



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

Kleber Cursino de Andrade

Avaliação de parâmetros metabólicos e marcadores de doença cardiovascular subclínica em novas usuárias não obesas do contraceptivo de acetato de medroxiprogesterona de depósito.

*Evaluation of metabolic parameters and markers of subclinical cardiovascular disease in new non-obese users of depot medroxyprogesterone acetate contraceptive.*

CAMPINAS

2018

# Kleber Cursino de Andrade

Avaliação de parâmetros metabólicos e marcadores de doença cardiovascular subclínica em novas usuárias não obesas do contraceptivo de acetato de medroxiprogesterona de depósito.

*Evaluation of metabolic parameters and markers of subclinical cardiovascular disease in new non-obese users of depot medroxyprogesterone acetate contraceptive.*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP - como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de doutor em Ciências da Saúde. Área de concentração – Saúde Materna e Perinatal.

*Thesis presented to the Post-Graduate Program in Obstetrics and Gynecology of the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas – UNICAMP - as part of the requirements required obtaining the title of Ph.D. in Health Sciences. Concentration Area - Maternal and Perinatal Health.*

**ORIENTADOR: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Arlete Maria dos Santos Fernandes**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO KLEBER CURSINO DE ANDRADE E ORIENTADO PELA Prof.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> ARLETE MARIA DOS SANTOS FERNANDES.

CAMPINAS

2018

## FICHA CATALOGRÁFICA

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2009/ 53293-0

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Ana Paula de Moraes e Oliveira - CRB 8/8985

C939a Cursino de Andrade, Kleber, 1961-  
Avaliação de parâmetros metabólicos e marcadores de doença cardiovascular subclínica em novas usuárias não obesas do contraceptivo de acetato de medroxiprogesterona de depósito / Kleber Cursino de Andrade. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Arlete Maria dos Santos Fernandes.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Contraceção. 2. Doenças cardiovasculares. 3. Acetato de medroxiprogesterona de depósito. 4. Resistência à insulina. 5. Distribuição da gordura corporal. I. Fernandes, Arlete Maria dos Santos, 1959-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

### Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Evaluation of metabolic parameters and markers of subclinical cardiovascular disease in new and non-obese users of depot medroxyprogesterone acetate contraceptive

**Palavras-chave em inglês:**

Contraception

Cardiovascular disease

Depot medroxyprogesterone acetate

Insulin resistance

Body fat distribution

**Área de concentração:** Saúde Materna e Perinatal

**Titulação:** Doutor em Ciências da Saúde

**Banca examinadora:**

Arlete Maria dos Santos Fernandes [Orientador]

Maurício Simões Abrão

Cristina Aparecida Falbo Guazzelli

Adriana Orcesi Pedro Campana

Cristina Laguna Benetti Pinto

**Data de defesa:** 31-01-2018

**Programa de Pós-Graduação:** Tocoginecologia

---

## **BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO**

**KLEBER CURSINO DE ANDRADE**

---

**ORIENTADOR: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ARLETE MARIA DOS SANTOS FERNANDES**

---

### **MEMBROS:**

- 1. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. Arlete Maria dos Santos Fernandes**
  - 2. PROF<sup>o</sup>. DR<sup>o</sup>. Maurício Simões Abrão**
  - 3. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. Cristina Aparecida Falbo Guazzelli**
  - 4. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. Cristina Laguna Benetti Pinto**
  - 5. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. Adriana Orcesi Pedro Campana**
- 

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

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca  
examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

**DATA DA DEFESA: 31/01/2018**

---

## DEDICATÓRIA

À minha família que sempre compartilhou comigo o fascínio pela ciência ...

*“A ciência é a tentativa de fazer com que a diversidade caótica da nossa experiência sensível corresponda a um sistema lógico uniforme de pensamento.”*

Einstein (1950).

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mulher Elizete, meus filhos Helena e Álvaro, por me darem a referência da volta a vida produtiva quando estou submerso.

À minha orientadora, Dra. Arlete Fernandes, pelas palavras sempre oportunas e pertinentes, pelo exemplo de determinação e coragem.

Aos meus professores, em especial Dr. Guilherme Cecatti, pelos conhecimentos transferidos, mas principalmente pelo comportamento ético.

À Priscilla e à Waleska, minhas amigas de pós-graduação, pela ajuda com o agendamento e encaminhamento das voluntárias ao Setor de Diagnóstico por Imagem.

Ao CEMICAMP, pela excelente infraestrutura de trabalho e à amizade de sua equipe.

À secretária de pós-graduação, pelo excelente profissionalismo.

Ao Departamento de Tocoginecologia, pelo total comprometimento à pesquisa científica brasileira, reconhecimento concretizado pela posição que ocupa.

À equipe do Ambulatório de Planejamento Familiar, pelo trabalho incansável, pela dedicação aos interesses das mulheres.

Às voluntárias da pesquisa pela participação solidária, já que sabiam que este estudo poderia ajudar mulheres em todo mundo, exemplo a ser seguido.

A todos os meus amigos, que são muitos, por compartilharem suas experiências, seus conhecimentos e espero que tenha sido recíproco.

A todos da empresa onde trabalho, Medical Center Diagnose, que conseguiu reunir pessoas com o mesmo objetivo: buscar o bem comum.

A UNICAMP, por matar minha sede diária de conhecimento.

## RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCV) estão entre as principais causas de mortalidade global. Nos Estados Unidos as taxas de mortalidade por DCV em mulheres nas faixas de idade de 35-54 anos não têm mostrado a redução esperada. O número de mulheres nos estudos ainda é pequeno e falta conhecimento sobre o impacto na saúde cardiovascular dos ciclos gestacionais e do uso de compostos hormonais para contracepção/terapias por períodos longos de tempo. **Objetivos:** avaliar o metabolismo de carboidratos e marcadores de DCV em mulheres não obesas, durante o primeiro ano de uso do contraceptivo de acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD). **Métodos:** estudo prospectivo não randomizado, comparativo, conduzido no Ambulatório de Planejamento Familiar e no Serviço de Ecografia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, entre 02/2011 e 02/2013. Mulheres com 18-40 anos e índice de massa corporal (IMC)  $<30 \text{ kg/m}^2$ , recrutadas a partir de Unidades Básicas de Saúde, realizaram teste de pós-carga com 75 mg glicose via oral (OGTT). Foram incluídas aquelas que apresentaram OGTT normal e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os critérios de exclusão foram diagnóstico/antecedente de Diabetes Mellitus, período de aleitamento, hipertensão arterial, hiper/hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, hirsutismo/hiperandrogenismo, Síndrome do Ovário Policístico, uso crônico de corticosteróides, antipsicóticos, tiazídicos e estatinas, antecedente de transplante de órgão, cirurgia bariátrica e omentectomia. As mulheres puderam escolher utilizar o AMPD ou o dispositivo intrauterino com cobre (DIU) e compuseram dois grupos pareados por idade ( $\pm 1$ ) e IMC ( $\pm 1$ ), seguidos durante 12 meses. Realizou-se avaliação de peso, IMC, composição corporal por densitometria (DXA), medidas da cintura, pressão arterial e ultrassonográficas da espessura da íntima-média da artéria carótida e dos compartimentos de gordura abdominal (GA), dosagens séricas dos perfis glicêmico e lipídico, ácidos graxos livres, apolipoproteínas A-1 e B-100, adipocinas IL-6, TN-alfa, leptina, adiponectina, PCR e cálculo do índice HOMA. **Resultados:** Apresentaram-se 290 mulheres, 72 com critérios para inclusão e 56 (31 grupo AMPD e 25 DIU) foram analisadas com relação ao metabolismo de carboidratos, semestralmente. O grupo AMPD mostrou elevação nos níveis séricos de insulina, HOMA, circunferência da cintura e IMC, quando comparado ao grupo

DIU. Analisando-se as 30 mulheres sem resistência insulínica, o grupo AMPD mostrou aumento de triglicérides aos 12 meses em relação ao grupo DIU. Entre 37 mulheres, as medidas ultrassonográficas de GA, realizadas no basal e aos 12 meses, apresentaram forte correlação com as medidas de composição corporal e antropométricas, e com as concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol, APO B-100 e PCR. **Conclusões:** Não foram observados efeitos cardiovasculares significativos no primeiro ano de uso do AMPD nesta amostra; o aumento de triglicérides foi interpretado como variação provocada por alterações no metabolismo da glicose. HOMA, peso corporal e circunferência da cintura foram parâmetros clínicos importantes para o monitoramento das usuárias de AMPD. A ultrassonografia poderá ser ferramenta viável para identificar indivíduos com aumento de gordura corporal e risco cardiovascular; sendo necessários estudos futuros para confirmação desses resultados, padronização de locais de aferição e pontos de corte relacionados ao possível risco para DCV.



## ABSTRACT

One of the main causes of global death is cardiovascular disease (CVD). In the United State of America the mortality rates have not decreased as expected in women between 35 and 54 years old. In general, the studies are performed with a small number of women in the sample composition and lack knowledge about specifically female characteristics and their interaction in cardiovascular health, such as the use of hormonal contraceptives for a prolonged time. **Objectives:** To evaluate carbohydrate metabolism and markers of CVD in the first year of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) for contraceptive use. **Methods:** Prospective, not randomized comparative study conducted in the Family Planning Clinic and Ultrasound Unit of the Department of Obstetrics and Gynecology, University of Campinas Medical School, between 02/2011-02/2013. Women aged 18-40 years and body mass index (BMI)  $<30 \text{ kg/m}^2$ , recruited from Basic Health Units, performed a post-load test with 75 mg oral glucose (OGTT). Those that presented normal OGTT and agreed to participate were included in the study. The exclusion criteria were diagnosis/history of diabetes mellitus, lactation period, hypertension, hyper/hypothyroidism, chronic renal failure, hirsutism/hyperandrogenism, polycystic ovarian syndrome, chronic use of corticosteroids, antipsychotics, thiazides and statins, history of organ transplantation, bariatric surgery and omentectomy. Women were able to choose to use the DMPA or copper intrauterine device (IUD) and composed two matched groups by age ( $\pm 1$ ) and BMI ( $\pm 1$ ), followed for 12 months. Were evaluated weight, BMI, body composition (BC), waist circumference, blood pressure and ultrasound measurements of the carotid intimal medial thickness and abdominal fat compartments (AF), serum levels of lipid and glycemic profiles, free fatty acids, apolipoproteins A-1 and B-100, adipokines IL-6, TN-alpha, leptin, adiponectin, C-reactive protein (CRP) and HOMA index, at baseline and 12 months. **Results:** 290 women were enrolled, of which 72 met the criteria for inclusion and only 56 women (31-DMPA group and 25-IUD group) were analyzed with regard to carbohydrate metabolism at baseline and after 6 and 12 months. The DMPA group showed elevated serum levels of insulin, HOMA, waist circumference and BMI when compared to the IUD group. The analysis of 30 women without insulin resistance, diagnosed by hyperinsulemic euglycemic clamp, the DMPA group showed increase of triglycerides at 12 months when compared to the IUD group. Among 37 women,

ultrasonography measurements of AF at baseline and 12 months showed a strong correlation with BC and anthropometric measurements, and serum concentrations of total cholesterol, LDL- chol, APO B-100 and CRP. **Conclusions:** No significant cardiovascular effects were observed in the first year of DMPA use in this sample; the increase in triglycerides was interpreted as a variation caused by changes in glucose metabolism. HOMA, body weight and waist circumference were important clinical parameters for the monitoring of DMPA users. Ultrasonography may be a viable tool to identify individuals with increased body fat and cardiovascular risk and future studies are required to confirm these results, to standardize measurement sites and cut-off points related to the possible risk for CVD.

## RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) están entre las principales causas de mortalidad global. En los Estados Unidos las tasas de mortalidad por ECV en mujeres en las franjas de edad de 35-54 años no han mostrado la reducción esperada. El número de mujeres en los estudios sigue siendo pequeño y falta conocimiento sobre el impacto en la salud cardiovascular de los ciclos gestacionales y del uso de compuestos hormonales para anticoncepción / terapias por períodos largos. **Objetivos:** evaluar el metabolismo de los carbohidratos y los marcadores de ECV en las mujeres no obesas sanas durante el primer año de uso del anticonceptivo de acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD). **Métodos:** estudio prospectivo no randomizado, comparativo, conducido en el Ambulatorio de Planificación Familiar y en el Servicio de Ecografía del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Ciencias Médicas / UNICAMP, entre 02/2011 y 02/2013. Las mujeres con 18-40 años e índice de masa corporal (IMC)  $<30 \text{ kg / m}^2$ , reclutadas a partir de Unidades Básicas de Salud, realizaron una prueba de poscarga con 75 mg de glucosa por vía oral (OGTT). Se incluyeron aquellas que presentaron OGTT normal y firmar el Término de Consentimiento Libre y Esclarecido. Los criterios de exclusión fueron diagnóstico / antecedente de Diabetes Mellitus, período de lactancia, hipertensión arterial, hiper / hipotiroidismo, insuficiencia renal crónica, hirsutismo / hiperandrogenismo, Síndrome del ovario poliquístico, uso crónico de corticosteroides, antipsicóticos, tiazídicos y estatinas, antecedente de trasplante de órgano, cirugía bariátrica y omocotomía. Las mujeres pudieron elegir utilizar el AMPD o el dispositivo intrauterino con cobre (DIU) y compusieron dos grupos pareados por edad ( $\pm 1$ ) e IMC ( $\pm 1$ ), seguidos durante 12 meses. Se realizó una evaluación de peso, IMC, composición corporal por densitometría (DXA), medidas de la cintura, presión arterial y ultrasonográficas del espesor de la intima-media de la arteria carótida y de los compartimentos de grasa abdominal (GA), dosificaciones séricas de los perfiles glucémico y los lípidos, los ácidos grasos libres, las apolipoproteínas A1 y B-100, adipocinas IL-6, TN-alfa, leptina, adiponectina, PCR y cálculo del índice HOMA. **Resultados:** Se presentaron 290 mujeres, 72 con criterios para inclusión y 56 (31 grupo AMPD y 25 DIU) fueron analizadas con relación al metabolismo de carbohidratos, semestralmente. El grupo AMPD mostró elevación en los niveles séricos de insulina, HOMA, circunferencia de

la cintura e IMC, en comparación con el grupo DIU. Al analizar las 30 mujeres sin resistencia insulínica, el grupo AMPD mostró aumento de triglicéridos a los 12 meses en relación al grupo DIU. Entre 37 mujeres, las medidas ultrasonográficas de GA, realizadas en el basal ya los 12 meses, presentaron una fuerte correlación con las medidas de composición corporal y antropométrica, y con las concentraciones séricas de colesterol total, LDL colesterol, APO B-100 y PCR. **Conclusiones:** No se observaron efectos cardiovasculares significativos en el primer año de uso del AMPD en esta muestra; el aumento de triglicéridos se interpretó como variación provocada por cambios en el metabolismo de la glucosa. HOMA, peso corporal y circunferencia de la cintura fueron parámetros clínicos importantes para el monitoreo de las usuarias de AMPD. La ultrasonografía puede ser una herramienta viable para identificar individuos con aumento de grasa corporal y riesgo cardiovascular; siendo necesarios estudios futuros para confirmar estos resultados, estandarización de lugares de medición y puntos de corte relacionados con el posible riesgo para ECV.

## ABREVIATURAS E SIGLAS

### ABREVIATÓES GERAIS

AGL - Ácidos graxos livres

AMPD - Acetato de medroxiprogesterona de depósito

Apo - Apolipoproteína

AVC - Acidente Vascular Cerebral

CEH - Clamp Euglicêmico Hiperinsulinêmico

cm - Centímetros

DCV - Doença cardiovascular

DIU TCu - Dispositivo Intrauterino com Cobre

DM - Diabetes mellitus

DMF - Dilatação mediada por fluxo

DXA – Densitometria por absorciometria de raios X de dupla energia

EP - Embolia pulmonar

g - Grama

GTN - Trinitrato de gliceril

HAS- Hipertensão arterial sistêmica

HDL – Lipoproteína de alta densidade

IAM - Infarto agudo de miocárdio

IL-6 - Interleucina 6

IMC - Índice de Massa Corporal

IMT – *Intimal media tickness*

Índice M - Consumo de glicose em estado de repouso em mg/kg/min

Kcal - Quilocalorias

kg - Quilograma

L/A = Razão leptina / adiponectina

LARC - *Long Acting Reversible Contraception*

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

m - Metro

MAC – Método anticoncepcional

mg/dl – Miligrama por decilitro

mm Hg – Milímetros de mercúrio

mmol/l – Milimoles por litro

MP- Medroxiprogesterona

mU/ml – Miliunidades por mililitro

NET - Enantato de noretisterona

NPY - Neuropeptídeo Y

OGTT - Teste oral de sobrecarga de glicose

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCR - Proteína C-reativa

RI – Resistência à insulina

SIU-LNG - Sistema intrauterino de levonorgestrel

SOP – Síndrome do Ovário Policístico

TEV- Tromboembolismo venoso

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

TVP - Trombose venosa profunda

UBS - Unidades Básicas de Saúde

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

# SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA.....	III
RESUMO .....	VII
ABSTRACT.....	IX
RESUMEN .....	XI
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	17
Gordura corporal, biomarcadores inflamatórios, RI e DCV .....	24
Apolipoproteínas (Apo) e DCV .....	27
Porque estudar o tema AMPD e DCV.....	28
2. OBJETIVOS.....	31
2.1. Geral.....	31
2.2. Específicos.....	31
3. SUJEITOS E MÉTODO.....	32
3.1 Desenho do estudo .....	32
3.2 Critérios de inclusão.....	32
3.3 Critérios de exclusão .....	33
3.4 Cálculo amostral.....	33
3.5 Variáveis .....	34
3.5.1 Variáveis Independentes .....	34
3.5.2 Variáveis Dependentes.....	34
3.5.3 Variáveis de Controle.....	38
4. RESULTADOS .....	40
ARTIGO 1 .....	41
ARTIGO 2 .....	50
ARTIGO 3 .....	74
5. DISCUSSÃO GERAL .....	98
6. CONCLUSÕES .....	102
7. REFERÊNCIAS.....	103
8. ANEXOS .....	111
Anexo 1- Parecer Comitê de Ética em Pesquisa.....	111
Anexo 2 - Fluxograma das amostras de mulheres estudadas.....	113
Anexo 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 1 .....	114
Anexo 4 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 2 .....	117

Anexo 5 - Listagem de inclusão .....	119
Anexo 6 - Ficha de coleta de dados do ultrassom .....	120
Anexo 7 - Autorização para inclusão do artigo publicado na tese.....	121



## 1. INTRODUÇÃO

Os contraceptivos somente com progestagênios são considerados seguros, com efeitos colaterais de pouca relevância clínica, o que, associado ao baixo custo e à facilidade de uso, tem contribuído para se tornarem amplamente utilizados por mulheres em todo o mundo (1).

Os compostos sintéticos utilizados na prática clínica e nomeados como progestinas/progestógenos/progestagênios, são classificados de acordo com o esteroide do qual derivam: a) da testosterona (derivados 19-nortestosterona) e b) da progesterona (derivados da 17-OH Progesterona e da 19-norprogesterona). Os efeitos dos progestagênios estão relacionados à sua interação com diferentes receptores, como os androgênicos (acne, metabolismo de lípedes), os glicocorticoides (metabolismo da glicose) e os mineralocorticoides (retenção hídrica, elevação de peso). Já os progestagênios com efeitos antiandrogênicos podem competir pelo receptor de androgênio ou ligar-se à enzima 5-alfaredutase e diminuir a conversão da testosterona em diidrotestosterona, seu metabólito ativo (2).

Entre os derivados da 19-nortestosterona estão os grupos estranos: Noretisterona e seus metabólitos; estrano/pregnano: Dienogest; e o grupo gonanos: Levonorgestrel, Desogestrel, Gestodeno e Norgestimato. Os derivados da 17-OH Progesterona são a Medroxiprogesterona, Ciproterona, Clormadinona e Megestrol. Os derivados da 19-norprogesterona são descritos como moléculas progestacionais puras, ligando-se mais seletivamente ao receptor de progesterona e interferindo muito pouco com receptores de outros esteroides, são eles o Nestorone, Nomegestrol, Trimegestone e Promegestone (2-3).

Especificamente, a medroxiprogesterona (MP) é um derivado da 17-OH progesterona com intenso efeito hipoestrogênico, leve ação androgênica (2) e tem sido descrita atividade glicocorticoide quando administrada em altas doses (4) .

O acetato de medroxiprogesterona na forma de depósito (AMPD) foi proposto para uso contraceptivo a partir de 1967 (5), e seu uso foi aprovado nos Estados Unidos pela *Food and Drug Administration* somente em 1992. É um método reversível que pode ser utilizado por mulheres durante a lactação e por aquelas que têm contraindicação ou que não querem utilizar estrógenos. Uma única dose administrada via intramuscular e utilizada trimestralmente confere alta eficácia de contracepção, com taxas de falha entre 0,25 e 0,30 por 100 mulheres/ano, sendo

similares à eficácia da esterilização tubária, implantes subdérmicos e ao dispositivo intrauterino com cobre (DIU) (6).

Além disso, sua eficácia contraceptiva não parece ser afetada por uso concomitante de outros medicamentos ou pelo peso corporal da usuária, o que torna mulheres com diferentes comorbidades candidatas ao uso do método (7).

### **AMPD e doença cardiovascular (DCV)**

O AMPD tem sido considerado como opção segura para contracepção em mulheres com hipertensão arterial e outras doenças cardíacas, em especial aquelas com alto risco para resultado gestacional adverso (8). Os critérios de elegibilidade médica da Organização Mundial de Saúde (OMS) classificam a indicação de uso da AMPD como categoria três para mulheres com hipertensão arterial sistêmica (HAS,  $\geq 160$  mm Hg de sistólica e/ou  $\geq 100$  mmHg de diastólica), presença de múltiplos riscos para doença cardiovascular (DCV) arterial (idade avançada, tabagismo, diabetes mellitus - DM, HAS e dislipidemias), doença vascular, história de doença isquêmica cardíaca, acidente vascular cerebral (AVC), trombose venosa profunda (TVP) e embolia pulmonar (EP). Isso quer dizer que o método, em geral, não é recomendado, a menos que outros métodos anticoncepcionais (MAC) não estejam disponíveis ou não sejam aceitos pela mulher (9)

Estudo para determinar o efeito do AMPD sobre a pressão arterial e o peso corporal avaliou 140 usuárias de 20-35 anos com tempo de uso do método de 3-5 anos e comparou-as com 60 usuárias de contracepção não hormonal, todas não fumantes e não obesas e sem DCV e/ou DM (10). A pressão arterial sistólica e diastólica observada foi maior no grupo de usuárias de AMPD, entretanto sem diferença significativa, enquanto o peso foi significativamente maior em relação ao grupo de comparação (10-11). Outros estudos também sugeriram ganho de peso corporal com aumento da massa gorda relacionado ao uso de AMPD (12-13).

Altas taxas de LDL são reconhecidas como fator de risco independente para o desenvolvimento da arteriosclerose e DCV(14) enquanto a diminuição sérica do HDL não provoca ação aterogênica direta, entretanto partículas remanescentes o fazem (15). O aumento na concentração sérica de triglicérides, no jejum e no período pós-prandial provocado por dietas hipercalóricas, é indicativo de aumento na concentração de lipoproteínas ricas em triglicérides, incluindo partículas remanescentes ricas em colesterol. Na situação de jejum, a hipertrigliceridemia está

associada positivamente à morbidade/mortalidade coronariana enquanto a elevação no período pós-prandial tem sido associada ao estado de risco para doença coronariana (15-16-17-18-19).

Um estudo de metanálise que buscou determinar associações entre o nível sanguíneo de triglicérides e mortalidade por DCV/todas as causas, avaliou 17.018 mortes por DCV em 726.030 participantes e 58.419 mortes por todas as causas entre 330.566 participantes, descreveu que ambas as situações de morte aumentaram diretamente a partir do valor de referência de triglicérides séricos nas faixas normal, limítrofe e alta. Concluiu ainda que o risco de morte por DCV subiu 13% e para todas as causas de morte subiu 12% para cada incremento de 1mmol/l na concentração sérica de triglicérides (21).

Estudos para avaliação do metabolismo de lípedes e da glicose relacionados ao uso de anticoncepcionais somente com progestagênios foram escassos até os anos de 1980. A partir dessa década, estudos sobre o metabolismo de lípedes em usuárias de AMPD têm mostrado resultados controversos. Um estudo descreveu leve diminuição de HDL colesterol e elevação leve de triglicérides e VLDL colesterol após altas doses de AMPD (1g/semana durante seis meses) para tratamento de carcinoma de endométrio, e os resultados foram atribuídos à ação secundária da droga sobre o metabolismo de carboidratos (22).

Entre os estudos com a dose utilizada para anticoncepção através de injeção intramuscular trimestral (AMPD 150 mg/12 semanas), vários pesquisadores publicaram resultados negativos. Um deles avaliou o efeito do AMPD sobre o metabolismo de lípedes, tolerância à glicose (utilizando teste de tolerância de sobrecarga endovenoso) e função hepática em 12 usuárias tailandesas saudáveis durante 12 meses e concluiu que a droga não provocou nenhuma alteração nos parâmetros estudados, considerando-a segura ao uso por mulheres com contraindicação ao uso de contraceptivos combinados (23).

Em um estudo de coorte, 57 usuárias de AMPD com idade de 26-45 anos, distribuídas por tempo de uso do método (5-6 anos, 7-8 anos e nove anos), foram comparadas com 24 não usuárias saudáveis e avaliados os efeitos metabólicos induzidos pelo uso método (24). Os resultados sugeriram que o uso do AMPD por longo tempo poderia aumentar o peso corporal, afetar a concentração de triglicérides, insulina, fosfatase alcalina e cortisol, entretanto, sem efeitos deletérios nos demais testes do metabolismo lipídico e da função hepática. Também descreveu

que as 4/57 mulheres que haviam apresentado curva de tolerância à glicose alterada, retornaram com curva normal após até 23 meses da descontinuação do método (24).

Um estudo de coorte avaliou 14 usuárias crônicas ( $\geq$ cinco anos de uso) e oito novas usuárias de AMPD com relação a parâmetros séricos do metabolismo em amostras coletadas durante o período de ação de uma dose (92 dias) e descreveu que ambos os grupos diminuíram concentrações séricas de colesterol total e HDL, não significativamente, e mantiveram o colesterol LDL inalterado. O estudo concluiu que o uso crônico ou inicial do método não induzia a maiores anormalidades nas lipoproteínas (25).

