



GISELE ALMEIDA BATISTA

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA, DA COMPOSIÇÃO CORPORAL, GASTO ENERGÉTICO EM REPOUSO E DO PERFIL INFLAMATÓRIO EM MULHERES EM USO DE ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA DE DEPÓSITO

CAMPINAS  
2014





**UNICAMP**

---

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
Faculdade de Ciências Médicas

GISELE ALMEIDA BATISTA

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA, DA COMPOSIÇÃO CORPORAL, GASTO  
ENERGÉTICO EM REPOUSO E DO PERFIL INFLAMATÓRIO EM MULHERES  
EM USO DE ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA DE DEPÓSITO

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências  
Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte  
dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em  
Ciências na área de concentração Clínica Médica.

ORIENTADOR: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. SARAH MONTE ALEGRE

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO  
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA  
ALUNA GISELE ALMEIDA BATISTA, E ORIENTADO PELA  
PROF. DRA. SARAH MONTE ALEGRE.

*Sarah Monte Alegre*

CAMPINAS  
2014

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

B32a Batista, Gisele Almeida, 1989-  
Avaliação antropométrica, da composição corporal, gasto energético em repouso e do perfil inflamatório em mulheres em uso de acetato de medroxiprogesterona de depósito / Gisele Almeida Batista. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Sarah Monte Alegre.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Gasto energético em repouso. 2. Composição corporal. 3. Acetato de medroxiprogesterona. 4. Obesidade. 5. Leptina. I. Alegre, Sarah Monte, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Anthropometric, body composition, resting energy expenditure and inflammatory status in women using depot medroxyprogesterone acetate

**Palavras-chave em inglês:**

Resting energy expenditure

Body composition

Depot medroxyprogesterone acetate

Obesity

Leptin

**Área de concentração:** Clínica Médica

**Titulação:** Mestra em Clínica Médica

**Banca examinadora:**

Sarah Monte Alegre [Orientador]

Marcos Ferreira Minicucci

Denise Engelbrecht Zantut Wittmann

**Data de defesa:** 26-09-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Médica

---

**BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO**

**GISELE ALMEIDA BATISTA**

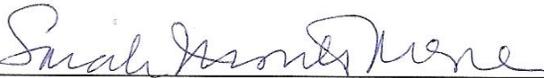
---

**ORIENTADOR(A): PROF. DR. SARAH MONTE ALEGRE**

---

**MEMBROS:**

---

1. PROF. DR. SARAH MONTE ALEGRE 

2. PROF. DR. MARCOS FERREIRA MINICUCCI 

3. PROF. DR. DENISE ENGELBRECHT ZANTUT WITTMANN 

---

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

---

**Data: 26 de setembro de 2014**

---



## ABSTRACT

Introduction: Depot Medroxyprogesterone Acetate (DMPA, Depoprovera®) is an high contraceptive efficacy and safety; its use has spread broadly and has been used by millions of women. There are few studies on the resting energy expenditure in Depoprovera® users, and it is possible that there are variations especially those who gain weight using the method. Objective: To evaluate the changes in weight, body composition and resting energy expenditure in women using depot medroxyprogesterone acetate and IUD TCU 380 in 12 months. Methods: This was a prospective study with 20 Depoprovera® users and 17 IUD users TCU380 as a control within one year. Women attending the outpatient clinic of CAISM / UNICAMP of childbearing age who chose the injectable contraceptive Depoprovera ® without previous use of this method, Body Mass Index (BMI) < 30kg / m<sup>2</sup>, and women using non-hormonal contraception IUD TCU 380, were invited to participate in the study. Results: The groups were paired at baseline, becoming a homogeneous group in relation to age ( $\pm 1$  year), and BMI (+1 kg/m<sup>2</sup>). After 12 months of evaluation, we could observe a significant increase in the DMPA group in weight, BMI and body surface. Relative to resting energy expenditure and respiratory quotient, there was an increase of baseline metabolic rate in both groups after one year. The respiratory quotient was significantly reduced after 12 months in groups DMPA and IUD. The sub-group DMPA that gained < 3kg had increased significant weight, BMI and body surface with respiratory quotient reduction, while the sub-group that gained > 3kg had a significant increase in weight, BMI, body surface, free fat mass, fat mass, baseline metabolic rate, Leptin, HOMA-IR and waist circumference, with respiratory quotient significantly reduced. Conclusion: Our study found significant changes in weight, body composition and metabolic profile of the population studied in the first 12 months of contraceptive use. These changes mainly increased body weight, leptin levels and HOMA-IR which can contribute to the development of some chronic complications, including obesity, insulin resistance and diabetes mellitus.

**Keywords:** Resting energy expenditure, body composition, depot medroxyprogesterone acetate, obesity, leptin.

## RESUMO

*Introdução:* O acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD, Depoprovera®) é um método contraceptivo de alta eficácia e segurança; seu uso tem se difundido amplamente e vem sendo utilizado por milhões de mulheres. Existem poucos estudos na literatura sobre o gasto energético em repouso nas usuárias de Depoprovera®, e é possível que existam variações especialmente naquelas que ganham peso em uso do método. *Objetivo:* Avaliar as alterações no peso, composição corporal e gasto energético em repouso de mulheres em uso de acetato de medroxiprogesterona de depósito e DIU TCu 380 no período de 12 meses. *Métodos:* Estudo prospectivo com 20 usuárias de Depoprovera® e 17 usuárias de DIU TCu380, como controle, no período de um ano. Mulheres atendidas no ambulatório de Planejamento Familiar do CAISM/UNICAMP em idade fértil, que optaram como método contraceptivo o injetável Depoprovera®, sem uso prévio deste método, e que apresentavam Índice de Massa Corporal (IMC) < 30 kg/m<sup>2</sup>, além de mulheres que utilizavam o método contraceptivo não hormonal DIU TCu 380A foram convidadas a participar do estudo. *Resultados:* Os grupos foram pareados no período basal, tornando-se um grupo homogêneo em relação a peso, idade e IMC. Após 12 meses de avaliação, pode-se observar aumento de peso, IMC e superfície corporal de forma significativa no grupo Depo. Em relação ao gasto energético em repouso e quociente respiratório, houve aumento significativo da taxa metabólica basal nos dois grupos. O quociente respiratório reduziu de forma significante nos dois grupos. Quando o grupo Depo foi subdividido por ganho de peso, o subgrupo que ganhou < 3 kg após 12 meses teve aumento significativo de peso, IMC, superfície corporal e quociente respiratório, já o subgrupo que ganhou > 3 kg aumentou significativamente peso, IMC, superfície corporal, peso de massa magra, peso de massa gorda, taxa metabólica basal, Leptina, HOMA-IR e circunferência da cintura e reduziu quociente respiratório após os 12 meses de acompanhamento. *Conclusão:* Nosso estudo encontrou alterações relevantes no peso, composição corporal e perfil metabólico da população estudada nos primeiros 12 meses de uso do contraceptivo. Essas alterações principalmente o aumento de peso corporal,

aumento dos níveis de leptina e HOMA-IR, podem contribuir para o desenvolvimento de algumas complicações crônicas, entre elas a obesidade, resistência à insulina e diabetes mellitus.

**Palavras chave:** Gasto energético em repouso, composição corporal, acetato de medroxiprogesterona de depósito, obesidade, leptina.

# SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito.....	1
1.1.1 Impacto do uso de Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito no peso corporal.....	2
1.2 Obesidade x Impacto Clínico e Social.....	4
1.2.1 Obesidade e complicações relacionadas à Inflamação.....	5
1.2.2 Obesidade x Gasto Energético em Repouso.....	7
2.OBJETIVOS.....	10
3.SUJEITOS E MÉTODOS.....	11
3.1 Desenho do estudo e voluntários da pesquisa.....	11
3.2 Aspectos éticos.....	11
3.3 Tamanho amostral.....	12
3.4 Critérios de exclusão.....	12
3.5 Critérios de descontinuação.....	12
3.6 Coleta de dados.....	13
3.6.1 Avaliação do gasto calórico e utilização de substratos energéticos.....	13
3.6.2 Técnicas para avaliação antropométrica e composição corporal.....	14
3.6.3 Técnicas para dosagens de adipocitocinas, glicose e insulina plasmática.....	15
3.6.4 Avaliação da sensibilidade à insulina.....	16
3.7 Análise estatística.....	16
4.RESULTADOS.....	17
5.DISSCUSSÃO.....	24
6.CONCLUSÕES.....	29
7.REFERÊNCIAS.....	30
8.APÊNDICES.....	43
9.ANEXOS.....	55



*Aos meus pais Pedro e Lenice,  
aos meus irmãos Greyson e Rodrigo e  
ao meu noivo Luiz Henrique.*



## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu protetor e guia.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sarah Monte Alegre, pelo acolhimento desde o primeiro contato, por ser exemplo de ética, compromisso e responsabilidade. Obrigada por me auxiliar nos momentos de dificuldade neste período e pela dedicação que sempre demonstrou.

Aos meus pais, Pedro e Lenice, por nunca desistirem de mim e sempre me apoiarem nas minhas escolhas. O amor, dedicação e compreensão de vocês tornaram esta caminhada mais leve e me fizeram superar a dor da distância.

Aos meus irmãos, Greyson e Rodrigo, pelo carinho e incentivo, vocês me ajudam a ser uma pessoa cada dia melhor.

Ao meu noivo, Luiz, pela paciência, amor e respeito e por sempre me transmitir tranquilidade.

À minha avó Teresinha e à minha tia Ana Maria, pelas orações constantes.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Arlete Fernandes, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Aglécio, pelo profissionalismo e respeito com minhas pacientes durante as coletas de sangue e pelo companheirismo durante todo o período deste estudo.

Às amigas Daniela Marin e Thalyta Morandi, pelo carinho, incentivo e amizade, vocês são especiais para mim.

Às meninas da Unidade Metabólica, Michele, Liane, Viviane, Raquel, Camila, Sílvia e Priscila e também à Vaneska e Priscilla, pelos momentos de descontração e a troca de conhecimento.

Às voluntárias, pela confiança e por tornarem possível o desenvolvimento deste estudo.

À Cleide, pelo auxílio nas análises estatísticas.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém  
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

*Arthur Schopenhauer*



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Peso corporal basal e 12 meses dos grupos Depo e DIU.....	18
<b>Figura 2.</b> Peso de massa gorda, % de Gordura e Peso de Massa Magra basal e após 12 meses dos grupos Depo e DIU.....	19
<b>Figura 3A.</b> Taxa metabólica basal grupos Depo e DIU período basal e após 12 meses.....	20
<b>Figura 3B.</b> Quociente respiratório grupos Depo e DIU período basal e após 12 meses.....	20



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características dos grupos Depo e DIU.....	17
<b>Tabela 2.</b> Composição corporal por Bioimpedância Elétrica.....	18
<b>Tabela 3.</b> Gasto energético em repouso e quociente respiratório período basal e 12 meses.....	19
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros inflamatórios dos grupos Depo e DIU.....	21
<b>Tabela 5.</b> Correlação entre variáveis antropométricas e marcadores inflamatórios grupo Depo.....	21
<b>Tabela 6.</b> Características gerais grupo Depo subdividido por IMC inicial período basal e após 12 meses.....	22
<b>Tabela 7:</b> Características gerais grupo Depo subdividido por ganho de peso período basal e após 12 meses.....	23



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPD- Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito

ANOVA- Análise de Variância

BIA- Bioimpedância Elétrica

CAISM- Centro de Atenção Integral à Mulher

Cm- Centímetro

CO<sub>2</sub>- Gás Carbônico

DIU TCu380A- Dispositivo Intra Uterino

dL- Decilitro

DM- Diabetes Mellitus

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

ETA- Efeito Térmico dos Alimentos

FCM- Faculdade de Ciências Médicas

FDA- Food and Drug Administration

g- Grama

GEAF- Gasto Energético da Atividade Física

GER- Gasto Energético em Repouso

GET- Gasto Energético Total

HAS- Hipertensão Arterial Sistêmica

IL-1- Interleucina 1

IL-6- Interleucina 6

IMC- Índice de Massa Corporal

Kcal- Quilocaloria

Kg- Quilograma

L- Litro

M- Metro

M<sup>2</sup>- Metro ao Quadrado

Mg- Miligrama

MIN- Minuto

ML- Miligrama

N- Nitrogênio

ng- Nanograma

O<sub>2</sub>- Oxigênio  
PCR- Proteína C Reativa  
PG- Picograma  
POF- Pesquisa do Orçamento Familiar  
QR- Quociente Respiratório  
RBP-4- Proteína Ligadora de Retinol 4  
RI- Resistência à Insulina  
SOP- Síndrome do Ovário Policístico  
TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
TNF-  $\alpha$ - Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$   
TMB- Taxa Metabólica Basal  
UNICAMP- Universidade Estadual de Campinas  
VCO<sub>2</sub>- Volume de Gás Carbônico  
VO<sub>2</sub>- Volume de Oxigênio  
 $\mu$ U- Micro Unidade  
°C-Grau Celsius

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito

O acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD- Depoprovera®) tornou-se disponível na década de 90 para mulheres dos Estados Unidos e Canadá, após aprovação pelo Food and Drug Administration (FDA), no entanto, já era usado como método contraceptivo em outros países desde a década de 60<sup>1</sup>. É um método de contracepção injetável e contém em sua formulação 150mg de AMPD administrado via intramuscular, em uma concentração plasmática de aproximadamente 1ng/mL<sup>2</sup>.

É um contraceptivo de fácil utilização e alta eficácia, com uma aplicação trimestral, as taxas de falha são de 0.25 a 0.30 mulheres/ano, semelhantes à laqueadura, implantes e DIU TCU380A<sup>3</sup>. Pelas características de eficácia contraceptiva, segurança e baixo custo, além de facilidade de acesso, pois está disponível nas redes públicas de saúde de vários países, incluindo o Brasil, milhões de mulheres optam pelo uso deste método<sup>4</sup>.

A Depoprovera® é usada por mais de 9 milhões de mulheres em todo o mundo e tem uso elevado nos Estados Unidos e Reino Unido<sup>5</sup>. A ação contraceptiva de AMPD é resultado da supressão da secreção de gonadotropina, que por sua vez bloqueia a produção ovariana de estradiol e impede a maturação dos folículos nos ovários e ovulação<sup>6</sup>. Após um ano de uso do método, muitas mulheres entram em estado de amenorréia<sup>7</sup>.

Por ser uma contracepção exclusiva de progesterona, a AMPD torna-se uma alternativa útil e apropriada para mulheres com contraindicação de uso de estrógeno<sup>8</sup>. O uso do injetável não tem sido associado a aumento do risco de tromboembolismo venoso, acidente vascular cerebral ou doenças cardiovasculares<sup>9,10</sup>.

