaging is an exam that allows anatomical evaluation of abnormalities in the breast. However, MRI presents some disadvantages compared to mammography, such as being a more expensive method, not recommended for patients with metallic devices, slow imaging times, specificity of the exam is very low, and interpretation is complex and not standardized(57). Therefore, it does not have good sensitivity for all cancer findings(57). There are some specific situations, such as women with a high risk for cancer, in which MRI screening is preferable to mammography. And also, some types of cancers found early with MRI are those related to reducing mortality (57, 58).

Ultrasonography is particularly useful in dense breast tissue, often used as a follow-up test for mammography abnormalities and guiding a biopsy(57). The three

main factors that affect the overall accuracy of ultrasound are the quality of the transducer, the physician's skills, and a multidisciplinary approach. Some disadvantages of this technique are that ultrasound has less sensitivity in detecting microcalcifications; it cannot cover the breast surface as a whole, since the wave is usually 1cm x 6 cm wide; it has poor resolution and the image formed has low contrast (57).

According to the American College of Radiology (ACR) and the Breast Imaging Society (SBI), they recommend that women at risk of developing breast cancer begin screening before the age of 40, on an annual basis. Another measure that contributed to the ACR/SBI current classification was the concern that African American women are 42% more likely to die from breast cancer, twice as likely to develop more aggressive cancers and are at greater risk of suffering from BRCA1 gene mutations, when compared to non-Hispanic white women, although the incidence rate is similar. The society also recommends that women with a previous diagnosis of breast cancer be screened with MRI.

The Brazilian College of Radiology (CBR) has some recommendations for breast cancer screening, such as dividing women in age groups (under 40 years, from 40 to 69 years and over 70 years) and severity criteria depending on the examination technique. The only method that is present in all cases is mammography (59), being still the gold standard for breast cancer screening, due to the detection power of up to 90% of cancer cases (60).

A thresholding approach developed by Byng *et al* (1996) (61) has become the standard gold method for determining breast density area and is widely used for estimating breast cancer risk in epidemiologic research (45, 49, 62). Literature shows

different methodologies to calculate volumetric breast density (VBD) in FFDM systems. Different volumetric methods are based on determining breast thickness at compression and image acquisition parameters or acquiring small object devices with every mammogram (55, 63-66). Also, a standard limitation of VBD algorithms presented in the literature is the use of only raw image data (48). Many FFDM mammography systems produce images in both raw and processed representations (67, 68). Due to the size of images and storage considerations, raw data is often deleted from image workstations, and only the processed format is available (69). Therefore, the application of methods requiring raw mammograms is limited (48).

Currently, the assessment of breast density is subjectively done by radiology professionals. This one has a score of 25% for the classification (55). Therefore, some studies are necessary for this evaluation to be more objective. Because breast density is directly related to the development of malignant neoplasms (47). Therefore, it is a matter of great relevance, as it is about breast cancer screening.

There are different ways to acquire breast density, which can be by area or volumetric. Usually by area, the mammography exam is used, which consists of a 2D projection with the volumetric information being acquired through magnetic resonance exams. As it is an exam with several cuts, when it performs the quantification of all the cuts and makes the final reconstruction, we were able to expose quantification in a volumetric way. In this study, the validation of the method was carried out first, in this process 45 exams were separated from the same patients who were submitted to both mammography and MRI exams with an interval of at most two months.

There are studies in the literature that also used magnetic resonance imaging to validate the mammography image quantification algorithm (8). The method of quantifying breast density in MRI scans is treated as the gold standard. (70). However, the techniques used for quantification are different. Some studies carry out the projection by area and others by volume. The major limitations found in this study are reproducibility and accuracy, because the analyzed techniques had problems to quantify extremely dense or not very dense breasts.(8, 10, 11).

This study aimed to develop an objective and reliable computational tool to automatically estimate the percentage breast density (PBD) in mammographic systems. The developed tool was validated by comparing the PBD values of mammograms with the MRIs of the same patients. The presented methodology can be used in CR and FFDM mammography, where only processed images are available.

Methodology

This study was divided into two stages: the first stage being the validation of the mammography quantification algorithm and the second being the application of this algorithm in a more extensive database to establish the breast liposubstitution over age.

Database

This retrospective study was approved by the Research Ethics Committee (IRB) of the author's affiliated institutions (CAAE protocol 50547315.8.0000.5411). For the first part of our study, the inclusion criteria was: asymptomatic patients with at least 18 years of age and that performed screening mammography between 2015 and 2020 and

with a BI-RADS (Breast Imaging-Reporting and Data System) rating of 1 or 2 (negative or benign finding, respectively). Only for the validation stage we added the requirement to include patients who also underwent breast MRI scans less than two months after the mammogram. Exclusion criteria were composed by patients with a history of breast cancer or mastectomy. The validation stage involved 45 pairs of mammograms and MRI scans selected from a pool of 500 patients who met the criteria. The age of the patients ranged from 40 to 77 years. For quantification purposes, a single craniocaudal (CC) image of the mammogram, left or right breast, was used for each patient. Table 1 of the supplementary material shows the population data used in the validation stage.

After the validation, in the second stage, the algorithm was applied in the quantification process of 200 CR and 85 FFDM exams. The inclusion and exclusion criteria were the same, except for the requirement of two months between mammography and MRI, as this condition was only necessary for validation.

Validation

The validation step aimed to provide a more accurate quantification of fibroglandular and adipose tissue on mammography to estimate the percentage of breast density (BPD). Results were compared between mammographic and MRI quantifications of the same patients. It should be noted that for this stage, the patients should have undergone mammography and magnetic resonance imaging within a maximum period of two months in order to minimize possible changes in breast density, such as liposubstitution. The second stage of the study was the application of the mammographic exam quantification algorithm in a more extensive database. This application was used to analyze the quantification and classification according to the BI-RADS version 4 table. At the same time, we evaluated the algorithm's reproducible and

accuracy. We also analyzed the behavior of liporeplacement of the breast tissues along the years old.

Diagnostic imaging equipments

In this study, two mammography systems and a magnetic resonance imaging scanner were used. The CR mammography system used was a Senographe 600T (GE Healthcare, Milwaukee, WI) with a CR-85X image digitizer (Agfa-Gevaert Group, Mortsel, BE). All exposures were performed with a combination of anode / filter molybdenum (Mo) / (Mo) with automatic exposure control and an Agfa imaging plate ($18 \times 24 \text{ cm}^2$ or $24 \times 30 \text{ cm}^2$) with a pixel distance of $50 \text{ }\mu\text{m}$. The mammographic images used were processed.

The FFDM system used was a Siemens Mammomat Fusion. Full field digital mammography with a flat detector, based on cesium iodide scintillator coupled to thin-film transistor (TFT) matrix with amorphous silicon technology. All exposures were performed with an anode / filter combination, Tungsten (W) / Rhodium (Rh), with automatic exposure control, with image receiver ($34.0 \text{ (width)} \times 27.7 \text{ (depth)} \times 5.4 \text{ (height) cm}$).

We also use a 3 Tesla MRI scanner (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany), with a dedicated breast coil (CP Breast Array, Siemens, Erlangen, Germany). A pre-contrast T1-weighted MRI without fat saturation sequence was used.

Quantification of breast density in mammograms

In this study, a computational approach was developed in Matlab® 2021 software to quantify breast density in mammograms. We also used a second algorithm

to estimate BD in MRI scans. Figure 1 demonstrates the main steps of the quantification algorithm for mammography exams and Figure 2 the main steps of the MRI algorithm.