O primeiro estudo que reportou sobre risco para DCV e o uso de métodos anticoncepcionais somente com progestagênios, utilizados por via oral e injetável, avaliou também usuárias de injetável mensal combinado e foi realizado pela OMS em 21 centros de 17 países na África, Ásia, Europa e América Latina(26). Foram avaliados 3.694 eventos em mulheres de 15-49 anos admitidas para tratamento hospitalar no período de 1989 a 1993, 2.196 (59%) episódios de AVC, 1.137 (31%) de TVP e 364 (10%) de infartos agudos de miocárdio (IAM) em 53 usuárias de progestagênio oral, 37 de progestagênio injetável e 13 de injetáveis combinados. Comparadas com 9.997 não usuárias controles pareadas o *odds ratio* ajustado para todas as DCV não foi diferente entre os métodos estudados; o estudo sugeriu que existe um pequeno ou nenhum aumento de risco para AVC, TVP ou IAM associados ao uso de contraceptivos somente com progestagênios e/ou injetável mensal combinado (26)

Um estudo de coorte de base populacional realizado na Noruega avaliou parâmetros lipídicos de 30.636 mulheres de 40-42 anos, em uso com progestagênios (2.463 usuárias de sistema intrauterino de levonorgestrel, SIU-LNG, 256 usuárias de noretisterona 35  $\mu$ g, 123 usuárias de AMPD, 76 de lynestrenol 5  $\mu$ g, 20 usuárias de levonorgestrel de 30  $\mu$ g e 62 mulheres usuárias de diferentes progestagênios em preparações de uso oral descontinuo), 7.114 usuárias de DIU com cobre e 20.522 mulheres não usuárias de compostos hormonais ou DIU (27). Entre os resultados foi consistente a associação entre o regime de progestagênio puro e baixas concentrações de HDL; entretanto, como as usuárias de AMPD tenderam a ser menos educadas, com estado de saúde e hábitos dietéticos mais pobres, e mais frequentemente fumantes, foi sugerido que os fatores de risco

metabólico desta população estivessem mais associados aos problemas de saúde e outros fatores confundidores do que relacionados ao uso do método (28).

Por outro lado, vários estudos mostraram alteração significativa no metabolismo de carboidratos e/ou lípedes. Um deles avaliou 157 usuárias de AMPD durante período médio de 43 meses que foram comparadas a 166 controles pareadas por etnia, idade, paridade e altura e descreveu valores anormais para a curva da glicose em 9,2%, colesterol 7%, triglicérides 1,3%, área de insulina em 4%(29). Embora tenha referido não haver diferença nos riscos, sugeriu que o método deveria ser utilizado por menor tempo, em torno de 2 anos, com pausa para reavaliação do metabolismo de lípedes e da glicose (29).

Um estudo prospectivo de 12 meses avaliou dois grupos de usuárias de contraceptivos injetáveis com progestagênios, 24 usuárias de AMPD e 18 usuárias de enantato de noretisterona (NET-EN, 200 mg a cada 8 semanas) com relação ao colesterol total e frações, triglicérides, fosfolípides e apolipoproteínas (Apo) A1 e B durante o seguimento (30). Somente 16 usuárias de AMPD e 8 usuárias de NET-EN concluíram o estudo, entre os resultados ambos os grupos apresentaram diminuição de HDL (15% e 30% para usuárias de AMPD e NET-EN, respectivamente) e diminuição transitória da Apo A1 no primeiro mês, enquanto somente as usuárias de NET-EN apresentaram aumento de LDL. Os autores concluíram sobre o efeito adverso do uso dos progestagênios, particularmente do NET-EN (30).

Estudo multicêntrico, realizado para avaliar o efeito de longo tempo de uso do AMPD sobre o metabolismo de lípedes, com 50 usuárias por 3-9 anos e idade de 25-40 anos, e 120 usuárias de DIU com cobre, recrutadas na Tailândia, Nova Zelândia e México, descreveu mudanças diferentes entre os centros no grupo de AMPD quando comparado ao grupo das usuárias de DIU, mostrando claras diferenças étnicas sobre o metabolismo.(31). Foram avaliadas dosagens de lípedes séricos e apolipoproteínas em período anterior à administração, no dia da administração e após 2, 4, 8 e 13 semanas da administração da dose, correlacionando com nível sérico de AMPD. Entre os resultados foram descritos o aumento do nível sérico de LDL e da Apo B, diminuição do HDL, da Apo A1 e da razão Apo A1/B. Os autores concluíram que o longo tempo de uso induziu a moderadas mudanças no metabolismo de lípedes, desfavoráveis para o risco de aterosclerose, apesar disso, ressaltaram que o efeito da AMPD sobre o metabolismo

de lípedes sugeriu ser mais benéfico em relação aos demais métodos hormonais (31).

Estudo multicêntrico avaliou 893 mulheres de 19-49 anos, 477 iniciavam uso de DMPA e 416 eram controles pareados por idade e nível socioeconômico. O perfil lipídico e glicemia foram avaliados antes do início do AMPD e aos 3, 6, 9 e 12 meses. Os resultados mostraram diferenças significativas em todos os parâmetros do perfil lipídico, a saber, o LDL ( $120,04 \pm 36,2$  versus  $94,27 \pm 19,6$  mg/dl;  $p = 0,000$ ), colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL,  $24,6 \pm 10,0$  versus  $20,99 \pm 8,66$  mg/dl;  $p = 0,000$ ), HDL ( $39,67 \pm 3,6$  versus  $44,13 \pm 4,22$  mg/dl;  $p = 0,000$ ), triglicérides ( $126,33 \pm 48,8$  versus  $99,03 \pm 30,6$  mg/dl;  $p = 0,000$ ), índice Castelli I (colesterol total/HDL, valor normal  $<4,4$ ) ( $4,61 \pm 1,2$  versus  $3,02 \pm 0,31$ ;  $p = 0,000$ ) e o índice Castelli II (LDL/HDL, valor normal  $<2,9$ ) ( $3,08 \pm 1,07$  versus  $2,13 \pm 0,41$ ;  $p = 0,000$ ) entre grupos tratados e controle, respectivamente. Os níveis séricos de glicose foram significativamente maiores ( $p \leq 0,001$ ) entre os casos de AMPD ( $84.6 \pm 7.4$ mg/dl) em comparação com os controles ( $77.8 \pm 7.7$ mg/dl). Os autores concluíram que o uso contínuo de AMPD poderia predispor ao risco de DCV em longo prazo (32).

Um estudo avaliou marcadores de risco cardiometabólico em 10 mulheres obesas e cinco de peso normal antes e após 18 semanas da injeção de formulação de AMPD para administração subcutânea (dose de 104 mg/12 semanas); os resultados no momento basal mostraram maior risco cardiometabólico entre as usuárias obesas quando comparadas às de peso normal (33). Após o seguimento, o grupo de obesas mostrou aumento do IMC, diminuição do HDL e da sensibilidade à insulina após teste de sobrecarga de glicose endovenoso, enquanto não houve mudanças no grupo de peso normal. Os autores concluíram que, embora as usuárias obesas tivessem maior risco inicial, houve significativo declínio na compensação da resistência insulínica, mostrando potencial efeito deletério da AMPD nesse grupo (33).

Em síntese, a literatura tem descrito diminuição nos níveis séricos de HDL com a elevação da dose e tempo de uso do AMPD; e elevação do LDL colesterol (22)-(31)(32); entretanto, sem evidência de efeito cardiovascular adverso (8). Alguns estudos também associaram o aumento de triglicérides e lípedes em usuárias de AMPD às mudanças no metabolismo da glicose (21-23-32).

Décadas atrás estudos epidemiológicos descreviam mulheres jovens com poucos eventos adversos cardiovasculares quando comparadas aos homens na mesma faixa etária (34). O efeito protetor do estrogênio sobre o endotélio vascular tem sido amplamente reconhecido e admitido como contribuidor para as baixas taxas de doença cardiovascular nas mulheres (35).

O principal mecanismo contraceptivo AMPD é a ação central anovulatória com diminuição drástica do estrogênio circulante (5-2). Em vista disso, alguns estudos avaliaram a função endotelial da artéria braquial em usuárias de AMPD. A dilatação mediada por fluxo (DMF) da artéria braquial que mensura a mudança dependente do endotélio, e a independente, após administração do vasodilatador de trinitrato de gliceril (GTN), foi avaliada através de ressonância magnética em 12 usuárias de AMPD por mais de um ano, com idade média de  $29\pm 4$  anos e amenorreicas, que comparadas com nove mulheres controles com ciclos menstruais regulares(36). As medidas foram realizadas antes de uma dose de AMPD e repetidas após 48hs da administração, e durante o meio do ciclo nas nove controles. Os resultados mostraram que a DMF foi significativamente reduzida nas usuárias de AMPD quando comparadas aos controles, e não houve mudança na resposta ao GTN. A piora não esteve associada à concentração sérica de AMPD, enquanto o nível sérico de estradiol foi significativamente associado à DMF ( $r=0,43$ ). A conclusão do estudo foi que usuárias de AMPD tiveram a função arterial dependente do endotélio prejudicada e que a explicação para o possível mecanismo seria o hipoestrogenismo causado durante o uso do método (36).

Um estudo avaliou a DMF da artéria braquial, a medida da espessura da camada íntima-média (IMT), a distensibilidade e o índice de rigidez da artéria carótida de 25 usuárias correntes de anticoncepcional oral combinado (ACO), 25 usuárias de AMPD por pelo menos seis meses e comparou ambos os grupos com 50 não usuárias de métodos hormonais durante os últimos 12 meses anteriores ao estudo (37). Os resultados mostraram que a DMF foi menor em ambos os grupos de usuárias de método hormonal quando comparadas aos controles; o grupo de usuárias de AMPD apresentou menores valores de colesterol total e LDL em relação ao grupo de usuárias de ACO, enquanto as taxas de HDL foram maiores no grupo de não usuárias de método hormonal quando comparados aos dois outros grupos (37).

Um único estudo com adolescentes em início de uso de AMPD avaliou concentrações séricas de adipocitocinas como fator preditivo para o ganho de peso adiposo aos seis meses de uso e concluiu que a adiponectina sérica poderia ser útil para avaliação de risco de ganho de gordura (38). Não existem outros estudos avaliando marcadores inflamatórios em usuárias de AMPD.

### **Gordura corporal, biomarcadores inflamatórios, RI e DCV**

A partir dos anos de 1990, o tecido adiposo corporal passou a ser visto como órgão endócrino produtor de substâncias mediadoras ativas para o controle da homeostase energética (39). O tecido adiposo branco é o maior sítio de armazenamento de energia e é importante para a homeostase energética: eleva a energia na forma de triglicerídeos durante a abundância nutricional e a libera como ácidos graxos livres (AGL) durante a privação nutricional (39-40).

O acúmulo de tecido adiposo durante o desenvolvimento da obesidade é caracterizado pela hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos e é associado com aumento da angiogênese, infiltração de macrófagos, produção de componentes da matriz extracelular, ativação de células endoteliais e produção e liberação de diversos mediadores inflamatórios conhecidos como adipocinas (39). A maior parte das adipocinas inflamatórias é secretada pelos adipócitos e algumas são derivadas dos macrófagos infiltrados no tecido adiposo. A desregulação na função de produção de citocinas, pró e anti-inflamatórias, em indivíduos obesos leva ao estado de inflamação crônica de baixo grau e pode promover desordens metabólicas e, em última instância, a aterosclerose (41-42).

O aumento da secreção de mediadores inflamatórios vistos na gordura visceral também causa a inflamação crônica do próprio tecido adiposo. A ativação das vias inflamatórias nos adipócitos diminui os estoques de triglicerídeos e aumenta a utilização de ácidos graxos livres, que em excesso, induz à resistência à insulina no fígado e no tecido muscular (39).

O aumento da adiposidade está associado ao aumento da interleucina 6 (IL-6), da expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e à diminuição da expressão de adiponectina no tecido adiposo. A IL-6 derivada de adipócitos tem como função principal a promoção da utilização de energia, estimula intensamente o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o gasto energético basal. A IL-6 é uma proteína de 26 Kd com múltiplas funções fisiológicas, especialmente relacionadas à resposta



imunológica e é secretada em vários tecidos. Seus níveis plasmáticos estão elevados em humanos obesos e reduzidos em indivíduos com maior sensibilidade à insulina. A IL-6 diminui a atividade de lipoproteína-lipase tecidual e aumenta a lipólise, contribuindo para a hiperlipidemia da fase aguda das infecções. Ela também atua no sistema nervoso central, como um fator anorexígeno, controlando a hiperfagia. Portanto, os efeitos metabólicos da IL-6 correspondem aos de uma citocina antiobesidade (44).

O TNF- $\alpha$  derivado do tecido adiposo age localmente, mas também parece aumentar a resistência à insulina (RI) sistêmica, por promover a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo para a corrente sanguínea para agirem em outros tecidos, como músculos e fígado, o que por consequência promove a RI em tecidos periféricos (45).

A leptina é produzida quase que exclusivamente pelo tecido adiposo e tem ação na regulação do balanço energético no hipotálamo, ativa o sistema nervoso simpático, e modula a inflamação e o sistema imune nos tecidos periféricos. A adiponectina tem efeito oposto. Seus níveis são negativamente correlacionados com gordura visceral e tem efeitos em diferentes tecidos. Nos músculos, por exemplo, diminui a RI; nas artérias reduz a aterosclerose e espessura da camada íntima média, os níveis de moléculas de adesão e inflamação, previne o recrutamento de macrófagos e formação de células espumosas (46).

Estudos clínicos mostraram que níveis plasmáticos elevados de leptina podem prever eventos cardiovasculares agudos, reestenose após angioplastia coronária e AVC independente dos fatores de risco tradicionais (47). A avaliação da razão leptina/adiponectina foi sugerida como um índice aterosclerótico em pacientes com DM2 e um parâmetro útil para avaliar RI em pacientes com e sem DM (47-48-49-50). Outro estudo para avaliar a relação entre a razão L/A e o IMT de carótida foi realizado com 110 homens saudáveis e concluiu que a razão L/A foi um preditor independente do IMT em indivíduos saudáveis e correlacionou-se com vários parâmetros antropométricos, metabólicos e clínicos melhor do que cada uma delas avaliada separadamente (52).

Em síntese, a condição pró-inflamatória associada ao aumento de IL-6, do TNF-  $\alpha$  e à diminuição da adiponectina sugere associação entre RI e disfunção endotelial no estágio inicial do processo de arteriosclerose em indivíduos obesos e em diabéticos tipo 2. Por outro lado, a redução da massa de tecido adiposo através

da perda de peso associada a exercício físico reduz TNF- $\alpha$ , IL-6 e aumenta adiponectina, melhorando tanto a sensibilidade à insulina quanto a função endotelial (52-53).

Além desses biomarcadores para a predição de primeiros eventos cardiovasculares, a concentração sérica da proteína inflamatória de fase aguda, a proteína C-reativa (PCR), produzida principalmente pelo fígado, tem sido muito discutida como marcador de DCV. Embora a PCR possua considerável variação biológica, já que está relacionada a processos inflamatórios diversos, a elevação da concentração sérica tem sido associada ao maior risco de doença coronária (54-55). Um estudo realizado com 113 indivíduos saudáveis para avaliar medidas trimestrais de PCR e colesterol total mostrou que a dosagem de ambos teve variação semelhante durante todo o seguimento(57).

Uma publicação com 27.939 mulheres saudáveis do *Women's Health Study* indicou o PCR como um preditor de risco mais forte que o LDL, em especial em indivíduos sem clara hiperlipidemia (55). Os resultados determinaram pontos de corte para níveis de PCR < 1mg, 1-3 e >3 mg, os quais corresponderiam aos riscos baixo, médio e elevado para eventos de DCV dos grupos anteriormente definidos para níveis de LDL (55). Os pontos de corte para a avaliação do PCR foram aprovados pela *American Heart Association* e os Centros para Controle e Prevenção de Doenças, (CDC)(56). Embora os níveis de PCR não sejam previsíveis com base nos níveis de LDL, as informações de risco são amplamente complementares ao fornecido pelos níveis de LDL. Estes achados defendem fortemente o uso do rastreio da PCR na prevenção primária para identificar pacientes de alto risco, não identificados pela triagem feita com a concentração do LDL (56).

Um estudo avaliou 52 publicações prospectivas incluindo 246.669 participantes, sem história de DCV, para investigar o valor da adição dos níveis de PCR ou do fibrinogênio aos fatores de risco convencionais para a predição do risco cardiovascular (58). Estimou que entre 100.000 adultos com 40 anos de idade ou mais, 15.025 pessoas seriam inicialmente classificadas como sendo de risco intermediário para um evento cardiovascular se fatores de risco convencionais sozinhos fossem avaliados. Como resultado, a estimativa da avaliação do nível de PCR ou fibrinogênio em pessoas em risco intermediário para um evento cardiovascular poderia prevenir um evento adicional para cada 400 a 500 pessoas ao longo de um período 10 anos (58).

As recomendações mais recentes enfatizam a importância de tratar o colesterol LDL e apoiar a medição dos escores de cálcio da artéria coronária e marcadores inflamatórios para ajudar a estratificar o risco individual, com especial atenção para os indivíduos com diabetes, hipercolesterolemia familiar, mulheres, e jovens com dislipidemia (59).

A associação entre obesidade, RI e risco de DCV foi estudada em 465 voluntários saudáveis determinando as concentrações de glicose plasmática no estado estacionário ao final de uma infusão de 180 minutos de somatostatina, insulina e glicose (60). Seus resultados mostraram que a insulina exerce efeitos seletivos na síntese de proteínas hepáticas, e a RI levaria à síntese aumentada de proteínas de fase aguda, como o fibrinogênio e a PCR (60). O estudo concluiu que, embora o índice de massa corporal (IMC) e insulina estejam relacionados a RI, eles não são sinônimos, e esses parâmetros fazem contribuições independentes e diferentes para aumentar risco CV(60).

Em síntese, estudos têm mostrado que a inflamação crônica precede o desenvolvimento do DM-2 e evidências crescentes sustentam a hipótese de que a inflamação desempenhe um papel no desenvolvimento e na progressão da aterosclerose, havendo um aumento dos marcadores de inflamação anos antes de ocorrer um episódio coronariano. Além disso, alterações no metabolismo de lípedes, em especial o aumento do LDL e de triglicérides, somado à falta de exercícios físicos regulares são fatores associados à DCV, esta última de difícil manejo nas mulheres, tanto por apresentarem quadros atípicos de doença quanto pela falta de estudos específicos sobre fisiopatologia e tratamentos mais eficazes para elas (61).

### **Apolipoproteínas (Apo) e DCV**

As apolipoproteínas são proteínas associadas às partículas de lipoproteínas responsáveis pelo transporte (as lipoproteínas são moléculas hidrofóbicas no meio aquoso plasmático), ligação a receptores específicos na superfície celular direcionando-os aos órgãos-alvo e tecidos, e ativação ou inibição de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico (62).

A Apo A-I atua como cofator para a enzima lecitina colesterol acil transferase e como mediadora na transferência do colesterol das células para as partículas de HDL e constitui o maior componente da partícula de HDL, representa em torno de 45% de sua massa molecular (62). A Apo B está presente nos

quilomícrons como apo B-48 e nas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL), e no LDL como apo B-100, que é responsável pela ligação da lipoproteína ao seu receptor tecidual específico (64). A apo B é a principal proteína funcional para o transporte de colesterol para as células periféricas (65). O LDL é constituído em sua porção proteica por cerca de 90% de apo B (66).

Como o LDL, IDL e VLDL apresentam uma molécula de apo B em sua estrutura (64), a concentração plasmática de apo B é um indicador do número total de partículas potencialmente aterogênicas, correlacionando-se com o nível de colesterol não-HDL (67). A concentração plasmática de apo A-I é fortemente associada com HDL, e a expressão de apo A-I pode ser responsável pela determinação dos níveis plasmáticos de HDL (67). O índice apo B/apo A-I representa o balanço entre as partículas de colesterol potencialmente aterogênicas ricas em apo B e as partículas de colesterol antiaterogênicas ricas em apo A-I.

Os valores preditivos das Apo A-I e B para a doença aterosclerótica estão bem estabelecidos e documentados na literatura; níveis elevados de apo B, diminuição dos níveis de apo A-I e aumento do índice apo B/apo A-I têm sido consistentemente associados ao risco de doença arteriosclerótica (67-66-68-69).

As dosagens das apolipoproteínas apresentam vantagens metodológicas quando comparadas com a quantificação de LDL. Como o LDL é quantificado usando-se como estimativa a equação de Friedewald, e o cálculo depende das dosagens de colesterol total, triglicérides e HDL, os possíveis erros analíticos desses três parâmetros podem aumentar a probabilidade de erros (54).

### **Porque estudar o tema AMPD e DCV**

Invertendo uma tendência das últimas décadas nos EUA, as taxas de mortalidade por DCV em mulheres de 35 a 54 anos aumentaram e uma possibilidade é o efeito da epidemia de obesidade (71). As taxas de DCV são significativamente maior para mulheres negras em comparação com brancas (286,1/100000 versus 205,7/100 000), essa disparidade é atribuída à falta de informação sobre a doença cardíaca e AVC (34).

Os dados sobre o número de mulheres usuárias de AMPD no mundo são escassos. Nos Estados Unidos, a prevalência do uso deste método em mulheres entre 15 a 44 anos em 1995 foi de 1,9%, sendo maior entre mulheres mais jovens

(72). Entre adolescentes no 6º mês pós-parto, a escolha do AMPD como método contraceptivo foi de 43% entre as afro-americanas, 33% entre as mexicano-americanas e 24% nas caucasianas, o que comprova a grande aceitação do método por mulheres jovens de diferentes etnias (73). Resultados recentes do estudo prospectivo CHOICE, com dados coletados de 5.000 mulheres da região de Saint Louis, Missouri, que escolheram método anticoncepcional gratuito e completaram três anos de acompanhamento, mostraram entre as características da amostra que 50% era constituída por mulheres negras, 35% tinha até segundo grau completo e 58% pertenciam a baixo estrato socioeconômico. Entre os resultados, 74,6% das mulheres negras, 47,6% das com baixa escolaridade e 66,9% das de menor nível socioeconômico escolheram o AMPD para contracepção quando foram instadas a escolher entre os métodos LARC (*Long Acting Reversible Contraception*, DIU com cobre, sistema intrauterino liberador de levonorgestrel - SIU-LNG ou implante liberador de etonogestrel) e não LARC (74).

No Brasil, dados de estimativa da prevalência global de uso de métodos anticoncepcionais realizada pelas Nações Unidas descreveram taxa de uso de contracepção de 79% das mulheres casadas ou em união com idade de 15-49 anos; dessas 28,4% e 24,1% estão laqueadas ou utilizam pílulas, respectivamente; 11,9% utilizam condom, e os injetáveis e os DIU são utilizados por 3,9% e 1,9% das brasileiras, respectivamente (75).

Portanto, as características do AMPD têm facilitado seu uso por mulheres que desejam anticoncepção globalmente, entre elas, mulheres de menor nível socioeconômico e/ou menor acesso a cuidados de saúde. Como uma forma de aumentar a continuidade de uso de contraceptivos por populações de baixa renda, um projeto em curso realizado na Tailândia tem como objetivo avaliar a viabilidade de autoinjeção da apresentação subcutânea de AMPD (104 mg/16 semanas; Sayana press) (76).

Os estudos relacionados ao metabolismo de lípedes e glicose e o uso do AMPD têm mostrado resultados conflitantes e resultados positivos sugerem a possibilidade da etnia ser fator contribuinte para as diferenças aferidas no risco cardiovascular (31).

Por esse conjunto de informações, bem como de indagações a respeito das possíveis alterações metabólicas que poderiam ser atribuídas ao uso do método, optamos por avaliar semestralmente no primeiro ano de uso do método os

parâmetros glicêmicos de novas usuárias de AMPD jovens, não obesas e sem fatores conhecidos de alteração no metabolismo da glicose no momento da inclusão no estudo. Posteriormente, na subamostra de mulheres com sensibilidade normal à insulina diagnosticada através do Clamp Euglicêmico Hiperinsulinêmico (CEH), foram avaliados os marcadores de doença cardiovascular subclínica, antes e após 12 meses de uso do método. Ao final, foi realizado um estudo piloto com a amostra total de mulheres que realizaram o CEH nos dois momentos, avaliando-se as medidas de gordura abdominal aferida por meio do ultrassom e sua correlação com os parâmetros laboratoriais, medidas de composição corporal e antropométricas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Geral

Avaliar em amostra de novas usuárias do contraceptivo AMPD (150mg/, via intramuscular/12semanas) jovens e não obesas, comparando-as com amostra de usuárias do DIU com cobre e com as mesmas características, a evolução de parâmetros metabólicos laboratoriais durante o primeiro ano de uso do método; e em uma subamostra de mulheres sem resistência insulínica, avaliar e comparar os parâmetros da doença subclínica cardiovascular antes e após 12 meses de uso do contraceptivo.

### 2.2. Específicos

2.2.1. Avaliar medidas antropométricas e da composição corporal semestralmente durante o primeiro ano de uso do método;

2.2.2. Avaliar parâmetros séricos glicêmicos e o índice do HOMA semestralmente durante o primeiro ano de uso do método;

2.2.3. Avaliar pressão arterial sistólica e diastólica durante todo o seguimento;

2.2.4 Avaliar a medida em milímetros da camada íntima-média (IMT) da artéria carótida, antes e após 12 meses do uso do método;

2.2.5. Avaliar as concentrações séricas de lípidos, enzimas hepáticas, adipocinas (leptina, adiponectina, interleucina 6 e TN-alfa), proteína inflamatória de fase aguda (PCR), ácidos graxos livres e apolipoproteínas A1 e B100, antes e após 12 meses do uso do método;

2.2.6. Avaliar a aferição, por meio do ultrassom, das medidas de gordura da parede abdominal: tecido subcutâneo periumbilical (GSc); gordura pré-peritoneal no epigástrico (GPP); gordura visceral no mesogástrico (GVM) e suas relações com marcadores de DCV.

### 3. SUJEITOS E MÉTODO

#### 3.1 Desenho do estudo

Estudo prospectivo não randomizado, comparativo, conduzido no Ambulatório de Planejamento Familiar e no Serviço de Ecografia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas (UNICAMP), no período de fevereiro de 2011 a fevereiro de 2013.

O estudo principal para avaliação de resistência insulínica e DCV subclínica em novas usuárias de AMPD foi registrado no *ClinicalTrial* sob o número NCT01527526 e obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, protocolo #903/2009 (Anexo 1).

Este estudo foi divulgado nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Município de Campinas por meio de cartazes e contato com ginecologistas que atuavam nas UBS; também foi veiculada no *site* institucional.

As mulheres que responderam à chamada puderam escolher entre os métodos contraceptivos, AMPD (Contracep®, EMS-Pharmaceuticals, Hortolândia, Brazil) ou dispositivo intrauterino com cobre (DIU TCu 380-A, Optima®, Injeflex, São Paulo, Brazil), e foram incluídas as que respeitaram o pareamento por idade ( $\pm 1$  ano) e IMC ( $\pm 1 \text{ kg/m}^2$ ) para a composição dos grupos no início do estudo. No Ambulatório de Planejamento Familiar do CAISM – UNICAMP, as mulheres foram informadas sobre o estudo e convidadas a participar após optarem por iniciar o AMPD ou DIU TCu 380-A como método contraceptivo.

O fluxograma das participantes que se apresentaram, foram incluídas e contituiram as amostras dos três braços do estudo encontra-se no Anexo 2.

#### 3.2 Critérios de inclusão

Mulheres com idade entre 18 a 40 anos, com IMC  $< 30 \text{ kg/m}^2$  e nunca usuárias de AMPD realizaram entrevista para inclusão no estudo; a seguir, realizaram teste de pós-carga com 75 mg glicose via oral (OGTT) em laboratório. Aquelas que apresentaram glicemia de jejum  $< 100 \text{ mg/dl}$  e glicemia  $< 140 \text{ mg/dl}$  após



120' cumpriram os critérios de inclusão. Todas as mulheres incluídas no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexos 3 e 4).