Em contrapartida, algumas drogas como, por exemplo, os contraceptivos hormonais utilizando progesterona, parecem exercer um efeito potencialmente diabetogênico, e o uso contínuo pode desencadear o quadro de resistência à insulina. Essa situação, possivelmente, é em decorrência de alteração do metabolismo dos carboidratos, podendo levar ao desenvolvimento de Diabetes Mellitus (DM), como observado em população de etnia indígena nos Estados Unidos<sup>11</sup>. Porém, outros estudos com o uso de AMPD não evidenciaram mudanças nessas variáveis<sup>2</sup>.

Ao contrário de métodos contraceptivos orais contendo estrogênio, que não parecem exercer efeitos negativos na bioquímica de marcadores de remodelação e

densidade mineral óssea, há uma preocupação com os possíveis efeitos negativos da Depoprovera® no osso, uma vez que seu uso tem sido associado com a aceleração da remodelação e redução da densidade mineral óssea<sup>12,13,14,15</sup>. Apesar desse potencial efeito negativo no osso, a razão mais frequente para a descontinuação do uso da AMPD é o aumento de peso corporal<sup>16</sup>.

### **1.1.1 Impacto do uso de Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito no Peso Corporal**

Em estudo realizado por Mangan et al.<sup>17</sup> (2002), ao avaliarem fatores como raça, idade e Índice de Massa Corporal (IMC) associados ao ganho de peso em adolescentes em uso de AMPD, concluíram que o uso do injetável por mais de um ano, faz com que as adolescentes ganhem significativamente mais peso quando comparadas às que usam contraceptivos orais. Além disso, quando iniciam o tratamento com sobrepeso, podem ser mais susceptíveis ao ganho de peso mais significativo nos primeiros anos de uso do método.

Polaneczky & Liblanc<sup>18</sup> (1998), observaram que cerca de um terço das adolescentes que iniciam terapia com Depoprovera® não recebem a segunda dose no primeiro trimestre, 50% delas não recebem a terceira injeção aos seis meses e aproximadamente três quartos, descontinuam o uso após um ano. Apenas 9% das adolescentes que interromperam o tratamento por causa do ganho de peso voltaram a usar AMPD, comparado com 80% que descontinuam e não retornam o uso.

Segundo Berenson & Rahman<sup>19</sup> (2009), o uso do injetável está associado ao incremento de 5,1kg após 36 meses de uso do método. Estes resultados corroboram estudo realizado com 3857. Clark et al.<sup>21</sup> (2005) observaram que após 30 meses de terapia com o progestágeno houve aumento de 6,1kg nas usuárias.

Elaborar estratégias de prevenção para o aumento de peso com o injetável é difícil, devido à escassez de informações sobre mecanismos subjacentes e fatores preditivos. Estudo realizado em mulheres adultas usuárias de AMPD avaliou mecanismos para o ganho de peso. A Depoporovera® não mostrou ter nenhum efeito anabólico ou na retenção de líquidos, em vez disso, o ganho de peso foi associado com aumento nos depósitos de gordura, levando os investigadores a hipótese de que o ganho de peso foi secundário ao aumento do apetite<sup>22</sup>.

De acordo com Berenson & Rahman<sup>19</sup> (2009), o ganho de peso ao usar AMPD está associado ao aumento de massa gorda e não de massa magra e após 36 meses de uso do contraceptivo observou-se um aumento de 4,1 kg de gordura corporal. Um resultado semelhante foi encontrado por Clark et al.<sup>21</sup> (2005), ao observar aumento da gordura central em relação à periférica entre usuárias de AMPD, considerando que o aumento de gordura visceral é um dos componentes característicos para desenvolvimento da síndrome metabólica.

O mecanismo de aumento de massa gorda com o uso de Depoprovera® ainda não foi estabelecido. Após avaliar ingestão calórica e consumo de gordura, observou-se que estas variáveis não influenciaram o ganho de peso; e o apetite das usuárias não foi relacionado com modificações na composição corporal, contrapondo a teoria de que o ganho de peso associado à AMPD é decorrente de seus efeitos na regulação do apetite e gasto energético<sup>23</sup>. Outro mecanismo possível é a atividade do AMPD como ativador no receptor de glicocorticóide, além do estado de hipoestrogenismo induzido pelo injetável, tendo em vista que a fase da menopausa está associada ao aumento de massa gorda, independente de peso corporal e idade<sup>24</sup>.

De acordo com LE et al.<sup>25</sup> (2009), foram identificados três fatores de risco para ganho precoce de peso com o uso do progestágeno. O primeiro é IMC < 30 kg/m<sup>2</sup>, pois são mais susceptíveis ao ganho de peso precoce que as obesas. No entanto, esse relato se contrapõe a achados anteriores, em que foi observado que adolescentes obesas apresentavam maior probabilidade de ganhar peso que as adolescentes eutróficas<sup>26,17</sup>, isso pode ser explicado pela idade dos dois grupos estudados, tendo em vista que a relação com o IMC foi observada em uma população com idade entre 16 e 33 anos; sugerindo que a idade pode ser um fator mediador entre a relação IMC inicial e excesso de ganho de peso.

O segundo fator de risco encontrado foi o grau de paridade; mulheres que tinham um filho ou mais apresentavam maior probabilidade de ganhar peso com o uso do método. Mulheres que ganham peso em excesso na gestação ou não conseguem perder este peso após seis meses do parto, estão com risco aumentado de ganho de peso continuado<sup>27,28,29</sup>.

O terceiro fator de risco encontrado por LE et al.<sup>25</sup>, (2009), foi o auto relato de aumento do apetite após seis meses de uso do contraceptivo. Bonny et al.<sup>30</sup>, (2004), encontram redução no apetite em adolescentes negras em uso do método, resultado não observado no mesmo estudo em adolescentes brancas. A divergência nos resultados dos

dois estudos pode ser explicada pelo método de mensuração do apetite, no primeiro estudo foi realizado de uma forma mais simples, em que as voluntárias foram questionadas somente sim ou não sobre o aumento nesta variável.

Na maioria dos estudos com o Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito o ganho excessivo de peso é considerado como o principal efeito colateral do método, tornando-se a principal causa para descontinuação da terapia em todas as faixas etárias<sup>31</sup>. Tendo em vista que este é um método contraceptivo, atualmente, usado por milhões de mulheres, é de suma importância verificar o impacto do ganho de peso nas usuárias.

## **1.2 Obesidade x Impacto Clínico e Social**

A obesidade é considerada problema epidêmico de saúde pública, que afeta tanto países de primeiro mundo como países em desenvolvimento. Mundialmente, são estimados 1,5 bilhões de adultos com excesso de peso ou obesidade, destes, cerca de 500 milhões são obesos<sup>32</sup>. Particularmente no Canadá, México, Estados Unidos e Brasil a prevalência de obesidade ou sobrepeso tem aumentado<sup>33</sup>.

No Brasil, segundo dados da Pesquisa do Orçamento Familiar (POF 2008-2009), o excesso de peso e obesidade mostrou-se crescente em todas as classes de rendimento, idade e regiões do país, tanto em situação urbana quanto rural. Na população adulta, 50,1% dos homens e 48% das mulheres apresentavam sobrepeso; em relação à obesidade 12,4% dos homens e 16,9% das mulheres estavam obesos<sup>34</sup>. Pesquisa VIGITEL, do Ministério da Saúde<sup>35</sup>, revelou que 51% da população brasileira acima de 18 anos apresenta excesso de peso e 17,4% está com obesidade. No estado de São Paulo, 52,1% da população está acima do peso; o sexo masculino representa 56,1% e o feminino 48,6%.

A obesidade é uma complexa desordem crônica e de etiologia multifatorial, resultante do balanço energético positivo e tanto fatores genéticos e ambientais estão envolvidos no desenvolvimento deste distúrbio metabólico<sup>36,37</sup>. Está associada a diversas doenças como, DM tipo 2, doenças cardiovasculares, Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), alguns tipos de câncer e apneia do sono, fatores que influenciam no aumento da morbi-mortalidade por obesidade<sup>38</sup>. Além disso, estudos tem demonstrado a associação entre baixos graus de inflamação e obesidade<sup>39</sup>.

### 1.2.1 Obesidade e complicações relacionadas à Inflamação

Várias evidências têm indicado que a obesidade está associada a um processo inflamatório subclínico. O tecido adiposo não é somente um reservatório de gordura, mas um órgão endócrino ativo que tem um papel fisiológico complexo<sup>40</sup>. É reconhecido, atualmente, como capaz de expressar e secretar uma variedade de peptídeos bioativos, conhecidos como adipocitocinas, que agem tanto in loco (ação autócrina ou parácrina) como sistemicamente (ação endócrina), e muitas dessas substâncias estão envolvidas com processos inflamatórios<sup>41</sup>.

O primeiro relato de inflamação na obesidade foi realizado em ratos e revelou aumento dos níveis da citocina Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) em animais obesos quando comparados a controles magros<sup>42</sup>. Após essa descoberta, vários estudos descreveram diferenças no perfil inflamatório em obesos quando comparados a magros, tanto em animais quanto em humanos.

A importância do reconhecimento da obesidade como um estado inflamatório se deve à possibilidade de a inflamação ser um dos elos entre a obesidade e a resistência à insulina (RI), HAS e doença cardiovascular<sup>43</sup>. A inflamação também é a possível explicação para a ligação da obesidade com osteoartrites, acidente vascular cerebral, doenças da vesícula biliar, câncer e problemas psicossociais<sup>44</sup>; além de outros estados de desordens metabólicas como, hipertrigliceridemia e hiperglicemia, fatores de risco bem estabelecidos para desenvolvimento de doença hepática crônica, como a esteatose hepática não alcoólica<sup>45,46</sup>.

O tecido adiposo contribui com a inflamação em obesos tanto em tecidos vasculares como não vasculares<sup>47</sup>. Segundo Wang & Nakayama<sup>40</sup> (2010), níveis anormais de ácidos graxos, lipídeos e citocinas do tecido adiposo ativam monócitos, aumentando a secreção de citocinas inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , Leptina, Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6), Visfatina e reduzindo a secreção da citocina anti-inflamatória Adiponectina.

Em humanos e animais com excesso de adiposidade, as concentrações sanguíneas de adipocinas estão elevadas, com exceção da adiponectina, que é secretada em altos níveis e com exclusividade pelos adipócitos e está diminuída na obesidade. O efeito anti-inflamatório da adiponectina ocorre devido à inibição do TNF- $\alpha$  e outras citocinas inflamatórias, tais como IL-6 e Interferon- $\gamma$ , através da indução de outros fatores anti-inflamatórios como os receptores antagonistas de IL-1<sup>48,49</sup>. Suas concentrações

também se correlacionam diretamente com o aumento da sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos, estimulando a oxidação dos ácidos graxos, diminuindo triglicérides plasmáticos e melhorando o metabolismo da glicose<sup>43</sup>.

A Visfatina é outra proteína regulada e expressa pelo tecido adiposo. A possível associação entre níveis de Visfatina e parâmetros metabólicos e antropométricos no DM2 e obesidade tem sido mostrado em alguns estudos<sup>50,51</sup>. Em humanos, os estudos indicam uma possível correlação positiva entre a expressão do gene da visfatina no tecido adiposo visceral e IMC, e uma relação negativa entre visfatina, IMC e gordura subcutânea<sup>52</sup>. Isto sugere que a regulação desta citocina varia de acordo com diferentes depósitos de gordura, estando em maior quantidade no tecido adiposo visceral.

O TNF- $\alpha$  exerce um papel central na inflamação, apoptose e desenvolvimento do sistema imune, além de no tecido adiposo, atuar no metabolismo dos lipídeos, induzir a apoptose dos adipócitos e influenciar na sinalização de insulina através da redução da autofosforilação do seu receptor, assim como na fosforilação do substrato do receptor da insulina 1 (IRS-1), além da modificação dessa molécula por fosforilação em serina, tornando-a inibitória para sinalização de insulina, promovendo o estado de resistência à insulina<sup>53</sup>. As concentrações dessa citocina estão elevadas na obesidade e diminuem com a perda de peso. Atua promovendo a secreção de outras potenciais citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, e reduz a adiponectina<sup>54,55</sup>.

A IL-6 também tem relevância no processo inflamatório, hematopoiese, reações de fase aguda, metabolismo ósseo e progressão de câncer. Atua na regulação da homeostase energética e inflamação sendo capaz de inibir a lipase lipoproteica e, em nível hipotalâmico, controlar o apetite e ingestão calórica<sup>56</sup>. A IL-6 contribui para inflamação crônica, estando presente na fase de transição de doença aguda para crônica, como no caso de obesidade, resistência à insulina, arites, sepses e doenças inflamatórias intestinais<sup>57</sup>.

Estudos mostram que concentrações elevadas de IL-6 são indicativos de inflamação sistêmica subclínica e preditor para desenvolvimento de DM tipo 2. De fato, a IL-6 interfere na sinalização da insulina através da indução de proteínas que se ligam nos receptores de insulina<sup>58,59,60</sup>.

O tecido adiposo visceral é capaz de produzir marcadores inflamatórios como, por exemplo, o TNF- $\alpha$  e IL-6 que podem induzir a produção de proteínas de fase aguda de células endoteliais e hepáticas<sup>61</sup>. Com isso, o tecido adiposo presente em grandes quantidades na obesidade pode explicar a relação entre obesidade e inflamação<sup>62</sup>.

Derosa et al.<sup>63</sup> (2013), avaliaram concentrações de adipocitocinas em indivíduos obesos e eutróficos. Ao comparar 363 obesos e 365 indivíduos magros, pareados por idade, observaram maiores concentrações de adipocinas envolvidas na RI e inflamação nos indivíduos obesos, quando comparados aos eutróficos. A circunferência da cintura foi correlacionada negativamente com adiponectina, visfatina e vaspina, além disso, o índice HOMA- IR teve correlação positiva com resistina, adiposina, proteína ligadora de retinol -4 (RBP-4) e leptina. A leptina foi correlacionada positivamente com TNF- $\alpha$ , proteína C reativa (PCR) e IL-6 e, negativamente com as concentrações de adiponectina. Os dados confirmam a predisposição de desenvolvimento mais frequente de disfunções metabólicas e hormonais em obesos, devido a maior susceptibilidade de concentrações maiores de citocinas pró-inflamatórias, comparados a indivíduos magros.

Em estudo realizado com crianças e adolescentes, com o objetivo de avaliar o perfil plasmático de adipocitocinas em 38 obesos comparado com 24 controles magros, também foi observado concentrações mais elevadas de leptina, IL-6 e resistina e mais baixas de adiponectina no grupo com obesidade, quando comparado ao grupo controle, neste estudo não houve diferença estatística nas concentrações de TNF-  $\alpha$ <sup>64</sup>.