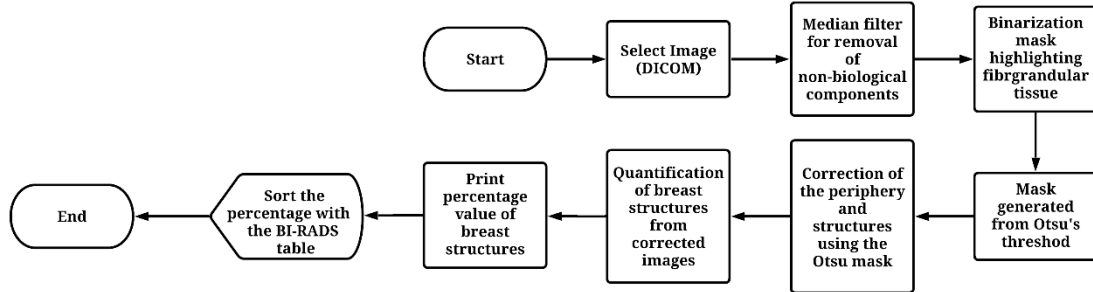


Figure 1. Flowchart of the functioning of the mammography algorithm

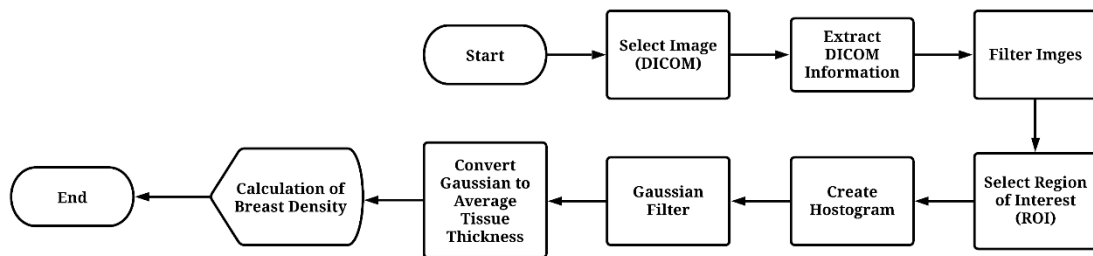


Figure 2. Flowchart of the functioning of the MRI algorithm.

Percentage breast density (PBD) is defined as the proportion of dense tissue in relation to the entire breast. The first step of the mammography algorithm was to select the DICOM image processed in a craniocaudal view of a single breast. After applying a median filter to reduce image noise and enhancement of breast tissues, the peripheral breast area was enhanced to correct pixel intensity. Then, tissue segmentation (fibroglandular and adipose) was performed based on the Otsu threshold.

The Otsu method seeks the optimal threshold for distinguishing object elements from a background in grayscale images, assigning binary values (black or white) to them. This approach works well for images with bimodal histograms [33]. It proposes a

non-parametric and unsupervised technique of automatic threshold selection, aiming at image segmentation. Therefore, it optimizes the differentiation of classes (objects and background). Thus, maximizing intraclass and interclass variability [34].

Calculation to determine the intraclass variance of a possible Threshold, where W is the weight assigned to each class (probability of a pixel belonging to class b (background) or f (foreground)) and σ is the variance.

In this case, Otsu proposes the maximization interclass variance, being the same threshold value that minimizes the intraclass variance, resulting in better computational performance and ideal threshold [35]. The Otsu segmentation applied to the image to create the fibroglandular tissue mask is illustrated in Figure 3A. Figure 3B shows the image with the removal of the mask formed in Figure 3A.

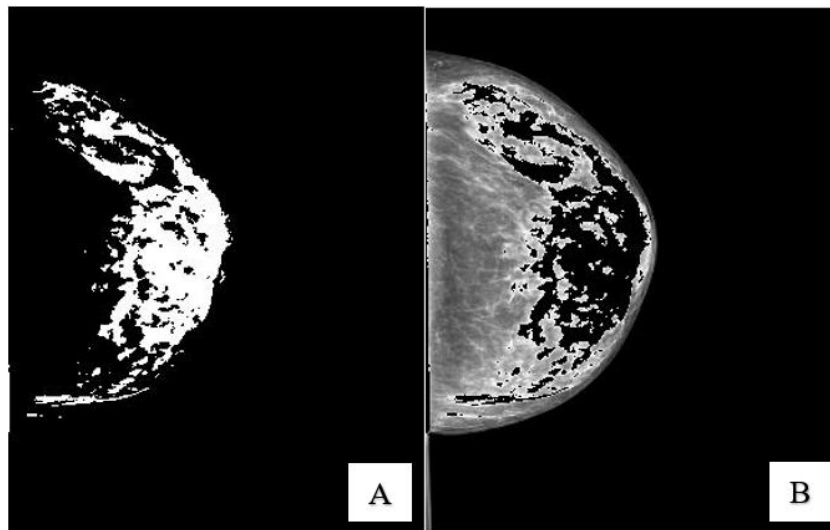


Figure 3. Figure (A) shows the image after a binarization process used in the otsu threshold method. And in figure (B) we have an example of an image with the removal of fibroglandular tissue. This removal occurs through the mask created in figure (A).

We also used the differential signal-to-noise ratio (SDNR) technique, which was used to correct the signal-to-noise ratio of quantification and a PBD estimate was obtained. SDNR was obtained for each pixel location in the breast images [27].

Therefore, the PBD results were validated by measuring PBD in MRI scans. The validation of the PBD proposed here was achieved applying the method proposed by Li et al. in magnetic resonance scanning to correct intensity inhomogeneity in the image [42]. Then, an experienced radiologist with more than 15 years of experience subjectively analyzed the exams and those results were compared with the algorithm. Afterwards, each voxel was classified as fibroglandular or adipose tissue by an automatic threshold technique [39]. The radiologist reviewed the sections to ensure accurate segmentation of the fibroglandular tissue. Finally, MRI PBD was calculated by dividing the fibroglandular tissue by the total amount of tissue by a simple process.

In the algorithm used to quantify the MR sequence, we first select all the images in the axial projection and read all the information from the DICOM header. Each patient has an average of 100 slices. Then, a region of interest (ROI) was manually delimited to the breast region to eliminate any unwanted tissue or artifact, as shown in Figure 4. We then generated the exam histogram (number of pixels versus pixel intensity) overlaying the entire set of images. A Gaussian adjustment for each tissue type was applied to the scan histogram (fibroglandular tissue and adipose tissue). The Gaussian filter has the function of smoothing the image, thus reducing its noise and facilitating the selection of the threshold. We then determined the percentage of each biological tissue through each tissue fit and multiplied by the slice thickness to achieve breast density. The Gaussian filter was applied through a function called "*fspecial*",

where this function returns a rotationally symmetric gaussian low-pass filter of size with standard deviation.

Gaussian Filter:

The Normal distribution, also known as the Gaussian or Gaussian curve is one of the most important curves used in mathematics and statistics.

The Gauss curve is described by its mean and standard deviation parameters, that is, knowing these parameters it is possible to determine any probability in a Normal Distribution, which can be used in the approximation for the calculation of other distributions when the number of observations is great

$$G(x, y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}}$$

Where sigma is the standard deviation and the equation describes the application of the Gaussian filter on a 2-D image. G is the Gaussian distribution of the values of X and Y in a 2-D image(71).

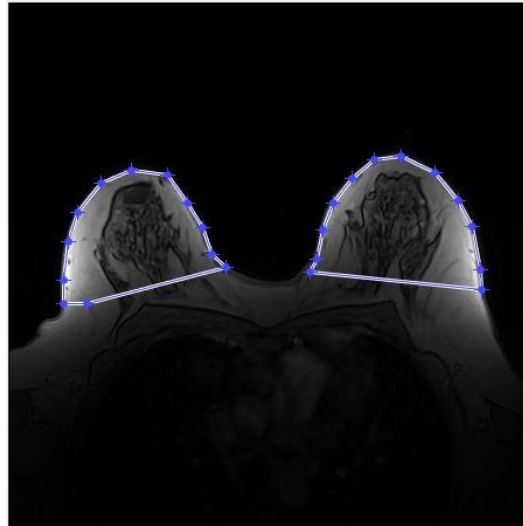


Figure 4. Example of region of interesse (ROI) creation for selecting only the breast region, used in the quantification in the algorithm for MRI images

Analysis of liposubstitution of breast tissue

With the first step completed, we then applied the algorithm to the mammography database images. We separated the database into four age ranges, 40 to 49, 50 to 59, 60 to 69, and over 70 years old. We were then able to analyze the liposubstitution of breast tissue in the female population over the age. Each age group had a similar number of patients within them.

Figure 5A shows the input image of the quantifier algorithm and figure 5B shows the first segmentation suffered in the image to remove background noise and expose only biological tissues.