### **3.3 Critérios de exclusão**

Os critérios de exclusão foram mulheres com diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 ou 2 ou que apresentaram glicemia de jejum  $\geq 100$ mg/dl e/ou glicemia  $\geq 140$ mg/dl após o teste OGTT no momento da admissão, e/ou referiram antecedente familiar de primeiro grau com DM-1 ou DM-2; as que tinham antecedente de uso de AMPD em algum momento da vida reprodutiva e/ou que estavam em período de aleitamento, com HAS com ou sem tratamento, as que apresentavam comorbidades que poderiam contribuir para a variação de peso corporal a exemplo de hiper ou hipotireoidismo, insuficiência renal crônica e transplantadas de qualquer órgão, e/ou usuárias de medicamentos que poderiam estar relacionados ao ganho de peso e/ou desenvolvimento de resistência insulínica a exemplo do uso crônico de corticosteróides, antipsicóticos, tiazídicos e estatinas. Também foram excluídas mulheres com hirsutismo e/ou hiperandrogenismo, portadoras de Síndrome do Ovário Policístico (SOP), com presença de acantose nigricans ao exame clínico e aquelas com antecedente de ter realizado cirurgia bariátrica ou omentectomia (Anexo 5).

### **3.4 Cálculo amostral**

#### **Artigo 1 – Avaliação de parâmetros glicêmicos seguidos semestralmente durante 12 meses de uso do contraceptivo AMPD**

O tamanho da amostra foi calculado com base no único estudo randomizado que comparou as alterações no metabolismo de carboidratos entre usuárias de dois tipos com progestagênios puros, AMPD e Enantato de noretisterona (NET-EN) (77); assumindo desvio padrão de 1,7 nU/ml na insulina sérica de jejum aos seis meses de uso do NET-EN e uma diferença na média de +1,2 na média da insulina sérica de jejum aos seis meses de uso do AMPD. Para obter um erro alfa de

0,05 e beta de 80%, o tamanho da amostra foi de 32 mulheres. A análise foi realizada no momento basal, aos seis e 12 meses de seguimento.

### **Artigo 2 – Avaliação da DCV subclínica em novas usuárias de AMPD**

Para o estudo de avaliação de DCV subclínica foi utilizada a amostra de 30 mulheres, 15 usuárias de AMPD e 15 de DIU com cobre, todas com sensibilidade normal à insulina diagnosticada por meio do Clamp Euglicêmico Hiperinsulinêmico (CEH) e expressa através do índice  $M \geq 4$  (mg/kg/min) (78), no momento da inclusão do estudo (79).

### **Artigo 3 – Avaliação das medidas de gordura abdominal por meio do ultrassom**

Para o estudo da avaliação da gordura abdominal a amostra final analisada foi de 37 mulheres, amostra de conveniência, constituída por todas as mulheres que realizaram o CEH no momento da inclusão no estudo e aos 12 meses.

## **3.5 Variáveis**

### **3.5.1 Variáveis Independentes**

- Método Contraceptivo: usuária de AMPD ou DIU com cobre;

### **3.5.2 Variáveis Dependentes**

- **Peso:** foi obtido a partir do posicionamento da mulher com o mínimo de roupas possível, descalça, sem adornos e objetos nos bolsos, com os pés posicionados no centro da plataforma, braços estendidos ao longo do corpo e cabeça ereta olhando para o horizonte (80), expresso em Kg e g até primeira casa decimal, medida em balança plataforma mecânica Welmy® com capacidade para 150 Kg com divisões de 100g. O valor foi expresso em número absoluto. Esta medida foi mensurada no momento inicial do estudo, aos 6 e 12 meses;
- **IMC:** Índice de Massa Corpórea, cálculo do peso em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado, expresso em número com uma casa

decimal. Este índice foi calculado no momento inicial do estudo, aos 6 e 12 meses;

- **Composição Corporal:** Avaliada pelo método do exame de densitometria de corpo total utilizando a técnica DXA por meio do aparelho LUNAR DPX, GE Healthcare, Lunar corp, Madison, WI, USA. Os parâmetros avaliados no início do estudo e após 12 meses foram:
  - ✓ Massa corporal total: compartimento corporal correspondente à massa absoluta do peso corporal total expresso em quilogramas;
  - ✓ Massa gorda: compartimento corporal correspondente à massa gorda do tecido corporal expresso em gramas;
  - ✓ Percentual de gordura corporal total: o valor foi expresso em percentagem;
  - ✓ Massa magra: compartimento corporal correspondente à massa magra do tecido corporal expresso em gramas.
- **Medida da cintura:** em centímetros, avaliada através de fita métrica em número absoluto. Aferição realizada no momento basal, aos 6 e 12 meses de seguimento;
- **Dosagens séricas de colesterol total:** no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi medido em número absoluto expresso em mg/dl, obtido por meio de método enzimático colorimétrico, kit Roche Diagnostics, Mannheim, Germany;
- **Dosagens séricas de colesterol HDL:** no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto expresso em mg/dl, obtido por meio de método enzimático colorimétrico, kit Roche Diagnostics, Mannheim, Germany;
- **Dosagens séricas de colesterol LDL:** no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto expresso em mg/dl, calculado através da equação de Friedewald [LDL colesterol mg/dl = colesterol total-HDL colesterol-(triglicérides/5)];
- **Dosagens séricas de triglicérides:** no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto expresso em mg/dl, obtido por meio de método enzimático colorimétrico, kit Roche Diagnostics, Mannheim, Germany;

- **Dosagens séricas de ALT:** enzima alanina amino transferase hepática, no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto expresso em U/L, obtido por meio de ensaio UV cinético, kit Roche Diagnostics, Mannheim, Germany, com sensibilidade do teste de 4U/L;
- **Dosagens séricas de AST:** enzima aspartato amino transferase hepática no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto expresso em U/L, obtido por meio de ensaio UV cinético, kit Roche Diagnostics, Mannheim, Germany; com sensibilidade do teste de 4U/L;
- **Glicemia de jejum:** no momento basal, aos 6 e 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto; obtido por meio de imunoensaio quimioluminescência enzimático, com acurácia superior a 2 µU/ml (Siemens ®, Llanberis, United Kingdom) expressa em mg/dl.
- **Insulina de jejum:** no momento basal, aos 6 e 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto; obtido por meio de imunoensaio quimioluminescência enzimático, com acurácia superior a 2 µU/ml (Siemens ®, Llanberis, United Kingdom), expressa em mUI/ml
- **HOMA (Homeostasis Model Assessment):** Foram calculados o  $HOMA-RI = \text{insulina de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)} / 22.5$ ; e o  $HOMA-Bc = (20 \times \text{insulina de jejum [mU/L]}) / (\text{glicemia de jejum [mmol/L]} - 3.5)$  como normatizado por Matthews (81). Cálculo foi realizado no momento basal, aos 6 e 12 meses de seguimento.
- **CLAMP/VALOR M:** O valor M foi calculado através da técnica do CEH, traduzindo a medida da sensibilidade à insulina, ou seja, a taxa média da necessidade de infusão da glicose, no repouso, quantificada em miligramas de glicose por quilo de peso por minuto (mg/ kg/min) como normatizado por De Fronzo (82)
- **Dosagens séricas de IL-6:** mensuradas no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor foi expresso em número absoluto, obtido por meio do kit para interleucina-6 (Human IL-6 Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, USA), com sensibilidade de 0.7 pg/mL.
- **Dosagens séricas de ácidos graxos livres:** mensuradas no momento basal e aos 12 meses de seguimento, aferidas através de método colorimétrico WAKO (Dusseldorf, Germany), com sensibilidade 0.1mEq/L.

- **Razão leptina/adiponectina:** ambas mensuradas no momento basal e aos 12 meses de seguimento. O valor da leptina foi obtido por meio de ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA) em duplicata com kit Human Leptin “Dual Range” ELISA; Merck Millipore, Darmstadt, Germany, de sensibilidade 0,125 ng/mL; e da adiponectina obtido por meio de ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA) em duplicata com kit Human Adiponectin ELISA; Merck Millipore, Darmstadt, Germany, de sensibilidade 1,5 ng/mL. Cálculo realizado com a divisão dos valores absolutos de leptina pelos valores de adiponectina, no basal e aos 12 meses.
- **Dosagens séricas de PCR:** mensuradas no momento basal e aos 12 meses de seguimento. PCR foi avaliado pelo método de Nephelometry, utilizando BN ProSpec System (Dade Behring, Liederbach, Germany) and kit Siemens CardioPhase hsCRP (Erlangen, Germany). Visando o risco cardiovascular o valor normal considerado foi PCR<0,1 mg/dl. As condições das amostras límpidas, sem lipemia, sem hemólise, sem turvação ou partículas suspensas.
- **Dosagens séricas do TN-alfa:** Utilizou-se enzyme immunoassay commercial kits para avaliação citocina inflamatória TNF-alfa (TNF Alpha Quantikine HS), sensitivity de 0.191 pg/mL (R&D Systems, Minneapolis, USA). Mensuradas no momento basal e aos 12 meses.
- **Dosagens séricas de APO A-1 e APO B-100:** mensuradas no momento basal e aos 12 meses. A avaliação das apolipoproteínas foi realizada através de turbidimetria utilizando-se a leitora de Microplacas PowerWave XS (BioTek, Winooski, USA) e os reagentes Tina-quant APO A-I e Tina-quant APO B (Roche, Indianapolis, USA).
- **Pressão arterial sistólica e diastólica:** Aferição em repouso seguindo as normas propostas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia. A HAS é diagnosticada em adultos, quando se detecta médias de duas ou mais mensurações de pressão arterial, onde pelo menos em duas ocasiões distintas a pressão arterial sistólica está igual/maior que 140 mmHg e a diastólica igual/maior que 90mmHg (83)
- **IMT da artéria carótida:** Avaliação ecográfica (Anexo 6). Todas as voluntárias permaneceram em decúbito dorsal durante 20 min em sala silenciosa com temperatura em torno de 22-24°C antes do início das

aferições; posteriormente cada mulher foi posicionada em decúbito dorsal horizontal. Para aferição das medidas de carótidas e braquial foi utilizado o aparelho de ultrassom Toshiba Xario através da sonda linear (6.6-9.0 MHz). O transdutor utilizado foi de 8 MHz com resolução axial e lateral de 0,385 e 0,500 mm, respectivamente. O pesquisador foi cegado quanto à identidade do assunto. As avaliações da IMT em modo B foram obtidas a partir de imagens ecográficas da parede distante no primeiro centímetro das artérias carótidas comuns, proximal à dilatação do bulbo, em projeção lateral. Após uma análise exploratória, com imagem ampliada ocupando pelo menos 50% da tela, foi considerada a área mais espessa ou, quando espessura da íntima média era homogênea, foi padronizado o sítio a 20 mm do bulbo carotídeo para aferição. As medidas foram realizadas à direita e esquerda a partir média de três medidas em cada artéria. Avaliado no início do estudo e aos 12 meses. Em relação aos critérios de avaliação, valores de  $IMT < 1\text{mm}$  são considerados normais, entre 1mm e 1,3mm são considerados como espessamento de parede e  $IMT > 1,3\text{mm}$  são considerados como placas aterogênicas (84).

- **Gordura abdominal subcutânea (GSc):** Medida ultrassonográfica em milímetros da gordura do subcutâneo da parede abdominal, medido na linha média acima do umbigo entre pele até a linha alba no início do estudo e aos 12 meses (Anexo 6).
- **Gordura abdominal visceral no mesogástrico (GV):** Medida ultrassonográfica em milímetros da gordura visceral no mesogástrico entre a linha alba e parede anterior da aorta abdominal, no início do estudo e aos 12 meses (Anexo 6).
- **Gordura abdominal pré-peritoneal no epigástrico (GPP):** Medida ultrassonográfica em milímetros da gordura pré-peritoneal no epigástrico entre a linha alba e a borda superior do lobo esquerdo do fígado, no início do estudo e aos 12 meses (Anexo 6).

### 3.5.3 Variáveis de Controle

- **Idade:** em anos completos da mulher, na inclusão no estudo;
- **Escolaridade:** anos de estudo formal categorizada em  $\leq 8$  anos e  $>8$  anos;

- **Etnia:** aparência da mulher autorreferida, categorizada em branca ou não branca;
- **Classe Econômica:** categorizada em renda familiar: A (R\$14.366,00-8.099,00), B (R\$4.588,00-2.327,00), C (R\$1.391,00-933,00) ou D (R\$618,00) definido pela (85).
- **Número total de gestações:** número de vezes em que a mulher ficou grávida, independentemente do desfecho da gestação, referida no momento da inclusão no estudo.
- **Atividade física:** caracterizado como o ato de se exercitar fisicamente categorizado em sedentário (zero minuto de exercício físico), atividade física regular (< 150 minutos de exercício físico moderado ou intenso) e atividade física intensa (> 150 minutos exercício físico moderado ou intenso) segundo a quantidade de minutos de atividade física realizada por semana. Para este estudo recategorizamos em: [sim (atividade física aeróbica > 150 minutos por semana); não (sem atividade física aeróbica ou < 150 minutos dessa atividade por semana)] (84-85). Este hábito foi avaliado no momento inicial do estudo e aos 12 meses.

## 4. RESULTADOS

### ARTIGO 1

**Insulin resistance parameters in users of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during one year of use. Eur J Contracept Reprod Health Care. 2016;21(1):22-9. doi:10.3109/13625187.2015.1059415. (Anexo 7).**

Cursino K, Sider M, Pavin EJ, dos Santos Pde N, Bahamondes L, Zantut-Wittmann DE, Fernandes A.

### ARTIGO 2

**Assessment of subclinical cardiovascular disease in new users of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during the first year of use of the method**

Kleber Cursino, Gabriel Araújo de Lima, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos, Elizabeth João Pavin, Luis Bahamondes, Arlete Fernandes. The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care (IEJC). The DOI of your paper is: 10.1080/13625187.2018.1455087. Once your article has published online, it will be available at the following permanent link: <https://doi.org/10.1080/13625187.2018.1455087>

### ARTIGO 3

**Ultrasound measurements of abdominal fat and correlation with body composition and cardiovascular disease markers**

Kleber Cursino, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos, Emílio Marussi, Arlete Fernandes.

Enviado à revista *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* em 21/12/17, em análise.



## ARTIGO 1



## The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care



ISSN: 1362-5187 (Print) 1473-0782 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/iejc20>

### Insulin resistance parameters in users of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during one year of use

Kleber Cursino, Marina Sider, Elizabeth João Pavin, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos, Luis Bahamondes, Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann & Arlete Fernandes

To cite this article: Kleber Cursino, Marina Sider, Elizabeth João Pavin, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos, Luis Bahamondes, Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann & Arlete Fernandes (2016) Insulin resistance parameters in users of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during one year of use, *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*, 21:1, 22-29, DOI: [10.3109/13625187.2015.1059415](https://doi.org/10.3109/13625187.2015.1059415)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.3109/13625187.2015.1059415>



Published online: 03 Jul 2015.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 78



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Citing articles: 1 View citing articles [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at  
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iejc20>

Download by: [UNICAMP]

Date: 11 May 2017, At: 05:13

# Insulin resistance parameters in users of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during one year of use

Kleber Cursino\*, Marina Sider\*, Elizabeth João Pavin†, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos\*, Luis Bahamondes\*, Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann† and Arlete Fernandes\*

\*Department of Obstetrics and Gynaecology, and †Division of Endocrinology, Department of Clinical Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

**ABSTRACT** **Objectives** The aim of the study was to assess insulin resistance parameters using successive homeostasis model assessment (HOMA) and clinical evaluations in healthy new users of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA).

**Methods** A prospective 12-month study was carried out to compare 31 DMPA users with 25 copper intrauterine device (Cu-IUD; TCu380A) users, matched for age ( $\pm 1$  year) and body mass index (BMI;  $\pm 1$  kg/m<sup>2</sup>). Participants met the following criteria: age 18 to 40 years, BMI < 30 kg/m<sup>2</sup>, fasting glucose < 5.5 mmol/l, 2-h glucose after a 75 g oral glucose load < 140 mg/dl. BMI, waist circumference, fasting glucose, fasting insulin and HOMA of insulin resistance (HOMA-IR) were evaluated at baseline and after 6 and 12 months of contraceptive use. Insulin resistance was defined as a HOMA-IR value > 2.7.

**Results** The DMPA group showed significant increases in BMI, waist circumference, fasting insulin and HOMA-IR throughout the observation period in relation to baseline. Significant increases in BMI and waist circumference were observed in the DMPA group at 12 months compared with the Cu-IUD group. Five DMPA users had abnormal HOMA-IR values, three of whom had gained > 5 kg in weight at 12 months.

**Conclusions** HOMA-IR represents a useful tool to indicate changes in carbohydrate metabolism in non-obese DMPA users, especially when accompanied by measurement of clinical parameters such as BMI and waist circumference.

**KEYWORDS** Contraception; Depot medroxyprogesterone acetate; HOMA index; Insulin resistance

## INTRODUCTION

Millions of women worldwide have used the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) due to its high efficacy and safety<sup>1</sup>. However, at the end of the 1970s, questions emerged regarding the possible effects of the glucocorticoid

action on weight gain and the carbohydrate metabolism of users<sup>2,3</sup>. There is no current evidence that either confirms or disproves the impact of DMPA on carbohydrate metabolism in healthy women<sup>4</sup>. The available studies have typically been conducted in small cohorts, without comparison groups, using

Correspondence: Arlete Fernandes, Caixa Postal 6181, Campinas, SP, 13083-971, Brazil. Tel: +55 19 32892856. Fax: +55 19 32892440. E-mail: arlete@fcm.unicamp.br

© 2015 The European Society of Contraception and Reproductive Health  
DOI 10.3109/13625187.2015.1059415

different methodologies and with no reference to loss to follow-up<sup>4</sup>.

DMPA users were found to have a low risk of developing type 2 diabetes mellitus during 12 months of follow-up using intravenous<sup>5</sup> and oral glucose tolerance tests (OGTT)<sup>6</sup>. An increase in insulin and glucose levels with no change in glucose tolerance was also reported. A cross-sectional study in long-term DMPA users reported greater increases in weight and insulin levels and a reduction in glucose tolerance 39 to 60 months after initiation of the method<sup>7</sup>.

Of the different methods used to evaluate insulin resistance, the gold standard is the hyperinsulinaemic–euglycaemic clamp technique<sup>8</sup>; however, its use is limited because it is an invasive and laborious procedure. For this reason, homeostasis model assessment (HOMA) has been widely used in epidemiological studies<sup>9,10</sup>, as it is simple to calculate and is based on fasting insulin and glucose levels<sup>11</sup>. In clinical practice, the method has been used to screen for metabolic alterations related to type 2 diabetes and cardiovascular disease<sup>12,13</sup>.

Prospective studies have reported that some DMPA users gain weight rapidly, developing central fat deposits<sup>5,14,15</sup>. One of the causes of this is probably the onset of insulin resistance during use of the contraceptive method. As such, it is possible that HOMA may represent a useful tool for evaluating the impact of DMPA on carbohydrate metabolism. However, to the best of our knowledge, no such assessment has been reported. The objective of this study was to evaluate HOMA of insulin resistance (HOMA-IR) and clinical parameters related to insulin resistance at baseline and at 6 and 12 months in women initiating DMPA, and compare them with those of women initiating use of the copper intrauterine device (Cu-IUD).

## METHODS

This prospective study was conducted at the Human Reproduction Unit, Department of Obstetrics and Gynaecology, School of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, Brazil. The main study was registered at ClinicalTrials.gov under number NCT01527526. The project was approved by the ethics committee of the university and conducted between February 2011 and February 2013. All participants signed an informed consent form.

The sample size was calculated based on the only published randomised study comparing changes in carbohydrate metabolism between two types of progestin-only injectable contraceptives (DMPA and norethisterone enanthate [NET-EN]), assuming a standard deviation (SD) of 1.7 nU/ml of fasting serum insulin at six months of NET-EN use and a + 1.2 difference in average fasting serum insulin at six months of DMPA use<sup>6</sup>. To achieve an alpha error of 0.05 and 80% power, the sample size was 32 women.

Subjects were recruited by disseminating information about the research study through posters at basic health units. Women who had freely chosen to use either contraceptive and met the criteria for inclusion were recruited to the study. Inclusion criteria consisted of: fasting glucose < 5.5 mmol/l; 2-h glucose after a 75 g oral glucose load < 7.7 mmol/l; age 18 to 40 years; body mass index (BMI) < 30 kg/m<sup>2</sup>; and no history of using the contraceptive DMPA. Exclusion criteria included: breastfeeding; first-degree family history of type 1 or type 2 diabetes; personal history of the metabolic syndrome, systemic arterial hypertension, hyper- or hypothyroidism, chronic renal failure, hirsutism and/or hyperandrogenism, polycystic ovary syndrome or acanthosis nigricans; and personal history of any type of organ transplantation or bariatric surgery. Women using corticosteroids, antipsychotics, thiazides or statins were also excluded. No financial incentive of any kind was given to the volunteers.

DMPA users were observed during the first year of use of the method, and repeated measurements of HOMA-IR were carried out at 0, 6 and 12 months. DMPA users were compared with Cu-IUD users (never-users of DMPA), matched for age ( $\pm 1$ ) and BMI ( $\pm 1$ ). The independent variable was the type of contraception. The dependent variables were socio-economic group, habit of physical exercise, BMI, waist circumference (cm), fasting glucose (mg/dl), fasting insulin (IU/ml) and HOMA-IR.

## Procedures

The first injection of DMPA (Contracep 150 mg; EMS Pharmaceuticals, São Paulo, Brazil) or insertion of the Cu-IUD (Optima; Injeflex, São Paulo, Brazil) took place within the first five days of the menstrual cycle. Participants returned to the clinic every three months, at which time DMPA users received a new dose.



All participants were interviewed using a structured questionnaire requesting sociodemographic information<sup>16</sup> and information regarding physical exercise. Women who reported performing aerobic exercise for at least 150 min/week were considered physically active, and those who did so for a shorter time or performed other exercises were considered physically inactive<sup>17</sup>.

Weight was measured on a mechanical scale to the nearest 100 g, and height was measured to the nearest cm using a metal tape measure. Waist circumference was measured in cm, using a non-stretch tape measure, midway between the lowest rib and the iliac crest<sup>18</sup>. The women were barefoot and wore light clothing for the measurements. All measurements were taken by the same investigator.

Samples for laboratory tests were collected after fasting for 12 h, at baseline, and at 6 and 12 months after starting use of the contraceptive method. In DMPA users, the samples were obtained before administration of the injectable. Glucose was measured using an enzymatic bioanalyser (YSI 2300 STAT Plus; YSI, Yellow

Springs, OH, USA) accurate above 0.2 mmol/l. Insulin was measured using a chemiluminescence enzyme immunoassay (Siemens, Llanberis, UK) accurate above 13.8 pmol/l. According to research conducted in Brazil in an adult non-diabetic population, the cut-off value for insulin resistance was HOMA-IR > 2.7<sup>19</sup>.

### Statistical analysis

Sociodemographic characteristics were compared using Pearson's  $\chi^2$  test and continuity-adjusted  $\chi^2$ . The mean and standard error of the mean (SEM) of the variables for the groups were calculated using the Friedman non-parametric test for related samples at baseline, 6 months and 12 months. Subsequently, the variation of mean and SEM of the variables at 12 months from baseline were compared between groups using Student's *t* test for independent samples and the non-parametric Mann-Whitney *U* test. Significance was established at  $p < 0.05$ . SPSS software, version 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), was used for the analyses.

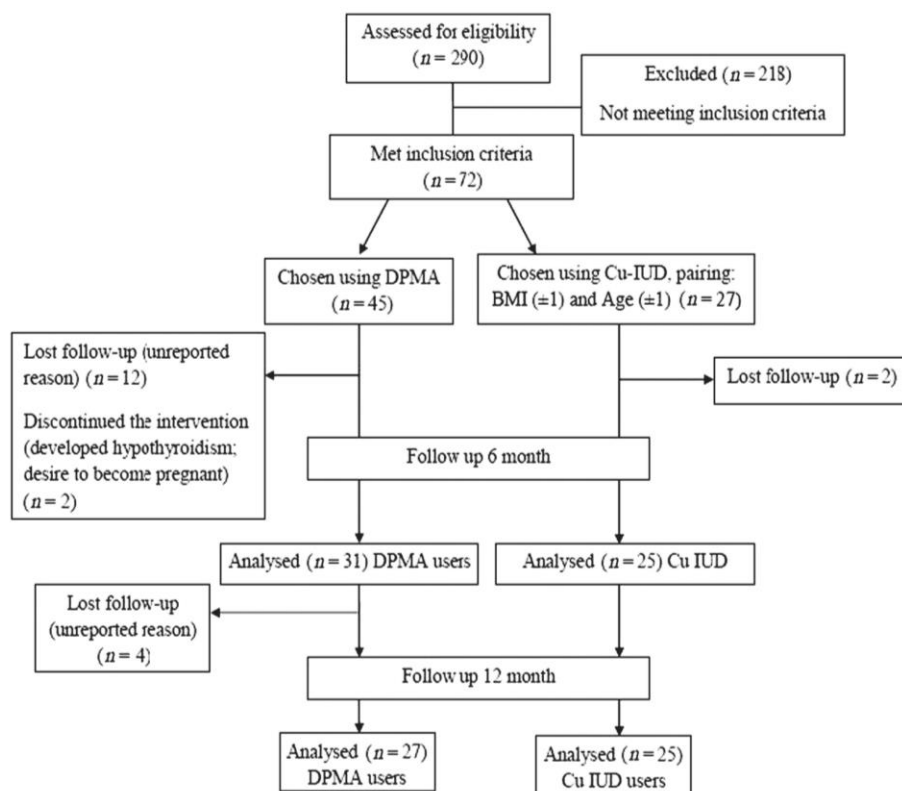


Figure 1 Flowchart of the study participants.

## RESULTS

Of the 290 healthy women aged 18 to 40 years who came to the clinic for the first time after the study was advertised, only 72 met the criteria for inclusion. A total of 31 women in the DMPA group were evaluated at baseline and 6 months, and 27 were evaluated at 12 months. In the Cu-IUD group, 25 women were assessed at baseline and at 6 and 12 months (Figure 1).

The mean ( $\pm$ SD) ages of the women were  $29.3 \pm 5.6$  and  $28.7 \pm 5.1$  years in the DMPA and Cu-IUD groups, respectively; mean BMIs were  $23.9 \pm 0.6$  and  $24.4 \pm 0.5$  kg/m<sup>2</sup>, respectively. The mean number of years of schooling was significantly higher in the DMPA group compared with the Cu-IUD group; there were no other significant differences between the groups (Table 1). At baseline and 12 months, 25.8% and 37%, respectively, of the women in the DMPA group and 32% and 20%, respectively, of the women in the Cu-IUD group were considered physically active; there were no differences between the groups (data not shown).

The evolution of the parameters (mean values) related to carbohydrate metabolism in each group at

baseline, 6 months and 12 months is shown in Table 2. Significant and progressive increases in mean BMI, waist circumference, insulin and HOMA-IR were found in the DMPA group over time. There were significant improvements in mean waist circumference in the Cu-IUD group throughout the observation period (Table 2).

The variations in the parameters relating to carbohydrate metabolism at 12 months (value at 12 months minus baseline value) were compared between groups (Table 3). Significant increases in BMI and waist circumference were observed in the DMPA group at 12 months compared with the Cu-IUD group (Table 3).

HOMA-IR levels were  $>2.7$  in five DMPA users, three at 6 months and four at 12 months (Table 4). Of the five women, four had normal body weight and one was overweight at baseline. Of the four women with insulin resistance at 12 months, two had already had abnormal HOMA-IR values at 6 months, which had worsened by 12 months. In one woman with insulin resistance at 6 months, the value subsequently returned to normal. A sixth DMPA user with an abnormal HOMA-IR value at baseline was considered a false-positive result because all the other parameters at all time points were within the normal range (data not shown). There were no abnormal HOMA-IR values in the Cu-IUD group.