Evidências clínicas e epidemiológicas sugerem um maior papel de hormônios sexuais na regulação da distribuição do tecido adiposo. Hormônios como progesterona, estrogênio e androgênio, estão envolvidos no metabolismo, acúmulo e distribuição do tecido adiposo. A presença destes esteróides sexuais faz com que haja uma distribuição normal de gordura corporal; em situações em que os níveis destes hormônios estão baixos, tais como envelhecimento e gonadectomia, há uma maior tendência para estados de obesidade e maiores fatores de risco para doenças cardiovasculares<sup>40</sup>.

### **1.2.2 Obesidade x Gasto Energético em Repouso**

A obesidade está associada a um aumento do gasto energético em repouso (GER). O GER é o componente principal do gasto energético total (GET), e corresponde a 60 – 75% do GET na maioria dos indivíduos. Juntamente com o GER, o efeito térmico dos alimentos (ETA), aquecimento gerado pelo corpo quando o alimento é ingerido, correspondente aproximadamente a 10% do GET e o gasto energético da atividade física (GEAF), correspondente a cerca de 15 a 30% do GET, são os três principais componentes do GET<sup>65</sup>.

Os fatores que determinam o balanço energético, como ingestão energética e atividade física, variam entre os indivíduos e são até certo ponto determinados por genes. Esses fatores podem envolver substratos energéticos, como carboidratos e lipídeos, que são oxidados para atender a demanda de energia<sup>66,67</sup>.

Os estudos sobre fenótipos da taxa metabólica como preditores de ganho de peso são contraditórios, uma vez que altos valores de quociente respiratório (QR) indicaram ganho de peso em alguns estudos, porém em outros não. Um alto QR é indicativo de que os lipídeos estão sendo estocados e não metabolizados.

Marra et al.<sup>68</sup>, (2004), ao avaliarem por seis anos alterações de peso corporal em mulheres não obesas saudáveis, observaram que altos valores de QR são preditivos de ganho de peso e relataram que as mulheres com maior QR basal ganharam uma média de 1,5kg/ ano de acompanhamento.

Um dos métodos utilizados para estimar o GER é a calorimetria indireta. É considerado de boa acurácia (taxa de erro de 2 a 5%) e mensura por meio de um aparelho, o calor gerado pelo corpo através da análise do consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>) consumido, produção do gás carbônico (VCO<sub>2</sub>), incluídos na fórmula de Weir<sup>69</sup> (1949), indicando a quantidade de energia necessária para a realização dos processos metabólicos. As trocas gasosas produzidas permitem ao aparelho o cálculo do quociente respiratório (QR= VCO<sub>2</sub>/VO<sub>2</sub>), indicando o substrato oxidado como fonte energética no momento da mensuração<sup>70,71</sup>.

#### **Equação de Weir:**

Produção de calor (kcal/min/dia) = 3,9 [VO<sub>2</sub> (L/min)] + 1,1 [VCO<sub>2</sub> (L/min)]

GE (kcal/dia) = Produção de Calor x 1440 min

Alguns estudos indicam que o GER de pacientes obesos pode ser influenciado por massa magra<sup>72,73</sup>, idade, etnia, alta atividade metabólica dos órgãos, secreção plasmática de insulina e leptina, frequência cardíaca e inflamação<sup>74</sup>. A massa magra representa 50 – 60% de variância e é considerado o maior fator contribuinte para a taxa metabólica basal (TMB). Enquanto que a massa gorda exerce pequena influência na TMB, representando somente 5-6%<sup>75,76,77</sup>.

Entretanto, outros fatores fisiológicos contribuem para diferenças observadas no GER, entre eles podemos citar atividade do sistema nervoso simpático<sup>78,79</sup> e estado endócrino, como por exemplo, os hormônios tireoidianos<sup>80</sup>. Observa-se que mesmo que a

redução no GER seja pequena, aumenta o risco de ganho de peso e posteriores doenças relacionadas ao excesso de peso ou obesidade<sup>81</sup>.

Alguns estudos com mulheres na pré-menopausa, observaram que o GER é maior na fase lútea do ciclo menstrual, fase em que estrógeno e progesterona estão em níveis elevados, quando comparado à fase folicular do ciclo, momento em que os hormônios estão em níveis menores, sugerindo assim um papel dos hormônios sexuais na regulação do GER<sup>82</sup>.

Pelkman et al.<sup>83</sup> (2001), ao avaliarem o efeito do AMPD na ingestão alimentar, GER e peso corporal de 20 mulheres (10 usuárias de AMPD e 10 mulheres placebo controladas), com faixa etária entre 20 e 35 anos, observaram somente aumento de gasto energético em repouso e ingestão alimentar durante a fase lútea do ciclo menstrual, sendo o peso correlacionado ao aumento do consumo dietético. Quando houve a supressão do ciclo menstrual com o uso do AMPD não observaram diferenças estatísticas significantes, em curto prazo, nas variáveis estudadas após o uso do contraceptivo.

Neste contexto, existem poucos estudos na literatura que avaliam o gasto energético basal em mulheres em uso do Acetato de Medroxiprogesterona de Depósito, e é possível que existam variações especialmente naquelas que ganham peso com o uso do método. Além disso, estudos que correlacionam o gasto energético de repouso com ganho de peso, alterações na composição corporal e possíveis mudanças no perfil inflamatório nas usuárias de AMPD são escassos.

Por esse conjunto de informações, bem como de indagações a respeito das possíveis alterações correlacionadas ao uso do contraceptivo injetável trimestral AMPD, este estudo tem como objetivo avaliar as modificações no peso, composição corporal e estado inflamatório nas mulheres em uso do método, bem como observar se existe alteração no gasto energético em repouso.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral:**

Avaliar as alterações antropométricas, de composição corporal, gasto energético em repouso e marcadores inflamatórios de mulheres em uso de AMPD (grupo DEPO) e DIU TCu 380 (grupo DIU) por período de 12 meses.

### **2.2. Objetivos Específicos:**

- Avaliar o GER das usuárias do grupo DEPO e grupo DIU nos tempos 0 e 12 meses.
- Correlacionar modificações antropométricas e composição corporal.
- Avaliar alterações nas concentrações de marcadores inflamatórios como adiponectina, IL-6, leptina, visfatina e TNF- $\alpha$ .
- Avaliar a sensibilidade a insulina pelo HOMA-IR no período basal e após 12 meses.
- Correlacionar alterações de peso corporal com marcadores inflamatórios como adiponectina e IL- 6 com os níveis de leptina, visfatina e TNF- $\alpha$ .

### 3. SUJEITOS E MÉTODOS

#### 3.1. DESENHO DO ESTUDO E VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA

Este estudo de coorte prospectiva é parte do projeto: “*Estudo prospectivo de avaliação da resistência insulínica, metabolismo de lípidos 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*”, conduzido no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas – Unicamp, processo FAPESP número 2009/53293-0.

As mulheres atendidas no ambulatório de Planejamento Familiar do CEMICAMP/UNICAMP em idade fértil, que optaram pelo método contraceptivo injetável Depoprovera®, sem uso prévio deste método, e que apresentavam IMC < 30 kg/m<sup>2</sup>, além de mulheres que utilizavam o método contraceptivo não hormonal DIU TCu 380 foram convidadas a participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1).

Após assinatura, foram entrevistadas para coleta de dados de história clínica e antecedentes pessoais e familiares. As participantes incluídas no estudo foram acompanhadas no Ambulatório de Planejamento Familiar, com administração trimestral de 150mg do AMPD (Depoprovera® - EMS, Hortolândia, SP, Brasil) e mantidas em seguimento por um ano. As mulheres do grupo controle, usuárias de DIU TCu 380A, realizaram os mesmos procedimentos para inclusão previstos para o grupo Depo.

Os dados clínicos de aferição antropométrica, exames laboratoriais, composição corporal e avaliação do gasto energético foram obtidos de todas as voluntárias no momento de inclusão no estudo e após um ano de seguimento.

#### 3.2. ASPECTOS ÉTICOS

Os participantes da pesquisa foram mulheres que optaram pelo método contraceptivo AMPD, e que após informadas sobre a pesquisa, concordaram em participar e assinaram o TCLE (Anexo 1), aprovado pelo Comitê de Ética FCM UNICAMP, parecer Nº 903-2009 (Anexo 3). Essas voluntárias não tiveram nenhuma perda em seu acompanhamento médico caso desistissem do estudo após a assinatura do termo.

A pesquisa foi resguardada em relação aos princípios éticos já que somente os

pesquisadores tiveram acesso às informações e resultados dos exames, que foram após compilados, arquivados em local designado especificamente para seu armazenamento. Referente aos sujeitos da pesquisa, os parâmetros de confidencialidade foram mantidos. Além disso, em caso de detecção dos valores alterados, que de outra forma poderiam manter-se inaparentes, a paciente foi encaminhada a tratamento específico e teve orientações preventivas para o sucesso do tratamento.

As voluntárias não receberam nenhum incentivo monetário, somente tiveram uma ajuda de custo para o gasto com transporte e alimentação, requerido para seu retorno trimestral durante o período de seguimento.

### 3.3. TAMANHO AMOSTRAL

Inicialmente foram avaliadas 49 mulheres. Ao longo do período de acompanhamento, 11 voluntárias desistiram da pesquisa por descontinuação do uso do método e/ou desejo de engravidar e 1 voluntária foi excluída do grupo, por iniciar atividade física após uso de Depoprovera®. Ao final do estudo avaliou-se 37 mulheres, sendo 20 do grupo Depo e 17 do grupo DIU.

### 3.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Mulheres que referiram diagnóstico de DM 1 e 2, que apresentaram glicemia de jejum  $\geq 100$ mg/dL ou glicemia  $\geq 140$  mg/dL aos 120 minutos do teste de sobrecarga oral à glicose, com ingestão de 75g de glicose; com diagnóstico inicial de síndrome metabólica; antecedente familiar de primeiro grau com DM; que estavam em período de aleitamento; com comorbidades que contribuíssem para a variação de peso corporal como o hiper e hipotireoidismo, insuficiência renal crônica e transplantadas de qualquer órgão; uso de medicamentos que possam estar relacionados a ganho de peso e/ou desenvolvimento de resistência insulínica como o uso crônico de corticoesteróides, antipsicóticos, tiazídicos e estatinas. Também foram excluídas as portadoras de hirsutismo e/ou hiperandrogenismo e portadoras de Síndrome do Ovário Policístico (SOP) (Anexo 2).

### 3.5. CRITÉRIOS DE DESCONTINUAÇÃO

As mulheres que faltaram à consulta de retorno para injeção trimestral e/ou aos retornos de procedimento foram contatadas e novamente remar cadas para o dia próximo. Aquelas que não retornaram após 15 (quinze) dias do agendamento inicial, foram

excluídas. As mulheres que optaram por desistir do estudo ou pela descontinuação do método contraceptivo, foram desligadas a partir do momento de sua decisão.

### 3.6 COLETA DE DADOS

Os procedimentos de calorimetria indireta, bioimpedância elétrica, medidas antropométricas e coletas sanguíneas foram realizados na Unidade Metabólica, Hospital de Clínicas, UNICAMP, que possui estrutura física e recursos humanos e técnicos adequados para a realização dos exames, além de atendimento aos pacientes durante a execução dos procedimentos.

As voluntárias compareciam à Unidade Metabólica às 07h30min da manhã, após 10-12 horas de jejum para aferição de medidas antropométricas e realização de exames. Inicialmente eram aferidas medidas de peso, estatura e circunferência de cintura, depois a voluntária ficava deitada em repouso, para a realização da Bioimpedância Elétrica (BIA). Após realização do exame de bioimpedância, era puncionada veia na fossa cubital, sendo coletados 20 ml de sangue para as dosagens necessárias. A calorimetria indireta foi realizada após estabilização do paciente, de acordo com protocolo a seguir.

#### 3.6.1. Avaliação do Gasto Calórico e Utilização de Substratos Energéticos

O gasto calórico de repouso e os substratos utilizados para a obtenção de energia foram avaliados pelo método de calorimetria indireta.

Para tanto, foi utilizado um aparelho da marca Vmax Encore 29, acoplado a uma canopla de troca gasosa. As medidas foram registradas em um intervalo de 30 minutos. No decorrer da calorimetria, solicitou-se às voluntárias que permanecessem em silêncio e acordadas, a fim de evitar alterações respiratórias que pudessem interferir nos resultados.

Neste procedimento foi avaliado o consumo de oxigênio ( $O_2$ ) e a eliminação de gás carbônico ( $CO_2$ ) em litros por minuto, bem como o volume corrente. A partir destas medidas primárias, obtiveram-se os valores do gasto energético em quilocalorias por dia e o coeficiente respiratório. Foram consideradas as médias dos valores obtidos em *steady state*, prefixado como variações menores que 5% no QR e 10% no  $CO_2$ . Quando não se atingiu o *steady state*, foi considerada a média de todos os valores obtidos, após a exclusão daqueles muito discrepantes. As medidas obtidas nos primeiros 5 minutos foram sistematicamente excluídas. Para a avaliação dos substratos utilizados na via oxidativa, foi necessário dosar o

conteúdo de nitrogênio urinário, coletados no decorrer do procedimento. Os valores foram adicionados às equações descritas por Ferrannini et al.<sup>84</sup>(1988).

### Equações da Calorimetria Indireta

Padrão	Calorimetria
<b>Oxidação Protéica (g/min)</b>	= $6,25N^*$
<b>Oxidação de Glicose (g/min)</b>	= $4,55VCO_2 - 3,21VO_2 - 2,87 N^*$
<b>Oxidação Lipídica (g/min)</b>	= $1,67 (VO_2 - VCO_2) - 1,92 N^*$
<b>Gasto Calórico (Kcal/min)</b>	= $3,91 VO_2 + 1,10 VCO_2 - 3,34 N^*$

$N^*$  = taxa de excreção de nitrogênio urinário não protéico (g/min);  $VO_2$  e  $VCO_2$  expressos em l/min.

### 3.6.2 Técnicas para Avaliação Antropométrica e Composição Corporal

- Avaliação Antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada por um único avaliador. Foram aferidos peso (kg) e estatura (m) utilizando a balança mecânica da marca Welmy com precisão de 100g e capacidade de 200 kg. A estatura foi mensurada por um estadiômetro acoplado à balança e com precisão de 0,5 cm. A circunferência da cintura (CC) foi aferida com uma fita inelástica com dimensão de 2m. O ponto anatômico utilizado foi o ponto médio entre a última costela e a crista ílaca.

As voluntárias, no momento das aferições, apresentavam-se descalças e usando roupas leves. O estado nutricional foi avaliado pelo cálculo do IMC, preconizado pela Organização Mundial de Saúde 1995 e 1997<sup>85,86</sup>.