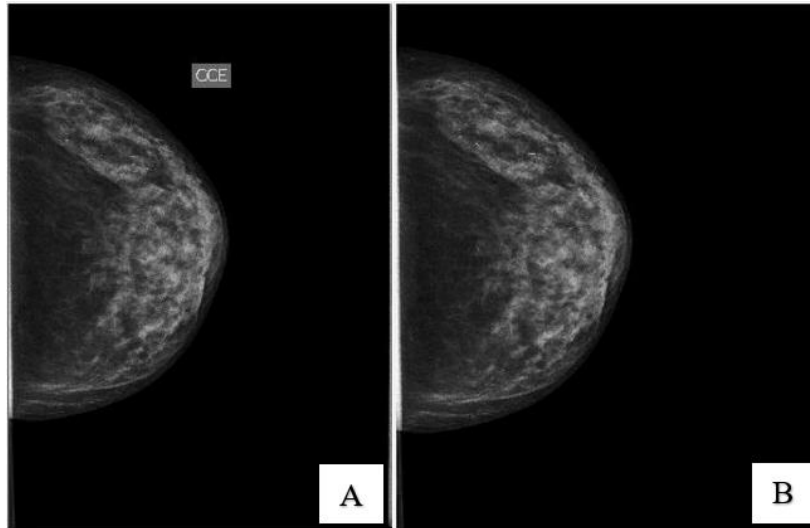


Figure 5. Figure (A) shows the real image, which we used as input to the algorithm in DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) format. After inputting the original image, the first segmentation performed removes background noise and shows only biological tissues, such as represented in figure (B).

Figures 6, 8, 9, 10 demonstrated the liposubstitution over age. Each figure showed the age range on the x-axis, and the mean quantifications of each group on the y-axis. Since breast tissue is composed either of fibroglandular or adipose tissue, the percentage analysis of both tissues complements each other, thus totaling 100%.

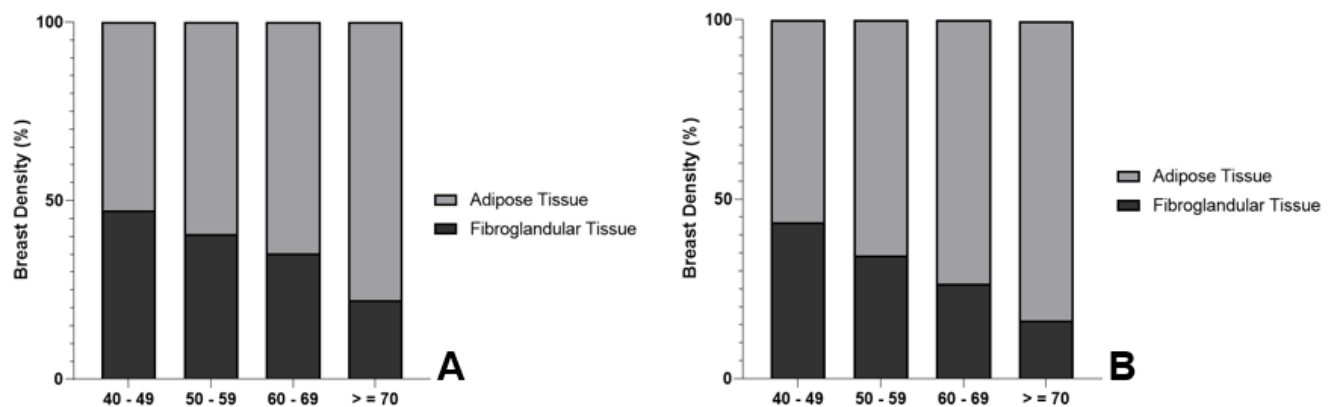


Figure 6. A) Group used for method validation. Comparison between the percentage of fibroglandular and adipose tissue in different age groups, showing tissue liposubstitution over the years, for patients who underwent mammography (n = 45 scans). For patients aged 40 to 49 years the mean was fibroglandular tissue was $47.63\% \pm 7\%$, 50 to 59 years $40,63\% \pm 7\%$, 60 to 69 years $35,22\% \pm 8\%$ and over 70 years $22.23\% \pm 3\%$. B) Group used for method validation.

Comparison between the percentage of fibroglandular and adipose tissue in different age groups, showing tissue liposubstitution over the years, for patients who underwent magnetic resonance imaging (MRI) (n = 45 scans). For patients aged 40 to 49 years the mean was fibroglandular tissue was $43.63\% \pm 8\%$, 50 to 59 years $34,36\% \pm 8\%$, 60 to 69 years $26.53\% \pm 5\%$ and over 70 years $16.21\% \pm 5\%$.

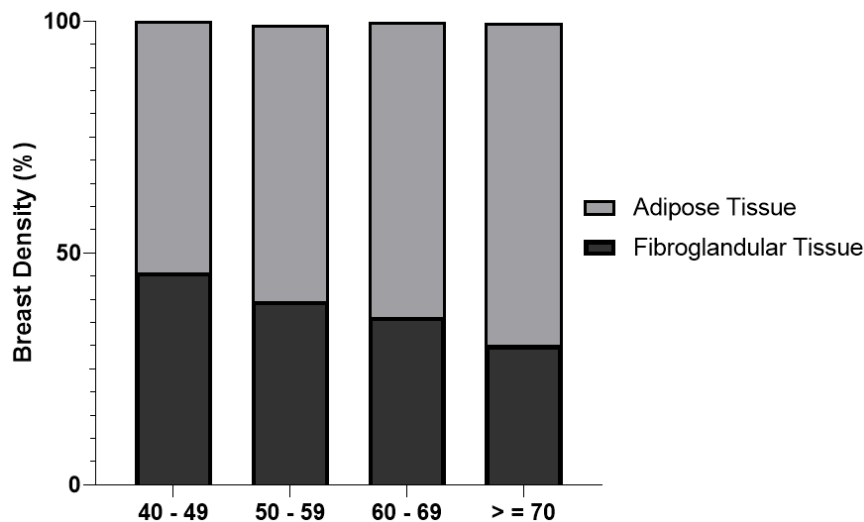


Figure 8. Comparison between the percentage of fibroglandular and adipose tissue in different age groups, thus showing tissue liposubstitution over the years, for patients who underwent mammography CR (n = 200 scans). For patients aged 40 to 49 years the mean was fibroglandular tissue was $45.86\% \pm 14\%$, 50 to 59 years $39.69\% \pm 18\%$, 60 to 69 years $36.13\% \pm 13\%$ and over 70 years $30.13\% \pm 12\%$.

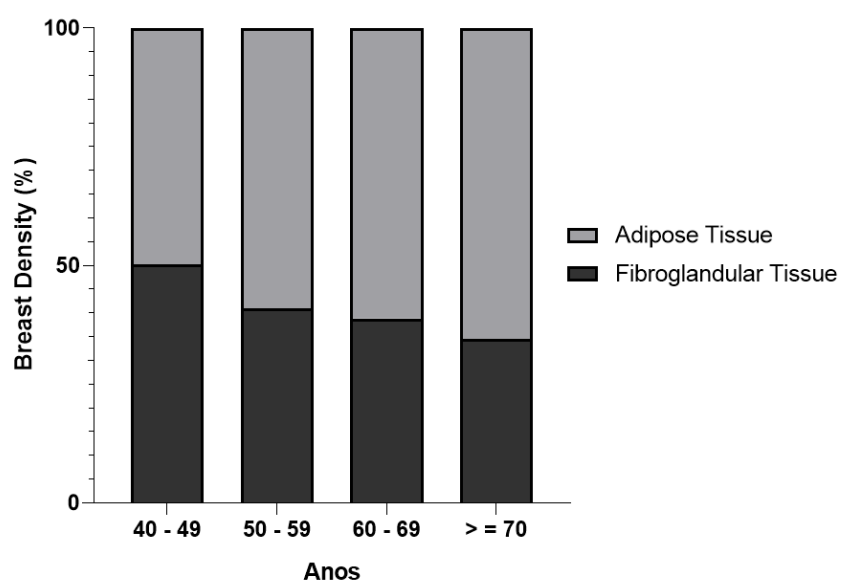


Figure 9. Comparison between the percentage of fibroglandular and adipose tissue in different age groups, thus showing tissue liposubstitution over the years, for patients who underwent the mammography exam FFDM (n=85 exams). For patients aged 40 to 49 years the mean was fibroglandular tissue was 50.25% ± 9%, 50 to 59 years 40.96% ± 10%, 60 to 69 years 38.83% ± 10% and over 70 years 34.55% ± 11%.