**Table 1** Distribution of the DMPA and Cu-IUD users according to their sociodemographic characteristics at baseline.

Characteristic	DMPA n = 31	Cu-IUD n = 25	p-value
Age, years, n (%)			
20–24	6 (19.4)	6 (24.0)	0.590*
25–29	11 (35.5)	6 (24.0)	
30–34	7 (22.6)	9 (36.0)	
35–39	7 (22.6)	4 (16.0)	
Ethnicity, n (%)			
White	13 (41.9)	10 (40.0)	1.000†
Non-white	18 (58.1)	15 (60.0)	
Schooling, years, n (%)			
$\leq 8$	8 (25.8)	16 (64.0)	0.009†
$> 8$	23 (74.2)	9 (36.0)	
Socioeconomic group‡, n (%)			
A and B	12 (38.7)	8 (32.0)	0.810†
C and D/E	19 (61.3)	17 (68.0)	

\*Pearson's  $\chi^2$  test.

†Continuity-adjusted  $\chi^2$  test.

‡Socioeconomic group according to average gross monthly family income in US dollars: A, 5147.90–3719.70; B, 2131.8–1191.00; C, 654.20–431.30; D/E,  $\leq 304.90$ .

## DISCUSSION

**Findings and interpretation**

This study evaluated healthy young women with no previous history or clinical evidence of insulin resistance or type 2 diabetes. It found that values of fasting insulin, HOMA-IR, BMI and waist circumference deteriorated in DMPA users during the observation period, a situation that was not found in non-users.

The abnormal HOMA-IR values associated with a slight variation in body weight found in five patients during follow-up could be attributed to the action of DMPA. In particular, one of the participants who presented with a very low BMI at baseline had an abnormal HOMA-IR value at six months which returned to normal at 12 months (number 4), suggesting that the weight gain was not enough for permanent metabolic change. On the other hand, the results of three (numbers 1, 2 and 3) of the four

**Table 2** Evolution of mean values in BMI, waist circumference and glycaemic parameters at baseline and at 6 and 12 months in each group.

Variable/time	DMPA, mean (SEM)	p-value*	Cu-IUD, mean (SEM)	p-value*
BMI, kg/m <sup>2</sup>		0.002		0.674
Baseline	23.9 (0.6)		24.4 (0.5)	
6 months	24.0 (0.6)		24.1 (0.5)	
12 months	24.6 (0.6)		24.3 (0.5)	
Waist circumference, cm		0.004		< 0.001
Baseline	76.3 (1.4)		77.1 (1.2)	
6 months	76.0 (1.3)		75.9 (1.5)	
12 months	77.4 (1.4)		75.2 (1.1)	
Fasting glucose, mmol/l		0.746		0.475
Baseline	4.5 (0.0)		4.6 (0.0)	
6 months	4.6 (0.0)		4.6 (0.0)	
12 months	4.5 (0.0)		4.6 (0.0)	
Fasting insulin, µpmol/l		< 0.001		0.051
Baseline	31.2 (4.8)		24.3(2.7)	
6 months	40.9 (6.2)		28.4(3.4)	
12 months	52.0 (7.6)		34.7 (4.1)	
HOMA-IR		0.008		0.112
Baseline	0.9 (0.1)		0.7 (0.1)	
6 months	1.2 (0.2)		0.8 (0.1)	
12 months	1.5 (0.2)		1.0 (0.1)	

DMPA group, 31 women evaluated at baseline and 6 months, 27 women evaluated at 12 months; Cu-IUD group, 25 women evaluated.

\*Friedman non-parametric test for related samples.

women with abnormal HOMA-IR values at 12 months could be attributed to excessive weight gain (> 5 kg). Interestingly, in the woman who was overweight at baseline, the higher HOMA-IR value at 12 months was credited to DMPA action since her body weight showed small negative fluctuations during follow-up. These results suggest that the higher HOMA-IR values might have been caused by the

pharmacological action of DMPA and/or were secondary to weight gain during DMPA use.

In this study a probable false-positive result was found in one woman at baseline. Despite the intrinsic limitation of HOMA, which is based on a single measurement to evaluate a dynamic metabolic system, the method has received reasonable credibility. In a study conducted to evaluate the cut-off point for a hyperinsulinaemic-eug-

**Table 3** Comparison of the variation of the mean of each variable between groups.

12-month variable	DMPA (n = 27)	Cu-IUD (n = 25)	p-value
HOMA-IR	0.6 (0.2)	0.3 (0.1)	0.332*
Fasting insulin, µ pmol/l	20.8 (6.2)	9.7 (4.1)	0.267*
Fasting glucose, mmol/l	0.06 (0.07)	- 0.06 (0.07)	0.247†
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.7 (0.2)	- 0.1 (0.9)	0.002*
Waist circumference, cm	1.1 (0.7)	- 1.9 (0.5)	0.000*

All values are mean (standard error of the change). Mean variation is 12-month value minus baseline value.

\*Non-parametric Mann-Whitney U test.

†Student's t test.



**Table 4** Description of HOMA-IR values, BMI and waist circumference found in five DPMA users who had a diagnosis of insulin resistance during the period of follow-up.

Patient	Time	BMI, kg/m <sup>2</sup>	Waist, cm	HOMA-IR	Weight variation*
1	Baseline	22.2	76.0	1.2	
	6 months	22.0	73.5	3.2	
	12 months	24.2	78.0	3.4	+ 5.3
2	Baseline	23.9	79.0	1.5	
	6 months	24.4	81.0	3.5	
	12 months	25.7	82.5	4.0	+ 5.3
3	Baseline	20.2	69.0	0.4	
	6 months	22.7	74.0	0.9	
	12 months	22.3	72.0	4.3	+ 5.2
4	Baseline	18.7	65.0	2.5	
	6 months	19.3	66.0	3.8	
	12 months	20.3	66.0	2.3	+ 3.6
5	Baseline	28.8	91.5	1.9	
	6 months	27.5	85.4	0.4	
	12 months	28.1	86.5	3.1	- 1.8

\*Body weight (kg) at 12 months minus body weight at baseline.

Insulin resistance diagnosis: HOMA-IR level > 2.7 associated with HDL cholesterol level < 50 mg/dl.

lycaemic clamp, a model with HOMA-IR values 2.8–5.9 was tested in association with high-density lipoprotein (HDL) cholesterol levels < 1.3 mmol/l<sup>20</sup>. The results showed that these values were predictive of insulin resistance, with a sensitivity of 89% and specificity of 67%, in comparison with the hyperinsulinaemic–euglycaemic clamp<sup>20</sup>. Our results are in agreement with these values, as the abnormal HOMA-IR values found in five women ranged from 3.1 to 4.3 and were associated with low HDL cholesterol levels that ranged from 0.9 to 1.2 mmol/l (data not shown). In addition, to improve the credibility of the method, the cut-off value used in this study had previously been standardised in an adult non-diabetic population evaluated at this institute<sup>17</sup>.

#### Differences in results and conclusions in relation to other studies

These results are in agreement with previous studies that reported a worsening of glucose metabolism and lipid parameters with DMPA use over time<sup>6,7</sup>. In a study of carbohydrate metabolism conducted in injectable contraceptive users, in which 20 healthy DMPA users were compared with a group using NET-EN, an OGTT after a 75 g oral glucose load was evaluated at baseline and at 3, 6 and 12 months after initiation of the contraceptive method. The authors observed

significant changes in the glycaemic curves of the DMPA users after 12 months, although none reached the cut-off limit for a diagnosis of glucose intolerance<sup>6</sup>. In a cross-sectional study conducted in 157 DMPA users and 162 controls matched for age, ethnicity and parity (but not weight: the DMPA users were heavier), followed for a maximum of seven years, it was shown that glucose intolerance developed among those who used DMPA for more than 39 months<sup>7</sup>.

While the results of our study showed a progressive increase in fasting insulin, HOMA-IR, BMI and waist circumference in DPMA users, it was not possible to know whether these changes would have progressed further with continued use of the method. Clinical parameters such as age, ethnicity or lifestyle could be affected by reasons other than use of the contraceptive method<sup>21,22</sup>. Nevertheless, there was no worsening of the parameters in the group of Cu-IUD users.

It is possible that the higher educational level of DMPA users with different dietary intake habits could explain the evolution of BMI. This variable, however, was not assessed in the study. Additionally, there were no differences in the amount of physical activity, ethnicity, age or socioeconomic class between the participants who chose DMPA or Cu-IUD that could explain any of the observed clinical or metabolic differences.

### Strengths and weaknesses of the study

The rigorous selection of the sample of healthy women paired for age and BMI, and the repeated evaluation of the laboratory parameters during 12 months were the strengths of this study. On the other hand, although five DMPA users showed abnormal values, HOMA-IR is not the gold standard for establishing a diagnosis of insulin resistance despite the good reliability of the method. In addition, the study did not assess dietary intake.

### Relevance of the findings: Implications for health care providers

Our results showed that there was a deterioration in glycaemic parameters evaluated over time in DMPA users. It is possible that the use of DMPA triggers a progressive increase in weight and waist circumference, with a simultaneous increase in insulin levels and, consequently, insulin resistance. It is important to monitor these signs and to recommend healthy lifestyle habits to women being followed up at family planning clinics.

### Unanswered questions and future research

The possible interference of the use of progestin-only compounds in carbohydrate metabolism in young women requires further study.

### CONCLUSION

HOMA-IR, although not the gold standard method, represented a useful tool for evaluating changes in carbohydrate metabolism in non-obese DMPA users. The increases in body weight and waist circumference were important clinical parameters for monitoring DMPA users and can help in diagnosing insulin resistance.

**Declaration of interest:** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper

This study was funded by the Brazilian National Research Council (CNPq) and by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP) grant PPSUS/2009, #2009/53293-0, Brazil.

### REFERENCES

1. Fraser IS, Weisberg E. A comprehensive review of injectable contraception with special emphasis on depot medroxyprogesterone acetate. *Med J Aust* 1981;1 (1 Suppl):3-19.
2. Gershberg H, Zorrilla E, Hernandez A, Hulse M. Effects of medroxyprogesterone acetate on serum insulin and growth hormone levels in diabetics and potential diabetics. *Obstet Gynecol* 1969;33:383-9.
3. Nash HA. Depo Provera: A review. *Contraception* 1975;12:377-93.
4. Lopez LM, Grimes DA, Schulz KF. Steroidal contraceptives: Effect on carbohydrate metabolism in women without diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;4:CD006133.
5. Amatayakul K, Svassomboon B, Singkamani R. Effects of medroxyprogesterone acetate on serum lipids, protein, glucose tolerance, and liver function in Thai women. *Contraception* 1980;21:283-97.
6. Fahmy K, Abdel-Razik M, Shaaraway M, et al. Effect of long-acting progestagen-only injectable contraceptives on carbohydrate metabolism and its hormonal profile. *Contraception* 1991;44:419-30.
7. Liew DF, Ng CS, Yong YM, Ratnam SS. Long-term effects of Depo-Provera on carbohydrate and lipid metabolism. *Contraception* 1985;31:51-64.
8. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-23.
9. Bonora E, Targher G, Alberiche M, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: Studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23:57-63.
10. Chang AM, Smith MJ, Bloem CJ, et al. Limitation of the homeostasis model assessment to predict insulin resistance and beta-cell dysfunction in older people. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:629-34.
11. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-19.
12. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, et al. Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin



- resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:362–5.
13. Hanley AJ, Williams K, Stern MP, Haffner SM. Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the incidence of cardiovascular disease: The San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 2002;25:1177–84.
  14. Clark MK, Dillon JS, Sowers M, Nichols S. Weight, fat mass, and central distribution of fat increase when women use depot-medroxyprogesterone acetate for contraception. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:1252–8.
  15. Berenson AB, Rahman M. Changes in weight, total fat, percent body fat, and central-to-peripheral fat ratio associated with injectable and oral contraceptive use. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:329.e1–8.
  16. ABEP. [Brazilian Association of Research Companies.] [The Brazilian Economic Classification Criteria, 2009.] Accessed 27 May 2015 from: <http://www.abep.org/criterioBrasil.aspx>
  17. World Health Organization. *Global recommendations on physical activity for health*. Geneva: WHO 2011.
  18. World Health Organization. Physical status: The use and interpretation of anthropometry. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995;854:1–452.
  19. Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, et al.; BRAMS Investigators. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53:281–7.
  20. Tam CS, Xie W, Johnson WD, et al. Defining insulin resistance from hyperinsulinemic-euglycemic clamps. *Diabetes Care* 2012;35:1605–10.
  21. Winner B, Peipert JF, Zhao Q, et al. Effectiveness of long-acting reversible contraception. *N Engl J Med* 2012;366:1998v2007.
  22. Vickery Z, Madden T, Zhao Q, et al. Weight change at 12 months in users of three progestin-only contraceptive methods. *Contraception* 2013;88:503–8.

**ARTIGO 2**

18 Mar 2018

Arlete Fernandes,

Re: Subclinical cardiovascular disease parameters after one year in new users of depot medroxyprogesterone acetate compared to copper-IUD

Production tracking number: IEJC 1455087

Thank you for submitting your paper, which has now been received by the Taylor & Francis production department. As production editor I will work with you to oversee the production of your article from manuscript to publication. My contact details are given at the end of this email.

If your article contains colour figures, reproduction in colour in the online edition of the journal is free of charge. If it is necessary for any figures to be reproduced in colour in the printed journal, please let me know as a charge will apply. Charges for color figures in print are £300 per figure (\$400 US Dollars; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 color figures, figures 5 and above will be charged at £50 per figure (\$75 US Dollars; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes. If you plan to order colour reprints, please order colour now before you order reprints.

Proofs will be ready for you to check in approximately 5 working days and we would like you to return your corrections within 3 days. Please let me know if there will be any difficulty in meeting this schedule.

We will be sending proofs to you through our workflow system, CATS (Central Article Tracking System).

- The DOI of your paper is: 10.1080/13625187.2018.1455087. Once your article has published online, it will be available at the following permanent link: <https://doi.org/10.1080/13625187.2018.1455087> .
- You can check the status of your paper online through the CATS system at: <https://cats.informa.com/PTS/in>
- Your User Name is: FERNANA79
- If you do not know your password, you may reset it here: <http://cats.informa.com/PTS/forgottenPassword.do>

Yours sincerely,

Alison Daniels

**Subclinical cardiovascular disease parameters after one year in new users of depot medroxyprogesterone acetate compared to copper-IUD**

Kleber Cursino, MD <sup>a</sup>

Gabriel Araújo de Lima, undergraduate student <sup>a</sup>

Priscilla de Nazaré Silva dos Santos, MSc <sup>a</sup>

Elizabeth João Pavin MD, PhD <sup>b</sup>

Luis Bahamondes, MD, PhD <sup>a</sup>

Arlete Fernandes, MD, PhD <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Family Planning Clinic, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Campinas Medical School, 13084-971 Campinas, São Paulo, Brazil and <sup>b</sup>Department of Clinical Medicine, University of Campinas Medical School, 13083-887 Campinas, São Paulo, Brazil.

**Running title:** Subclinical CVD markers in DMPA users

*Corresponding author:*

*Arlete Maria dos Santos Fernandes*

*Caixa Postal 6181*

*13083-970 Campinas, SP, Brazil.*

*Telephone: +55-19-3289-2856*

*Fax: +55-19-3289-2440*

**E-mail:** [arlete@fcm.unicamp.br](mailto:arlete@fcm.unicamp.br)

## **Abstract**

**Purpose:** To evaluate markers of cardiovascular disease in women with normal insulin sensitivity who had recently initiated use of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) as a contraceptive.

**Materials and Methods:** A prospective, non-randomized, comparative study. Data of 30 women of 18-40 years of age, with normal hyperinsulinemic-euglycemic clamp at baseline and body mass index (BMI) <30, who opted to use DMPA or a copper intrauterine device (IUD) as a contraceptive, were analyzed. Serum samples were collected for evaluation of the lipid and hepatic profile, C-reactive protein, TNF- $\alpha$ , interleukin-6, leptin/adiponectin ratio and free fatty acids; body composition was evaluated using DXA, blood pressure and carotid intima-media thickness were measured. Evaluations were performed at baseline and 12 months later. The groups were compared using repeated measures analysis of variance (ANOVA). Significance level was 5%.

**Results:** The mean age of the women in the DMPA and IUD group was  $28.7\pm 6.5$  and  $28.3\pm 5.8$  years, respectively; the BMI was  $23.0\pm 3.4$  and  $24.3\pm 2.7$  kg/m<sup>2</sup> respectively in the same groups. At 12 months, triglyceride levels were higher in the DMPA group compared to the IUD group and there was an increase in apolipoprotein B-100 in relation to baseline in DMPA group; there were no other difference between the groups.

**Conclusion:** No clinical cardiovascular effect was found but deterioration in CV markers was observed in the first year of use of DMPA.

**Clinical trial registration number:** This study was registered at ClinicalTrials under identifier NCT01527526.

**Keywords:** Contraception; depot-medroxyprogesterone acetate; lipid metabolism; cardiovascular disease.

## Introduction

In recent decades, men and women in the developed world have been living longer. Nevertheless, cardiovascular disease (CVD) remains the cause of death of one in every three women in the United States, while the number of deaths in women under 55 years of age has stabilized (1, 2). The rates of CVD are significantly higher in black women compared to Caucasian women (286.1/100,000 versus 205.7/100,000) and this difference is attributed to a lack of information on CVD (3).

Little is known on how differences between the sexes contribute to the effects of the traditional risk factors in the development of CVD, and studies involving larger sample sizes are required on this subject (4). A characteristic associated uniquely with women refers to the use of hormonal contraceptive methods over several years of their reproductive life. Global data show a worldwide increase in the use of contraceptive methods in recent decades (5). Depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) is a highly effective contraceptive that is simple to use. Failure rates are between 0.2 and 0.3 per 100 women years (6). DMPA has an intensely hypo-estrogenic effect due to an action on ovarian steroid production, besides the mildly androgenic effect (7) and with glucocorticoid activity when administered in high doses (8).

According to the medical eligibility criteria for contraceptive use defined by the World Health Organization (WHO), the use of DMPA is classified as category 3 for women with hypertension (systolic pressure  $\geq 160$  mmHg and/or diastolic pressure  $\geq 100$  mmHg), multiple risk factors for arterial CVD (advanced age, smoking, diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemias), vascular disease, a history of ischemic heart disease, cerebrovascular accident, deep vein thrombosis and pulmonary embolism. In such cases, *“Use of the method is not usually recommended unless other more appropriate methods are not available or not acceptable”* (9).

Few studies have been conducted on lipid metabolism and arterial evaluation in DMPA users, and results have been conflicting. Those reporting non-beneficial drug outcomes have described a reduction in serum high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and apolipoprotein (Apo) A1 levels, an increase in low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and in Apo B levels (10-13), and a reduction in flow-mediated dilation in the brachial artery (14, 15). The most recent recommendations for the prevention of CVD emphasize the importance of reducing LDL cholesterol and of measuring coronary artery calcium scores and inflammatory markers to help stratify individual risk, paying particular attention to individuals with diabetes mellitus, familial hypercholesterolemia, women, and young with dyslipidemia (16).

The objective of the present study was to evaluate lipid parameters and markers of subclinical CVD in young non-obese women with normal insulin sensitivity who had recently initiated use of DMPA. Comparisons were made between baseline and 12 months of use of the method, and between DMPA users and women with the same characteristics using a copper intrauterine device (IUD).

## **Materials and Methods**

This was a prospective, comparative study conducted at the Department of Obstetrics and Gynecology of the University of Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brazil between February 2011 and February 2013. It was registered at Clinical Trials under identifier NCT01527526. The institute's internal review board approved the study protocol and all the volunteers signed an informed consent form prior to study initiation.

All the women fulfilled the following inclusion criteria: age 18-40 years, body mass index (BMI;  $\text{kg}/\text{m}^2$ )  $<30$ , fasting glucose  $<100$  mg/dL and glucose levels  $<140$  mg/dL two

hours after a 75-g oral glucose load. Breast-feeding women and those with systemic arterial hypertension, hyper- or hypothyroidism or kidney failure, women who had undergone organ transplantation, those with PCOS, acanthosis nigricans, hirsutism and/or hyperandrogenism were excluded. Other exclusion criteria consisted of the use of corticosteroids, antipsychotics, thiazides, and statins, a history of bariatric surgery, first-degree family members with type 1 diabetes or 2 and history of use of depot-medroxyprogesterone acetate at any time in the woman's life. Women with insulin resistance ( $M$  value  $< 4$ ) diagnosed using the hyperinsulinemic-euglycemic clamp (HEC) technique with an insulin infusion rate of 40  $mU/m^2/min$ , were excluded from the study (17). All women who met the inclusion / exclusion criteria, agreed and performed HEC at baseline with normal insulin sensitivity result, and were followed and repeated HEC at 12 months were analyzed in this study.

The women were able to choose between DMPA (Contracep<sup>®</sup>, EMS Pharmaceuticals, Hortolândia, Brazil) and a copper IUD (TCu380A, Optima<sup>®</sup>, Injeflex, São Paulo, Brazil), thus forming two comparison groups paired for age and at inclusion to the study. Only women who had body mass index (BMI) ( $\pm 1 \text{ kg}/m^2$ ) and age ( $\pm 1$  year) with some woman in the DMPA group were included in the IUD group. The pairing was done prior to baseline HEC and attempted to compose similar groups in relation to these characteristics.

The first injection of DMPA or IUD insertion took place within the first five days of a menstrual cycle, with all the women then returning to the clinic every three months, at which time DMPA users received a new dose of the injectable contraceptive. Blood pressure was measured on the left arm using a manual sphygmomanometer after the woman had rested for 15 minutes in the dorsal decubitus position. Women who reported performing aerobic exercise for at least 150 minutes/week were considered physically active, while those exercising for shorter periods of time or who performed other types of exercise were considered physically inactive.



Body composition (BC) was evaluated using the dual-energy X-ray absorptiometry technique with a LUNAR DPX bone densitometer (Lunar Corporation, Madison, USA). Samples for laboratory tests were collected early in the morning, after the women had fasted for 12 hours. Ultrasonography was performed at the same time. The study variables consisted of total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride levels, measured using a third-generation enzymatic colorimetric method (CHOD-PAP and GPO-PAP; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), and LDL-cholesterol, calculated using the Friedewald equation ( $\text{LDL cholesterol mg/dL} = \text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol} - [\text{triglycerides}/5]$ ).

Adipokines, leptin and adiponectin were evaluated using commercial immunoassay kits (Human Leptin “Dual Range” and Human Adiponectin ELISA) (Merck Millipore, Darmstadt, Germany). Inflammatory cytokines IL-6 and TNF $\alpha$  were evaluated using the following commercially available kits: Quantikine Human IL-6 and Quantikine High Sensitivity TNF $\alpha$  (R&D Systems, Minneapolis, USA). Apolipoproteins were evaluated by turbidimetry using the PowerWave XS microplate reader (BioTek, Winooski, USA) and the Tina-quant Apo A1 and Tina-quant Apo B reagents (Roche, Indianapolis, USA). The WAKO enzymatic colorimetric kit (Dusseldorf, Germany) was used to evaluate free fatty acids, while C-reactive protein (CRP) was evaluated by nephelometry using the BN ProSpec System (Dade Behring, Liederback, Germany) and the Siemens Cardiophase hsCRP reagent (Erlangen, Germany).

#### ***Procedures for the measurement of intima-media thickness (IMT)***

All the participants lay in the dorsal decubitus position for 20 minutes in a room maintained at a temperature of 22-24°C. Carotid intima-media thickness was then measured using a Toshiba Xario ultrasound system with a linear probe (6.6 - 9.0 MHz). The transducer used was of 8 MHz with axial and lateral resolution of 0.385 and 0.500 mm, respectively.

The examiner was blinded with respect to the nature of the investigation. IMT evaluations in mode B were obtained based on ultrasound images of the distant wall in the first centimeter of the common carotid arteries, close to the dilatation of the bulb, in lateral projection. The thickest area was defined following exploratory analysis, with the image amplified to occupy at least 50% of the screen. When intima-media thickness was homogenous, the area situated 20 mm from the carotid bulb was used for measurement. Measurements were performed on the right and on the left, with the mean of three measurements of each artery being used in the analysis. The same examiner took all the measurements, both at baseline and at 12 months. The mean coefficient of variation for each one of the measurements was < 5%.

### ***Statistical analysis***

Variables were compared between the two groups using the chi-square test, Fisher's exact test and the Mann-Whitney test. Repeated measures analysis of variance (ANOVA) was used, with the data transformed into ranks to enable comparison between groups and time points. Significance level was established as 5% and the power of the test was 80%.

### **Results**

Of the 72 women eligible for the study, 48 were submitted to HEC and 39 were diagnosed with normal insulin sensitivity. Eight women lost follow-up after baseline HEC, seven in DMPA group and one in IUD group; one potential DMPA user discontinued the intervention due to osteoporosis. Fifteen women from each group, who had completed follow-up, were evaluated using data collected at baseline and at 12 months of use of the contraceptive (Figure 1).

The groups of DMPA and IUD users had similar sociodemographic characteristics, with no statistically significant differences insofar as pregnancies, body weight or BMI were

concerned (Table 1). Lifestyle habits were similar in both groups, both at baseline and at 12 months: 70% of the women did not smoke and around 80% drank no alcohol (data not shown). Around 30% of the women in both groups were physically active during follow-up, with no statistically significant differences between the groups at baseline or at 12 months (data not shown). Comparison between the groups at baseline showed no differences for any of the variables evaluated.

At 12 months, the percentage of body fat increased in both groups; however, there were no differences in any of the other measures of body composition (Table 2). A significant increase in Apo A1 and a significant decrease in TNF- $\alpha$  and in free fatty acids were found in both groups over time (Table 3). Evaluation of the group versus time interaction showed significant increase in triglyceride levels at 12 months in the DMPA group compared to the IUD group and a significant increase in Apo B-100 at 12 months compared to baseline values in DMPA group (Table 3). No difference at all was found in the IMT measurements or in systolic or diastolic pressure (Table 4).

## **Discussion**

### ***Findings and interpretation***

In this sample of non-obese women with normal insulin sensitivity, differences were found in some markers evaluated that could suggest a negative effect on cardiovascular health at 12 months of DMPA use. The particularity of this study lies in the fact that the women evaluated had normal glucose metabolism at baseline.

Triglyceride levels were higher at 12 months in the group of DMPA users compared to the group of IUD users, a finding that may be associated with disorders related to carbohydrate metabolism caused by the slight glucocorticoid effect of the drug (18, 19). Serum levels of triglycerides are associated with the availability of fats for immediate energy

use. Levels rise immediately following meals, with an increase in calorie intake and with a lack of physical exercise, and are inversely associated with insulin sensitivity (20). Any rise above normal levels increases the individual's risk of CVD (21). Some studies reporting an increase in triglycerides and lipids in DMPA users have suggested an association with altered glucose metabolism (22-24).

In the present study, there was an increase in Apo B-100 levels at 12 months compared to baseline in the DMPA group, but no difference between the groups. On the other hand, a reduction in free fatty acids levels and an increase in Apo A1 levels were found in both groups. These values are strongly associated with HDL-cholesterol, which is known to have a protective effect on atherogenesis (25). Taken in conjunction, these results suggest that there is little clinical significance in the increase in Apo B-100 levels.