- Avaliação da Composição corporal

O percentual de gordura corporal, peso de massa gorda e massa magra foi avaliado por Bioimpedância Elétrica com a utilização do equipamento *Biodynamics* –

*Bioimpedance Analyser* modelo 310. Antes da realização da BIA, cada voluntário foi orientado a seguir o protocolo proposto por Lukaski et al.<sup>87</sup> (1986).

#### Recomendações para realização da Bioimpedância Elétrica:

- Não fazer uso de nenhum diurético nos 7 dias que antecedem o teste;
- Não consumir bebidas alcoólicas nas 48 horas anteriores ao teste;
- Não realizar atividade física extenuante nas 24 horas anteriores ao teste;
- Estar em jejum de alimentos, bebidas e água por 4 horas antes do teste;
- Urinar pelo menos 30 minutos antes da realização do teste;
- Permanecer 5 minutos deitado, em decúbito dorsal, antes da execução do teste de bioimpedância.

#### **3.6.3. Técnicas para dosagens Adipocitocinas, Glicose e Insulina plasmática**

Dosagens séricas de adiponectina, IL-6, visfatina, leptina, TNF- $\alpha$ , insulina e glicose foram realizadas no momento basal e após um ano de uso do método. As amostras de sangue foram centrifugadas, e o soro foi imediatamente armazenado em pequenas alíquotas em um freezer a -80°C.

As dosagens das adipocitocinas e insulina foram realizadas no soro por ensaio imunoenzimático, em duplicata, através do método de ELISA, utilizando kits comerciais de alta sensibilidade e especificidade.

O método imunoenzimático de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) permite a detecção plasmática de anticorpos específicos. É utilizado para diagnóstico de várias situações que induzem a produção de imunoglobulinas e também no diagnóstico de alergias e doenças autoimunes. O imunensaio usa anticorpos específicos para detectar anticorpos e antígenos; o complexo que contém o anticorpo é identificado pelo acoplamento enzima-anticorpo. A adição de substrato ao complexo enzima-anticorpo-antígeno gera um produto colorido e de acordo com a intensidade mensurada da cor da superfície, pode-se quantificar e verificar a presença de substâncias de interesse<sup>88</sup>.

- Adiponectina: Método imunoenzimático - ELISA- KIT: (MILLIPORE- Billerica, USA).  
Sensibilidade: 0,155 ng/mL.

- IL-6: Método imunoenzimático- ELISA- KIT: (R&D SYSTEMS®- Minneapolis, USA) Sensibilidade: 0,039 pg/mL (valor médio detectável).
- Visfatina: Método imunoenzimático- ELISA- KIT: (USCNK- Life Science Inc.- Wuhan, China) Sensibilidade: 5,7 pg/mL.
- Leptina: Método imunoenzimático- ELISA- KIT: (MILLIPORE- Billerica, USA) Sensibilidade: 0,195 ng/mL.
- TNF-  $\alpha$ : Método imunoenzimático – ELISA- KIT: (R&D SYSTEMS®- Minneapolis, USA) Sensibilidade: 0,106 pg/mL.
- Insulina: Método imunoenzimático- ELISA- KIT: (MILLIPORE- Billerica, USA) Sensibilidade: 1  $\mu$ U/mL.
- Glicose: Método enzimático, automatizado através de equipamento bioanalizador de glicose YSI 2300.

#### 3.6.4 Avaliação da sensibilidade à insulina

HOMA (IR): resultado da operação da seguinte fórmula, os valores considerados serão normais de  $2,6 \pm 0,9$  ou 15-20 quando o IMC > 50:

$$\text{HOMA ir} = \frac{\text{Glicemia (mg)}}{18} \times \frac{\text{Insulina (mUI/L)}}{22,5}$$

#### 3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As informações coletadas e resultados dos exames realizados foram armazenados em banco de dados utilizando o software Excel versão 2007.

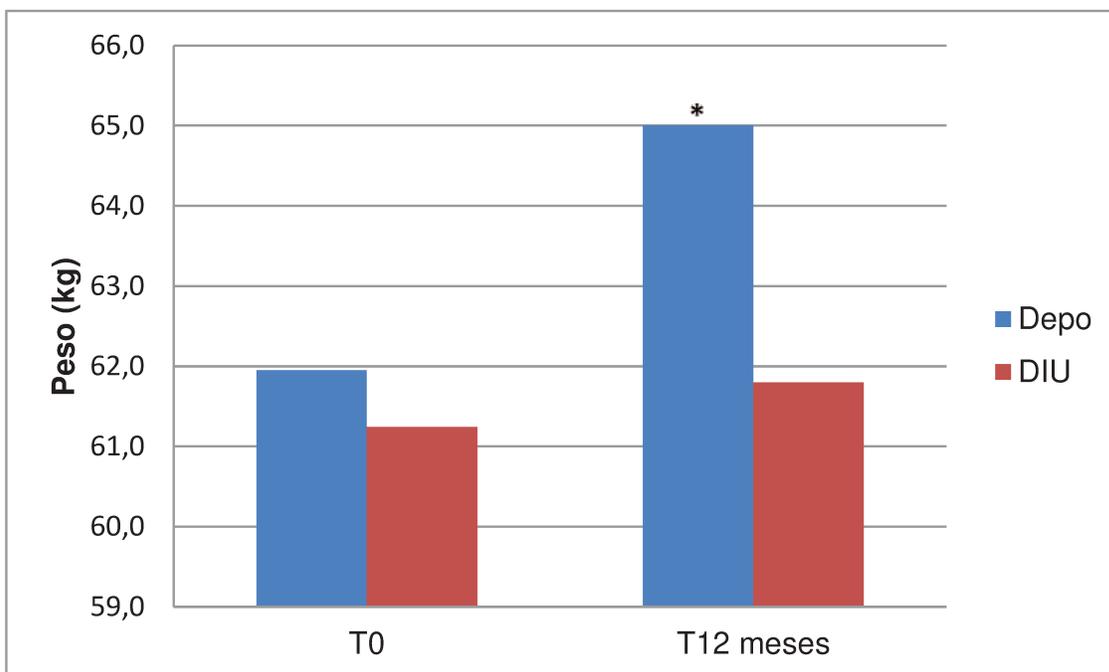
Para comparação da idade, estatura e medidas iniciais entre os grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para comparação de medidas numéricas entre os tempos e grupos foi utilizado o método ANOVA para medidas repetidas com transformação por postos.

Para verificar a relação entre variáveis de interesse, foi utilizado o coeficiente de correlação linear de Spearman. Este procedimento varia de -1 a 1. Valores próximos aos extremos indicam correlação negativa ou positiva, respectivamente e valores próximos de zero não indicam correlação. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

Os grupos foram pareados no período basal, tornando-se um grupo homogêneo em relação a peso, idade e IMC. Após 12 meses de avaliação, pode-se observar aumento de peso, IMC e superfície corporal de forma significativa no grupo Depo, já no grupo DIU só foi observado aumento significativo na variável IMC, como pode ser observado na **tabela 1**.

<b>Tabela 1: Características dos grupos Depo e DIU</b>						
	<b>T0</b>			<b>T12 meses</b>		
	<b>Depo (n=20)</b>	<b>DIU (n=17)</b>	<b>¥P valor</b>	<b>Depo (n=20)</b>	<b>DIU (n=17)</b>	<b>¥P valor</b>
<b>Variável</b>	<b>Média ±DP</b>	<b>Média ±DP</b>		<b>Média ±DP</b>	<b>Média ±DP</b>	
Idade	29,7 ±6,2	28,4 ±5,8	0,4682			
Peso	61,95±9,69	61,24 ±6,98	0,5449	64,96* ±9,40	61,76 ±7,53	0,0007
IMC	23,74±3,47	24,26±2,67	0,911	24,88* ±3,43	24,56**±2,84	0,0007
SC	1,65 ±0,14	1,62 ±0,09	0,4127	1,69* ±0,13	1,63 ±0,10	0,0148
CC	75,47 ±7,27	77,61 ±7,88	0,0178	76,74 ±6,27	75,38 ±5,66	0,1834
¥: Teste Mann-Whitney. Significância estatística: p< 0,05						
* Diferença grupo Depo entre período basal e após 12 meses						
** Diferença grupo DIU entre período basal após 12 meses						
SC: Superfície Corporal						
CC: Circunferência da Cintura						



**Figura 1.** Peso corporal basal e 12 meses dos grupos Depo e DIU

\* Diferença grupo Depo entre período basal e após 12 meses  
Significância estatística:  $p < 0,05$ .

Ao comparar a composição corporal dos grupos através da BIA, podemos observar que os dois grupos apresentaram aumento significativo de peso de massa magra (PMM) após 12 meses de acompanhamento; além de discreto aumento no peso de massa gorda (PMG) do grupo Depo ao final do estudo. Estes resultados encontram-se na **tabela 2**.

**Tabela 2:** Composição corporal por Bioimpedância Elétrica

Variável	T0			T12 meses		
	Depo (n=20) Média ±DP	DIU (n=17) Média ±DP	¥P valor	Depo (n=20) Média ±DP	DIU (n=17) Média ±DP	¥P valor
PMG (kg)	19,43 ±5,04	19,24 ±5,22	0,398	20,08 ±5,59	18,21 ±4,57	0,9784
%gordura	30,85 ±4,66	31,16 ±6,20	0,416	30,56 ±5,93	29,18 ±4,60	0,3766
PMM (kg)	42,80 ±5,95	42,01 ±4,93	0,911	44,88* ±6,03	43,55** ±4,30	0,0002

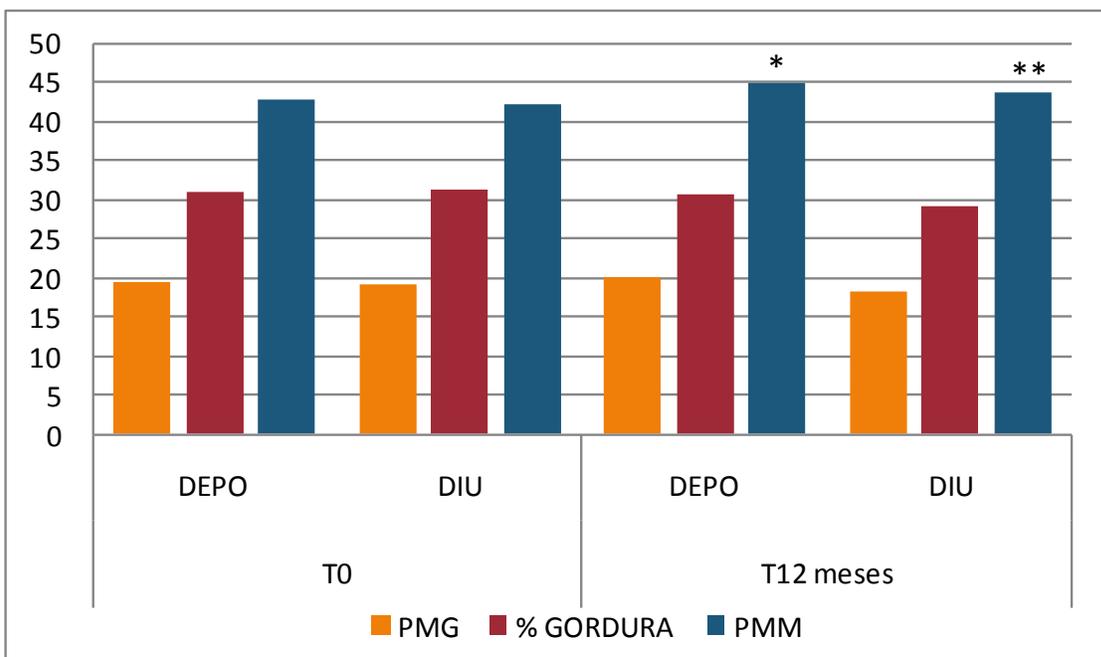
¥: Teste Mann-Whitney. Significância estatística:  $p < 0,05$

\* Diferença grupo Depo período basal e após 12 meses

\*\*Diferença grupo DIU período basal e após 12 meses

PMG: Peso de massa gorda

PMM: Peso de massa magra



**Figura 2.** Peso de massa gorda, % de Gordura e Peso de Massa Magra basal e após 12 meses dos grupos Depo e DIU

\* Diferença grupo Depo período basal e 12 meses.

\*\* Diferença grupo DIU período basal e após 12 meses

Significância estatística:  $p < 0,05$

Em relação à GER e QR, houve aumento significativo da TMB nos dois grupos após um ano ( $p < 0,05$ ). O coeficiente respiratório reduziu de forma significativa depois de 12 meses de estudo nos dois grupos, como demonstrado na **tabela 3**.