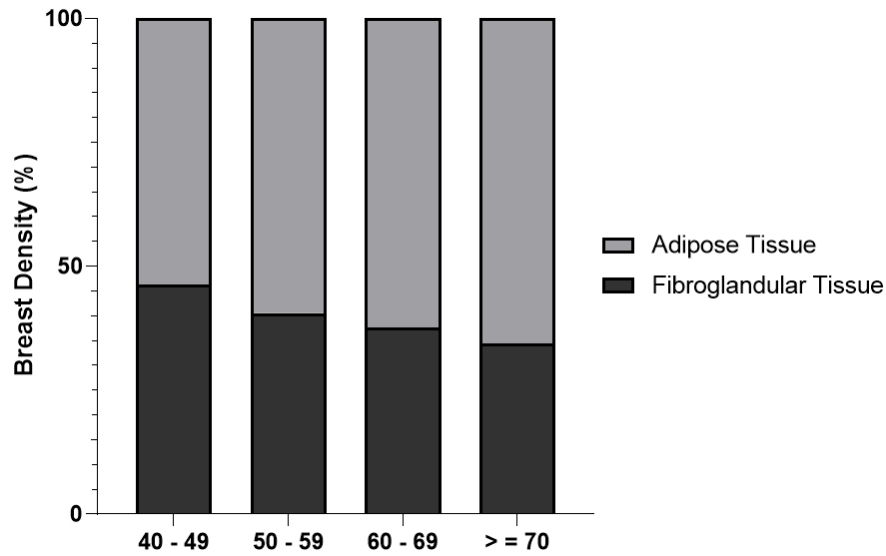


Figure 10. Comparison between the percentage of fibroglandular and adipose tissue in different age groups, thus showing tissue liposubstitution over the years, for patients who underwent the mammography exam CR and FFDM (n=285 exams).

Statistical analysis

All statistical analyzes were processed using Matlab® 2021, Orange Canva, and Python software. To assess the accuracy of the quantification algorithm in mammography, the 45 PBD results were compared with the direct MRI quantification, which was used as gold standard. Figure 7 shows a correlation between mammography and MRI. Statistical linear regressions and mean percentage differences were measured based on data from both modalities. Pearson's correlation coefficient was also calculated. In addition, we monitored the computational time to estimate PBD for the 45 patients.

Results

In the validation step, 45 patients who met the inclusion criteria were analyzed. This step was performed to validate the algorithm that quantifies breast tissues in mammography. Thus, we used a quantification algorithm for MRI exams as described in the flowchart in Figure 2 and quantified mammography images of the same patients in another algorithm with the operation described in the flowchart in Figure 1. The quantification of MRI patients was divided into age groups of ten years intervals. The quantification data for patients undergoing magnetic resonance imaging are shown in 6B, with their respective means and standard deviations. All percentages describe BD, that is, the percentage of quantified fibroglandular tissue. The magnetic resonance exam quantifies the two breasts in the axial projection and exposes the density result separately from each breast. Therefore, as we used the left CC projection in the mammography exam, we selected the left breast resonance quantifications to compare the results. In comparison, the patients quantified by the mammography algorithm resulted for the same age groups as shown in the Figure 6A, as their mean values with standard deviation.

For the analysis between the MRI and CR methodologies, a linear regression was performed, which presented $R^2 = 0.8491$, as shown in Figure 7. The mean percentage of errors between the techniques was $3,73\% \pm 5,66\%$, and the Pearson correlation was acquired with a value of 0.9214. These results showed a strong association between the methodologies, thus validating the mammographic PBD estimation.

Quantifications of the percentage of breast density performed in mammography exams are shown in Figure 6A, which is where we were able to analyze and corroborate the hypothesis that, over the years, breast tissues are liposubstituted and become predominantly adipose.

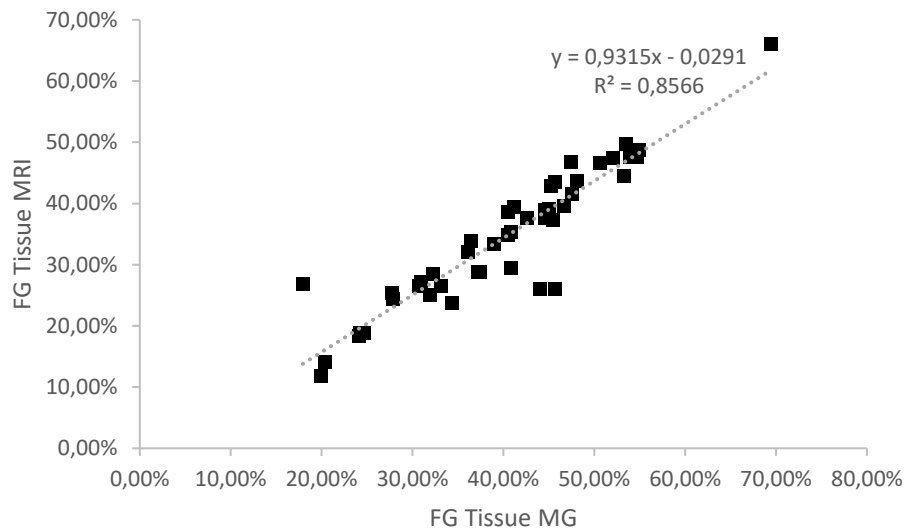


Figure 7. Comparison between Fibroglandular Tissue (FG) quantification from Mammograms (MG) and Magnetic Resonance Imaging (MRI).

It is important to notice that the quantification in mammography was based on a single image, the left craniocaudal (CC) view. On the other hand, the quantification on the MRI was based on the complete image sequence, with an average of 110 slices per patient.

After validation, we quantified 200 patients using a CR system and another 85 using a FFDM system. For the quantifications performed in the mammography algorithm, Figure 5A shows the image we used as input to the algorithm, in DICOM format. The first segmentation step applied a median filter, to remove the background noise. Therefore highlighting the tissues we want to analyze, as shown in Figure 5B. The quantification of fibroglandular and adipose tissue in the CR system was organized into

age groups, as shown in Figure 8. For patients in the FFDM system, the quantification of fibroglandular and adipose tissue was established in Figure 9, along with the respective mean and standard deviation. Although many countries do not utilize CR technology anymore, it is still used on a large scale in Brazil. According to INCA (National Cancer Institute), it is estimated that 68.4% of CR technology is in use in Brazil. This profile was an assessment from 2017 to August 2021.

The average computational time required to estimate the PBD was 180 ± 39 seconds, calculated on a computer workstation with an Intel Core i7-9700KF processor with 3.60 GHz and 16 GB of RAM. Through quantifications both in the validation method and in the comparison method, we were able to analyze the tissue liposubstitution over the years. Results clearly demonstrated the trend of liposubstitution while advancing age.

Discussion

The results obtained were satisfactory, as we were able to achieve the objective of this work. As mentioned above, the diagnosis made by radiology professionals is subjective and based on visual perception. This subjectivity of the diagnosis can vary due to observer's level of experience (72). Because of this subjectivity, an algorithm can bring an objective, reproducible and low-cost operating tool. Our results provided the quantification of breast tissue with higher precision. Thus, making it an auxiliary tool for diagnosis. This accuracy was determined both in the validation step and in the comparison with the observer's analysis.

The developed algorithm is predominantly automatic, although interaction with the operator is required in two steps. They are at the beginning, to correctly chose the image, and at the end of the application, to remove the pectoral muscle. If necessary, a ROI must be created to remove the pectoral muscle. Another interesting feature is that the algorithm not only estimates the percentage of breast density, but also highlights the fibroglandular tissue mask quantified in an image. Therefore, it is worth noting that the operator will not only have access to the result, but also will visualize the estimated volume providing visual agreement with the tissue area classified as fibroglandular in comparison to the original image. This demonstrates that the tool is of great importance to assist radiologists to improve the accuracy of breast density classification.