#### ***Differences in results and conclusions in relation to other studies***

The finding of an increase in triglycerides in the DMPA group is in agreement with data from previous studies (10, 26, 27). No difference was found between the groups with respect to serum levels of HDL- and LDL-cholesterol, Apo A1 or Apo B-100. This contrasts with the findings of other studies reporting a reduction in HDL-C and Apo A1 and an increase in LDL-cholesterol, total cholesterol and Apo B (10, 12, 13, 23, 28), which could be interpreted as an increase in the risk of atherogenesis (25).

There were no differences between the groups with respect to the inflammatory biomarkers. To the best of our knowledge, no previous studies have been conducted in adult DMPA users with which the present findings could be compared. There was no difference in carotid IMT measurements and this finding is in agreement with the results of a previous study (15). Two cohort studies reported atherogenic effects of DMPA. The first evaluated flow-mediated dilation of the brachial artery using magnetic resonance imaging prior to and 48 hours after administration of the injectable in twelve women who had been using DMPA

for more than 12 months and in nine controls with regular menstrual cycles. Those investigators concluded that flow-mediated dilation was significantly less in the group of DMPA users compared to the controls and that a possible explanation for this mechanism could be the hypoestrogenism that develops during use of the method (14). The other study evaluated flow-mediated dilation of the brachial artery, carotid IMT, distensibility and the stiffness index of the carotid artery in 25 current users of combined oral contraceptives, in 25 women who had been using DMPA for at least six months and in 50 non-users of hormonal contraception. No differences were found in carotid IMT; however, flow-mediated dilation was reduced in both groups of users of hormonal contraception compared to the controls (15). Flow-mediated dilation was not evaluated in the present study.

No clinical cardiovascular effect was found in the first year of use of the method, a result that is in agreement with the findings of a review article that concluded that there was no evidence of any adverse cardiovascular effects in DMPA users (29) and with the first study to evaluate risk in users of progestogen-only compounds that suggested the existence of a slight increase or no increase at all in the risk of cardiovascular events associated with the use of these methods (30).

### ***Strengths and weaknesses of the study***

The strongpoint of this study lies in the composition of the groups of new users of DMPA and the IUD, which resulted in two groups with very similar characteristics, screened by hyperinsulinemic-euglycemic clamp testing at baseline and followed up for 12 months. The weakness of the study lies in the lack of randomization, since, although there were no statistically significant differences in lifestyle habits during the study, it is possible that the women who opted for non-hormonal methods may also concern themselves with practicing other healthy lifestyle behaviors such as diet and physical exercise.

### ***Relevance of the findings: implications for clinicians and policy-makers***

Deterioration in cardiovascular disease markers, the increase of triglycerides and Apo B 100, was found and could be associated with DMPA use. The finding of increased triglyceride levels was interpreted as a variation caused by the slight changes in glucose metabolism that have already been described (23). Women newly opting to use DMPA should be counseled in relation to diet and physical activity to enable them to maintain normal insulin sensitivity.

### ***Unanswered questions and future research***

The question remains regarding whether the use of intramuscular injections of 150 mg DMPA by women with disorders of carbohydrate metabolism will affect cardiovascular health as a function of the duration of use of the method. The use of hormonal contraceptives and cardiovascular disease in women is a subject that needs to be more widely investigated.

### **Conclusions**

Relevant changes were found in the markers of cardiovascular disease in this sample of non-obese women with normal insulin sensitivity using depot medroxyprogesterone acetate.

### **Disclosure statement**

The authors report no conflicts of interest.

### **Funding**

The original study was funded by the Brazilian National Research Council (CNPq), the São Paulo Foundation for the Support of Research (*Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* - FAPESP) and by the São Paulo State Health Department (SES-SP) under grant PPSUS/2009 #2009/53293-0, Brazil. The sponsors played no role in the study design, in the collection, analysis or interpretation of data, in writing the report, or in the decision to submit the article for publication.

## References

1. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al.; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics - 2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2015;131:e29–322.
2. Wilmot KA, O’Flaherty M, Capewell S, Ford ES, Vaccarino V. Coronary heart disease mortality declines in the United States from 1979 through 2011: evidence for stagnation in young adults, especially women. *Circulation* 2015;132:997–1002.
3. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, et al.; American Heart Association. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women - 2011 update: a guideline from the American Heart Association. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1404-23.
4. Garcia M, Mulvagh SL, Merz CN, Buring JE, Manson JE. Cardiovascular disease in women: clinical perspectives. *Circ Res* 2016;118:1273-93.
5. Alkema L, Kantorova V, Menozzi C, Biddlecom A. National, regional, and global rates and trends in contraceptive prevalence and unmet need for family planning between 1990 and 2015: a systematic and comprehensive analysis. *Lancet* 2013;381:1642-52.
6. Kaunitz AM. Long-acting contraceptive options. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1996;41:69-76.
7. Sitruk-Ware R. Pharmacological profile of progestins. *Maturitas* 2004;47:277-83.
8. Hellman L, Yoshida K, Zumoff B, Levin J, Kream J, Fukushima DK. The effect of medroxyprogesterone acetate on the pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:912-7.
9. World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use. 5th ed. Geneva: WHO, 2015. Available at: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/181468/1/9789241549158\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/181468/1/9789241549158_eng.pdf?ua=1) Accessed August 24, 2017.

10. Liew DF, Ng CS, Yong YM, Ratnam SS. Long-term effects of Depo-Provera on carbohydrate and lipid metabolism. *Contraception* 1985;31:51-64.
11. Enk L, Landgren BM, Lindberg UB, Silfverstolpe G, Crona N. A prospective, one-year study on the effects of two long acting injectable contraceptives (depot-medroxyprogesterone acetate and norethisterone oenanthate) on serum and lipoprotein lipids. *Horm Metab Res* 1992;24:85-9.
12. Kongsayreepong R, Chutivongse S, George P, Joyce S, McCone JM, Garza-Flores J, et al. A multicentre comparative study of serum lipids and apolipoproteins in long-term users of DMPA and a control group of IUD users. World Health Organization. Task Force on Long-Acting Systemic Agents for Fertility Regulation Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. *Contraception* 1993;47:177-91.
13. Dilshad H, Yousuf RI, Shoaib MH, Jamil S, Khatoon H. Cardiovascular disease risk associated with the long-term use of depot medroxyprogesterone acetate. *Am J Med Sci* 2016;352:487-92.
14. Sorensen MB, Collins P, Ong PJ, Webb CM, Hayward CS, Asbury EA, et al. Long-term use of contraceptive depot medroxyprogesterone acetate in young women impairs arterial endothelial function assessed by cardiovascular magnetic resonance. *Circulation* 2002;106:1646-51.
15. Lizarelli PM, Martins WP, Vieira CS, Soares GM, Franceschini SA, Ferriani RA, et al. Both a combined oral contraceptive and depot medroxyprogesterone acetate impair endothelial function in young women. *Contraception* 2009;79:35-40.
16. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, Bloomgarden ZT, Fonseca VA, Garber AJ, Grunberger G, Guerin CK, Bell DSH, Mechanick JI, Pessah-Pollack R, Wyne K, Smith D, Brinton EA, Fazio S, Davidson M. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocr Pract.* 2017;23(Suppl 2):1-87.
17. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214–23.
18. Nash HA. Depo Provera: a review. *Contraception* 1975;12:377-93.
19. Amatayakul K. The effects of depo-provera on carbohydrate, lipids and vitamin metabolism. *J Steroid Biochem* 1979;11:475-81.



20. Leon-Acuña A, Alcalá-Díaz JF, Delgado-Lista J, Torres-Peña JD, López-Moreno J, Camargo A, et al. Hepatic insulin resistance both in prediabetic and diabetic patients determines postprandial lipoprotein metabolism: from the CORDIOPREV study. *Cardiovasc Diabetol* 2016;15:68.
21. Klempfner R, Erez A, Sagit BZ, Goldenberg I, Fisman E, Kopel E, et al. Elevated triglyceride level is independently associated with increased all-cause mortality in patients with established coronary heart disease: twenty-two-year follow-up of the Bezafibrate Infarction Prevention Study and Registry. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2016;9:100-8.
22. Virutamasen P, Wongsrichanalai C, Tangkeo P, Nitichai Y, Rienprayoon D. Metabolic effects of depot-medroxyprogesterone acetate in long-term users: a cross-sectional study. *Int J Gynaecol Obstet* 1986;24:291-6.
23. Crona N, Enk L, Samsioe G, Silfverstolpe G, Skryten A. High-dose depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) - effects on lipid and lipoprotein metabolism. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1983;16:97-105.
24. Segall-Gutierrez P, Xiang AH, Watanabe RM, Trigo E, Stanczyk FZ, Liu X, et al. Deterioration in cardiometabolic risk markers in obese women during depot medroxyprogesterone acetate use. *Contraception* 2012;85:36-41.
25. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* 2004;255:188-205.
26. Garza-Flores J, De la Cruz DL, Valles de Bourges V, Sanchez-Nuncio R, Martinez M, Fuziwara JL, et al. Long-term effects of depot-medroxyprogesterone acetate on lipoprotein metabolism. *Contraception* 1991;44:61-71.
27. Graff-Iversen S, Tonstad S. Use of progestogen-only contraceptives/medications and lipid parameters in women age 40 to 42 years: results of a population-based cross-sectional Norwegian Survey. *Contraception* 2002;66:7-13.
28. Fåhræus L, Sydsjö A, Wallentin L. Lipoprotein changes during treatment of pelvic endometriosis with medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 1986;45:503-6.
29. Bakry S, Merhi ZO, Scalise TJ, Mahmoud MS, Fadiel A, Naftolin F. Depot-medroxyprogesterone acetate: an update. *Arch Gynecol Obstet* 2008;278:1-12.

30. World Health Organization Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. Cardiovascular disease and use of oral and injectable progestogen-only contraceptives and combined injectable contraceptives. Results of an international, multicenter, case-control study. *Contraception* 1998;57:315-24.

**Figure Caption**

**Figure 1:** Flow chart of the inclusion and follow-up of the sample within the study and the groups submitted to analysis.

**Table 1.** Characteristics of the groups of DMPA and IUD users at baseline and at 12 months.

Characteristics	Baseline Study Sample		p-value
	DMPA n=15	IUD n=15	
Age, mean (SD)	28.7 (6.5)	28.3 (5.8)	0.867 <sup>a</sup>
Ethnicity, n (%)			
White	4 (26.6)	6 (40.0)	0.438 <sup>b</sup>
Non-white	11 (72.3)	9 (60.0)	
Schooling, n (%)			
≤ 8 years	6 (40.0)	10 (66.6)	0.143 <sup>b</sup>
> 8 years	9 (60.0)	5 (33.3)	
Socioeconomic class <sup>#</sup> , n (%)			
A or B	6 (40.0)	6 (40.0)	1.000 <sup>a</sup>
C, D or E	9 (60.0)	9 (60.0)	
Number of pregnancies, mean (SD)	1.6 (1.4)	2.2 (0.9)	0.205 <sup>a</sup>
Weight, mean (SD)	60.2 (9.8)	60.8 (7.1)	0.633 <sup>a</sup>
Normal (BMI 18 - 24.9 kg/m <sup>2</sup> ), n (%)	10 (66.6)	10 (66.6)	1.000 <sup>b</sup>
Overweight (BMI 25 - 29.9 kg/m <sup>2</sup> ), n (%)	5 (33.3)	5 (33.3)	
BMI kg/m <sup>2</sup> , mean (SD)	23.0 (3.4)	24.3 (2.7)	0.280 <sup>a</sup>
Insulin resistance, n (%)	0	0	

BMI: Body Mass Index. <sup>#</sup>Economic class according to gross household income: A: US\$ 5147.9 – 3719.7; B: US\$ 2131.8 – 1191.0; C: US\$ 654.2 – 431.3; D: US\$ 304.9 and E: US\$ 186.0.

Insulin Resistance: M value <4.0 mg/kg/min. <sup>a</sup>Mann-Whitney test. <sup>b</sup>Chi-square test. <sup>c</sup>Fisher's exact test.

**Table 2.** Comparison of the anthropometric measurements between the groups at baseline and at 12 months.

Variables <sup>@</sup>	DMPA n=15		IUD n=15		ANOVA <sup>¥</sup>		
	Baseline <sup>*</sup>	12 months	Baseline <sup>*</sup>	12 months	<i>P</i> <sup>#</sup>	<i>P</i> <sup>\$</sup>	<i>P</i> <sup>&amp;</sup>
Weight Kg, mean, (SD)	60.2 (9.8)	62.4 (9.3)	60.8 (7.1)	61.0 (7.5)	0.912	0.101	0.133
Median	59.5	61.8	60.0	61.2			
BMI kg/m <sup>2</sup> , mean (SD)	23.0 (3.4)	23.8 (2.9)	24.3 (2.7)	24.2 (2.7)	0.476	0.064	0.058
Median	22.4	24.3	23.9	24.0			
Total body mass Kg, mean (SD)	59.0 (9.1)	61.6 (9.2)	59.8 (7.7)	59.6 (7.6)	0.945	0.145	0.121
Median	60.0	61.2	60.0	60.3			
Total body fat mass g, mean (SD)	19764.0 (7177.0)	22558.5 (6712.6)	22391.5 (5693.2)	22420.7 (5393.4)	0.795	0.051	0.082
Median	19713.0	23810	21640.0	22938.0			
Body fat percentage, mean (SD)	34.2 (9.0)	37.4 (6.9)	38.6 (5.6)	38.8 (5.2)	0.466	0.040	0.307
Median	36.7	38.6	37.6	39.6			
Total lean mass g, mean, SD	36723.8 (4908.8)	36570.1 (3625.8)	34908.2 (3245.3)	34703.6 (3214.0)	0.441	0.500	0.271
Median	34792.0	36091.0	35085.0	34982.0			
Mean waist-to-hip ratio (SD)	0.8 (0.0)	0.7 (0.0)	0.8 (0.0)	0.7 (0.0)	0.606	0.050	0.814
Median	0.8	0.7	0.8	0.7			

BMI: Body Mass Index. SD: Standard deviation. <sup>@</sup> Variables transformed into ranks for the tests because distribution was not normal. <sup>\*</sup>Baseline: No differences between the groups for any of the variables. <sup>¥</sup>Repeated measures ANOVA. <sup>#</sup> Comparison between groups (independent of time); <sup>\$</sup> Comparison between time points (for both groups); <sup>&</sup> Group-time interaction (differences in result change between groups over time).

**Table 3.** Comparison of laboratory markers between the DMPA and IUD groups at baseline and at 12 months

Variables <sup>@</sup>	DMPA n=15		IUD n=15		ANOVA <sup>‡</sup>		
	Baseline *	12 months	Baseline *	12 months	<i>P</i> <sup>#</sup>	<i>P</i> <sup>§</sup>	<i>P</i> <sup>&amp;</sup>
CLAMP M value mg/kg/min, mean (SD)	6.1 (1.2)	5.75 (1.8)	6.2 (0.9)	6.4 (1.1)	0.336	0.919	0.403
Median	6.4	5.7	6.4	6.5			
Total cholesterol mg/dL, mean (SD)	155.3 (28.7)	164.9 (33.0)	160.9 (44.1)	159.8 (28.9)	0.968	0.196	0.542
Median	153.0	165.0	159.0	156.0			
HDL-cholesterol mg/dL, mean (SD)	51.6 (10.9)	46.8 (11.5)	47.6 (12.3)	51.3 (10.0)	0.904	1.000	0.060
Median	52.0	47.0	46.0	52.0			
LDL-cholesterol mg/dL, mean (SD)	90.0 (30.5)	102.8 (28.1)	100.1 (35.2)	96.2 (24.8)	0.964	0.188	0.066
Median	88.0	105.0	93.0	91.0			
Triglycerides mg/dL, mean (SD)	63.9 (22.3)	80.0 (47.7)	67.5 (27.1)	61.8 (35.8)	0.285	0.815	0.033 <sup>a</sup>
Median	62.0	70.0	56.0	52.0			
ALT U/L, mean (SD)	11.4 (4.6)	18.4 (18.2)	13.1 (5.5)	14.2 (4.6)	0.468	0.073	0.190
Median	11.0	14.0	14.0	13.0			
AST U/L, mean (SD)	15.6 (3.4)	19.0 (12.3)	15.8 (4.0)	17.0 (3.9)	0.644	0.316	0.986
Median	15.0	16.0	17.0	17.0			
C-reactive protein mg/dL, mean (SD)	0.2 (0.2)	0.4 (1.0)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.364	0.174	0.485
Median	0.1	0.1	0.1	0.0			
TNF- $\alpha$ pg/mL, mean (SD)	4.6 (2.0)	4.4 (2.5)	3.8 (2.4)	3.2 (2.3)	0.066	0.038	0.197
Median	5.2	3.7	2.5	2.3			

APO A1 mg/dL, mean (SD)	128.2 (37.0)	136.8 (23.9)	136.7 (30.8)	153.5 (24.3)	0.176	0.017	0.568
Median	122.8	145.8	131.2	150.7			
APO B-100 mg/dL, mean (SD)	83.4 (20.4)	99.1 (19.7)	92.5 (27.6)	92.0 (22.8)	0.934	0.053	0.017 <sup>b</sup>
Median	84.0	101.3	95.3	86.8			
Interleukin 6 pg/mL, mean (SD)	1.2 (0.7)	1.9 (2.4)	2.1 (2.6)	2.4 (3.2)	0.429	0.877	0.457
Median	1.1	1.1	1.2	0.9			
Leptin/Adiponectin ratio, mean (SD)	0.5 (0.2)	0.5 (0.3)	0.6 (0.3)	0.7 (0.4)	0.256	0.676	0.310
Median	0.5	0.4	0.6	0.6			
Free fatty acids mmol/L, mean (SD)	1632.9 (1061.9)	1887.4 (1685.3)	1719.6 (1224.5)	808.3 (366.0)	0.135	0.033	0.061
Median	1147.0	1138.8	1422.8	740.9			

---

SD: Standard deviation. <sup>@</sup> Variables transformed into ranks for tests because distribution was not normal. \*Baseline: no differences between the groups for any of the variables. <sup>‡</sup> Repeated measures ANOVA. <sup>#</sup> Comparison between groups (independent of time); <sup>\$</sup> Comparison between time points (for both groups); <sup>&</sup> Group-time interaction (differences in result change between groups over time): <sup>a</sup> Time fixed at 12 months: DMPA group > IUD group,  $p=0.043$ . <sup>b</sup> DMPA group: 12 months>baseline,  $p=0.004$ .

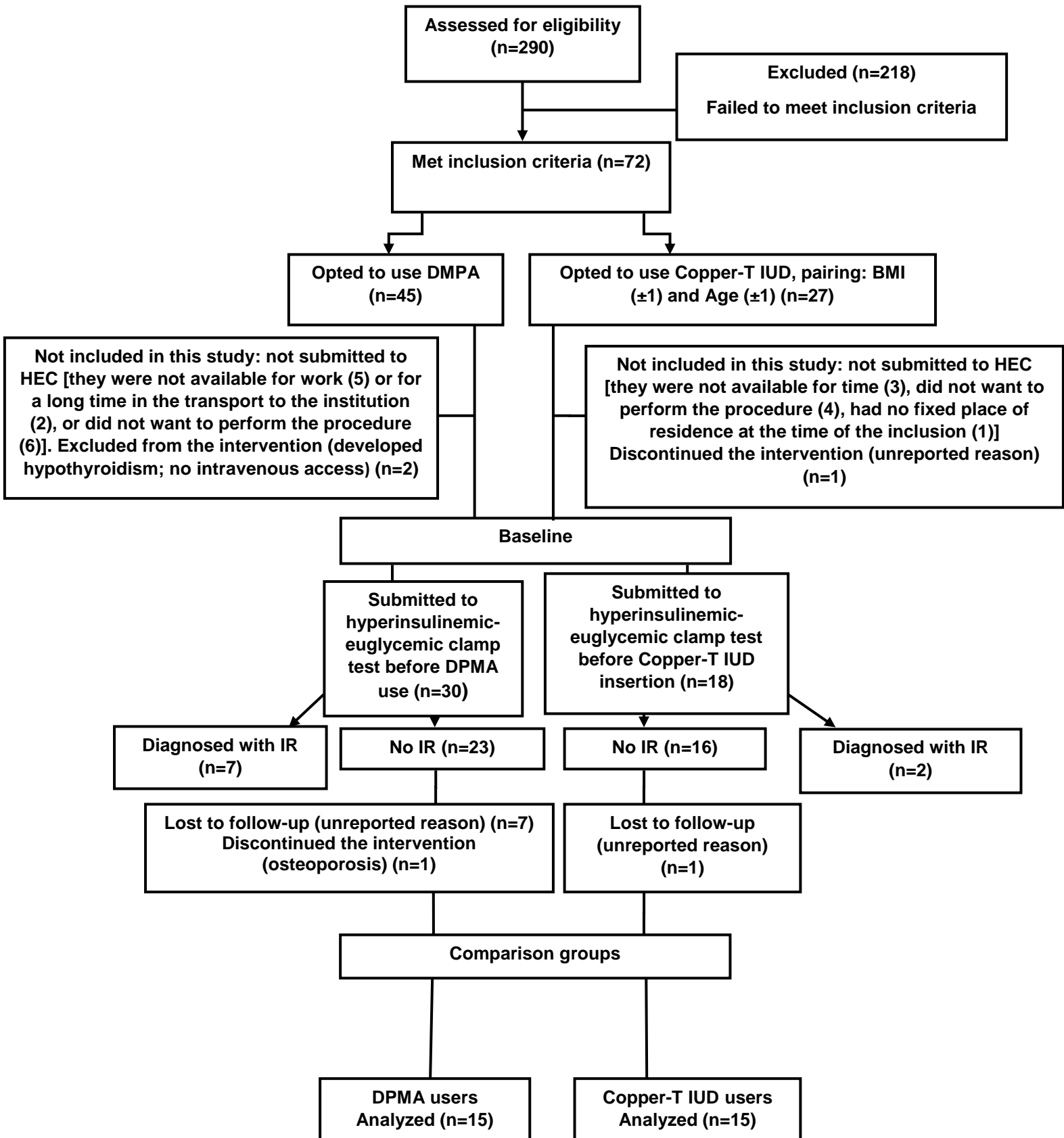
**Table 4.** Comparison of the carotid intima-media thickness (IMT) measurements and blood pressure in the DMPA and IUD groups at baseline and at 12 months

Variables <sup>@</sup>	DMPA n=15		IUD n=15		ANOVA <sup>‡</sup>		
	Baseline *	12 months	Baseline *	12 months	<i>P</i> <sup>#</sup>	<i>P</i> <sup>§</sup>	<i>P</i> <sup>&amp;</sup>
Right carotid IMT cm, mean (SD)	0.4 (0.1) <sup>Σ</sup>	0.3 (0.0)	0.4 (0.1)	0.3 (0.0)	0.922	0.661	0.374
Median	0.4	0.4	0.4	0.3			
Left carotid IMT cm, mean (SD)	0.4 (0.1) <sup>Σ</sup>	0.3 (0.0)	0.4 (0.1)	0.3 (0.0)	0.880	0.630	0.961
Median	0.4	0.4	0.4	0.4			
Systolic blood pressure mm Hg, mean (SD)	102.0 (10.1)	102.6 (12.8)	104.7 (13.0)	98.0 (8.6)	0.824	0.098	0.135
Median	100.0	100.0	110.0	100.0			
Diastolic blood pressure mm Hg, mean (SD)	64.7 (8.3)	70.0 (10.6)	66.7 (10.5)	64.0 (7.3)	0.483	0.607	0.120
Median	70.0	70.0	60.0	60.0			

SD: standard deviation. <sup>@</sup> Variables transformed into ranks for the tests because distribution was not normal. <sup>\*</sup> Missing=1 (DMPA group at baseline for IMT measurements, n=14). <sup>#</sup> Comparison between groups (independent of time); <sup>§</sup> Comparison between time points (for both groups); <sup>&</sup> Group-time interaction (differences in result change between groups over time).



Figure 1. Flowchart



## ARTIGO 3

21/12/2017

ScholarOne Manuscripts



Ultrasound in Obstetrics and Gynecology

[# Home](#)[/ Author](#)[Review](#)

## Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

**Submitted to**

Ultrasound in Obstetrics and Gynecology

**Manuscript ID**

UOG-2017-1060

**Title**

Ultrasound measurements of abdominal fat and correlation with body composition and cardiovascular disease markers

**Authors**Cursino de Andrade, Kleber  
dos Santos, Priscilla de Nazaré  
Marussi, Emilio  
Fernandes, Arlete**Date Submitted**

21-Dec-2017

[Author Dashboard](#)

***Ultrasound measurements of abdominal fat and correlation with body composition and cardiovascular disease markers***

Kleber Cursino<sup>1</sup>, Priscilla de Nazaré Silva dos Santos<sup>1</sup>, Arlete Fernandes<sup>1</sup>.

Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Campinas (UNICAMP) School of Medicine, Campinas, São Paulo, Brazil.

**Running title:** Ultrasonography to measure abdominal fat – a future marker of cardiovascular risk?

**Keywords:** Body composition; Abdominal Fat; Visceral Fat; Diagnostic Imaging; Female; Ultrasound.

Correspondence: Kleber Cursino de Andrade, Caixa Postal 6181,13084-971, Campinas, SP, Brazil. Tel.: +55-19-3289-4884. Fax: +55-19-3289-2440.

E-mail: cursino@unicamp.br

## ABSTRACT

**Objectives:** To evaluate ultrasound measurements of abdominal fat as a possible tool for the prevention of metabolic alterations and cardiovascular risk (CV)

**Methods:** A pilot study with 37 females aged 18-40 years, body mass index  $<30$  (BMI;  $\text{kg/m}^2$ ) and no history of illness or use of medication. All patients were assessed for insulin resistance using the Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp (HEC) at baseline and at 12 months. Ultrasound measurements of abdominal fat, anthropometry, body composition (BC) obtained by densitometry (DXA) and serum parameters related to CV health were made by the same observer during two time periods, at baseline and after 12 months. Measurements of liver volume, abdominal wall subcutaneous fat tissue (ScF), preperitoneal fat (PPF) and visceral fat tissue (VF) were taken. Lipid and liver profile, apolipoprotein levels and biomarkers of CV health were analyzed. Spearman coefficient was used for correlation analysis. The significance level was set at 5%.

**Results:** A slight elevation of the mean weight, BMI and ultrasound measurements was observed at 12 months. In both time periods, there was a significant correlation between ScF and total serum cholesterol levels ( $r=0.54$ ), LDL-cholesterol ( $r=0.53$ ) and Apo B-100 ( $r=0.44$ ), BMI ( $r=0.85$ ), waist circumference (WC;  $r=0.84$ ) and hip circumference ( $r=0.75$ ), total mass ( $r=0.78$ ), fat mass percentage and total fat mass ( $r=0.82$  and  $r=0.87$ , respectively). PPF measurements showed a significant correlation with CRP in both time periods ( $r=0.44$ ) and WC ( $r=0.51$ ), while VF correlated with the waist/hip ratio ( $r=0.60$ ).

**Conclusions:** Ultrasound measurement of abdominal fat showed a good correlation with anthropometric and BC measurements, and CV markers in this non-obese female sample. It is a promising technique that should be tested in the largest number of individuals in other populations to determine the cutoff parameter as a potential early marker of CV risk.