Variável	Basal			¥P valor	12 meses					
	Depo (n=20)		DIU (n=17)		Depo (n=20)		DIU (n=17)			
	Média	± DP	Média		± DP	Média	± DP	Média	± DP	
TMB(kcal/d)	1087,05	±252,06	1187,59	±246,23	0,3674	1319,30*	±133,53	1303,18**	±104,02	0,0027
QR	0,91	±0,11	0,87	±0,09	0,8134	0,77*	±0,03	0,78**	±0,03	<0,0001

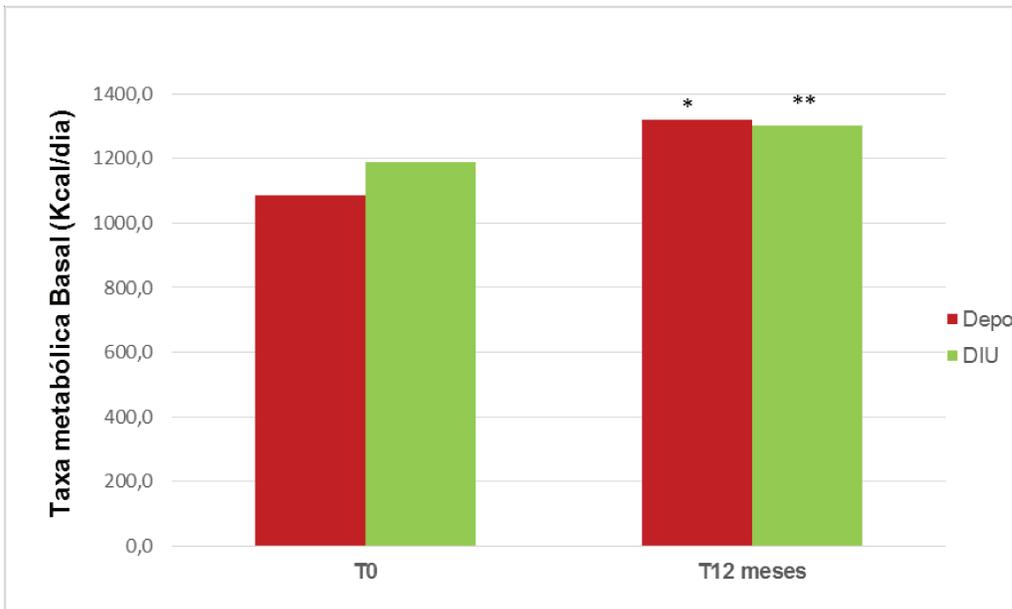
¥: Teste Mann-Whitney. Significância estatística:  $p < 0,05$

\* Diferença grupo Depo entre período basal e após 12 meses

\*\* Diferença grupo DIU entre período basal e após 12 meses

RQ: Quociente Respiratório

TMB: Taxa Metabólica Basal

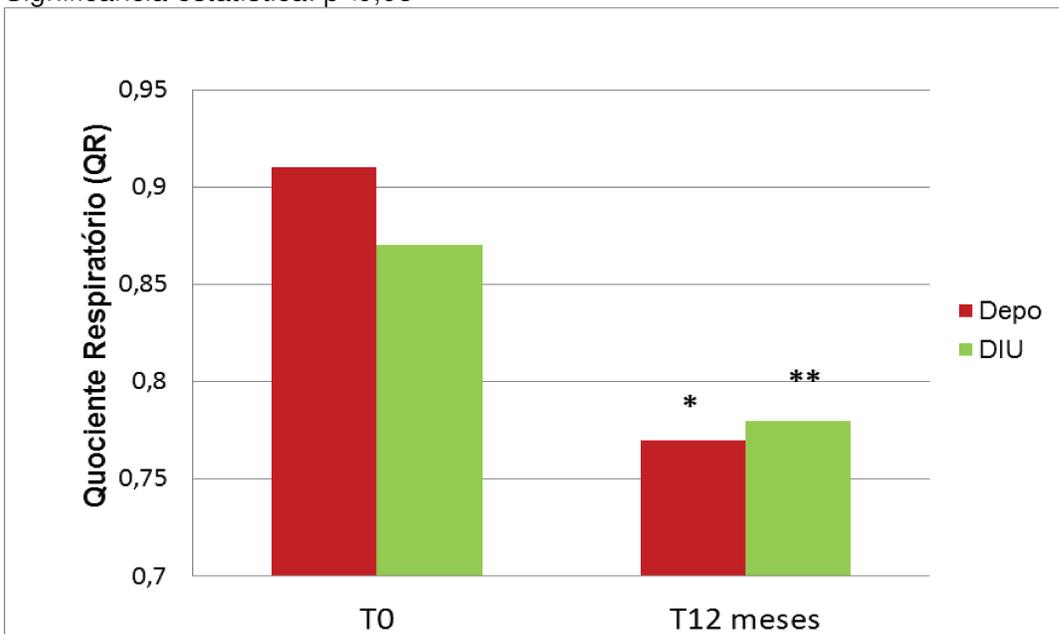


**Figura 3A.** Taxa metabólica basal grupos Depo e DIU período basal e após 12 meses

\* Diferença grupo Depo período basal e 12 meses.

\*\* Diferença grupo DIU período basal e após 12 meses

Significância estatística:  $p < 0,05$



**Figura 3B.** Quociente respiratório grupos Depo e DIU período basal e após 12 meses

\* Diferença grupo Depo período basal e 12 meses.

\*\* Diferença grupo DIU período basal e após 12 meses

Significância estatística:  $p < 0,05$

Na **tabela 4**, encontram-se os parâmetros inflamatórios das voluntárias. Os níveis de leptina aumentaram significativamente nos dois grupos após 12 meses, e houve redução significativa nos níveis de visfatina e TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4:** Parâmetros inflamatórios dos grupos Depo e DIU

Variável	T0			T12 meses		
	Depo	DIU	¥P	Depo	DIU	¥P
	(n=19)	(n=16)	valor	(n=19)	(n=16)	valor
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP		Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
Adiponectina	8,09 $\pm$ 3,35	8,51 $\pm$ 4,61	0,907	7,52 $\pm$ 4,01	8,36 $\pm$ 5,32	0,326
Leptina	99,97 $\pm$ 110,57	128,08 $\pm$ 123,53	0,709	199,29* $\pm$ 191,72	168,55** $\pm$ 137,51	0,028
Visfatina	49,32 $\pm$ 23,82	53,01 $\pm$ 20,47	0,85	43,24* $\pm$ 17,39	43,63** $\pm$ 29,09	0,012
IL-6	1,21 $\pm$ 0,63	2,18 $\pm$ 2,44	0,325	1,89 $\pm$ 2,20	2,38 $\pm$ 3,04	0,926
TNF- $\alpha$	4,42 $\pm$ 1,99	3,79 $\pm$ 2,26	0,119	4,03* $\pm$ 2,33	3,30** $\pm$ 2,23	0,01

¥: Teste Mann-Whitney. Significância estatística:  $p < 0,05$

\* Diferença grupo Depo entre período basal e após 12 meses

\*\* Diferença grupo DIU período basal e após 12 meses

No grupo Depo houve correlação positiva significativa ( $p < 0,05$ ) entre peso, IMC, superfície corporal e TMB e níveis de leptina, correlação negativa significativa ( $p < 0,05$ ) entre IL-6, % gordura e coeficiente respiratório e correlação positiva entre IL-6 e PMM. Dados mostrados na **tabela 5**.

**Tabela 5.** Correlação entre variáveis antropométricas e marcadores inflamatórios grupo Depo

Variável	Adiponectina		Leptina		Visfatina		IL-6		TNF $\alpha$	
	r	$\geq$ P valor	r	$\geq$ P valor	r	$\geq$ P valor	r	$\geq$ P valor	r	$\geq$ P valor
Peso	0,3368	0,16	0,66	<b>0,002<sup>a</sup></b>	0,03	0,89	0,019	0,9375	-0,09	0,72
IMC	0,3509	0,14	0,65	<b>0,0025<sup>a</sup></b>	0,07	0,79	0,06	0,8083	-0,11	0,66
SC	0,2845	0,24	0,61	<b>0,0055<sup>a</sup></b>	-0,04	0,86	-0,03	0,9006	0,003	0,99
% gordura	-0,047	0,85	0,08	0,7426	-0,38	0,11	-0,5	<b>0,028<sup>b</sup></b>	0,067	0,79
PMM	0,1649	0,5	0,3	0,2149	0,39	0,1	0,453	<b>0,0517<sup>a</sup></b>	-0,2	0,4
PMG	0,0614	0,8	0,24	0,3216	-0,42	0,07	-0,38	0,1096	0,037	0,88
TMB	0,3386	0,16	0,66	<b>0,0019<sup>a</sup></b>	-0,22	0,37	-0,15	0,5471	-0,08	0,74
QR	-0,312	0,19	-0,2	0,3767	-0,17	0,49	-0,47	<b>0,0404<sup>b</sup></b>	-0,15	0,53

<sup>2</sup> Correlação linear de Spearman.

Significância estatística:  $p < 0,05$

<sup>a</sup> Correlação positiva entre variáveis grupo Depo

<sup>b</sup> Correlação negativa entre variáveis grupo Depo

Após subdivisão do grupo Depo por IMC inicial, o subgrupo que apresentava <25 kg/m<sup>2</sup> teve aumento significativo de peso, IMC, PMM, TMB, QR, Leptina, HOMA-IR e circunferência da cintura (CC), após 12 meses de acompanhamento. O subgrupo que iniciou o estudo com IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> teve aumento significativo apenas de CC e redução significativa de QR. Dados mostrados na **tabela 6**.

**Tabela 6:** Características gerais subgrupo Depo por IMC inicial período basal e após 12 meses

Variável	T0		T12 meses		***P valor	T0		T12 meses		***P valor
	IMC < 25kg/m <sup>2</sup>		IMC ≥ 25kg/m <sup>2</sup>			IMC < 25kg/m <sup>2</sup>		IMC ≥ 25kg/m <sup>2</sup>		
	Média	±DP	Média	±DP		Média	±DP	Média	±DP	
Peso	56,15	± 6,46	59,81 <sup>a</sup>	±7,14	0,0015	70,65	±6,71	72,68	±6,81	0,1953
IMC	21,35	± 2,08	22,73 <sup>a</sup>	±2,26	0,0029	27,33	±1,23	28,10	±2,03	0,1406
SC	1,59	± 0,11	1,64 <sup>a</sup>	±0,11	0,002	1,74	±0,13	1,76	±0,12	0,1406
% Gordura	28,75	± 4,12	28,33	±6,34	0,8486	34	±3,66	33,90	±3,31	0,9219
PMM	40,23	± 4,67	42,79 <sup>a</sup>	±5,95	0,0122	46,65	±5,78	48	±4,95	0,2032
PMG	16,38	± 3,53	17,02	±4,47	0,5186	24,00	±3,06	24,68	±3,63	0,3438
TMB	1011,25±222,86		1291,08 <sup>a</sup> ±113,53		0,0034	1200,75±264,14		1361,63±157,25		0,2109
QR	0,95	±0,11	0,77 <sup>a</sup>	±0,04	0,0005	0,86	±0,09	0,78 <sup>b</sup>	±0,03	0,0156
Adiponectina	7,78	±3,63	7,21	±4,03	0,9658	8,52	±3,11	7,94	±4,21	0,6406
Leptina	59,57	±75,23	157,63 <sup>a</sup>	±172,58	0,0244	155,52 ±131,39		256,57	±213,29	0,1484
Visfatina	46,47	±28,52	41,78	±17,81	0,7002	53,25	±16,31	45,25	±17,79	0,1953
IL-6	1,15	±0,74	2,54	±2,74	0,3203	1,30	±0,48	0,98	±0,35	0,1484
TNF-α	5,01	±2,12	4,29	±2,84	0,2402	3,61	±1,57	3,68	±1,47	0,25
HOMA - IR	0,66	± 0,40	1,57 <sup>a</sup>	±1,45	0,0205	1,15	±1,37	1,34	±0,91	0,25
CC	71,50	± 5,36	73,18 <sup>a</sup>	±5,67	0,04	82,29	±4,53	85,21	±4,50	0,0625

\*\*\*:Teste Wilcoxon. Significância estatística: p< 0,05

<sup>a</sup> Diferença subgrupo IMC< 25kg/m<sup>2</sup> entre período basal e após 12 meses

<sup>b</sup> Diferença subgrupo IMC ≥ 25kg/m<sup>2</sup> entre período basal e após 12 meses

Quando o grupo Depo foi subdividido por ganho de peso, o subgrupo que ganhou < 3kg após 12 meses teve aumento significativo de peso, IMC, SC e QR, já o subgrupo que ganhou >3kg aumentou significativamente peso, IMC, SC, PMM, PMG, TMB, Leptina, HOMA-IR e CC e reduziu QR após os 12 meses de acompanhamento. Os dados encontram-se na **tabela 7**.

**Tabela 7:** Características gerais subgrupo Depo por ganho de peso período basal e após 12 meses

Variável	T0		T 12 meses		***P valor	T0		T 12 meses		***P valor
	Média	±DP	Média	±DP		Média	±DP	Média	±DP	
			<b>&lt; 3kg (n=7)<sup>c</sup></b>					<b>≥ 3kg (n=10)<sup>d</sup></b>		
Peso	61,24	±10,38	62,51 <sup>c</sup>	±9,95	0,0156	61,1	±8,63	66,63 <sup>d</sup>	±8,48	0,002
IMC	23,44	±4,25	23,93 <sup>c</sup>	±4,15	0,0313	23,47	±3,50	25,55 <sup>d</sup>	±3,46	0,002
SC	1,64	±0,12	1,66 <sup>c</sup>	±0,12	0,0313	1,64	±0,11	1,71 <sup>d</sup>	±0,11	0,002
% Gordura	30,70	±5,58	29,30	±6,99	0,5625	30,87	±4,58	31,76	±6,12	0,7891
PMM	42,51	±5,32	43,94	±6,50	0,1406	42,01	±4,18	45,19 <sup>d</sup>	±4,74	0,0059
PMG	19,44	±6,07	18,57	±6,20	0,7813	19,14	±5,26	21,44 <sup>d</sup>	±5,82	0,0273
TMB	1224,43±266,82		1334,29±125,04		0,1563	997,70 ±202,72		1318,20 <sup>d</sup> ±157,58		0,0117
QR	0,87	±0,09	0,77 <sup>c</sup>	±0,03	0,0313	0,95	±0,12	0,77 <sup>d</sup>	±0,04	0,002
Adiponectina	10,20	±3,21	8,60	±4,82	0,375	5,89	±1,90	5,96	±2,80	0,8457
Leptina	133,53	±156,77	174,20	±184,10	0,2969	78,05	±76,25	236,86 <sup>d</sup>	±214,93	0,0195
Visfatina	44,78	±10,82	45,76	±21,36	0,8125	50,68	±31,83	43,81	±16,23	0,4316
IL-6	1,30	±0,42	1,91	±1,80	1	1,12	±0,77	2,02	±2,71	1
TNF-α	4,70	±2,11	4,28	±3,33	0,2969	4,31	±1,98	3,62	±1,67	0,1934
HOMA - IR	1,25	±1,44	1,15	±0,84	0,5781	0,70	±0,41	1,92 <sup>d</sup>	±1,41	0,0059
CC	74,14	±8,35	75,67	±8,97	0,125	75,90	±7,52	79,49 <sup>d</sup>	±7,75	0,002

\*\*\*:Teste Wilcoxon. Significância estatística: p< 0,05

<sup>c</sup> Diferença subgrupo ganho < 3kg entre período basal e após 12 meses

<sup>d</sup> Diferença subgrupo ganho ≥ 3kg entre período basal e após 12 meses

## 5. DISCUSSÃO

Podemos considerar que a nossa população tem um diferencial em relação aos demais estudos que avaliaram o efeito da AMPD, tendo em vista que nosso grupo foi pareado com o grupo controle no período basal por IMC ( $\pm 1 \text{ kg/m}^2$ ) e idade ( $\pm 1$  ano), tornando-se um grupo homogêneo.

A maioria dos estudos prospectivos avalia o efeito da AMPD por um período mínimo de 30 meses<sup>4,21,19</sup>, no entanto, após 12 meses de seguimento do nosso grupo de voluntárias, observamos que as usuárias do injetável ganharam peso de forma significativa (3,01 kg). Mostrando que, mesmo em curto período de acompanhamento, já conseguimos observar mudanças significativas e importantes tanto em variáveis antropométricas, como no perfil metabólico.