In this work, we chose to quantify breast density through a computational tool called SDNR (Differential Signal Noise Ratio). The tool was used as a proposal to estimate the volume of a 2D image. This feature was added because the evaluation of an image in 2D projection could result in a percentage value that does not take into account the thickness of the breast, thus leading to an underestimation or overestimation of the density. Therefore, a 45% density quantification in a breast with a thickness of 4.5 cm will be different from that of a breast with a thickness of 6 cm. Therefore, this tool will run pixel by pixel analyzing the average differential signal to noise ratio, so that the segmented image has better definition. This feature was necessary, as some patient information is generally not available in the DICOM header of the CR system. Some examples of these parameters are exposure factors (kVp, mAs), compressed breast thickness, compression force and post-processing setting. All these parameters influence the pixel intensity. In FFDM mammography systems, exposure factors and breast thickness can be found through the DICOM header. This information is used in existing

software to facilitate the estimation of PBD (8, 73-77). In CR systems, such parameters are not recorded in the DICOM information, and it is an additional challenge to estimate PBD. In this work, we emphasize that the quantification algorithm for both CR and FFDM was identical. We do not use any additional information for the quantification of PBD.

Another issue that should be highlighted is that although the CR system has become obsolete in many countries, it is still widely used in Brazil. Despite the limitations of a CR system (such as resolution, noise and linearity), the results presented by the developed tool showed that our methodology is in agreement with the literature when compared to full-field digital mammograms (8, 11, 46). It is important to note that raw data is often deleted, and only the processed format is available on FFDM workstations (69). As such, our study is significant in developing countries where CR is the predominantly available system. The methodology can be applied to any CR system. One limitation is that this methodology has not yet been tested in women with breast implants.

During the validation process, we quantified the breast density of the magnetic resonance imaging, which already results in a volumetric percentage, as the algorithm quantifies the patient slice by slice (on average 100 slices per patient). The quantification of the mammography density was performed on an image in the left craniocaudal (CC) projection. We performed the quantification in only one breast, because as our database is composed of asymptomatic women without mastectomy, we would have duplicated results. We also did not do it in the oblique medial lateral projection (MLO) because in this projection, a 2D image can result in overlapping pixels, thus, overestimating the breast density. In this validation process, the same 45

patients who underwent magnetic resonance imaging and mammography were evaluated at an interval of at most two months. Thus, after the validation step, we tested the algorithm for different breast densities, for both acquisition techniques, CR and FFDM. Therefore, in this phase, the algorithm proved to be reproducible, objective, reliable and of low operational cost. There are some scientific studies that aim to quantify breast tissue(8, 22, 48). However, some were not reproducible, as presented below. For breasts classified as predominantly adipose tissue, or extremely dense breasts, the algorithm was unreliable, underestimating and overestimating when compared to the fundamental truth (8). Other studies use projections of areas, which can overlap structures, causing a false positive for the diagnosis of cancer. In addition to possibly overestimating BD (46).

The literature shows different methodologies for estimating breast density based on area or volume using FFDM mammography systems. Gubern-Merida et al. compared a commercial software (Volpara) to estimate breast density in full-field digital mammograms with MRI scans. In this study, they estimated the volumetric density of the breast and the volume of fibroglandular tissue. Pearson's coefficient for volumetric breast density and fibroglandular tissue volume was 0.93 and 0.85, respectively. In the linear regression analysis, the results of both measures were 0.84 (8). Wang et al. studied the agreement between three approaches to estimating breast density: single-energy X-ray absorptiometry, Quantra, and Volpara. As a result of the comparison between the approaches and volumetric magnetic resonance, the linear regression of the percentage of fibroglandular tissue was 0.78, 0.51 and 0.73 for single energy X-ray absorptiometry, Quantra and Volpara (46), respectively. Holland et al. developed a methodology to optimize the estimation of volumetric breast density in

full-field digital mammograms and compared their results with magnetic resonance imaging. Different approaches were tested and the best results obtained for the percentage of density reached Pearson's correlation coefficients of 0.9 (11).

In parallel with the quantification of BD, we can analyze another behavior, which is the liposubstitution of the tissues that make up the breast throughout aging. Liposubstitution occurs naturally, but it can be affected by different factors such as: smoking, alcohol abuse, sedentary lifestyle, menstruation before age of 12, obesity in adulthood, not getting pregnant, having the first child after age of 35, use of medication for long-term hormonal replacement and hereditary factors. However, a healthy woman tends to undergo liposubstitution of 2% per year, starting at age of 50, on average(34). Thus, when analyzing our results, we can support the hypothesis that, over the years, breast tissues are liposubstituted and become predominantly adipose. This behavior can be clearly seen in figures 6, 7, 9, 10 and 11. Where over the years we see a decrease in breast density.

Analysis of tissue liposubstitution over the years of breast cancer screening is necessary, as the risk of developing malignant neoplasms is associated with an increased volume of this tissue (8, 62). In addition to the risk associated with breast density, breasts with this characteristic can also hide calcifications and lesions and, therefore, reduce the sensitivity of mammography in detecting cancer. (7, 11).

The statistical analysis to compare the two methods, linear regression, showed a strong association and low dispersion between the variables. The mean percentage difference between the current PBD assessment and the MRI measurements can be

attributed to the influence of tissue overlap (adipose and fibroglandular) in the determination of SDNR in mammographic images.

However, this analysis was of great importance, as this factor is one of the predictors for the diagnosis of breast cancer. Lu et al., 2012; Gubern-Merida et al., 2014 show that women with extremely dense breast tissue are 4 to 6 times more likely to develop cancer. In addition to reducing the sensitivity of the exam and consequently hiding any lesion or calcification. We have seen that, over the years, there is a trend towards liposubstitution of breast tissue. It becomes less and less dense (fibroglandular tissue) and the predominance of adipose tissue increases.

Conclusions

In this work, we have proposed an objective, reliable and reproducible method to estimate the PBD in mammography CR and FFDM exams. We proposed an approach based on breast tissue evidence of the processed image, followed by tissues segmentation through Otsu thresholding and estimate of PBD by SDNR. Results of estimate PBD in mammography were compared measuring breast tissues in MRI exams. Low difference between mammogram and MRI measurement was observed.

As a conclusion, results showed small difference between the developed methodology for mammography systems and MRI measurements. Our tool demonstrated to be efficient and applicable for the PBD estimation. The tool may be used for research proposes and in clinical routine to help physicians in diagnostic decisions. The algorithm provides an objective quantification that corroborates the BI-RADS breast density analysis.

Funding

Pina, D. R. received funding from a Brazilian agency named *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ* (Process Number 440113/2020-2) and also from *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Fapesp* (Process Number 2020/05539-9). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript

REFERENCES

1. Duggan C, Dvaladze A, Rositch AF, Ginsburg O, Yip CH, Horton S, et al. The Breast Health Global Initiative 2018 Global Summit on Improving Breast Healthcare Through Resource-Stratified Phased Implementation: Methods and overview. *Cancer*. 2020;126:2339-52.
2. Teixeira LA, Araújo LA. Câncer de mama no Brasil: medicina e saúde pública no século XX. *Saúde e Sociedade*. 2020;29.
3. Youlten DR, Cramb SM, Dunn NA, Muller JM, Pyke CM, Baade PDJCe. The descriptive epidemiology of female breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality. 2012;36(3):237-48.
4. Guerra MR, Nogueira MC, Malta DC, Côrrea CSL, de Souza MdFM, Curado MP, et al. Inequalities in the burden of female breast cancer in Brazil, 1990–2017. *Population health metrics*. 2020;18(1):1-13.
5. Acharya A, Sounderajah V, Ashrafian H, Darzi A, Judah GJPM. A systematic review of interventions to improve breast cancer screening health behaviours. 2021:106828.
6. Warner EJNEJoM. Breast-cancer screening. 2011;365(11):1025-32.
7. Radiology ACo. ACR. Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADSTM) Third Reston, VA. 1998.
8. Assi V, Warwick J, Cuzick J, Duffy SW. Clinical and epidemiological issues in mammographic density. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;9(1):33-40. doi: 10.1038/nrclinonc.2011.173. PubMed PMID: 22143145.