**Keywords:** Body Composition; Abdominal Fat; Diagnostic Imaging; Female; Ultrasound

## INTRODUCTION

Social, demographic and behavioral changes have directly influenced health, in addition to the causes of morbidity and mortality in individuals<sup>1</sup>. Transmissible and cardiovascular diseases (CVD) have been the major global causes of death<sup>2,3</sup>. One-third of the female mortality rates have been attributed to CVD and the number of deaths in the age groups younger than 55 years have not shown a decrease, despite all existing US protocols for the prevention and treatment of CVD<sup>4,5,6</sup>.

The majority of cardiovascular events occur during people's normal routine, often outside a hospital or healthcare unit. Therefore, it becomes clear that primary prevention should be top priority. Changes in feeding habits<sup>7</sup>, physical activity<sup>8</sup>, postmenopausal hormone therapy<sup>9</sup> and preventive surgeries for the obese<sup>6,10</sup> have been described as factors that may reduce morbidity and mortality from CVD. On the other hand, the proposal for more effective preventive measures focused on predisposed individuals, requires screening methods for CVD risk factors.

The probable cause of the increasing prevalence of CVD is the number of people with excessive weight in fat, particularly those with visceral abdominal fat (VF)<sup>11,12,13,14,15</sup>. VF is a known risk factor for CVD, metabolic diseases and some types of tumors<sup>16,17,18,19,20,21,22</sup>. It has been described that dysfunctional and hypertrophic adipocytes located in VF precede the predisposing inflammatory processes of CVD and thromboembolism<sup>23,24</sup>.

Although abdominal fat is estimated by anthropometric and body composition (BC) measurements using total body densitometry (DXA), computed tomography (CT) scan has been the gold standard of VF assessment. CT is an expensive technique that emits some level

of radiation<sup>25</sup>. Regional fat compartments were measured with the aid of new software (iDXA) for BC assessment. A study of females and males aged 18-70 years compared abdominal fat compartments by iDXA and ultrasound measurements. It was concluded that ultrasound is reliable for visceral fat estimation<sup>26</sup>.

Ultrasonography (US) is a widely available and safe exam, with a high reproducibility. The aim of this study was to assess fat measurements by ultrasound and its correlation with anthropometry, BC data and laboratory parameters related to CV health in young non-obese females, without a known history of illness.

## **METHODS**

A pilot study that used secondary data from a study conducted from February 2011 to February 2013 in the Ultrasonography Unit of the Department of Obstetrics and Gynecology, State University of Campinas (UNICAMP) School of Medicine, Campinas, Brazil. The project was approved by the Ethics Committee. All female participants signed a consent term prior to the beginning of the study.

Thirty-seven (37) female participants received follow-up during 12 months for the assessment of insulin resistance. The study project was registered in ClinicalTrials.gov, under number NCT01527526. All had undergone the Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp at baseline and at 12 months<sup>27</sup>. The M-value was calculated which corresponded to glucose consumption at steady-state. M values <4mg/kg/min were defined as diagnostic for insulin resistance.

Inclusion criteria were age, ranging from 18-40 years; body mass index <30 (BMI, kg/m<sup>2</sup>); fasting blood glucose <100 mg/dL and OGTT (75 g oral glucose) at 120 minutes <140 mg/dL. Exclusion criteria were breastfeeding; first-degree family history of diabetes

mellitus (DM); history of DM 1 or 2; systemic arterial hypertension (SAH); hyperthyroidism or hypothyroidism; chronic kidney failure; and any organ transplantation; use of corticosteroids, antipsychotics, thiazidics or statins; females with hirsutism and/or hyperandrogenism, polycystic ovarian syndrome (PCOS) and a previous history of bariatric surgery or omentectomy.

The variables evaluated were anthropometry [weight, body mass index (BMI;  $\text{kg}/\text{m}^2$ ), waist/hip circumference and waist/hip ratio], body composition (BC) assessed by the dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) technique using the Lunar DPX bone densitometer device (GE Healthcare Lunar Corporation, WI, USA). All measurements were taken at baseline and at 12 months. Anthropometric measurements were always made by the same observer; for BC the inter-observer coefficient of variation for fat mass measurement was 0.7%

Blood samples following a 12-hour fast were collected at baseline and at 12 months. Total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were measured by the colorimetric method (CHOD-PAP and GPO-PAP; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). LDL-cholesterol concentration was calculated by the Friedewald equation [LDL cholesterol  $\text{mg}/\text{dL}$  = total cholesterol – HDL cholesterol – (triglycerides/5)]. Leptin and adiponectin measurements were performed by commercial immunoassay kits (Human Leptin “Dual Range and Human Adiponectin ELISA; Merck Millipore, Darmstadt, Germany), apolipoprotein measurements were performed by turbidimetry using PowerWave XS (BioTek, Winooski, USA) and Tina-quant APO A-I and Tina-quant APO B reagents (Roche, Indianapolis, USA). Free fatty acids were measured using the WAKO enzymatic colorimetric kit (Dusseldorf, Germany); interleukin-6 and TNF-alpha (Human IL-6 Quantikine E and TNF-alpha Quantikine HS; R&D Systems, Minneapolis, USA), and C-Reactive Protein (CRP) was evaluated by the Nephelometry method, using the BN ProSpec System (Dade Behring, Liederbach, Germany)

and Siemens CardioPhase hs CRP kit (Erlangen, Germany). Liver enzymes Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST) and Gamma-glutamyltransferase (GGT) were measured by automated assays (COBAS- Roche, USA).

### **Procedures for ultrasound fat assessment**

Participants were in the supine position and all measurements were taken in triplicate from frozen screen images. Cards were used for image occlusion. After the end of the exam, measurements were retrieved from the file and the arithmetic mean was calculated. All measurements were performed by the same observer and the average coefficient of intraobserver variation was always lower than 5%.

A Toshiba Xario machine and multifrequency probes were used. Convex probes ranged from 3.0 to 6.0 MHz and linear probes ranged from 6.6 to 9.0 MHz. A convex probe was used to measure the liver, and visceral fat when the use of a linear probe was not feasible and to compare echogenicity of the liver with kidney/spleen echogenicity. A linear probe was used to measure abdominal wall fat above the umbilicus (ScF), visceral fat in the mesogastric (VF) and preperitoneal fat in the epigastric regions (PPF).

ScF was measured in centimeters (cm) in the region immediately above the umbilical scar, in the xiphoid umbilical line. Its measurement was considered from the skin to the linea alba, in the region between the rectus abdominus muscles, during expiration<sup>17,26</sup> (Figure 1). PPF and VF were measured in two regions of the xiphoid umbilical line. VF was measured in the region immediately above the umbilical scar and was considered the extension in cm from the linea alba to the anterior wall of the aorta, during diastole and at the end of expiration. PPF was measured in the epigastric region, from the linea alba to the surface of the left liver lobe, at the end of expiration. Measurements were determined from frozen amplified images that occupied 2/3 of the screen (Figures 2 and 3).



Measurement of the right liver lobe (RLL) was calculated by the mean of three longitudinal distances, from the lower border of the right liver lobe to the upper border proximal to the diaphragm, in the right hemiclavicular line. Measurement of the caudate liver lobe (LLL) was obtained by the anteroposterior distance placing the transducer in the right paramedian epigastric region<sup>28,29</sup>. To evaluate liver echotexture, the cortical regions of the kidneys or spleen were used for comparison<sup>30,31,32</sup>.

### **Statistical Analysis**

The mean, standard deviation and median of all measurements and Spearman's correlation coefficient were used to correlate ultrasound measurements with anthropometric/BC measurements and laboratory test results. Measurements taken at baseline and at 12 months in the same female sample were analyzed. The significance level of 5% was adopted.

### **RESULTS**

The mean age of the female patients was 28.8 ( $\pm 5.7$ ) years, a little more than half of these females were self-reported as non-white (59.4%) and had >8 years of school education (54.0%) (data not shown). Mean weight, BMI and abdominal measurements increased slightly at 12 months and there was no variation in the mean M-value measured by HEC (Table 1).

Table 2 shows the statistically significant correlations between variables measured by ultrasonography and BC/anthropometric measurements. ScF measurement was significantly correlated with body weight ( $r= 0.78$ ), BMI ( $r= 0.85$ ), total mass ( $r= 0.78$ ), fat mass percentage ( $r= 0.82$ ), total fat tissue ( $r= 0.87$ ), waist circumference ( $r= 0.84$ ) and hip circumference ( $r= 0.75$ ) at the beginning of the study. After 12 months, the same correlations remained significant. BMI and waist measurements had the highest values, emerging a correlation with a new variable--the waist/hip ratio ( $r= 0.66$ ) (Table 2).

VF measurement had a significant correlation with waist/hip ratio in both time periods ( $r= 0.60$  and  $r= 0.50$  at baseline and at 12 months, respectively) (Table 2). PPF measurements had a significant correlation with anthropometric and BC variables at baseline. In both time periods, correlation was only maintained for waist circumference ( $r= 0.51$  and  $r= 0.34$  at baseline and at 12 months, respectively) (Table 2).

Concerning serum markers, the ScF measurement had a significant correlation with total cholesterol concentrations at baseline and at 12 months ( $r= 0.51$  and  $r= 0.54$ , respectively), LDL cholesterol ( $r= 0.42$  and  $r= 0.53$ , respectively) and Apo B-100 ( $r=0.44$ ) (Table 3). PPF had a positive correlation with CRP in both time periods ( $r=0.44$  and  $r=0.41$ ), while VF had a positive correlation with LDL-chol at baseline ( $r=0.34$ ). Measurements of LLL showed a negative correlation with HDL-chol ( $r= -0.37$ ) and free fatty acids ( $r= -0.39$ ) only at baseline. Measurements of RLL and echotexture had no correlation with the variables studied (data not shown).

## DISCUSSION

This study of non-obese females showed that ultrasound measurements of ScF was strongly correlated with BC and anthropometric measurements. Study participants had a negative history of known diseases and laboratory parameters assessed at the beginning of the study were within the normal range. This result allows us to affirm that ultrasonography may be used to assess ScF and offered advantages over anthropometric measurements.

Previous studies that described anthropometric measurements had the highest interobserver error, did not reflect the location of fat deposition in a reliable manner and did not correlate with variations in body weight<sup>17,26,33,34,35</sup>, while BMI in non-obese females may not reflect VF deposition, decreasing the perception of CV risk<sup>20,36</sup>, and the DXA assessment of BC is expensive and the method is not available in the majority of health services. In

general, it is most frequently indicated for females older than 60 years to measure bone mass. Furthermore, even when available the device may not always distinguish between different abdominal fat deposits<sup>37</sup>.

Previous studies have associated VF deposition with increased body weight<sup>17,33</sup> and increased risk for CVD<sup>38,39</sup>. In this study, we did not find any correlation between these variables, which may be explained by the characteristics of the non-obese female sample.

Regarding the weak correlation encountered between ultrasound VF measurements and anthropometric measurements and the lack of correlation with fat measured in BC, we could speculate that visceral fat at baseline induced a “safe” deposition, located in the subcutaneous tissue. We can also speculate that inflammatory biomarkers could already have been affected at this stage, which was shown in our study. It has been described that VF has a particular metabolism, limited by the intra-abdominal space. It accumulates by hypertrophy of adipocytes, through mechanisms that are not fully understood, and is capable of shifting excess fat to muscles and subcutaneous tissue deposits<sup>38</sup>. In contrast, subcutaneous fat deposition occurs through adipogenesis and precedes an increase in VF, playing a protective role in the beginning of body weight gain<sup>38,40,41</sup>.

The study has some strengths and limitations. The strengths were the evaluation of a non-obese female cohort with measurements obtained with ultrasound by only one experienced observer and two measurements taken 12 months apart. These characteristics demonstrated that some results were repeated with strong correlation in both time periods of assessment. It is possible that the results related to CVD markers such as LDL-chol, Apo B-100 and C-RP had weaker correlations with ultrasound measurements due to the sample characteristics (non-obese, apparently healthy females). On the other hand, limitations are

those of a pilot study, and results should be tested by other studies using a larger number of individuals in different populations.

There are no studies on the amount of abdominal fat that can be regarded as physiological or normal for an individual. Studies on the values above which it would be considered a higher risk for metabolic diseases or CVD are also lacking. Studies to confirm or refute whether ultrasound measurement of abdominal fat deposition may occupy a role in the prediction of CVD risks must be conducted. In case of affirmative results, professionals dedicated to imaging diagnostics will become involved in screening for individual indicators of CVD risk.

Since it shows early variation in fat gain, ultrasound measurement of abdominal ScF may be conducted during abdominal ultrasound ordered for other indications, permitting longitudinal comparisons to detect any changes. Ultrasound is a widely available, low-cost method, with a safe application. Therefore, assessment of ScF could be encouraged and included in the standard report, irrespective of test indication.

Future studies need to be conducted with a larger number of females to assess ultrasound use for the measurement of abdominal fat thickness in different populations and age groups, with and without comorbidities and determine measurements of maximum thickness, velocity of increased fat deposition or cut-off value indicating CVD risk. Studies should propose to standardize the best locations for visceral fat measurement. It is most important to specifically study the deposition of subcutaneous fat located above and below the Scarpa's fascial layer, since its relation is modulated by body weight gain<sup>42,43</sup>.

## **CONCLUSION**

On ultrasound assessment of abdominal fat, there was a strong correlation between body composition and anthropometric measurements. Due to the high prevalence of CVD in

females and the pronounced effect of well-known CV risk factors on this population, it may be important to carry out studies with practical procedures that are new, easy, inexpensive and available for the detection of alarm signals to prevent these diseases. Ultrasound as a screening method for assessment of fat deposition is quite promising.

## REFERENCES

1. Abma J, Chandra A, Mosher W, Peterson L, Piccinino L. Fertility, family planning and women's health: New data from the 1995 National Survey of Family Growth. *Vital Health Statistics* 23. 1997.
2. Nowbar AN, Howard JP, Finegold JA, Asaria P, Francis DP. 2014 Global geographic analysis of mortality from ischaemic heart disease by country, age and income: Statistics from World Health Organisation and United Nations. *Int J Cardiol* [Internet]. 2014;174(2):293–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.04.096>
3. Ministério da Saúde. SIM-Sistema de Informações de Mortalidade [Internet]. DATASUS. 2017. Available from: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=19465>
4. Forouzanfar MH, Alexander L, Bachman VF, Biryukov S, Brauer M, Casey D, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;386(10010):2287–323.
5. Wilmot KA, O'Flaherty M, Capewell S, Ford ES, Vaccarino V. Coronary heart disease mortality declines in the United States from 1979 through 2011: Evidence for stagnation in young adults, especially women. *Circulation*. 2015;132(11):997–1002.

6. Hankey GJ. Secondary stroke prevention. *Lancet Neurol* [Internet]. 2014;13(2):178–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361114>
7. Fisher G, Hyatt TC, Hunter GR, Oster R a, Desmond R a, Gower B a. Inflammation and Fat Distribution in Overweight Women. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19(6):1131–6.
8. Trussardi Fayh AP, Lopes AL, Fernandes PR, Reischak-Oliveira A, Friedman R. Impact of weight loss with or without exercise on abdominal fat and insulin resistance in obese individuals: a randomised clinical trial. *Br J Nutr* [Internet]. 2013;110[3]:486–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23302544>
9. Mikkola TS, Tuomikoski P, Lyytinen H, Korhonen P, Hoti F, Vattulainen P, et al. Increased cardiovascular mortality risk in women discontinuing postmenopausal hormone therapy [Internet]. Vol. 100, *Translational Endocrinology and Metabolism*. 2015. p. 4588–94. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L607346895%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-1864>
10. Dixon JB, Le Roux CW, Rubino F, Zimmet P. Bariatric surgery for type 2 diabetes. *Lancet* [Internet]. 2012;379(9833):2300–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22683132>
11. Wang H, Naghavi M, Allen C, Barber RM, Carter A, Casey DC, et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2016;388(10053):1459–544. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616310121>

12. Dutheil F, Lac G, Lesourd B, Chapier R, Walther G, Vinet A, et al. Different modalities of exercise to reduce visceral fat mass and cardiovascular risk in metabolic syndrome: The RESOLVE\* randomized trial. *Int J Cardiol.* 2013;168(4):3634–42.
13. Shimabukuro M, Kozuka C, Taira S, Yabiku K, Dagvasumberel M, Ishida M, et al. Ectopic fat deposition and global cardiometabolic risk: new paradigm in cardiovascular medicine. *J Med Invest.* 2013;60:1–14.
14. World Health Organization. Obesity and overweight.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. 2016.
15. World Health Organization. Controlling the global obesity epidemic. *World Health Organ [Internet]*. 2015;7(1):1–2. Available from:  
<http://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>
16. MATSUZAWA Y. Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. *Proc Japan Acad Ser B [Internet]*. 2010;86(2):131–41. Available from:  
<http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/pjab/86.131?from=CrossRef>
17. Berker D, Koparal S, Işık S, Paşaoğlu L, Aydın Y, Erol K, et al. Compatibility of different methods for the measurement of visceral fat in different body mass index strata. *Diagnostic Interv Radiol.* 2010;16(2):99–105.
18. Nazare JA, Smith J, Borel AL, Aschner P, Barter P, Van Gaal L, et al. Usefulness of measuring both body mass index and waist circumference for the estimation of visceral adiposity and related cardiometabolic risk profile (from the INSPIRE ME IAA Study). *Am J Cardiol.* 2015;115(3):307–15.
19. Shulman GI. Ectopic Fat in Insulin Resistance, Dyslipidemia, and Cardiometabolic Disease. *N Engl J Med [Internet]*. 2014;371(12):1131–41. Available from:

- <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1011035>
20. Nazare JA, Smith JD, Borel AL, Haffner SM, Balkau B, Ross R, et al. Ethnic influences on the relations between abdominal subcutaneous and visceral adiposity, liver fat, and cardiometabolic risk profile: The international study of prediction of intra-abdominal adiposity and its relationship with cardiometabolic risk/intra-. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(4):714–26.
  21. Ögren M, Eriksson H, Bergqvist D, Sternby NH. Subcutaneous fat accumulation and BMI associated with risk for pulmonary embolism in patients with proximal deep vein thrombosis: A population study based on 23 796 consecutive autopsies. *J Intern Med.* 2005;258(2):166–71.
  22. Borel a-LL, Nazare JA, Smith J, Aschner P, Barter P, Van Gaal L, et al. Visceral, subcutaneous abdominal adiposity and liver fat content distribution in normal glucose tolerance, impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. *Int J Obes (Lond)* [Internet]. 2015;39(3):495–501. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25179244>
  23. Kishida K, Funahashi T, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visceral adiposity as a target for the management of the metabolic syndrome. *Ann Med.* 2012;44(December 2010):233–41.
  24. Huh JY, Park YJ, Ham M, Kim JB. Crosstalk between adipocytes and immune cells in adipose tissue inflammation and metabolic dysregulation in obesity. *Mol Cells* [Internet]. 2014;37(5):365–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24781408>
  25. Lacoste Jeanson A, Dupej J, Villa C, Brůžek J. Body composition estimation from



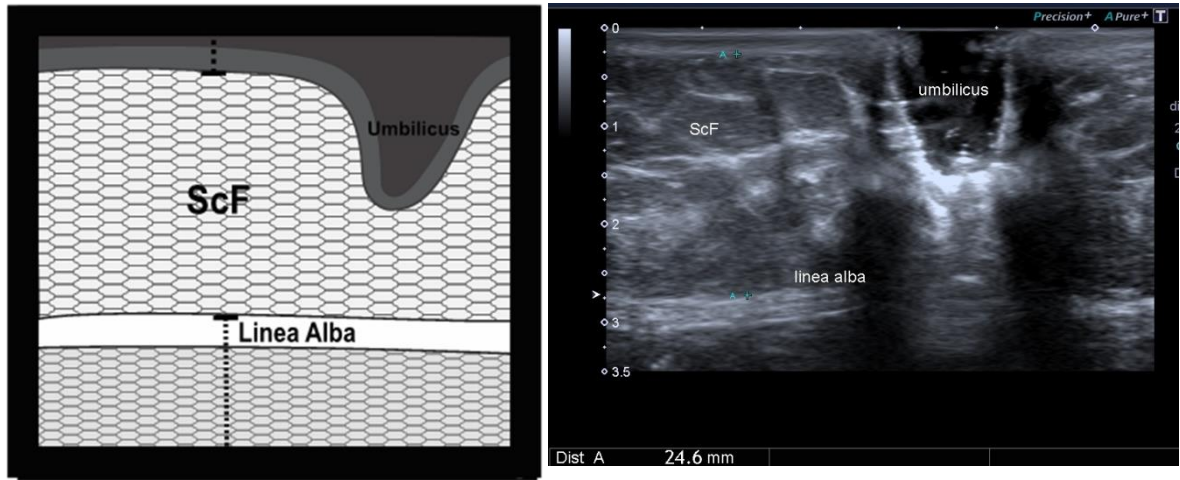
- selected slices: equations computed from a new semi-automatic thresholding method developed on whole-body CT scans. *PeerJ* [Internet]. 2017;5:e3302. Available from: <https://peerj.com/articles/3302>
26. Bazzocchi A, Diano D, Ponti F, Salizzoni E, Albisinni U, Marchesini G, et al. A 360-degree overview of body composition in healthy people: Relationships among anthropometry, ultrasonography, and dual-energy x-ray absorptiometry. *Nutrition*. 2014;30(6):696–701.
  27. DeFronzo R, Tobin J, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979;237(3):E214-23.
  28. Marks WM, Filly RA, Callen PW. Ultrasonic anatomy of the liver: A review with new applications. *J Clin Ultrasound*. 1979;7(2):137–46.
  29. Gosink BB, Leymaster CE. Ultrasonic determination of hepatomegaly. *J Clin Ultrasound*. 1981;9(1):37–41.
  30. Xia MF, Yan HM, He WY, Li XM, Li CL, Yao XZ, et al. Standardized ultrasound hepatic/renal ratio and hepatic attenuation rate to quantify liver fat content: An improvement method. *Obesity* [Internet]. 2012;20(2):444–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2011.302/nature06264>
  31. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7392–402.
  32. Tovo CV, De Mattos AAZ, Coral GP, Branco FS, Suwa E, De Mattos AAZ. Noninvasive imaging assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on liver scintigraphy. Vol. 21, *World Journal of Gastroenterology*. 2015. p. 4432–9.
  33. Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella M-T, Ferreira SRG. Methods of

- estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res.* 2003;11(12):1488–94.
34. Armellini F, Zamboni M, Rigo L, Todesco T, Bosello O, Bergamo-Andreis IA, et al. The contribution of sonography to the measurement of intra-abdominal fat. *J Clin Ultrasound.* 1990;18(7):563–7.
35. Bonora E, Micciolo R, Ghiatas AA, Lancaster JL, Alyassin A, Muggeo M, et al. Is it possible to derive a reliable estimate of human visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue from simple anthropometric measurements? *Metabolism.* 1995;44(12):1617–25.
36. Després J, Lamarche B. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. ... *Engl J ... [Internet].* 1996;334(15):952–7. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199604113341504>
37. Suh YS, Kim DH, Lee IK. Usefulness of lumbar AP spine DXA for measuring the percentage of perilumbar regional fat and predicting visceral fat in obese postmenopausal women. *Nutrition.* 2002;18(1):84–5.
38. Lanthier N, Leclercq IA. Adipose tissues as endocrine target organs. *Best Pract Res Clin Gastroenterol [Internet].* 2014;28(4):545–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2014.07.002>
39. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014;384(9945):766–81.
40. Obata Y, Maeda N, Yamada Y, Yamamoto K, Nakamura S, Yamaoka M, et al. Impact

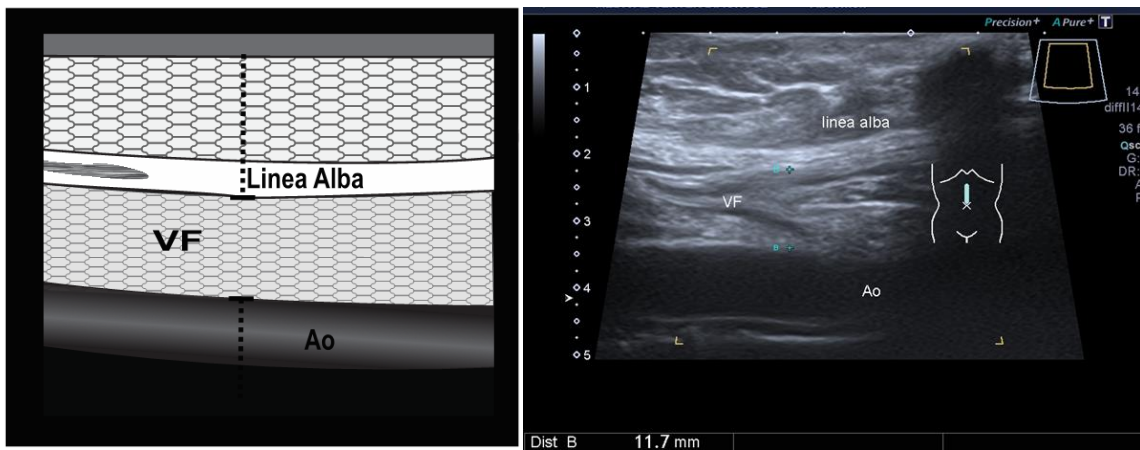
of visceral fat on gene expression profile in peripheral blood cells in obese Japanese subjects. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2016;15(1):159. Available from: <http://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-016-0479-1>

41. Bray G a. Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2583–9.
42. Harley OJH, Pickford MA. CT analysis of fat distribution superficial and deep to the Scarpa’s fascial layer in the mid and lower abdomen. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2013;66(4):525–30.
43. Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2008;6(3):343–68.

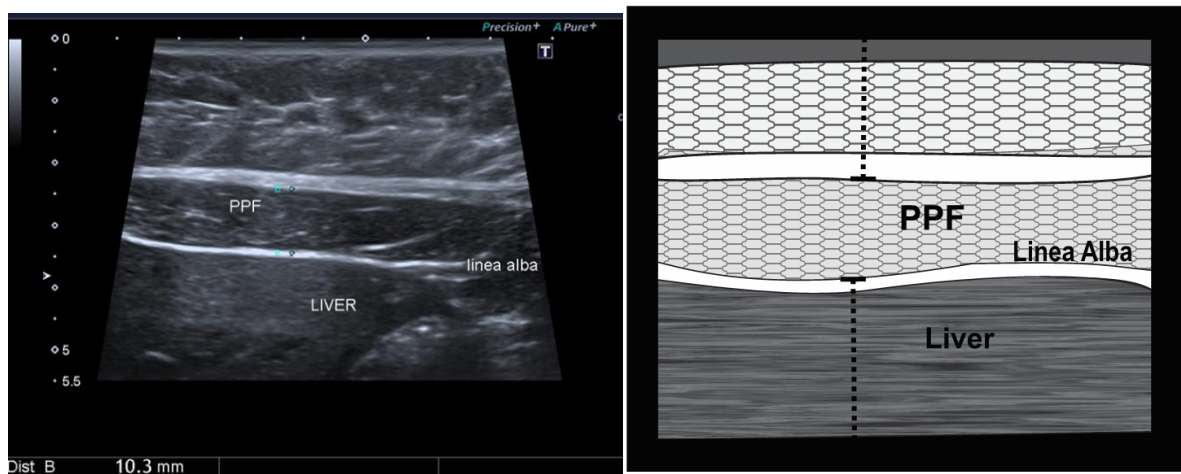
FIGURES 1, 2 and 3



**Figure 1:** measurement of subcutaneous fat (ScF) obtained with a multifrequency linear probe in the midline, 1.5 cm above the umbilicus. Amplified screen image, with placement of the calipers between the skin and the linea alba.