Para melhor avaliar as alterações de peso, metabólicas e de composição corporal, fizemos duas subdivisões do grupo Depo; uma por IMC inicial ( $<25 \text{ kg/m}^2$  e  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) e outra por ganho de peso, sendo a segunda baseada no aumento de peso médio após 12 meses de intervenção que foi, aproximadamente, 3 kg. Os dois subgrupos apresentaram mudanças significativas nas variáveis estudadas, porém nos subgrupos onde o aumento de peso em quilos ( $<3 \text{ kg}$  e  $\geq 3 \text{ kg}$ ) foi o parâmetro utilizado, as alterações foram mais acentuadas, principalmente naquele que ganhou mais de 3 kg (58,8%; n=10 pacientes), com ganho médio de 5,53kg, sendo 2,3kg de massa gorda e 3,18kg de massa magra.

Nossos resultados corroboram com estudo realizado por Berenson & Rahman<sup>19</sup> (2009), que após compararem alterações de peso e composição corporal entre diferentes métodos contraceptivos, observaram, em 24 meses de acompanhamento, aumento de 4,4kg e, após 36 meses, ganho de 5,1kg no grupo AMPD. Destes 5,1kg que as voluntárias ganharam após 36 meses, 4,1kg foram de massa gorda. Além disso, foi observado aumento significativo de massa magra a partir dos 30 meses de acompanhamento. Uma provável explicação para o aumento de massa magra nas usuárias de AMPD seria o efeito androgênico deste método contraceptivo<sup>89</sup>.

Entretanto, o principal fator contribuinte para o aumento de peso corporal após o uso de AMPD relatado pela maioria dos estudos é o aumento nos depósitos de gordura. Após 30 meses de acompanhamento de usuárias de medroxiprogesterona, Clark et al.<sup>21</sup> (2005), observaram ganho de 6,1kg, sendo totalmente representado por aumento de massa gorda. Existem outros dois prováveis mecanismos que podem explicar o ganho de peso associado ao uso de AMPD, o primeiro é a possibilidade de ativação do receptor de

glicocorticoide<sup>90</sup>, podendo alterar a massa adiposa, incluindo gordura visceral<sup>91</sup>, porém, também é possível que o estado de hipoestrogenismo induzido pelo injetável possa ser outro fator responsável pelo aumento de peso e gordura corporal<sup>31</sup>, já que na menopausa há aumento de gordura, independente de peso e idade<sup>24</sup>.

Na maioria dos estudos com a Depoprovera® o aumento excessivo de peso é considerado o principal efeito colateral do método, e se torna a causa mais relevante para descontinuação da terapia<sup>19</sup>. Este fato faz com que aumente a atenção para as usuárias de métodos contraceptivos, principalmente à base de progesterona, uma vez que o aumento de peso relatado pode contribuir para desenvolvimento de algumas desordens metabólicas, como por exemplo, diabetes mellitus, sobrepeso e obesidade.

A obesidade e a distribuição de gordura abdominal são consideradas importantes fatores contribuintes para aumento do risco de HAS, doenças cardiovasculares, DM tipo 2, dislipidemias, esteatose hepática e inflamação crônica<sup>92,93</sup>. Como já citado, o tecido adiposo é considerado um órgão endócrino e é capaz de expressar uma variedade de compostos bioativos, como citocinas, quimiocinas, hormônios, proteínas do complemento e fatores de crescimento<sup>94,95</sup>. Estas substâncias exercem um papel central na homeostase do corpo e influenciam uma variedade de processos fisiológicos e biológicos. As adipocinas são importantes no controle da saciedade e regulação do apetite, sensibilidade e secreção de insulina, distribuição de gordura corporal, inflamação, gasto energético e função endotelial<sup>96,97</sup>.

O padrão de secreção de adipocinas reflete a função do tecido adiposo e parece ser importante para determinar o risco individual de desenvolvimento de desordens metabólicas e comorbidades da obesidade. Quando há o desenvolvimento da inflamação e disfunção do tecido adiposo, a secreção de adipocitocinas é alterada de forma significativa para um estado pró-inflamatório, diabetogênico, aterogênico, entre outras complicações<sup>92,93,98</sup>.

Em relação às alterações nos marcadores inflamatórios, no nosso estudo observamos uma discreta redução, ainda que não significativa, nos níveis de adiponectina no grupo Depo ( $p=0,326$ ), o que demonstra a necessidade de acompanhamento mais próximo dessas usuárias, pois ainda não temos estudos que, a longo prazo, tenham esclarecido variações mais significativas da adiponectina com o aumento de peso em usuárias desta medicação. Como já sabido, essa citocina exerce um papel sensibilizador de insulina, ação anti-inflamatória e de combate a apoptose em um número variado de células. A liberação desta citocina pelo adipócito é regulada em diversas condições

metabólicas, e com o aumento do peso ou obesidade pode haver redução de seus níveis circulantes e prejuízos para a homeostase orgânica. Além disso, a expressão e aumento de secreção de adiponectina melhora a sensibilidade à insulina e perda de peso<sup>99</sup>. Por outro lado, vários hormônios associados à resistência insulínica e obesidade, incluindo catecolaminas, insulina, glicocorticóides, TNF- $\alpha$  e IL-6, são capazes de reduzir a expressão e secreção de adiponectina em células de gordura *in vitro*<sup>100</sup>. Além de seus efeitos periféricos, a adiponectina também age no cérebro aumentando o gasto energético, levando a perda de peso<sup>96,93,99</sup>.

Ainda em relação a parâmetros metabólicos, mostramos um aumento significativo nos níveis de leptina no subgrupo com maior ganho de peso ( $p=0,02$ ), fato esse ainda não relatado em estudos que acompanharam usuárias de Depoprovera® por diferentes períodos de tempo. A leptina é uma adipocina bastante estudada, secretada quase que exclusivamente pelos adipócitos e é capaz de regular a ingestão de alimentos através da redução de peptídeos orexígenos e aumento de peptídeos anorexígenos, além de controlar o gasto energético e apresentar propriedades aterogênicas. A leptina também pode aumentar a agregação plaquetária e trombose, promover a angiogênese e induzir a proliferação e migração celular para o músculo liso vascular<sup>101</sup>.

Na obesidade, os níveis circulantes de leptina<sup>102</sup> e sua expressão de RNAm no tecido adiposo<sup>103</sup> estão aumentados, provavelmente devido à resistência à leptina<sup>104</sup>. Também, em níveis normais, desempenha um papel importante na regulação da homeostase da glicose, independente de ações sobre a ingestão alimentar, o gasto energético ou peso corporal. Além de melhorar a sensibilidade à insulina no fígado e no músculo esquelético, através do aumento da oxidação de ácidos graxos e diminuição do armazenamento de triglicérides no músculo<sup>101</sup>, regula a função das células  $\beta$  pancreáticas<sup>105</sup>, ao passo que prejudica a sinalização da insulina nos adipócitos<sup>106</sup>.

Assim, a interação entre a inflamação e leptina é bidirecional, uma vez que as citocinas pró-inflamatórias aumentam a síntese e liberação de leptina, a leptina, por sua vez, contribui para a manutenção do estado inflamatório crônico da obesidade<sup>107</sup>.

Nosso estudo ainda tem como objetivos as avaliações do gasto energético em repouso e quociente respiratório, tendo em vista que dados sobre metabolismo basal com o uso de AMPD são escassos na literatura.

A taxa metabólica basal aumentou significativamente no grupo Depo e controle. No entanto, pode-se observar aumento mais acentuado nesta variável no subgrupo Depo que ganhou mais peso (>3 kg). Esta variação é justificada principalmente por aumento

nos compartimentos corporais, massa gorda e de massa magra. Já o quociente respiratório dos dois grupos reduziu após 12 meses de acompanhamento, indicando uma mudança na metabolização de substratos energéticos. No período basal, as voluntárias apresentaram quociente respiratório característico de metabolização glicídica e ao final do estudo mudaram o perfil e passaram a metabolizar lipídios. Essa mudança metabólica pode estar relacionada com alterações observadas, como o aumento significativo nos níveis de leptina.

Ainda em relação à essa mudança na metabolização de substratos e quociente respiratório, nossos resultados estão de acordo com os do estudo de Bakry & Abdullah<sup>16</sup> (2008), onde ratas (*Rattus norvegicus*) em uso de AMPD, em doses compatíveis às usadas em humanos, também apresentaram mudanças no perfil lipídico, além de aumento nos níveis de lipídeos totais, triglicérides, colesterol total, LDL colesterol e VLDL-colesterol e redução nos níveis de HDL-colesterol, ao final do estudo concluíram que a AMPD pode exercer a longo prazo um efeito aterogênico.

Quanto à Visfatina, podemos observar redução significativa no grupo Depo ao final do período de intervenção ( $p=0,012$ ). Ela é produzida e secretada principalmente pelo tecido adiposo visceral e exerce efeitos insulino-miméticos através de ligação e ativação do receptor de insulina<sup>108</sup>. Vários estudos estabeleceram uma correlação positiva entre níveis plasmáticos de visfatina, obesidade e gordura visceral. Em humanos, os estudos indicam uma possível correlação positiva entre a expressão do gene da visfatina no tecido adiposo visceral e IMC, e uma correlação negativa entre visfatina, IMC e gordura subcutânea<sup>52</sup>. Nossos resultados estão em concordância com os estudos que encontraram correlação negativa entre visfatina, IMC e adiposidade, no entanto, os dados da literatura sobre esta citocina são contraditórios e seria necessário um maior tempo de observação em um número maior de pacientes.

Outras alterações significantes no subgrupo que ganhou mais peso ( $\geq 3\text{kg}$ ) foram os resultados das medidas de circunferência da cintura e HOMA-IR após 1 ano. Valores elevados de circunferência da cintura são indicativos de aumento tanto no tecido adiposo subcutâneo quanto visceral, esta é uma variável que precisa ser avaliada por um tempo maior em usuárias de AMPD, uma vez que é um dos critérios para diagnóstico da síndrome metabólica. Neste sentido, o HOMA-IR apesar de ainda não caracterizar um estado de resistência à insulina ( $\text{HOMA-IR} > 2,5$ ), também deve ser melhor avaliado a longo prazo em usuárias deste método contraceptivo. De acordo com Fahmy et al.<sup>109</sup> (1991), o AMPD tem sido associado por interferir na ação da insulina.

Nosso estudo encontrou alterações relevantes no peso, composição corporal e perfil metabólico nos primeiros 12 meses de uso do contraceptivo. Essas alterações principalmente o aumento de peso corporal, aumento dos níveis de leptina e HOMA-IR; mesmo esses dois últimos estando ainda dentro dos parâmetros de normalidade; devem ser avaliados mais criteriosamente em usuárias de Depoprovera, tendo em vista que a maioria dos estudos com um maior tempo de acompanhamento já relatam aumento de peso, principalmente às custas de massa gorda, com o uso do progestágeno. O ganho de peso associado a mudanças nessas variáveis pode contribuir para o desenvolvimento de algumas complicações crônicas, entre elas a obesidade, resistência à insulina e diabetes mellitus. O tempo de exposição ao método tem sido considerado o fator mais relevante para o desenvolvimento dessas alterações.

## 6. CONCLUSÕES

- Com o ganho de peso, houve aumento significativo da taxa metabólica basal, indicando uma influência do ganho massa magra após os 12 meses.
- Houve aumento de peso, mudanças na composição corporal e no gasto energético em repouso de forma mais expressiva em quem ganhou mais que 3 kg após 12 meses de uso do contraceptivo.
- Em relação a marcadores inflamatórios, no subgrupo que ganhou mais que 3kg após 12 meses houve aumento significativo de leptina e redução de visfatina.
- O índice HOMA ainda não indica resistência insulínica, provavelmente com um maior tempo de exposição ao método as usuárias possam evoluir para esse quadro.
- Observamos a necessidade de avaliar mais criteriosamente e a longo prazo o perfil metabólico e inflamatório das usuárias que ganharam mais peso.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Haider S, Darney PD. Injectable contraception. *Clin Obstet Gynecol*. 2007;50(4):898-906.
2. Kahn HS, Curtis KM, Marchbanks PA. Effects of injectable or implantable progestin-only contraceptives on insulin-glucose metabolism and diabetes risk. *Diabetes Care*. 2003 Jan; 26 (1): 216-25.
3. Kaunitz AM. Long- acting contraceptive options. *Int J Fertil Menopausal*. 1996; 41: 69-76.
4. Pantoja M, Medeiros T, Baccarin MC, Morais SS, Bahamondes L, Fernandes AM. Variations in body mass index of users of depot-medroxyprogesterone acetate as an contraceptive. *Contraception*. 2009; Feb; 81(2): 107-11.
5. Cromer BA, Berg-Kelly KS, Van Groningen JP, Seimer BS, Ruusuvaara L. Depot medroxyprogesterone acetate (Depo-Provera) and levonorgestrel (Norplant) use in adolescents among clinicians in Northern Europe and the United States. *J Adolesc Health*. 1998; 23:74–80.
6. Meier C, Brauchli YB, Jick SS, Kraenzlin ME, Meier CR. Use of depot medroxyprogesterone acetate and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; Nov;95(11):4909-16.
7. Mainwaring R, Hales HA, Stevenson K, Hatasaka HH, Poulson AM, Jones KP, Peterson CM. Metabolic parameter, bleeding, and weight changes in U.S. women using progestin only contraceptives. *Contraception*. 1995; 51:149–153.
8. ACOG Committee on Practice Guidelines. ACOG Practice Bulletin No. 73: Use of hormonal contraception in women with coexisting medical conditions. *Obstet Gynecol*. 2006;107:1453.