9. Wang J, Azziz A, Fan B, Malkov S, Klifa C, Newitt D, et al. Agreement of mammographic measures of volumetric breast density to MRI. *PloS one*. 2013;8(12):e81653.
10. Schousboe JT, Kerlikowske K, Loh A, Cummings SR. Personalizing mammography by breast density and other risk factors for breast cancer: analysis of health benefits and cost-effectiveness. *Ann Intern Med*. 2011;155(1):10-20. doi: 10.7326/0003-4819-155-1-201107050-00003. PubMed PMID: 21727289; PubMed Central PMCID: PMC3759993.
11. Keller BM, Nathan DL, Wang Y, Zheng Y, Gee JC, Conant EF, et al. Estimation of breast percent density in raw and processed full field digital mammography images via adaptive fuzzy c-means clustering and support vector machine segmentation. *Med Phys*. 2012;39(8):4903-17. doi: 10.1118/1.4736530. PubMed PMID: 22894417; PubMed Central PMCID: PMC3416877.
12. van der Waal D, den Heeten GJ, Pijnappel RM, Schuur KH, Timmers JM, Verbeek AL, et al. Comparing Visually Assessed BI-RADS Breast Density and Automated Volumetric Breast Density Software: A Cross-Sectional Study in a Breast Cancer Screening Setting. *PLoS One*. 2015;10(9):e0136667. doi: 10.1371/journal.pone.0136667. PubMed PMID: 26335569; PubMed Central PMCID: PMC4559403.
13. Tagliafico A, Tagliafico G, Tosto S, Chiesa F, Martinoli C, Derchi LE, et al. Mammographic density estimation: comparison among BI-RADS categories, a semi-automated software and a fully automated one. *Breast*. 2009;18(1):35-40. doi: 10.1016/j.breast.2008.09.005. PubMed PMID: 19010678.
14. Freer PE. Mammographic breast density: impact on breast cancer risk and implications for screening. *Radiographics*. 2015;35(2):302-15. doi: 10.1148/rg.352140106. PubMed PMID: 25763718.
15. Kerlikowske K, Scott CG, Mahmoudzadeh AP, Ma L, Winham S, Jensen MR, et al. Automated and Clinical Breast Imaging Reporting and Data System Density Measures Predict Risk for Screen-Detected and Interval Cancers: A Case-Control Study. *Ann Intern Med*. 2018;168(11):757-65. doi: 10.7326/M17-3008. PubMed PMID: 29710124.
16. Brandt KR, Scott CG, Ma L, Mahmoudzadeh AP, Jensen MR, Whaley DH, et al. Comparison of Clinical and Automated Breast Density Measurements: Implications for Risk Prediction and Supplemental Screening. *Radiology*. 2016;279(3):710-9. doi: 10.1148/radiol.2015151261. PubMed PMID: 26694052; PubMed Central PMCID: PMC4886704.
17. Raghavendra A, Sinha AK, Le-Petross HT, Garg N, Hsu L, Patangan M, Jr., et al. Mammographic breast density is associated with the development of contralateral breast cancer. *Cancer*. 2017. doi: 10.1002/cncr.30573. PubMed PMID: 28135395.

18. Nicholson BT, LoRusso AP, Smolkin M, Bovbjerg VE, Petroni GR, Harvey JA. Accuracy of assigned BI-RADS breast density category definitions. *Academic radiology*. 2006;13(9):1143-9.
19. Gubern-Merida A, Kallenberg M, Platel B, Mann RM, Martí R, Karssemeijer N. Volumetric breast density estimation from full-field digital mammograms: a validation study. *PloS one*. 2014;9(1):e85952.
20. Winkler NS, Raza S, Mackesy M, Birdwell RL. Breast density: clinical implications and assessment methods. *Radiographics*. 2015;35(2):316-24. doi: 10.1148/rg.352140134. PubMed PMID: 25763719.
21. Kim S-G. A Comparative Study of CR and DR for Mammography Images. *Journal of Radiation Industry*. 2019;13(3):281-6.
22. Palazuelos G, Trujillo S, Romero J. Breast tomosynthesis: the new age of mammography. *Rev Colomb Radiol*. 2014;25(2):3926-33.
23. Jaglan P, Dass R, Duhan M. Breast cancer detection techniques: issues and challenges. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series B*. 2019;100(4):379-86.
24. Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach MO, Lehman CD, et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2007;57(2):75-89. Epub 2007/03/30. doi: 10.3322/canjclin.57.2.75. PubMed PMID: 17392385.
25. Urban LABD, Schaefer MB, Duarte DL, Santos RPd, Maranhão NMdA, Kefalas AL, et al. Recomendações do Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem, da Sociedade Brasileira de Mastologia e da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia para rastreamento do câncer de mama por métodos de imagem. *Radiologia brasileira*. 2012;45:334-9.
26. Bleyer A, Welch HG. Effect of three decades of screening mammography on breast-cancer incidence. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(21):1998-2005.
27. Byng JW, Boyd NF, Fishell E, Jong RA, Yaffe MJ. Automated analysis of mammographic densities. *Phys Med Biol*. 1996;41(5):909-23. PubMed PMID: 8735257.
28. Lu LJ, Nishino TK, Johnson RF, Nayeem F, Brunder DG, Ju H, et al. Comparison of breast tissue measurements using magnetic resonance imaging, digital mammography and a mathematical algorithm. *Phys Med Biol*. 2012;57(21):6903-27. doi: 10.1088/0031-9155/57/21/6903. PubMed PMID: 23044556; PubMed Central PMCID: PMC3493153.
29. Yaffe MJ. Mammographic density. Measurement of mammographic density. *Breast Cancer Res*. 2008;10(3):209. doi: 10.1186/bcr2102. PubMed PMID: 18598375; PubMed Central PMCID: PMC2481498.

30. Highnam R, Brady M, Shepstone B. A representation for mammographic image processing. *Med Image Anal.* 1996;1(1):1-18. PubMed PMID: 9873918.
31. Pawluczyk O, Augustine BJ, Yaffe MJ, Rico D, Yang J, Mawdsley GE, et al. A volumetric method for estimation of breast density on digitized screen-film mammograms. *Med Phys.* 2003;30(3):352-64. Epub 2003/04/04. PubMed PMID: 12674236.
32. Morrish OW, Tucker L, Black R, Willsher P, Duffy SW, Gilbert FJ. Mammographic breast density: comparison of methods for quantitative evaluation. *Radiology.* 2015;275(2):356-65. doi: 10.1148/radiol.14141508. PubMed PMID: 25559234.
33. Burton A, Byrnes G, Stone J, Tamimi RM, Heine J, Vachon C, et al. Mammographic density assessed on paired raw and processed digital images and on paired screen-film and digital images across three mammography systems. *Breast Cancer Research.* 2016;18(1):130. doi: 10.1186/s13058-016-0787-0.
34. Vachon CM, Fowler EE, Tiffenberg G, Scott CG, Pankratz VS, Sellers TA, et al. Comparison of percent density from raw and processed full-field digital mammography data. *Breast Cancer Res.* 2013;15(1):R1. doi: 10.1186/bcr3372. PubMed PMID: 23289950; PubMed Central PMCID: PMC3672765.
35. Ganesan K, Acharya UR, Chua KC, Min LC, Abraham KT. Pectoral muscle segmentation: a review. *Comput Methods Programs Biomed.* 2013;110(1):48-57. Epub 2012/12/29. doi: S0169-2607(12)00282-9 [pii] 10.1016/j.cmpb.2012.10.020. PubMed PMID: 23270962.
36. Ahmed MN, Yamany SM, Mohamed N, Farag AA, Moriarty T. A modified fuzzy c-means algorithm for bias field estimation and segmentation of MRI data. *IEEE transactions on medical imaging.* 2002;21(3):193-9.
37. Holland K, Gubern-Mérida A, Mann RM, Karssemeijer N. Optimization of volumetric breast density estimation in digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology.* 2017;62(9):3779.
38. van Engeland S, Snoeren PR, Huisman H, Boetes C, Karssemeijer N. Volumetric breast density estimation from full-field digital mammograms. *IEEE transactions on medical imaging.* 2006;25(3):273-82.
39. Gweon HM, Youk JH, Kim J-A, Son EJJAJoR. Radiologist assessment of breast density by BI-RADS categories versus fully automated volumetric assessment. 2013;201(3):692-7.
40. Alonzo-Proulx O, Jong R, Yaffe M. Volumetric breast density characteristics as determined from digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology.* 2012;57(22):7443.