**Figure 2:** measurement of visceral fat in the mesogastric region (VF) obtained with a multifrequency linear probe or sector transducer in the midline, near and above the umbilicus, placing the calipers between the linea alba and the anterior wall of the abdominal aorta.



**Figure 3:** measurement of preperitoneal fat in the epigastrium (PPF) obtained with a multifrequency linear probe in the midline, placing the calipers between the linea alba and the anterior surface of the left lobe of the liver

**Table 1.** Mean and standard deviation of some sample variables at baseline and at 12 months

Variables	Baseline (n=37)	12 months (n=37)
Weight Kg, mean (SD)	61.8 (8.4)	63.0 (8.4)
BMI kg/m <sup>2</sup> , mean (SD)	24.2 (3.2)	24.7 (3.1)
ScF cm, mean (SD)	24.3 (10.3)*	26.3 (9.7)
PPF cm, mean (SD)	12.6 (4.1)*	14.5 (8.6)
VF cm, mean (SD)	32.2 (10.8)*	34.0 (11.5)
M-value mg/kg/m <sup>2</sup> , mean (SD)	5.6 (1.5)	5.5 (1.7)

SD: Standard deviation. \*Missing = 1 (abdominal fat measurements calculated at baseline with 36 females). BMI: body mass index; ScF: subcutaneous abdominal fat; PPF: preperitoneal epigastric fat; VF: visceral mesogastric fat. M-value: measured by Hyperinsulinemic Euglycemic Clamp (M<4= insulin resistance).

**Table 2.** Significant correlations between ultrasound measurements and DXA anthropometric and body composition measurements, at baseline and after 12 months

<i>Variables</i>	Baseline				12 Months			
	ScF*	PPF*	VF*	LLL*	ScF	PPF	VF	LLL
Weight	0.7807	0.4672			0.6499			
<i>p value</i>	<.0001	0.004			<.0001			
BMI	0.8517	0.4599			0.7470		0.3937	
<i>p value</i>	<.0001	0.004			<.0001		0.0159	
Total mass	0.7899	0.4271			0.6284			
<i>p value</i>	<.0001	0.009			<.0001			
% Fat mass	0.8244	0.4263			0.6334			
<i>p value</i>	<.0001	0.009			<.0001			
Total fat tissue	0.8723	0.4977			0.6794			
<i>p value</i>	<.0001	0.002			<.0001			
Waist circumference	0.8455	0.5184			0.7931	0.3473	0.4440	
<i>p value</i>	<.0001	0.001			<.0001	0.035	0.005	
Hip circumference	0.7520	0.4274			0.5306			
<i>p value</i>	<.0001	0.009			0.0007			
Waist/hip ratio			0.6066	0.3465	0.6654		0.5083	
<i>p value</i>			<.0001	0.0384	<.0001		0.0013	

Spearman's correlation coefficient. BMI: Body Mass Index. ScF: Subcutaneous abdominal fat. PPF: Preperitoneal epigastric fat. VF: visceral mesogastric fat. LLL: Left liver lobe. \*Missing = 1 (abdominal fat measurements of 36 females calculated at baseline).

**Table 3.** Significant correlations between ultrasound measurements and serum markers at baseline and 12 months

<i>Variables</i>	Baseline				12 Months			
	ScF*	PPF*	VF*	LLL*	ScF	PPF	VF	LLL
Total Cholesterol	0.5130	-	-	-	0.5423	-	-	-
<i>p value</i>	0.001				0.000			
HDL-chol	-	-	-	-0.3780	-	-	-	-
<i>p value</i>				0.002				
LDL-chol	0.4222	-	0.3449		0.5320	-	-	-
<i>p value</i>	0.001		0.003		0.000			
Triglycerides	0.3595	-	-	-	-	-	0.3632	-
<i>p value</i>	0.003						0.027	
ALT	-	-	-	-	-	-	0.3824	-
<i>p value</i>							0.019	
Gama GT	-	-	-	0.3753	-	0.4016	0.4408	-
<i>p value</i>				0.024		0.013	0.006	
CRP	0.4951	0.4427	-	-	-	0.4122	-	-
<i>p value</i>	0.002	0.006				0.011		
APO-A	-	-	-	-	-	0.3681	-	-
<i>p value</i>						0.025		
APO-B	0.4479	-	-	-	0.4446	-	-	-
<i>p value</i>	0.006				0.005			
Interleukin-6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>p value</i>								
Free fatty acids	-	-	-	-0.3947	-	-	-	-
<i>p value</i>				0.018				



Spearman's coefficient correlation. BMI: Body Mass Index. ScF: Subcutaneous Abdominal Fat. PPF: Visceral Epigastric Fat. VF: Visceral Mesogastric Fat. LLL: Left Liver Lobe. \*Measurements of 36 females taken at baseline.

## 5. DISCUSSÃO GERAL

A melhoria no atendimento à saúde e o controle das doenças transmissíveis nas últimas décadas propiciaram maior longevidade para homens e mulheres. Levando-se em conta o envelhecimento, é esperado o surgimento de doenças degenerativas em maior número de pessoas, entretanto para as DCV uma parcela da população estará vulnerável em idade ainda jovem (71), seja por herança genética ou por manter hábitos não saudáveis de vida. As DCV são a principal causa de morte no mundo. Entre mulheres, nos EUA, um terço das mortes é devido às DCV e o número de mortes nas faixas menores de 55 anos têm se estabilizado, apesar das ações preventivas e de tratamento precoce (86-87). No Brasil, e a despeito das diferenças socioeconômicas, a DCV é a principal causa de morte entre as mulheres (90).

São escassas as informações, às vezes controversas, e faltam explicações sobre os tradicionais fatores de risco para DCV e as diferenças de sexo, biótipo e hábitos de vida. Uma característica específica às mulheres, e que tem aumentado em todo o mundo, é o uso de métodos anticoncepcionais (MAC) hormonais durante vários anos da vida reprodutiva (91). Existe a necessidade de implementar pesquisas sobre DCV que incluam maior número de mulheres nos grupos de estudo (61). E também particularizar para as mulheres as variáveis de estudo incluindo o uso de MAC hormonal e frequência de ciclos gestacionais no período reprodutivo, e uso ou não de terapia hormonal na pós-menopausa.

As mudanças sociais, demográficas e no comportamento têm impactado diretamente a saúde das pessoas e conseqüentemente as causas de morbiletalidade (92). A causa mais provável para a elevação da prevalência das DCV é aumento da gordura corporal (93). Os eventos secundários ao incremento da gordura são as doenças metabólicas como DM, dislipidemias, HAS (94) e os processos inflamatórios que predispõem ao risco CV e ao tromboembolismo (95). Para maior eficácia das medidas preventivas seria primordial direcioná-las aos indivíduos de maior risco e, para isso, são necessários métodos de rastreio de fácil acesso, execução e capazes de selecionar esses indivíduos.

Nosso estudo avaliou novas usuárias de AMPD, jovens e não obesas, com relação a mudanças nos parâmetros antropométricos, de composição corporal e parâmetros laboratoriais relacionados à DCV, durante o período de seguimento de

12 meses, comparando-as com mulheres jovens usuárias DIU com cobre. Ambos os grupos nunca haviam utilizado AMPD e foram rastreados para RI pelo teste OGTT no momento da inclusão no estudo, e posteriormente, foram avaliados através do CEH. A importância da gordura abdominal, mais particularmente de seus diferentes depósitos, e sua inter-relação com a DCV não está claramente estabelecida. Optamos então por realizar um estudo piloto para avaliar as medidas ultrassonográficas da gordura abdominal em diferentes locais como teste de substituição ou complementar aos parâmetros já estabelecidos como marcadores para DCV.

No primeiro artigo concluímos que mulheres jovens e não obesas, sem antecedentes patológicos ou sinais clínicos e laboratoriais de resistência à insulina, que optaram por utilizar o AMPD para anticoncepção, apresentaram piora nos níveis séricos de insulina de jejum e nos parâmetros antropométricos como circunferência da cintura e IMC, quando comparado às mulheres usuárias de DIU com cobre. Esses resultados foram concordantes com estudos que já haviam descrito alterações leves no metabolismo de carboidratos em usuárias do método. Por outro lado, de nosso conhecimento, foi o primeiro estudo que avaliou o HOMA-IR durante o seguimento. Embora não seja padrão-ouro, o cálculo do HOMA realizado semestralmente para avaliar as mudanças no metabolismo em usuárias de AMPD, mostrou ser uma ferramenta útil para o diagnóstico de RI. Além do HOMA, o aumento no peso corporal e circunferência da cintura foram parâmetros clínicos importantes para o monitoramento das usuárias de AMPD.

O segundo artigo, com amostra menor de mulheres nos dois grupos de comparação, incluiu somente aquelas com sensibilidade normal à insulina diagnosticada por meio do CEH na inclusão do estudo, e que repetiram o procedimento aos 12 meses de uso do AMPD ou do DIU. Aos 12 meses, no grupo de usuárias de AMPD foi observado aumento de triglicérides em relação ao grupo do DIU. Os níveis de triglicérides séricos estão relacionados à disponibilidade de gorduras para uso imediato de energia, elevam-se no período pós-prandial, com o aumento da ingestão calórica e com falta de exercícios físicos. A concentração de triglicérides é inversamente relacionada à sensibilidade à insulina (96) e seus níveis acima dos considerados normais elevam o risco de DCV (19). Este resultado foi interpretado como secundário a alterações no metabolismo de carboidratos causado

pelo leve efeito glicocorticóide da medroxiprogesterona na dose usual para injeção intramuscular trimestral, já descrito em outros estudos (23-21-32). Nesta mesma amostra de mulheres, os resultados do CEH realizados antes e após 12 meses de seguimento mostraram desenvolvimento de resistência insulínica em 2/15 mulheres no grupo de AMPD aos 12 meses, mas nenhuma no grupo do DIU (79).

Observamos aumento significativo da Apo B-100 aos 12 meses em relação ao baseline no grupo de AMPD. A concentração sérica de apo B é um indicador do número total de partículas potencialmente aterogênicas, correlacionando-se com o nível de colesterol não-HDL (67). Apesar deste resultado, ambos os grupos tiveram resultados similares com relação às dosagens de Apo B e mostraram elevação das concentrações de Apo A-1, esta fortemente associada com o HDL-col (67). Além disso, os grupos não apresentaram diferenças nas concentrações de LDL-col. Tampouco encontramos diferenças entre os grupos em relação aos biomarcadores estudados e nas medidas de IMT de carótida. Após análise dos resultados consideramos que não observamos efeitos clínicos do uso do AMPD, entretanto foi observada deterioração em alguns marcadores séricos de DCV no primeiro ano de uso do método. O aumento de triglicérides foi interpretado como variação provocada por alterações no metabolismo da glicose.

No terceiro artigo as medidas de gordura abdominal realizadas por ultrassom foram repetidas com intervalo de 12 meses, nas mesmas mulheres e pelo mesmo observador experiente. As medidas de GSc apresentaram forte correlação com as medidas de composição corporal e com as variáveis antropométricas. Esse resultado nos permitiu afirmar que a aferição da espessura da GSc por ultrassom pode ser utilizada como método complementar e adiciona vantagens às aferições antropométricas. Estudos descreveram que medidas antropométricas de circunferência de cintura e quadril apresentaram maior possibilidade de erro, com coeficientes de variação entre observadores >3% (95-96); não refletiram o local do depósito e não se correlacionaram com perda ou ganho excessivo de peso corporal (97-98). Em mulheres não obesas o IMC pode não refletir a GV e, conseqüentemente, o risco de DCV (101). Comparando-se com a avaliação da composição corporal através do DXA, o aparelho utilizado pode não distinguir entre os diferentes locais da gordura abdominal (102), é um método caro e não está

disponível para a maior parte dos serviços; além disso, é indicada em geral para avaliar massa óssea em mulheres com idade igual ou superior a 60 anos.

Em relação à fraca correlação da GV com medidas de antropometria e nenhuma correlação com a composição corporal de gordura aferida pelo DXA, nosso entendimento é o de que a GV num primeiro momento induziu ao depósito externo e “seguro”, em subcutâneo e músculo. E, mesmo nesta fase, os marcadores séricos inflamatórios podem ser afetados, como mostrou a correspondência com os níveis séricos de marcadores verificados em nosso estudo. A medida ultrassonográfica da GSc mostrou que existe a possibilidade de, se confirmada por outros estudos, ser utilizada como um marcador precoce do aumento da gordura corporal e de marcadores de risco CV, como LDL-col e Apo B-100.

Os resultados deste piloto mostraram que o ultrassom pode ser utilizado para detecção do aumento da gordura corporal durante exames realizados por outras indicações ou na rotina, em seguimentos longitudinais, e poderá servir como sinal de alarme do comprometimento da saúde CV para a mulher. Mais que isso, a aferição da GSc e da GPP é muito fácil de ser realizada e possui alta taxa de reprodutibilidade.

Há necessidade de estudos com maior número de mulheres em diferentes populações e com diferentes comorbidades, com os objetivos de padronizar locais e forma de aferição para cada medida, além de determinar pontos de corte. Outros estudos deverão ser realizados para testar a validade da aferição ultrassonográfica das medidas de gordura abdominal como ferramenta para avaliar precocemente o risco de DCV.

Os resultados obtidos no acompanhamento desta coorte de usuárias de AMPD e DIU com cobre, durante 12 meses, foram consistentes e deverão contribuir com o conhecimento sobre DCV em mulheres.

## 6. CONCLUSÕES

6.2.1. Houve aumento significativo do IMC e da medida da circunferência da cintura abdominal no grupo de usuárias de AMPD, esses aumentos não foram observados no grupo de usuárias do DIU;

6.2.2. Houve aumento significativo na insulinemia de jejum e no índice do HOMA no grupo de usuárias de AMPD, resultados não observados no grupo de usuárias do DIU. O HOMA foi considerado ferramenta útil para avaliação do metabolismo de carboidratos;

6.2.3. Não houve variação da pressão arterial sistólica e diastólica no grupo de usuárias durante o acompanhamento.

6.2.4. Não houve variação nas medidas de IMT de carótidas durante o acompanhamento;

6.2.5. Houve aumento significativo da concentração sérica de triglicérides no grupo AMPD aos 12 meses em relação ao grupo do DIU, resultado atribuído a ação glicocorticoide do contraceptivo. A elevação da Apo B-100 aos 12 meses em relação ao nível no início do estudo no grupo AMPD, mas sem diferenças entre os grupos. Não foram observados efeitos clínicos cardiovasculares significativos, entretanto houve deterioração de alguns marcadores séricos de DCV no primeiro ano de uso do método;

6.2.6. Houve correlação significativa entre as medidas de GSc e as medidas antropométricas e de composição corporal; e com as concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol e Apo B-100. A GPP mostrou correlação significativa com CC e PCR; e a GV mostrou correlação com a razão cintura quadril. Esses resultados sugerem a viabilidade da utilização do método da ultrassonografia para identificar indivíduos com aumento de gordura corporal e risco cardiovascular. Devem ser realizados estudos com maior número de indivíduos e de diferentes características para confirmar estes resultados e determinar a padronização nos locais de aferição, bem como avaliar pontos de corte relacionados às variações de parâmetros de risco para DCV.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Fraser IS, Weisberg E. A comprehensive review of injectable contraception with special emphasis on depot medroxyprogesterone acetate. Vol. 1, Medical Journal of Australia. 1981. p. 3–19.
2. Sitruk-Ware R, Husmann F, Thijssen JHH, Skouby SO, Fruzzetti F, Hanker J, et al. Role of progestins with partial antiandrogenic effects. In: Climacteric. 2004. p. 238–54.
3. Sitruk-Ware R, Nath A. The use of newer progestins for contraception. Vol. 82, Contraception. 2010. p. 410–7.
4. Hellman L, Yoshida K, Zumoff B, Levin J, Kream J, Fukushima DK. The effect of medroxyprogesterone acetate on the pituitary-adrenal axis. J Clin Endocrinol Metab. 1976;42(5):912–7.
5. Fraser IS. A survey of different approaches to management of menstrual disturbances in women using injectable contraceptives. Contraception. 1983;28(4):385–97.
6. Kaunitz AM. Long-acting contraceptive options. Int J Fertil Menopausal Stud. 1996;41(2):69–76.
7. Fotherby K. Pharmacokinetics of ethinyloestradiol in humans. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1982;4(2):133–41.
8. Bakry S, Merhi ZO, Scalise TJ, Mahmoud MS, Fadiel A, Naftolin F. Depot-medroxyprogesterone acetate: An update. Vol. 278, Archives of Gynecology and Obstetrics. 2008. p. 1–12.
9. World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use Fifth edition 2015 Executive summary. 2015;(July):1–14.
10. Mia AR, Siddiqui NI, Khan MR, Shampa SS, Rukunuzzaman, Akhter M, et al. Effect of prolonged use of injectable hormonal contraceptives on blood pressure and body weight. Vol. 13, Mymensingh medical journal : MMJ. 2004.
11. Taneepanichskul S, Reinprayoon D, Jaisamrarn U. Effects of DMPA on weight and blood pressure in long-term acceptors. Contraception. 1999;59(5):301–3.
12. Dal'Ava N, Bahamondes L, Bahamondes MV, Bottura BF, Monteiro I. Body weight and body composition of depot medroxyprogesterone acetate users. Contraception. 2014;90(2):182–7.
13. Berenson AB, Rahman M. Changes in weight, total fat, percent body fat, and central-to-peripheral fat ratio associated with injectable and oral contraceptive use. Am J Obstet Gynecol. 2009;200(3).
14. National Cholesterol Education Program. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Natl Cholest Educ Progr. 2001;NIH Public:NIH Publication No. 01-3670.
15. Olsson A. [Triglycerides--a long known risk factor for cardiovascular disease.

- Subgroup analysis shows the importance after acute coronary syndrome]. *Lakartidningen*. 2015;112.
16. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*. 1996;3(2):213–9.
  17. Abdel-Maksoud M, Sazonov V, Gutkin SW, Hokanson JE. Effects of Modifying Triglycerides and Triglyceride-rich Lipoproteins on Cardiovascular Outcomes. *J Cardiovasc Pharmacol* [Internet]. 2008;51(4). Available from: [http://journals.lww.com/cardiovascularpharm/Fulltext/2008/04000/Effects\\_of\\_Modifying\\_Triglycerides\\_and.1.aspx](http://journals.lww.com/cardiovascularpharm/Fulltext/2008/04000/Effects_of_Modifying_Triglycerides_and.1.aspx)
  18. Kim JA, Montagnani M, Chandrasekran S, Quon MJ. Role of Lipotoxicity in Endothelial Dysfunction. *Heart Failure Clinics*. 2012.
  19. Klempfner R, Erez A, Sagit BZ, Goldenberg I, Fisman E, Kopel E, et al. Elevated Triglyceride Level Is Independently Associated with Increased All-Cause Mortality in Patients with Established Coronary Heart Disease: Twenty-Two-Year Follow-Up of the Bezafibrate Infarction Prevention Study and Registry. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2016;9(2):100–8.
  20. Masuda D, Yamashita S. Postprandial Hyperlipidemia and Remnant Lipoproteins. *J Atheroscler Thromb*. 2017;
  21. J. L, W. W, Y. Q, J.-Y. S, D. Z. Clustering of cardiovascular risk factors and hypertension control status among hypertensive patients in the outpatient setting. *Chinese J Cardiol*. 2013;41(12):1050–4.
  22. Crona N, Enk L, Samsioe G, Silfverstolpe G, Skryten A. High-dose depot-medroxyprogesterone acetate (DMPA) - effects on lipid and lipoprotein metabolism. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1983;16(2):97–105.
  23. Amatayakul K, Sivassomboon B, Singkamani R. Effects of medroxyprogesterone acetate on serum lipids, protein, glucose tolerance and liver function in Thai women. *Contraception*. 1980;21(3):283–97.
  24. Virutamasen P, Wongsrichanalai C, Tangkeo P, Nitichai Y, Rienprayoon D. Metabolic effects of depot-medroxyprogesterone acetate in long-term users: A cross-sectional study. *Int J Gynecol Obstet*. 1986;24(4):291–6.
  25. Garza-Flores J, De La Cruz DL, De Bourges VV, Sanchez-Nuncio R, Martinez M, Fuziwara JL, et al. Long-term effects of depot-medroxyprogesterone acetate on lipoprotein metabolism. *Contraception*. 1991;44(1):61–71.
  26. World Hlth O. Cardiovascular disease and use of oral and injectable progestogen-only contraceptives and combined injectable contraceptives - Results of an international, multicenter, case-control study. *Contraception*. 1998;57(5):315–24.
  27. Graff-Iversen S, Tonstad S. Use of progestogen-only contraceptives/medications and lipid parameters in women age 40 to 42 years: Results of a population-based cross-sectional Norwegian Survey. *Contraception*. 2002;66(1):7–13.



28. Graff-Iversen S, Hammar N, Thelle DS, Tonstad S. Use of oral contraceptives and mortality during 14 years' follow-up of Norwegian women. *Scand J Public Health*. 2006;34(1):11–6.
29. SS LDNCCYR. Long-term effects of Depo-Provera on carbohydrate and lipid metabolism. *TT - Contraception*. 1985;31(1):51–64.
30. Enk L, Landgren BM, Lindberg UB, Silfverstolpe G, Crona N. A prospective, one-year study on the effects of two long acting injectable contraceptives (depot-medroxyprogesterone acetate and norethisterone oenanthate) on serum and lipoprotein lipids. *Horm Metab Res*. 1992;24(2):85–9.
31. A MULTICENTRE COMPARATIVE STUDY OF SERUM LIPIDS AND. 1993;177–91.
32. Dilshad H, Yousuf RI, Shoaib MH, Jamil S, Khatoon H. Cardiovascular Disease Risk Associated With the Long-term Use of Depot Medroxyprogesterone Acetate. *American Journal of the Medical Sciences*. 2016;
33. Segall-Gutierrez P, Xiang AH, Watanabe RM, Trigo E, Stanczyk FZ, Liu X, et al. Deterioration in cardiometabolic risk markers in obese women during depot medroxyprogesterone acetate use. *Contraception*. 2012;85(1):36–41.
34. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, et al. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women--2011 update: a guideline from the American Heart Association. *J Am Coll Cardiol [Internet]*. 2011;57(12):1404–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3124072/pdf/nihms295543.pdf> %0Ahttp://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79952901484&partnerID=tZOtx3y1
35. Blenck CL, Harvey PA, Reckelhoff JF, Leinwand LA. The importance of biological sex and estrogen in rodent models of cardiovascular health and disease. Vol. 118, *Circulation Research*. 2016. p. 1294–312.
36. Sorensen MB, Collins P, Ong P, Webb CM, Hayward CS, Asbury EA, et al. Long-term use of contraceptive depot medroxyprogesterone acetate in young women impairs arterial endothelial function assessed by cardiovascular magnetic resonance. *Circulation*. 2002;
37. Lizarelli PM, Martins WP, Vieira CS, Soares GM, Franceschini SA, Ferriani RA, et al. Both a combined oral contraceptive and depot medroxyprogesterone acetate impair endothelial function in young women. *Contraception*. 2009;79(1):35–40.
38. Bonny AE, Lange HLH, Hade EM, Kaufman B, Reed MD, Mesiano S. Serum adipocytokines and adipose weight gain: A pilot study in adolescent females initiating depot medroxyprogesterone acetate. *Contraception*. 2015;92(4):298–300.
39. Nishimura S, Manabe I, Nagai R. Adipose tissue inflammation in obesity and metabolic syndrome 155. *DiscovMed*. 2009;
40. Kahn CR, Brüning JC, Michael MD, Kulkarni RN. Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes mellitus. *J*

- Pediatr Endocrinol Metab. 2000;13 Suppl 6(September):1377–84.
41. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. Vol. 104, Cell. 2001. p. 531–43.
  42. Torres-Leal FL, Fonseca-Alaniz MH, Rogero MM, Tirapegui J. The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. Cell Biochem Funct. 2010;28(8):623–31.
  43. Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: Adiposity, inflammation, and atherogenesis. In: Endocrinology. 2003. p. 2195–200.
  44. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni P a, Bogardus C, Pratley RE. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res* [Internet]. 2001;9(7):414–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11445664>
  45. Calabrò P, Golia E, Maddaloni V, Malvezzi M, Casillo B, Marotta C, et al. Adipose tissue-mediated inflammation: The missing link between obesity and cardiovascular disease? *Intern Emerg Med*. 2009;4(1):25–34.
  46. Gustafson B. Adipose Tissue, Inflammation and Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* [Internet]. 2010;17(4):332–41. Available from: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jat/3939?from=CrossRef>
  47. Beltowski J. Leptin and atherosclerosis. Vol. 189, *Atherosclerosis*. 2006. p. 47–60.
  48. Kotani K, Sakane N, Saiga K, Kurozawa Y. Leptin : adiponectin ratio as an atherosclerotic index in patients with type 2 diabetes: relationship of the index to carotid intima-media thickness. *Diabetologia*. 2005;48(12):2684–6.
  49. Wang H, Naghavi M, Allen C, Barber RM, Carter A, Casey DC, et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2016;388(10053):1459–544. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616310121>
  50. Inoue M, Maehata E, Yano M, Taniyama M, Suzuki S. Correlation between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*. 2005;54(3):281–6.
  51. González-Juanatey JR, Alegría E, Zamorano JL, Bertomeu V, Velasco O, Parrondo I, et al. Albuminuria y riesgo cardiovascular. Estudio KORAL-CARDIO. *Nefrología*. 2006;26(4):426–32.
  52. Norata GD, Raselli S, Grigore L, Garlaschelli K, Dozio E, Magni P, et al. Leptin:adiponectin ratio is an independent predictor of intima media thickness of the common carotid artery. *Stroke* [Internet]. 2007;38(10):2844–6. Available from: <http://stroke.ahajournals.org/content/38/10/2844.full.pdf>
  53. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135–43.
  54. de Carvalho MHC, Colaco AL, Fortes ZB. [Cytokines, endothelial dysfunction,

- and insulin resistance]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):304–12.
55. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk: rationale for screening and primary prevention. *Am J Cardiol [Internet].* 2003;92(4):17–22. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914903007744>
56. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. Vol. 107, *Circulation.* 2003. p. 499–511.
57. Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, Ridker PM, Reed G, Stanek E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem.* 2001;47(3):444–50.
58. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, Wood AM, White IR, Gao P, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med [Internet].* 2012;367(14):1310–20. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3714101&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
59. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, Bloomgarden ZT, Fonseca VA, Garber AJ, et al. AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY GUIDELINES FOR MANAGEMENT OF DYSLIPIDEMIA AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASE. *Endocr Pract [Internet].* 2017;23(Supplement 2):1–87. Available from: <http://journals.aace.com/doi/10.4158/EP171764.APPGL>
60. McLaughlin T, Allison G, Abbasi F, Lamendola C, Reaven G. Prevalence of insulin resistance and associated cardiovascular disease risk factors among normal weight, overweight, and obese individuals. *Metabolism [Internet].* 2004;53(4):495–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049503005377>
61. Garcia M, Mulvagh SL, Merz CNB, Buring JE, Manson JAE. Cardiovascular disease in women: Clinical perspectives. *Circulation Research.* 2016.
62. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J.* 1998;19 Suppl A(Cvd):A20-3.
63. Frank PG, Marcel YL. Apolipoprotein A-I: structure-function relationships. *J Lipid Res [Internet].* 2000;41(6):853–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10828078>
64. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. [Internet]. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1997 p. 3542–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9437204>
65. Rifai N, Joubran R, Yu H, Asmi M, Jouma M. Inflammatory markers in men with angiographically documented coronary heart disease. *Clin Chem.* 1999;45(11):1967–73.

66. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy - a review of the evidence. *Journal of Internal Medicine* 2006 p. 493–519.
67. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: Risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. Vol. 255, *Journal of Internal Medicine*. 2004. p. 188–205.
68. Bolibar I, von Eckardstein A, Assmann G, Thompson S, ECAT Angina Pectoris Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. Short-term prognostic value of lipid measurements in patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Thromb Haemost*. 2000;84(6):955–60.
69. Chan DC, Watts GF. Apolipoproteins as markers and managers of coronary risk. Vol. 99, *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians*. 2006. p. 277–87.
70. Zambon A, Brown BG, Deeb SS, Brunzell JD. Genetics of apolipoprotein B and apolipoprotein AI and premature coronary artery disease. In: *Journal of Internal Medicine*. 2006. p. 473–80.
71. Ford ES, Capewell S. Coronary Heart Disease Mortality Among Young Adults in the U.S. From 1980 Through 2002. Concealed Leveling of Mortality Rates. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(22):2128–32.
72. Haider S, Darney PD. Injectable contraception. *Clin Obstet Gynecol* [Internet]. 2007 Dec;50(4):898–906. Available from: *Injectable Contraception*
73. Berenson AB, Wiemann CM. Contraceptive use among adolescent mothers at 6 months postpartum. *Obstet Gynecol*. 1997;89(6):999–1005.
74. Iseyemi A, Zhao Q, McNicholas C, Peipert JF. Socioeconomic Status As a Risk Factor for Unintended Pregnancy in the Contraceptive CHOICE Project. *Obstet Gynecol*. 2017;130(3):609–15.
75. United Nation, Department of Economic and Social Affairs PD. Trends in contraceptive use Worldwide 2015 [Internet]. *Contraception*. 2015. 1-70 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2012.08.029>
76. United Nations, Department of Economic and Social Affairs PD. World Population Prospects The 2017 Revision Key Findings and Advance Tables [Internet]. *World Population Prospects The 2017*. 2017. p. 1–46. Available from: [https://esa.un.org/unpd/wpp/Publications/Files/WPP2017\\_KeyFindings.pdf](https://esa.un.org/unpd/wpp/Publications/Files/WPP2017_KeyFindings.pdf)
77. Fahmy K, Abdel-Razik M, Shaaraway M, Al-Kholy G, Saad S, Wagdi A, et al. Effect of long-acting progestagen-only injectable contraceptives on carbohydrate metabolism and its hormonal profile. *Contraception*. 1991;44(4):419–30.
78. Tuzcu A, Yalaki S, Arikan S, Gokalp D, Bahcec M, Tuzcu S. Evaluation of insulin sensitivity in hyperprolactinemic subjects by euglycemic hyperinsulinemic clamp technique. *Pituitary*. 2009;12(4):330–4.

79. Melhado-Kimura V, Alegre SM, Pavin EJ, Dos Santos PDNS, Bahamondes L, Fernandes AMDS. High prevalence of insulin resistance assessed by the glucose clamp technique in hormonal and non-hormonal contraceptive users. *Eur J Contracept Reprod Heal Care*. 2015;20(2):110–8.
80. WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization technical report series 1995 p. 1–452.
81. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski S, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–9.
82. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *AmJPhysiol*. 1979;237(0002–9513 (Print)):E214–23.
83. The 1980 Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern Med*. 1980;140(10):1280–5.
84. Ghiadoni L, Taddei S, Virdis S, Sudano I, Di Legge V, Meola M, et al. Endothelial function and common carotid artery wall thickening in patients with essential hypertension. *Hypertension [Internet]*. 1998;32(1):25–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9674633>
85. ABEP AB de E de P. Critério de Classificação Econômica do Brasil [Criteria for Economic Classification in Brazil]. Ibope. 2012;1–5.
86. World Health Organization. Obesity and Overweight, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. WHO Fact sheet, updated June 2016. 2011.
87. Silva DAS, de Alcantara Mendonça BC, de Oliveira ACC. Qual é o impacto do comportamento sedentário na aptidão física de mulheres a partir de 50 anos de idade? *Rev Bras Cineantropometria e Desempenho Hum*. 2012;14(2):154–63.
88. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics-2015 update : A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131(4):e29–39.
89. Wilmot KA, O’Flaherty M, Capewell S, Ford ES, Vaccarino V. Coronary heart disease mortality declines in the United States from 1979 through 2011: Evidence for stagnation in young adults, especially women. *Circulation*. 2015;132(11):997–1002.
90. Ministério da Saúde. SIM-Sistema de Informações de Mortalidade [Internet]. DATASUS. 2017. Available from: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=19465>
91. Alkema L, Kantorova V, Menozzi C, Biddlecom A. National, regional, and global rates and trends in contraceptive prevalence and unmet need for family planning between 1990 and 2015: A systematic and comprehensive analysis. *Lancet [Internet]*. 2013;381(9878):1642–52. Available from:

[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62204-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62204-1)

92. Abma J, Chandra A, Mosher W, Peterson L, Piccinino L. Fertility, family planning and women's health: New data from the 1995 National Survey of Family Growth. *Vital Health Statistics* 23. 1997.
93. MATSUZAWA Y. Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. *Proc Japan Acad Ser B [Internet]*. 2010;86(2):131–41. Available from:  
<http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/pjab/86.131?from=CrossRef>
94. Sch?ffler A, M??ller-Ladner U, Sch??lmerich J, B??chler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev*. 2006;27(5):449–67.
95. Kishida K, Funahashi T, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visceral adiposity as a target for the management of the metabolic syndrome. *Ann Med*. 2012;44(December 2010):233–41.
96. Leon-Acuña A, Alcalá-Díaz JF, Delgado-Lista J, Torres-Peña JD, López-Moreno J, Camargo A, et al. Hepatic insulin resistance both in prediabetic and diabetic patients determines postprandial lipoprotein metabolism: From the CORDIOPREV study. *Cardiovasc Diabetol*. 2016;15(1).
97. Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella M-T, Ferreira SRG. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res*. 2003;11(12):1488–94.
98. Armellini F, Zamboni M, Rigo L, Todesco T, Bosello O, Bergamo-Andreis IA, et al. The contribution of sonography to the measurement of intra-abdominal fat. *J Clin Ultrasound*. 1990;18(7):563–7.
99. Bonora E, Micciolo R, Ghiatas AA, Lancaster JL, Alyassin A, Muggeo M, et al. Is it possible to derive a reliable estimate of human visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue from simple anthropometric measurements? *Metabolism*. 1995;44(12):1617–25.
100. Berker D, Koparal S, Işık S, Paşaoğlu L, Aydın Y, Erol K, et al. Compatibility of different methods for the measurement of visceral fat in different body mass index strata. *Diagnostic Interv Radiol*. 2010;16(2):99–105.
101. Després J, Lamarche B, Després JP, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J [Internet]*. 1996;334(15):952–7. Available from:  
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199604113341504>
102. Suh YS, Kim DH, Lee IK. Usefulness of lumbar AP spine DXA for measuring the percentage of perilumbar regional fat and predicting visceral fat in obese postmenopausal women. *Nutrition*. 2002;18(1):84–5.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1- Parecer Comitê de Ética em Pesquisa



CEP, 28/06/11.  
(PARECER CEP: Nº 903/2009)

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

[www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa](http://www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa)

### PARECER

#### I - IDENTIFICAÇÃO:

**PROJETO: “ESTUDO PROSPECTIVO DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA INSULÍNICA, METABOLISMO DE LÍPEDES E REPERCUSSÃO SUBCLÍNICA DE DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES QUE INICIAM O USO DO CONTRACEPTIVO INJETÁVEL TRIMESTRAL DE ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA DE DEPÓSITO EM SEGUIMENTO DE DOIS ANOS”.**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Luis Bahamondes

#### II – PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o adendo de subamostras de mulheres usuárias de contraceptivo e em seus controles para avaliar a sociedade, a Densidade Mineral Óssea e os fatores de coagulação nos momentos antes do uso e após 12 meses de seguimento e a nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

#### III – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na VI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 28 de junho de 2011.

  
**Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner**  
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP



UNICAMP

Departamento de Tocoginecologia  
Faculdade de Ciências Médicas  
Universidade Estadual de Campinas

Caixa Postal 6181  
13084-971, Campinas, SP, Brasil

Telef.: +(55-19) 3289-2856/ Fax: +(55-19) 3289-2440  
e-mail: [bahamond@caism.unicamp.br](mailto:bahamond@caism.unicamp.br)  
Campinas, 15 de junho de 2011

Prof. Dr. José Guilherme Cecatti  
Presidente da Comissão de Pesquisa  
DTG/CAISM/UNICAMP

Prezado Dr. Guilherme,

Encaminho em anexo o **SEGUNDO ADENDO AO PROJETO CEP 093/2009**, referente à pesquisa intitulada: “*Estudo prospectivo de avaliação da resistência insulínica, metabolismo de lípedes e repercussão subclínica de doença cardiovascular em mulheres que iniciam o uso do contraceptivo injetável trimestral de acetato de medroxiprogesterona de depósito em seguimento de dois anos.*”

O estudo já possui financiamento FAPESP/PPSUS (processo 2009/53293-0). Este adendo visa propor o estudo de subamostras de mulheres usuárias do contraceptivo e em seus controles para avaliar a saciedade, a Densidade Mineral Óssea e os fatores de coagulação nos momentos antes do uso e após 12 meses de seguimento.

Constam no segundo anexo a composição dos profissionais responsáveis pela realização dos braços da pesquisa bem como o TCLE e o orçamento que necessitará de financiamento aditivo a ser solicitado à Fapesp.

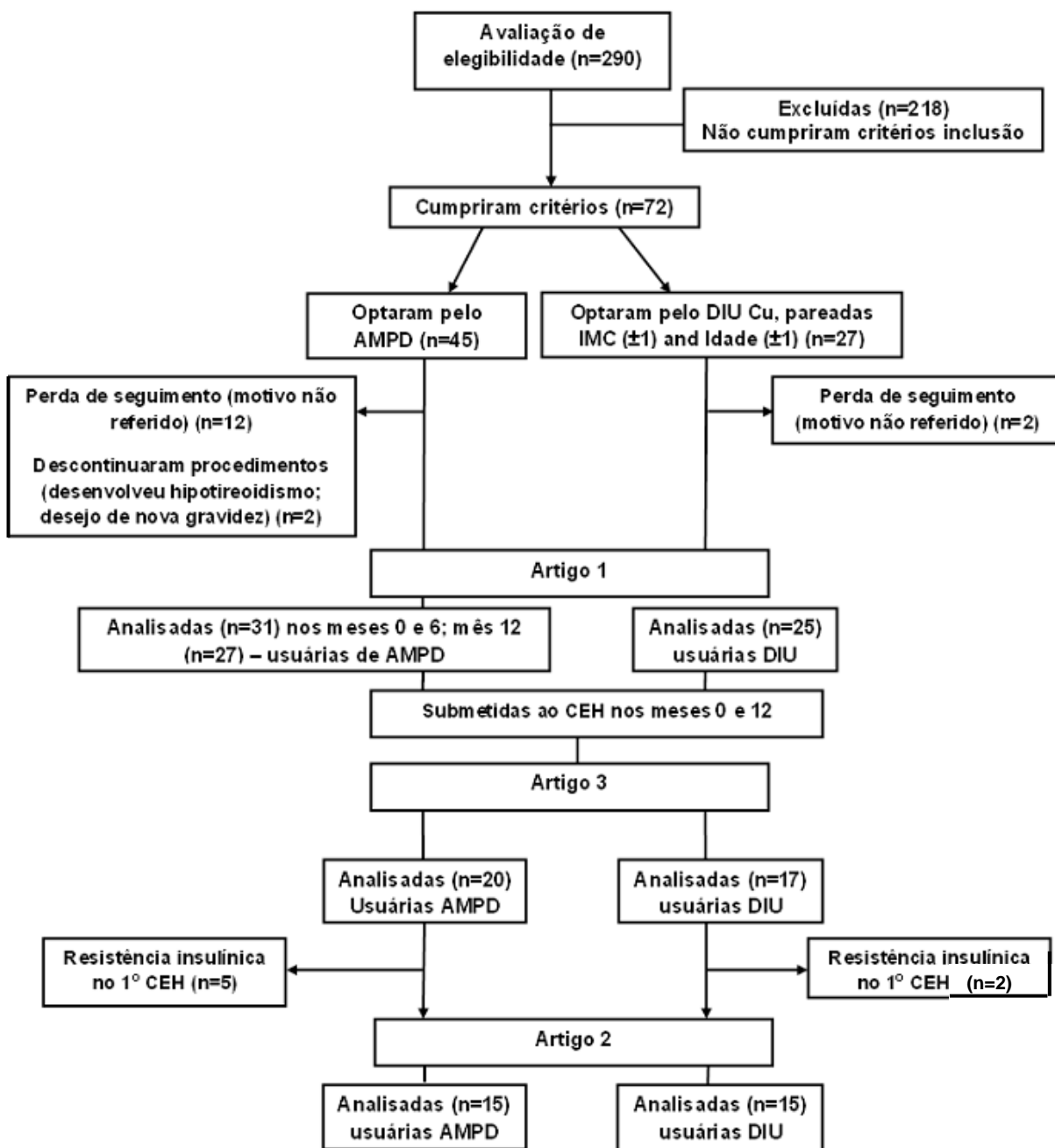
Solicitamos o envio ao CEP deste segundo adendo para aprovação do mesmo.

Atenciosamente

Prof. Dr. Luis Bahamondes  
Pesquisados Principal



## Anexo 2 - Fluxograma das amostras de mulheres estudadas



### **Anexo 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 1**

*“Estudo prospectivo de avaliação da resistência insulínica, metabolismo de lípedes e repercussão subclínica de doença cardiovascular em mulheres que iniciam o uso do contraceptivo injetável trimestral de acetato de medroxiprogesterona de depósito em seguimento de dois anos”*

A Sra está sendo convidada a fazer parte de um estudo de pesquisa conduzido pelo Dr. Luís Bahamondes, Dra. Arlete Fernandes, Dra. Elisabeth Pavin, Dra. Denise Zantut-Wittmann, Dra. Sarah Monte Alegre e Dr. Emílio Marussi. Este termo de consentimento tem o objetivo de fornecer informações sobre o estudo de pesquisa que está sendo proposto e sobre os possíveis riscos e benefícios relacionados. Este termo também descreve quais serão as informações obtidas durante o estudo e como essas informações serão usadas. Leia este termo de consentimento atentamente e, se tiver alguma dúvida, peça explicações ao médico ou a alguém da equipe do estudo. Se concordar em participar do estudo e autorizar o uso e divulgação das informações obtidas durante o estudo, assine a última página deste termo de consentimento.

**Objetivo do estudo:** Avaliar a evolução da sensibilidade à insulina em mulheres que iniciam o uso do contraceptivo trimestral Depoprovera e no período de dois anos.

**Benefícios:** sua participação contribuirá para o entendimento dos efeitos do medicamento na sensibilidade à insulina e no melhor entendimento do metabolismo da glicose das mulheres que usam esse contraceptivo.

**Quem não deve participar do estudo:** mulheres com diabetes, as que tiverem mãe, pai ou filhos com diabetes. Mulheres com hipertensão, hiper e hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, transplantadas de qualquer órgão, portadoras de Ovário Policístico e mulheres que estejam usando os seguintes medicamentos: corticoesteróides, antipsicóticos, tiazídicos e estatinas. ou com glicemia de jejum  $\geq 100$ mg/dl. As mulheres que fizeram cirurgia bariátrica.

**Procedimentos do estudo:** você deverá comparecer ao primeiro dia agendado, em jejum de 12 horas. Serão verificados pressão arterial, frequência

cardíaca, peso, altura. Algumas perguntas sobre a sua saúde e tratamentos médicos realizados serão feitas. Uma veia do antebraço será puncionada para coleta de sangue em jejum. Logo depois você tomará um copo com solução de glicose de 75 mg. Após duas horas dessa tomada será coletada uma segunda amostra de sangue. Se todas as informações e os exames de sangue forem normais, você poderá participar do estudo. Então, serão anotadas as medidas da cintura, quadril, coxa, pescoço, pregas de gordura, será perguntado sobre sua alimentação e serão realizado dois exames: ultrassonografia (do abdome e dos vasos do pescoço e do braço) e a densitometria.

**Teste do “Clamp” (“clamp” euglicêmico hiperinsulinêmico):** Este teste será feito em algumas mulheres. Nesse teste você vai ficar em repouso em um leito durante uma manhã, com soros instalados em duas veias dos braços por um certo período para infundir glicose (“açúcar”) e insulina no sangue. Durante o teste uma dessas veias será usada para colher sangue algumas vezes, sem necessidade de perfurar outras veias. Será feito antes da primeira injeção da Depoprovera, após 12 meses de uso da injeção e quando completar 24 meses que você estiver usando a Depoprovera. Algumas mulheres estarão usando o DIU de cobre e farão o mesmo teste no início, após 1 ano e após completar 2 anos. Benefícios: é o melhor teste para medir a sensibilidade à insulina (um dos principais problemas do diabetes). Desvantagens: praticamente não há. Durante esse exame também serão medidos no ar que você respira as quantidades de oxigênio e gás carbônico, através da calorimetria indireta.

**Efeitos indesejáveis:** pode haver desconforto causado pela coleta de amostras de sangue durante o teste. Os riscos possíveis relacionados à coleta de sangue são: inflamação da veia, dor, manchas roxas na pele ou sangramento no local.

**Confidencialidade e privacidade dos seus dados e identificação:** a equipe do estudo colherá informações suas como nome, endereço, telefone de contato, data de nascimento, dados sobre sua saúde e história médica, além das informações verificadas durante o estudo. Ao apresentar os resultados da pesquisa em congressos ou publicações, a equipe nunca fará referência ao seu nome.

**Posso me recusar a participar do estudo?** Sim. A sua participação neste estudo é voluntária. Se você decidir não participar, você não terá nenhum prejuízo do seu atendimento e tratamento médico aos quais tem direito.

**Informações sobre os exames colhidos:** quando o estudo estiver concluído você poderá solicitar acesso às informações sobre você, que foram obtidas durante o estudo. Para pedir essas informações você deve entrar em contato com Sra Lusia ou Adriana pelo fone (19) 3289-2856.

**Como poderei tirar dúvidas a respeito do estudo?** Entre em contato com Dra. Arlete Fernandes ou Nutricionista Priscila no Ambulatório de Planejamento Familiar no prédio do CEMICAMP, fones (19) 35217176/32892856 ou com a Dra. Sarah ou Sr. Aglécio no Laboratório da Unidade Metabólica, fone: (19) 3521-7155. Se tiver dúvidas sobre seus direitos como participante do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP pelo telefone (19) 3521-8936.

Você receberá uma cópia assinada deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Eu \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_ li e compreendi este termo de consentimento. Todas as minhas dúvidas foram respondidas. Sou voluntário para participar deste estudo.

---

Assinatura do voluntário

---

Assinatura do pesquisador responsável

Campinas, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## Anexo 4 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 2

### “CLAMP EUGLICÊMICO HIPERINSULINÊMICO”

O Sra. está sendo convidada a fazer um teste denominado “*clamp*” euglicêmico hiperinsulinêmico. Esse teste será conduzido na Unidade Metabólica – Hospital de Clínicas- UNICAMP coordenada pela Profa. Dra. Sarah Monte Alegre. Para a realização deste teste, você deverá chegar ao laboratório em jejum de 12 horas, às 7hs da manhã, na data previamente agendada. Durante o teste você vai ficar em repouso em um leito durante uma manhã, com soros instalados em duas veias dos braços, por um certo período para infundir glicose (“açúcar”) e insulina no sangue. Uma das veias será usada para colher sangue algumas vezes, sem necessidade de perfurar outras veias. Em parte do tempo será colocado sobre sua cabeça um arco de plástico para medir sua respiração.

**Benefícios:** é o melhor teste para medir a sensibilidade à insulina (um dos principais problemas do diabetes). A troca de gases medirá o seu metabolismo, ou seja, o quanto seu corpo gasta de energia no repouso.

**Desvantagens:** praticamente não há.

**Efeitos indesejáveis:** pode haver desconforto causado pela coleta de amostras de sangue durante o teste. Os riscos possíveis relacionados à coleta de sangue são: inflamação da veia, dor, manchas roxas na pele ou sangramento no local. Durante o *clamp*, o risco de hipoglicemia praticamente não existirá já que os seus níveis de glicose estarão sendo controlados todo o tempo e a correção, se necessário, será prontamente realizada.

**Confidencialidade e privacidade dos seus dados e identificação:** a equipe do estudo colherá informações suas como nome, endereço, telefone de contato, data de nascimento, dados sobre sua saúde e história médica, além das informações verificadas durante o estudo. Ao apresentar os resultados da pesquisa em congressos ou publicações, a equipe nunca fará referência ao seu nome.

**Posso me recusar a participar do estudo?** Sim. A sua participação neste teste é voluntária. Se você decidir não realizar, você não terá nenhum prejuízo do seu atendimento e tratamento médico aos quais tem direito.

**Informações sobre os exames colhidos:** quando o estudo estiver concluído você poderá solicitar acesso às informações sobre você, que foram obtidas durante o estudo. Para pedir essas informações você deve entrar em contato com: Dra. Arlete Fernandes ou Nutricionista Priscila, no Amb. Planejamento Familiar da FCM/UNICAMP, telefone: (19) 3289-2856/ 3521-7176, ou com Dra. Sarah ou Sr. Aglécio na Unidade Metabólica telefone (19) 3521-7155.

**Como poderei tirar dúvidas a respeito do estudo?** Entre em contato com a Dra. Arlete Fernandes ou Nutricionista Priscila, no Ambulatório de Planejamento Familiar da FCM/UNICAMP, telefone: (19) 3289-2856 ou (19) 3521-7176. Se tiver dúvidas sobre seus direitos como participante do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Médica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP pelo telefone (19) 3521-8936.

Você receberá uma cópia assinada deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Eu \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_ li e compreendi este termo de consentimento. Todas as minhas dúvidas foram respondidas. Sou voluntário para participar deste estudo.

\_\_\_\_\_

Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador responsável

DATA \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## Anexo 5 - Listagem de inclusão

Listagem para de inclusão de pacientes. As afirmativas são corretas?		
Idade entre 18 e 40 anos	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Glicemia < 100mg/dl	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Glicemia 2hs (pós 75mg glicose oral) < 140mg/	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
IMC maior que 20 e menor que 30	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Nunca utilizou Depoprovera (injeção trimestral)	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Nunca realizou cirurgia bariátrica	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não é hipertensa	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não está amamentando	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui antecedente familiar 1º grau para DM	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui acantose nigricans	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui hiper e hipotireoidismo	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui insuficiência renal crônica	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui transplante de qualquer órgão	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não uso crônico de corticoesteróides e antipsicóticos	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não uso crônico tiazídicos e estatinas	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui hirsutismo e/ou hiperandrogenismo	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Não possui Síndrome do Ovário Policístico (SOP)	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Reside em Campinas ou próxima à região	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Aceita voluntariamente participar do estudo	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Possui compreensão p/ assinar o TCLE	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Somente mulheres que obtiverem SIM em todas as afirmativas poderão ser convidadas a participar do estudo		
<b>Nome:</b> _____		
_____		
<b>Número no estudo:</b> _____		<b>Número</b>
<b>PF:</b> _____		
<b>Residência:</b> _____		
_____		
<b>Fones:</b> _____		
_____		

## Anexo 6 - Ficha de coleta de dados do ultrassom

AVALIAÇÃO ECOGRÁFICA					
NOME: .....			PF: .....		
DN: ___/___/___			CASO Nº:		
BASELINE DATA ___/___/___			CONTROLE 12 MESES: ___/___/___		
<b>US Medida IMT carótida (10 mm abaixo bifurcação)</b>					
Carótida direita 1ª medida basal			2ª medida controle		
Carótida esquerda 1ª medida			2ª medida controle		
<b>US Medida da gordura parede abdominal (GSc) (1cm acima umbigo)</b>					
1ª:	2ª:	3ª:	1ª:	2ª:	3ª:
Média das três medidas basal:			Média das três medidas 12 meses:		
<b>US Medida da gordura abdominal pré-peritoneal (GPP) (acima lobo esquerdo fígado)</b>					
1ª:	2ª:	3ª:	1ª:	2ª:	3ª:
Média três medidas basal:			Média três medidas 12 meses:		
<b>Adiposidade abdominal visceral (GV) (interface inferior reto abdominal e parede anterior aorta 1cm acima umbigo)</b>					
1ª:	2ª:	3ª:	1ª:	2ª:	3ª:
Média três medidas basal:			Média três medidas 12 meses:		
<b>Esteatose hepática (critérios: ecotextura, capacidade de visibilizar o diafragma e paredes dos vasos)</b>					
( ) Leve basal (aumento da ecogenicidade hepática / córtex renal ou baço)			( ) Leve 12 meses (aumento da ecogenicidade hepática / córtex renal ou baço)		
( ) Moderada basal (veia porta com paredes obscurecidas)			( ) Moderada 12 meses (veia porta com paredes obscurecidas)		
( ) Severa basal (diafragma com visibilidade prejudicada)			( ) Severa 12 meses (diafragma com visibilidade prejudicada)		
<b>Medidas hepáticas</b>					
Lobo Direito média três medidas (basal):			Lobo Direito média três medidas (12 meses):		
Lobo Caudado (basal):			Lobo Caudado (12 meses):		



## Anexo 7 - Autorização para inclusão do artigo publicado na tese

My published article: Insulin resistance parameters in users

of the injectable contraceptive depot medroxyprogesterone acetate during

one year of use (DOI 10.3109 / 13625187.2015.1059415) was part of my doctorate (State University of Campinas - UNICAMP - Brazil).

For my defense of thesis, I must include the published articles.

Ethics Committee requests that it include authorization:

1. Permission / authorization from the publisher for the inclusion of the articles in the dissertation or thesis, in compliance with the legislation that governs copyright.

2. Declaration that they are not infringing the copyright transferred to the publisher.

Ten volumes will be printed and distributed to the bank and substitutes. A copy will also be donated to the university library.

I need to include the magazine's authorization to include the article.

cordially MD; kleber cursino de andrade

Google Tradutor x Guidelines for Authors x Author Services Contact x

authorsservices.taylorandfrancis.com/contact/

## AUTHORSERVICES

Supporting Taylor & Francis authors

Choosing a journal Writing your paper Making your submission Understanding peer review Moving through production You're published!

### Contact

Have you got a query on accessing or re-using your published article, on open access, submitting a book proposal, or anything else? Use this form to get in touch and we'll respond as quickly as possible.

Please note this email inbox is staffed Monday - Friday, 8am - 4:30pm GMT.

Thank you for contacting us. We will reply to you as soon as we can.

Keep up-to-date with Taylor & Francis Insights

Popular tags

peer review prize Expert  
Opinion publishing article  
preparation award  
tips research stories ECRs advice  
authors impact research  
impact early  
career researcher  
writing public engagement PhD  
researcher research social media  
Expert Review article visibility  
open access

05:59 18/12/2017