9. Nelson A. Merits of DMPA relative to other reversible contraceptive methods. *J Reprod Med* 2002; 47:781–4.
10. World Health Organization. Cardiovascular disease and use of oral and injectable progestogen-only contraceptives and combined injectable contraceptives. Results of an international, multicenter, case-control study. Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *Contraception* 1998; 57:315–24.
11. Espey E, Steinhart J, Ogburn T, Qualis C. Depo-provera associated with weight gain in Navajo women. *Contraception*. 2000; 62: 55-58.
12. Cromer BA, Scholes D, Berenson A, Cundy T, Clark MK, Kaunitz AM. Depot medroxyprogesterone acetate and bone mineral density in adolescents—the Black Box Warning: a Position Paper of the Society for Adolescent Medicine. *J Adolesc Health*. 2006. 39:296–301.
13. Lopez LM, Grimes DA, Schulz KF, Curtis KM. Steroidal contraceptives: effect on bone fractures in women. *Cochrane Database Syst Rev* 2009 .15:CD006033
14. Herrmann M, Seibel MJ. The effects of hormonal contraceptives on bone turnover markers and bone health. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010. 72:571–583.
15. Ott SM, Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Yoshida CK, Barlow WE. Effects of contraceptive use on bone biochemical markers in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001. 86:179–185
16. Bakry S., Abdullah A. Effect of depot medroxyprogesterone (dmpa) on body weight and serum lipid profile in adult female rats. *The Egyptian Journal of Biochemistry & Molecular Biology*. 2008; vol 2\_ (n.1)17- 30.
17. Mangan SA, Larsen PG, Hudson S. Overweight teens at increased risk for weight gain while using depot medroxyprogesterone acetate. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2002 Apr; 15(2):79–82. [PubMed:12057528]

18. Polaneczky M, Liblanc M: Long-term depot medroxyprogesterone acetate (Depo-Provera) use in inner-city adolescents. *J Adolesc Health* 1998; 23:81.
19. 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; Mar; 200(3):329.e1-8.
20. Schwallie PC, Assenzo JR. Contraceptive use: efficacy study utilizing medroxyprogesterone acetate administered as an intramuscular injection once every 90 days. *Fertil Steril.*1973; 24:331-9.
21. 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.
22. Amatayakul K, Sivasomboon B, Thanangkul O: A study of the mechanism of weight gain in medroxyprogesterone acetate users. *Contraception* 1980; 22:605.
23. Grueso E, Rocha M, Puerta M. Plasma and cerebrospinal fluid leptin levels are maintained despite enhanced food intake in progesterone-treated rats. *Eur J Endocrinol* 2001;144: 659-65.
24. Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, Poehlman ET. Effect of menopausal status on body composition and abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24:226-31.
25. Le YC, Rahman M, Berenson AB. Early Weight Gain Predicting Later Weight Gain Among Depot Medroxyprogesterone Acetate Users. *Obstet Gynecol.* 2009; August ; 114(2 Pt 1): 279–284.
26. Bonny AE, Ziegler J, Harvey R, Debanne SM, Secic M, Cromer BA. Weight gain in obese and nonobese adolescent girls initiating depot medroxyprogesterone, oral contraceptive pills, or no hormonal contraceptive method. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2006; Jan;160 (1):40–5. [PubMed: 16389209]

27. Weng HH, Bastian LA, Taylor DH Jr, Moser BK, Ostbye T. Number of children associated with obesity in middle-aged women and men: results from the health and retirement study. *J Womens Health (Larchmt)*. 2004; Jan;13(1):85–91. [PubMed:15006281]
28. Linne Y, Dye L, Barkeling B, Rossner S. Long-term weight development in women: a 15-year followup of the effects of pregnancy. *Obes Res* 2004 Jul;12(7):1166–78. [PubMed: 15292482]
29. Rooney BL, Schauburger CW, Mathiason MA. Impact of perinatal weight change on long-term obesity and obesity-related illnesses. *Obstet Gynecol*. 2005 Dec;106(6):1349–56. [PubMed:16319262]
30. Bonny AE, Britto MT, Huang B, Succop P, Slap GB. Weight gain, adiposity, and eating behaviors among adolescent females on depot medroxyprogesterone acetate (DMPA). *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2004; Apr17 (2):109–15. [PubMed: 15050987]
31. Clark MK, Sowers FM, Levy BT, Tenhundfeld P. Magnitude and variability of sequential estradiol and progesterone concentrations in women using depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *Fertil Steril*. 2001; 75: 871-76.
32. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ et al., “National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants,” *The Lancet*. 2011, vol. 377, no. 9765, pp. 557–567.
33. Ford ES, Mokdad AH, “Epidemiology of obesity in the Western Hemisphere,” *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008, vol. 93, pp. S1–S8.
34. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão Diretoria de Pesquisas Coordenação de Trabalho e Rendimento. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Rio de Janeiro. 2010.

35. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde: Vigitel Brasil: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília. 2012.
36. Aoi N, Soma M, Nakayama T et al., "Variable number of tandem repeat of the 5'-flanking region of type-C human natriuretic peptide receptor gene influences blood pressure levels in obesity-associated hypertension," *Hypertension Research*. 2004; vol. 27, no. 10, pp. 711–716.
37. Kosuge K, Soma M, Nakayama T et al., "Human uncoupling protein 2 and 3 genes are associated with obesity in Japanese," *Endocrine*. 2008; vol. 34, no. 1–3, pp. 87–95.
38. Lee EB, Ahima RS. Alteration of hypothalamic cellular dynamics in obesity. *J Clin Invest*. 2012; Jan 3;122(1):22-5.
39. Strohacker K, McFarlin BK, "Influence of obesity, physical inactivity, and weight cycling on chronic inflammation," *Frontiers in Bioscience*. 2010; vol. 2, pp. 98–104.
40. Wang Z, Nakayama T. Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease. *Mediators Inflamm*. 2010.
41. DeClercq V, Taylor C, Zahradka P, "Adipose tissue: the link between obesity and cardiovascular disease," *Cardiovascular & Hematological Disorders Drug Targets*, 2008; vol. 8, no. 3, pp. 228–237.
42. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Investig*. 1995; 2409–15.
43. Schinner S, Scherbaum WA, Bornstein SR, Barthel A. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabet Med*. 2005; Jun; 22 (6): 674-82.
44. Kaplan MS, Huguet N, Newsom JT, McFarland BH, Lindsay J, "Prevalence and correlates of overweight and obesity among older adults: findings from the Canadian

National Population Health Survey,” *Journals of Gerontology A*. 2003, vol. 58, no. 11, pp. 1018–1030.

45. Adams LA, Lymp JF, Sauver JS et al., “The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study,” *Gastroenterology*. 2005; vol. 129, no. 1, pp. 113–121.

46. Angulo P. “Medical progress: nonalcoholic fatty liver disease” *The New England Journal of Medicine*. 2002; vol. 346, no. 16, pp. 1221– 1231.

47. Rajala MW, Scherer PE, “Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis,” *Endocrinology*. 2003; vol. 144, no. 9, pp. 3765–3773.

48. Rodríguez A, Catalina V, Gómez-Ambrosi J, Frühbeck G, “Visceral and subcutaneous adiposity: are both potential therapeutic targets for tackling the metabolic syndrome?” *Current Pharmaceutical Design*. 2007; vol. 13, no. 21, pp. 2169–2175.

49. Tilg H, Hotamisligil GS, “Nonalcoholic fatty liver disease: cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance,” *Gastroenterology*. 2006; vol. 131, no. 3, pp.934–945.

50. Hallschmid M, Randeve H, Tan BK, Kern W, Lehnert H, “Relationship between cerebrospinal fluid visfatin (PBEF/Nampt) levels and adiposity in humans,” *Diabetes*. 2009; vol. 58, no. 3, pp. 637–640.

51. Laudes M, Oberhauser F, Schulte DM et al., “Visfatin/PBEF/Nampt and resistin expressions in circulating blood monocytes are differentially related to obesity and type diabetes in humans,” *Hormone and Metabolic Research*. 2010; vol. 42, no. 4, pp. 268–273.

52. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N et al., “Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation”. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007; vol. 92, no. 2, pp. 666–672.

53. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triagle. *Int J Obesity*. 2002; 26:S28-S38.
54. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM, "IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity inTNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance," *Science*. 1996, vol. 271, no. 5249, pp. 665–668.
55. Wang B, Trayhurn P. "Acute and prolonged effects of TNF- $\alpha$  on the expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture," *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2006, vol. 452, no. 4, pp. 418–427.
56. Stenlof K, Wernstedt I, Fjällman T, Wallenius V, Wallenius K, Jansson JO. Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects," *Journal of Clinical Endocrinologyand Metabolism*. 2003, vol. 88, no. 9, pp. 4379–4383.
57. Naugler WE, Karin M, "The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer," *Trends in Molecular Medicine*. 2008; vol. 14, no. 3, pp. 109–119.
58. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM, "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus," *Journal of the American Medical Association*. 2001, vol. 286, no. 3, pp. 327–334.
59. Snijder MB, Dekker JM, Visser M et al., "C-reactive protein and diabetes mellitus type 2," *Diabetologia*. 2001; vol. 44, Supplement 1, article 115A.
60. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA et al., "Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6- dependent insulin resistance in hepatocytes," *The Journal of Biological Chemistry*. 2003; vol. 278, no. 16, pp. 13740–13746.
61. Jacobs M, VanGreevenbroek MMJ, Van der Kallen CJH et al., "Low-grade inflammation can partly explain the association between the metabolic syndrome and either coronary artery disease or severity of peripheral arterial disease: the CODAM

study,” *European Journal of Clinical Investigation*. 2009, vol. 39, no. 6, pp. 437–444.

62. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB, “The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase,” *The Journal of Clinical Investigation*. 1995; vol. 95, no. 5, pp. 2111–2119.

63. Derosa G, Fogari E, D’Angelo A, Bianchi L, Bonaventura A, Romano D, Maffioli P. Adipocytokine Levels in Obese and Non-obese Subjects: an Observational Study. *Inflammation*. 2013.

64. Gherlan I; Vladoiu S; Alexiu F; Giurcaneanu M; Oros S; Brehar A; Procopiuc C; Dumitrache C. Adipocytokine Profile and Insulin Resistance in Childhood Obesity. *Journal of Clinical Medicine*. 2012; Volume 7 No.3 2012.

65. Donahoo WT, Levine JA, Melanson EL. Variability in energy expenditure and its components. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004 Nov;7(6):599-605.

66. Bouchard C, Tremblay A, Després J-P, et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med*. 1990; 322:1477– 82.

67. Bouchard C, Tremblay A, Després J-P, et al. The response to exercise with constant energy intake in identical twins. *Obes Res*. 1994; 2:400 –10.

68. Marra M, Scalfib L, Contaldoa F, Pasanisia F. Fasting respiratory quotient as a predictor of long-term weight changes in non-obese women. *Ann Nutr Metab*. 2004; 48(3): 189-92.

69. Weir JBD. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol*. 1949;109:1-9.

70. Astrup A, Gøtzsche PC, Van de Werken K, Ranneries C, Toubro S, Raben A, Buemann B. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999; Jun; 69(6):1117-22.

71. Cuppari, L. Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar. Nutrição Clínica no Adulto. São Paulo: Manole. UNIFESP, 2002.
72. De Luis DA, Aller R, Izaola O. Resting energy expenditure and insulin resistance in obese patients, differences in women and men. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2006; 10 (6): 285-9.
73. Dugas LR, Cohen R, Carstens MT, Schoffelen PF, Luke A, Durazo-Arvizu RA, Goedecke JH, Levitt NS, Lambert EV. Total daily energy expenditure in black and White, lean and obese South African women. *Eur J Clin Nutr.* 2008; 13: 1-7.
74. Mika HL, González MC, Raslan M, Torrinhos R, Rodrigues NL, Verotti CC, Cecconello I, Heymsfield SB, Waitzmerg DL. Resting energy expenditure in white and non-white severely obese women. *Nutr Hosp.* 2009; Nov-Dec; 24 (6): 676-81.
75. Elia M. Energy expenditure in the whole body. In: Kinney JMT, ed. *Energy metabolism, tissue determinants and cellular correlates.* New York, NY: Ravens Press Ltd, 1992:19–49.
76. Speakman J. The cost of living: field metabolic rates of small mammals. *Adv Ecol Res.* 1999; 30:177–297.
77. Johnstone AM, Murison SD, Duncan JS, Rance KA, Speakman JR. Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:941–8.
78. Monroe MB, Seals DR, Shapiro LF, Bell C, Johnson D, Parker JP 2001 Direct 3316 *J Clin Endocrinol Metab*, June 2005, 90(6):3312–3317.
79. Welle S, Schwartz RG, Statt M. Reduced metabolic rate during betaadrenergic blockade in humans. *Metabolism.* 1991; 40:619–622.
80. Danforth Jr E, Burger A. The role of thyroid hormones in the control of energy expenditure. *Clin Endocrinol Metab.* 1984; 13:581–595.

81. Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, Christin L, Freymond D, Abbott WG, Boyce V, Howard BV, Bogardus C. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med*. 1988; 318:467–472.
82. Day DS, Gozansky WS, Van Pelt RE, Schwartz RS, Kohrt WM. Sex Hormone Suppression Reduces Resting Energy Expenditure and Adrenergic Support of Resting Energy Expenditure. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005 90(6):3312–3317.
83. Pelkman CL, Chow M, Heinbach RA, Rolls BJ. Short-term effects of a progestational contraceptive drug on food intake, resting energy expenditure, and body weight in young women. *Am J Clin Nutr*. 2001; Jan;73(1):19-26.
84. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, De-Fronzo RA. Effect of free fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest*. 1988; 72: 1737-45.
85. World Health Organization. *Physical Status: the use and interpretation of anthropometry*. Geneva, WHO. 1995.
86. World Health Organization. *Obesity: preventing an managing the global epidemic*. Geneva, WHO. 1997.
87. Lukaski HC, Bolonchuk WW, Hall CB, Siders WA: Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol* 1986, 60:1327-1332.
88. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Celular e Molecular*. 7ed. Elsevier Editora. *Imunologia Médica*. 2012, cap. 2 p.15.
89. Camargos AF, Melo VH, Carneiro MM, Reis FM. *Ginecologia ambulatorial baseada em evidências científicas*. 2 ed Belo Horizonte: Coopmed 288-290 2008.
90. Kontula K, Paavonen T, Luukkainen T, Andersson LC. Binding of progestins to the glucocorticoid receptor. *Biochem Pharmacol*. 1983; 32: 1511-1518.

91. Rockall AG, Sohaib SA, Evans D, Kaltsas G, Isidori AM, Monson JP, Besser GM, Grossman AB, Resnek RH. Computed tomography assessment of fat distribution in male and female patients with Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2003; 149: 561-67.
92. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature.* 2006;444:875–880. [[PubMed](#)].
93. Bluher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2009;117:241–250. [[PubMed](#)]
94. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 316:129–139. [[PubMed](#)]
95. Hajer GR, van Haften TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J.* 2008; 29:2959–2971. [[PubMed](#)]
96. Bluher M. Do adipokines link obesity to its related metabolic and cardiovascular diseases? *Clin Lipidol.* 2010;5:95–107. [[PubMed](#)]
97. Bluher M, Rudich A, Kloting N, Golan R, Henkin Y, Rubin E, Schwarzfuchs D, Gepner Y, Stampfer MJ, Fiedler M, Thiery J, Stumvoll M, Shai I. Two patterns of adipokine and other biomarker dynamics in a long-term weight loss intervention. *Diabetes Care.* 2012; 35:342–349. [[PMC free article](#)]
98. Bays HE. "Sick fat," metabolic disease, and atherosclerosis. *Am J Med.* 2009; 122(1 Suppl):S26–S37. [[PubMed](#)].
99. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia.* 2012; 55:2319–2326. [[PubMed](#)]

100. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 290:1084–1089. [PubMed].
101. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol.* 2000;62:413–437. [PubMed]
102. Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L., Kriauciunas A., Stephens T.W., Nyce M.R., Ohannesian J.P., Marco C.C., McKee L.J., Bauer T.L., et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 1996;334:292. [PubMed]
103. Kouidhi S., Jarboui S., Clerget Froidevaux M.S., Abid H., Demeneix B., Zaouche A., Benammar Elgaaied A., Guissouma H. Relationship between subcutaneous adipose tissue expression of leptin and obesity in Tunisian patients. *Tunis Med.* 2010; 88:569–572. [PubMed]
104. Friedman J.M., Halaas J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 395:763–770. [PubMed]
105. Marroquí L., Gonzalez A., Neco P., Caballero-Garrido E., Vieira E., Ripoll C., Nadal A., Quesada I. Role of leptin in the pancreatic  $\beta$ -cell: Effects and signaling pathways. *J. Mol. Endocrinol.* 2012;49:R9–R17. [PubMed]
106. Müller G., Ertl J., Gerl M., Preibisch G. Leptin impairs metabolic actions of insulin in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 1997;272:10585–10593. [PubMed]
107. Paz-Filho G., Mastronardi C., Franco C.B., Wang K.B., Wong M.L., Licinio J. Leptin: Molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2012;56:597–607. [PubMed]

108. Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N, Hartwig S, Lehr S, Ouwens DM, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2011; 60:1917–1925 [[PubMed](#)].
109. 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 Oct;44(4):419–30. [[PubMed: 1836754](#)].