41. Alonzo-Proulx O, Packard N, Boone JM, Al-Mayah A, Brock K, Shen S, et al. Validation of a method for measuring the volumetric breast density from digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology*. 2010;55(11):3027.
42. Geeraert N, Klausz R, Cockmartin L, Muller S, Bosmans H, Bloch IJPiM, et al. Comparison of volumetric breast density estimations from mammography and thorax CT. 2014;59(15):4391.
43. Schmachtenberg C, Hammann-Kloss S, Bick U, Engelken FJA. Intraindividual comparison of two methods of volumetric breast composition assessment. 2015;22(4):447-52.
44. Alonzo-Proulx O, Mawdsley GE, Patrie JT, Yaffe MJ, Harvey JAJR. Reliability of automated breast density measurements. 2015;275(2):366-76.
45. Figueira RNM, Santos ÂId, Camargo ME, Koch HAJRB. Fatores que influenciam o padrão radiológico de densidade das mamas. 2003;36:287-92.
46. Seo J, Ko E, Han B-K, Ko EY, Shin JH, Hahn SY. Automated volumetric breast density estimation: a comparison with visual assessment. *Clinical radiology*. 2013;68(7):690-5.

Referências

1. Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, Willett W. Breast cancer. *New England Journal of Medicine*. 1992;327(5):319-28.
2. Acharya A, Sounderajah V, Ashrafian H, Darzi A, Judah GJPM. A systematic review of interventions to improve breast cancer screening health behaviours. 2021:106828.
3. Teixeira LA, Araújo LA. Câncer de mama no Brasil: medicina e saúde pública no século XX. *Saúde e Sociedade*. 2020;29.
4. Delgado-Ramos GM, Nasir SS, Wang J, Schwartzberg LSJBCR, Treatment. Real-world evaluation of effectiveness and tolerance of chemotherapy for early-stage breast cancer in older women. 2020;182:247-58.
5. Amendola LCB, Vieira RJRBdC. A contribuição dos genes BRCA na predisposição hereditária ao câncer de mama. 2005;51(4):325-30.
6. Freitas Júnior R, Koifman S, Santos NRM, Nunes MOA, Melo GGd, Ribeiro ACG, et al. Conhecimento e prática do auto-exame de mama. 2006;52:337-41.
7. Seo J, Ko E, Han B-K, Ko EY, Shin JH, Hahn SY. Automated volumetric breast density estimation: a comparison with visual assessment. *Clinical radiology*. 2013;68(7):690-5.
8. Gubern-Merida A, Kallenberg M, Platel B, Mann RM, Martí R, Karssemeijer N. Volumetric breast density estimation from full-field digital mammograms: a validation study. *PloS one*. 2014;9(1):e85952.
9. Lu L-JW, Nishino TK, Johnson RF, Nayeem F, Brunder DG, Ju H, et al. Comparison of breast tissue measurements using magnetic resonance imaging, digital mammography and a mathematical algorithm. *Physics in Medicine & Biology*. 2012;57(21):6903.
10. van Engeland S, Snoeren PR, Huisman H, Boetes C, Karssemeijer N. Volumetric breast density estimation from full-field digital mammograms. *IEEE transactions on medical imaging*. 2006;25(3):273-82.
11. Holland K, Gubern-Mérida A, Mann RM, Karssemeijer N. Optimization of volumetric breast density estimation in digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology*. 2017;62(9):3779.
12. Malkov S, Mahmoudzadeh AP, Kerlikowske K, Shepherd J, editors. Automated volumetric breast density derived by statistical model approach. *International Workshop on Digital Mammography*; 2014: Springer.
13. Darlington AJ. Anatomy of the breast. *Digital Mammography*: Springer; 2015. p. 3-10.

14. Melo JSS. Arquitetura orientada a serviços para integração de tecnologias aplicadas a um atlas tridimensional interativo da anatomia mamária. 2012.
15. Jesinger RAJTiv, radiology i. Breast anatomy for the interventionalist. 2014;17(1):3-9.
16. Pandya S, Moore RGJCo, gynecology. Breast development and anatomy. 2011;54(1):91-5.
17. Mercer C, Kelly J, Hogg P. Digital Mammography: A Holistic Approach: Springer; 2015.
18. Jeffreys M, Warren R, Highnam R, Davey Smith GJBjoc. Breast cancer risk factors and a novel measure of volumetric breast density: cross-sectional study. 2008;98(1):210-6.
19. Highnam R, Brady M. Mammographic image analysis: Springer Science & Business Media; 1999.
20. Alvares BR, de Andrade Freitas CH, Jales RM, de Almeida OJ, Marussi EFJRB. Densidade mamográfica em mulheres menopausadas assintomáticas: correlação com dados clínicos e exames ultrassonográficos. 2012;45(3):149-54.
21. Santos LdOMd, Biondo-Simões MdLP, Ioshii SOJRbdgeo. Efeito dos estrógenos conjugados e da medroxiprogesterona sobre a mama: estudo experimental. 2001;23:507-13.
22. Nicholson BT, LoRusso AP, Smolkin M, Bovbjerg VE, Petroni GR, Harvey JA. Accuracy of assigned BI-RADS breast density category definitions. Academic radiology. 2006;13(9):1143-9.
23. Orel SG, Kay N, Reynolds C, Sullivan DC. BI-RADS categorization as a predictor of malignancy. Radiology. 1999;211(3):845-50.
24. Oliveira EXGd, Pinheiro RS, Melo ECP, Carvalho MSJC, coletiva s. Condicionantes socioeconômicos e geográficos do acesso à mamografia no Brasil, 2003-2008. 2011;16(9):3649-64.
25. Alves AFF, de Arruda Miranda JR, Neto FAB, Duarte SB, de Pina DR. Construction of pediatric homogeneous phantoms for optimization of chest and skull radiographs. European journal of radiology. 2015;84(8):1579-85.
26. Chala LF, Barros NdJRB. Avaliação das mamas com métodos de imagem. SciELO Brasil; 2007. p. 4-6.
27. Dance DR. Diagnostic Radiology Physics A handbook for teachers and students. 2014.
28. Bushberg JT, Boone JM. The essential physics of medical imaging: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

29. Rowlands JJPim, biology. The physics of computed radiography. 2002;47(23):R123.
30. Kim S-G. A Comparative Study of CR and DR for Mammography Images. Journal of Radiation Industry. 2019;13(3):281-6.
31. Pinheiro MA, de Almeida CD, Peixoto JE, Valverde MdAS, Marin AVJBJoRS. Análise das tecnologias e doses glandulares médias em mamografia no Brasil no período de 2011 a 2016. 2018;6(3).
32. Furquim TA, Costa PRJRbdfm. Garantia de qualidade em radiologia diagnóstica. 2009;3(1):91-9.
33. Souza AVd, Nunes PF. Controle de qualidade em mamografia digital. 2021.
34. Figueira RNM, Santos ÂId, Camargo ME, Koch HAJRB. Fatores que influenciam o padrão radiológico de densidade das mamas. 2003;36:287-92.
35. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. IEEE transactions on systems, man, and cybernetics. 1979;9(1):62-6.
36. Liu D, Yu J, editors. Otsu method and K-means. 2009 Ninth International Conference on Hybrid Intelligent Systems; 2009: IEEE.
37. Wu G, Mainprize JG, Yaffe MJ. Characterization of a constrained paired-view technique in iterative reconstruction for breast tomosynthesis. Medical Physics. 2013;40(10):101901.
38. Bernhardt P, Mertelmeier T, Hoheisel M. X-ray spectrum optimization of full-field digital mammography: Simulation and phantom study. Medical Physics. 2006;33(11):4337-49.
39. Kruger R, editor Analysis and comparison of the signal difference to noise ratio (SDNR), signal difference (SD), and the signal to noise ratio (SNR): evaluating the suitability of the SD and SDNR as MRI quality control parameters. Proceedings of the 22nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (Cat No 00CH37143); 2000: IEEE.
40. Duggan C, Dvaladze A, Rositch AF, Ginsburg O, Yip CH, Horton S, et al. The Breast Health Global Initiative 2018 Global Summit on Improving Breast Healthcare Through Resource-Stratified Phased Implementation: Methods and overview. Cancer. 2020;126:2339-52.
41. Youliden DR, Cramb SM, Dunn NA, Muller JM, Pyke CM, Baade PDJCe. The descriptive epidemiology of female breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality. 2012;36(3):237-48.
42. Guerra MR, Nogueira MC, Malta DC, Côrrea CSL, de Souza MdFM, Curado MP, et al. Inequalities in the burden of female breast cancer in Brazil, 1990–2017. Population health metrics. 2020;18(1):1-13.

43. Warner EJNEJoM. Breast-cancer screening. 2011;365(11):1025-32.
44. Radiology ACo. ACR. Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS™) Third Reston, VA. 1998.
45. Assi V, Warwick J, Cuzick J, Duffy SW. Clinical and epidemiological issues in mammographic density. Nature reviews Clinical oncology. 2011;9(1):33-40.
46. Wang J, Azziz A, Fan B, Malkov S, Klifa C, Newitt D, et al. Agreement of mammographic measures of volumetric breast density to MRI. PLoS One. 2013;8(12):e81653.
47. Schousboe JT, Kerlikowske K, Loh A, Cummings SR. Personalizing mammography by breast density and other risk factors for breast cancer: analysis of health benefits and cost-effectiveness. Ann Intern Med. 2011;155(1):10-20.
48. Keller BM, Nathan DL, Wang Y, Zheng Y, Gee JC, Conant EF, et al. Estimation of breast percent density in raw and processed full field digital mammography images via adaptive fuzzy c-means clustering and support vector machine segmentation. Med Phys. 2012;39(8):4903-17.
49. van der Waal D, den Heeten GJ, Pijnappel RM, Schuur KH, Timmers JM, Verbeek AL, et al. Comparing Visually Assessed BI-RADS Breast Density and Automated Volumetric Breast Density Software: A Cross-Sectional Study in a Breast Cancer Screening Setting. PLoS One. 2015;10(9):e0136667.
50. Tagliafico A, Tagliafico G, Tosto S, Chiesa F, Martinoli C, Derchi LE, et al. Mammographic density estimation: comparison among BI-RADS categories, a semi-automated software and a fully automated one. Breast. 2009;18(1):35-40.
51. Freer PE. Mammographic breast density: impact on breast cancer risk and implications for screening. Radiographics. 2015;35(2):302-15.
52. Kerlikowske K, Scott CG, Mahmoudzadeh AP, Ma L, Winham S, Jensen MR, et al. Automated and Clinical Breast Imaging Reporting and Data System Density Measures Predict Risk for Screen-Detected and Interval Cancers: A Case-Control Study. Ann Intern Med. 2018;168(11):757-65.
53. Brandt KR, Scott CG, Ma L, Mahmoudzadeh AP, Jensen MR, Whaley DH, et al. Comparison of Clinical and Automated Breast Density Measurements: Implications for Risk Prediction and Supplemental Screening. Radiology. 2016;279(3):710-9.
54. Raghavendra A, Sinha AK, Le-Petross HT, Garg N, Hsu L, Patangan M, Jr., et al. Mammographic breast density is associated with the development of contralateral breast cancer. Cancer. 2017.
55. Winkler NS, Raza S, Mackesy M, Birdwell RL. Breast density: clinical implications and assessment methods. Radiographics. 2015;35(2):316-24.

56. Palazuelos G, Trujillo S, Romero J. Breast tomosynthesis: the new age of mammography. *Rev Colomb Radiol.* 2014;25(2):3926-33.
57. Jaglan P, Dass R, Duhan M. Breast cancer detection techniques: issues and challenges. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series B.* 2019;100(4):379-86.
58. Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach MO, Lehman CD, et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA: a cancer journal for clinicians.* 2007;57(2):75-89.
59. Urban LABD, Schaefer MB, Duarte DL, Santos RPd, Maranhão NMdA, Kefalas AL, et al. Recomendações do Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem, da Sociedade Brasileira de Mastologia e da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia para rastreamento do câncer de mama por métodos de imagem. *Radiologia brasileira.* 2012;45:334-9.
60. Bleyer A, Welch HG. Effect of three decades of screening mammography on breast-cancer incidence. *New England Journal of Medicine.* 2012;367(21):1998-2005.
61. Byng JW, Boyd NF, Fishell E, Jong RA, Yaffe MJ. Automated analysis of mammographic densities. *Phys Med Biol.* 1996;41(5):909-23.
62. Lu LJ, Nishino TK, Johnson RF, Nayeem F, Brunder DG, Ju H, et al. Comparison of breast tissue measurements using magnetic resonance imaging, digital mammography and a mathematical algorithm. *Phys Med Biol.* 2012;57(21):6903-27.
63. Yaffe MJ. Mammographic density. Measurement of mammographic density. *Breast Cancer Res.* 2008;10(3):209.
64. Highnam R, Brady M, Shepstone B. A representation for mammographic image processing. *Med Image Anal.* 1996;1(1):1-18.
65. Pawluczyk O, Augustine BJ, Yaffe MJ, Rico D, Yang J, Mawdsley GE, et al. A volumetric method for estimation of breast density on digitized screen-film mammograms. *Med Phys.* 2003;30(3):352-64.
66. Morrish OW, Tucker L, Black R, Willsher P, Duffy SW, Gilbert FJ. Mammographic breast density: comparison of methods for quantitative evaluation. *Radiology.* 2015;275(2):356-65.
67. Burton A, Byrnes G, Stone J, Tamimi RM, Heine J, Vachon C, et al. Mammographic density assessed on paired raw and processed digital images and on paired screen-film and digital images across three mammography systems. *Breast Cancer Research.* 2016;18(1):130.
68. Vachon CM, Fowler EE, Tiffenberg G, Scott CG, Pankratz VS, Sellers TA, et al. Comparison of percent density from raw and processed full-field digital mammography data. *Breast Cancer Res.* 2013;15(1):R1.

69. Ganesan K, Acharya UR, Chua KC, Min LC, Abraham KT. Pectoral muscle segmentation: a review. *Comput Methods Programs Biomed.* 2013;110(1):48-57.
70. Ahmed MN, Yamany SM, Mohamed N, Farag AA, Moriarty T. A modified fuzzy c-means algorithm for bias field estimation and segmentation of MRI data. *IEEE transactions on medical imaging.* 2002;21(3):193-9.
71. Jesus EO, Costa Jr RJPSotBSoc, Mathematics A. A utilização de filtros gaussianos na análise de imagens digitais. 2015;3(1).
72. Gweon HM, Youk JH, Kim J-A, Son EJJAJoR. Radiologist assessment of breast density by BI-RADS categories versus fully automated volumetric assessment. 2013;201(3):692-7.
73. Alonzo-Proulx O, Jong R, Yaffe M. Volumetric breast density characteristics as determined from digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology.* 2012;57(22):7443.
74. Alonzo-Proulx O, Packard N, Boone JM, Al-Mayah A, Brock K, Shen S, et al. Validation of a method for measuring the volumetric breast density from digital mammograms. *Physics in Medicine & Biology.* 2010;55(11):3027.
75. Geeraert N, Klausz R, Cockmartin L, Muller S, Bosmans H, Bloch IJPiM, et al. Comparison of volumetric breast density estimations from mammography and thorax CT. 2014;59(15):4391.
76. Schmachtenberg C, Hammann-Kloss S, Bick U, Engelken FJA. Intraindividual comparison of two methods of volumetric breast composition assessment. 2015;22(4):447-52.
77. Alonzo-Proulx O, Mawdsley GE, Patrie JT, Yaffe MJ, Harvey JAJR. Reliability of automated breast density measurements. 2015;275(2):366-76.