## **8. APÊNDICES**

**APÊNDICE 1. ARTIGO SUBMETIDO AO PAPER PLOS ONE.**

**Body Composition, Resting Energy Expenditure and Inflammatory Markers: Impact in users of Depot Medroxyprogesterone Acetate after 12 months follow-up**

GA BATISTA, AL SOUZA, DM MARIN, M SIDER, VC MELHADO, PNS SANTOS, AM FERNANDES, MONTE ALEGRE S

School of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

**SHORT TITLE: Body Composition and Metabolic Changes in users of DMPA**

**\*Correspondence Address:**

Sarah Monte Alegre

**Rua Tessália Viera de Camargo, 126 – Cidade Universitária Zeferino Vaz.**

**CEP: 13083-887**

**Telephone: + 55- 19-3521-9202**

**E-MAIL: [salegre@fcm.unicamp.br](mailto:salegre@fcm.unicamp.br)**

## **Abstract**

The aim of this study was to evaluate for 12 months the changes of body weight using Depot Medroxyprogesterone Acetate (DMPA) and if these changes are related to criteria for metabolic syndrome and its association with inflammatory markers. Women of childbearing age who chose the injectable contraceptive Depoprovera® without previous use of this method, BMI <30 kg / m<sup>2</sup>, and women using non-hormonal contraception IUD TCu 380A, were invited to participate in the study. The participants were aged between 18 and 40 years. At the baseline and after one year, changes in weight gain, body composition by the bioimpedance electric method, resting energy expenditure by the indirect calorimetry method and inflammatory markers were assessed. The Mann-Whitney test was used to compare the variables between two groups. The Wilcoxon test was used for comparison of group time fixing. The significance level for statistical tests was 5% (P <0.05). After 12 months of evaluation, we could observe a significant increase in the DMPA group in weight and BMI, while the IUD group's only significant increase was observed in the BMI variable. Relative to REE there was an increase of BMR in both groups after one year. The sub-group DMPA that gained <3 kg had increased significant weight, BMI and BS with RQ reduction, while the sub-group that gained ≥3 kg had a significant increase in weight, BMI, BS, FFM, FM, BMR, Leptin, HOMA-IR and WC, with RQ significantly reduced. In conclusion, our study found significant changes in weight, body composition and metabolic profile of the population studied in the first 12 months of contraceptive use. These changes mainly increased body weight, leptin levels and HOMA-IR which can contribute to the development of some chronic complications, including obesity, insulin resistance and diabetes mellitus.

**Keywords:** Obesity, Body Composition, Resting Energy Expenditure, Depot medroxyprogesterone acetate, Leptin

## **Introduction**

Obesity is considered a serious public health problem that affects both first world countries as well as developing ones. In the world, there are an estimated 1.5 billion overweight adults, of which approximately 500 million are obese<sup>1</sup>. In Brazil, 50.8% of the population over 18 years old are overweight and 17.5% are obese<sup>2</sup>. This complex and chronic disorder of multifactorial etiology is the result of positive energy balance, and genetic and environmental factors are involved in developing this metabolic disorder<sup>3, 4</sup>. In women, the use of hormonal contraceptives has been associated with weight gain and changes in body composition.

Depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) is an injectable contraceptive method and in its formulation contains 150mg of DMPA administered every 3 months intramuscularly at a plasma concentration of approximately 1ng/mL<sup>5</sup>. According to the characteristics of contraceptive efficacy, safety and low cost, and ease of access due to its ready availability from public health systems in several countries, including Brazil, millions of women choose to use this method<sup>6</sup>. Despite having a potential negative effect on the bones, the most common reason for discontinuing use of DMPA is increased body weight.<sup>7</sup> Most prospective studies that have assessed the body composition of these progestin users, with at least 30 months of use, show a weight gain associated with an increase in body fat deposits<sup>8, 9</sup>.

However, few studies show that the users after weight gain have criteria for metabolic syndrome and / or are associated with inflammatory markers. Therefore, the aim of this study was to evaluate for 12 months the changes of body weight using DMPA and if these changes are related to criteria for metabolic syndrome and its association with inflammatory markers.

## **Materials and Methods**

### **Subjects**

This was a prospective cohort study with women attending the family planning clinic at the Gynecology and Obstetrics Department, University of Campinas (UNICAMP), Brazil.

Women of childbearing age who chose the injectable contraceptive Depoprovera® without previous use of this method, BMI <30 kg / m<sup>2</sup>, and women using non-hormonal contraception IUD TCu 380A, were invited to participate in the study. The participants were aged between 18 and 40 years.

After signing, they were interviewed to collect data and personal medical and family history. An administration every three months of 150mg of DMPA (Depoprovera® - EMS, Hortolandia, SP, Brazil) was given and follow-up was maintained for one year. The women in the control group, TCu 380A IUD users, underwent the same procedures provided for inclusion into the DMPA group.

Exclusion criteria were: women with Diabetes Mellitus (DM) type 1 or 2; those with a family history of diabetes; those who had fasting glucose > 100 mg / dL after 8 hours of fasting or after a 120 minute oral glucose tolerance test had 75 g glucose blood glucose > 140 mg/dL; women breast-feeding; those with co-morbidities that contribute to the variation in body weight such as hyper-and hypothyroidism; chronic renal failure and transplant of any organ; use of medications that may be related to weight gain and / or development of insulin resistance such as the chronic use of corticosteroids, antipsychotics, diuretics and statins. Patients with hirsutism and/or hyperandrogenism and Polycystic Ovary Syndrome were also excluded.

Initially, 49 women were evaluated. Throughout the monitoring period, 11 volunteers were excluded either for not returning for follow-up or because they became pregnant. One participant was excluded from the group by initiating physical activity after use of Depoprovera ®. At the end of the study we evaluated 37 women, 20 of the DMPA group and 17 of the IUD group.

This study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences- UNICAMP, and all the volunteers who agreed to participate signed a consent form.

### **Anthropometric measurements and Body Composition**

Anthropometric assessment was performed by a single examiner. Weight (kg) and height (m) were measured using a Welmy mechanical scale with 100g precision and

capacity of 200 kg. Height was measured by a stadiometer coupled to the scale with a precision of 0.5 cm. Waist circumference (WC) was measured with an inelastic 2m tape dimension. The anatomical point used was the midpoint between the last rib and the iliac crest.

Nutritional status was assessed by calculating the Body Mass Index (BMI), recommended by the World Health Organization 1995 and 1997.<sup>10</sup>

The percentage of body fat, weight, fat mass and lean mass was assessed by Bioimpedance Electric (BIA) using the equipment Biodynamics - Bioimpedance Analiser model 310.

### **Resting Energy Expenditure**

The resting energy expenditure (REE) and substrate used to obtain energy were assessed by the indirect calorimetry method. For this, a Vmax Encore 29 device coupled to a canopy gas exchange was used.

The consumption of oxygen (O<sub>2</sub>) and the elimination of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) in liters per minute as well as tidal volume were reported in this procedure. From these primary measures, the values of energy expenditure in kilocalories per day were obtained along with the respiratory quotient. The mean values obtained in steady state, prefixed as smaller variations than 5% in respiratory quotient (RQ) and 10% in CO<sub>2</sub> were considered.

### **Biochemical Assays**

Serum adiponectin, IL-6, visfatin, leptin, TNF- $\alpha$ , insulin and glucose were performed at baseline and after one year of using the method. The blood samples were centrifuged, and serum was immediately stored in small aliquots in a freezer at -80 ° C. Dosages of adipocytokines and insulin were performed in serum by enzyme immunoassay in duplicate by ELISA using commercial kits with high sensitivity and specificity.

### **Statistical Analysis**

All results are expressed as mean  $\pm$ SD. The Mann-Whitney test was used to compare the variables between two groups. The Wilcoxon test was used for comparison of group time fixing. For comparison of numerical measurements between times and groups ANOVA was used for repeated measurements with transformation stations. The significance level for statistical tests was 5% (P <0.05). The SAS program for Windows version 9.2 was used to perform the analyses.

### **Results**

The groups were paired at baseline, becoming a homogeneous group in relation to age ( $\pm 1$  year), and BMI ( $\pm 1$ kg/m<sup>2</sup>). After 12 months of evaluation, we could observe a significant increase in the DMPA group in weight, BMI and body surface, while the IUD group's only significant increase was observed in the BMI variable (Table 1).

**Table 1:** Characteristics of the DMPA and DIU groups

Variable	Baseline			12 months		
	DMPA	IUD	¥P	DMPA	IUD	¥P
	(n=20) Mean $\pm$ SD	(n=17) Mean $\pm$ SD	value	(n=20) Mean $\pm$ SD	(n=17) Mean $\pm$ SD	value
Age (years)	29,7 $\pm$ 6,2	28,4 $\pm$ 5,8	0,4682	—	—	
Weight (kg)	61,95 $\pm$ 9,69	61,24 $\pm$ 6,98	0,5449	64,96* $\pm$ 9,40	61,76 $\pm$ 7,53	0,0007
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,74 $\pm$ 3,47	24,26 $\pm$ 2,67	0,911	24,88* $\pm$ 3,43	24,56** $\pm$ 2,84	0,0007
BS:	1,65 $\pm$ 0,14	1,62 $\pm$ 0,09	0,4127	1,69* $\pm$ 0,13	1,63 $\pm$ 0,10	0,0148
WC (cm)	75,47 $\pm$ 7,28	77,61 $\pm$ 7,88	0,0178	76,74 $\pm$ 6,27	75,38 $\pm$ 5,66	0,1834

¥: Mann-Whitney test. Statistical Significance: p< 0,05

\* Depo group difference between baseline and after 12 months

\*\* DIU group difference between baseline and after 12 months

BS: Body Surface

WC: Waist Circumference

BMI: Body Mass Index

Relative to REE and RQ, there was an increase of BMR in both groups after one year. The respiratory quotient was significantly reduced after 12 months of study in groups DMPA and IUD (Table 2).

**Table 2:** Resting Energy Expenditure and Respiratory Quotient baseline and after 12 months

Variable	Baseline			12 months						
	DMPA		IUD	¥P	DMPA		IUD	¥P		
	(n=20)		(n=17)	value	(n=20)		(n=17)	value		
	Mean	± SD	Mean	± SD		Mean	± SD	Mean	± SD	
BMR(kcal/d)	1087,05	±252,06	1187,59	±246,23	0,3674	1319,30*	±133,53	1303,18**	±104,02	0,0027
RQ	0,91	±0,11	0,87	±0,09	0,8134	0,77*	±0,03	0,78**	±0,03	<0,0001
¥:Mann-Whitney test. Statistical significance: p<0,05										
* Difference Depo group between baseline and after 12 months										
** Difference IUD group between baseline and after 12 months										
RQ: Respiratory Quotient										
BMR: Basal Metabolic Rate										

Table 3 shows the subdivision of the DMPA group for weight gain after 12 months follow-up. The sub-group that gained <3 kg had a significant weight, BMI and BS increase with RQ reduction, while the sub-group that gained ≥3 kg had a significant increase in weight, BMI, BS, FFM, FM, BMR, Leptin, HOMA-IR and WC, with RQ significantly reduced.

<b>Table 3:</b> Characteristics of DMPA group subdivided by weight gain after 12 months										
Variable	Baseline		12 months		+ P value	Baseline		12 months		+P value
	< 3kg (n=7)		>3kg (n=10)			Mean ±SD		Mean ±SD		
Weight	61,24	±10,38	62,51 <sup>c</sup>	±9,95	0,0156	61,1	±8,63	66,63 <sup>d</sup>	±8,48	0,002
BMI	23,44	±4,25	23,93 <sup>c</sup>	±4,15	0,0313	23,47	±3,50	25,55 <sup>d</sup>	±3,46	0,002
BS	1,64	±0,12	1,66 <sup>c</sup>	±0,12	0,0313	1,64	±0,11	1,71 <sup>d</sup>	±0,11	0,002
% Fat	30,70	±5,58	29,30	±6,99	0,5625	30,87	±4,58	31,76	±6,12	0,7891
FFM	42,51	±5,32	43,94	±6,50	0,1406	42,01	±4,18	45,19 <sup>d</sup>	±4,74	0,0059
FM	19,44	±6,07	18,57	±6,20	0,7813	19,14	±5,26	21,44 <sup>d</sup>	±5,82	0,0273
BMR	1224,43±266,82		1334,29±125,04		0,1563	997,70 ±202,72		1318,20 <sup>d</sup> ±157,58		0,0117
RQ	0,87	±0,09	0,77 <sup>c</sup>	±0,03	0,0313	0,95	±0,12	0,77 <sup>d</sup>	±0,04	0,002
Adiponectin	10,20	±3,21	8,60	±4,82	0,375	5,89	±1,90	5,96	±2,80	0,8457
Leptin	133,53	±156,77	174,20	±184,10	0,2969	78,05	±76,25	236,86 <sup>d</sup>	±214,93	0,0195
Visfatin	44,78	±10,82	45,76	±21,36	0,8125	50,68	±31,83	43,81	±16,23	0,4316
IL-6	1,30	±0,42	1,91	±1,80	1	1,12	±0,77	2,02	±2,71	1
TNF- $\alpha$	4,70	±2,11	4,28	±3,33	0,2969	4,31	±1,98	3,62	±1,67	0,1934
HOMA - IR	1,25	±1,44	1,15	±0,84	0,5781	0,70	±0,41	1,92 <sup>d</sup>	±1,41	0,0059
WC	74,14	±8,35	75,67	±8,97	0,125	75,90	±7,52	79,49 <sup>d</sup>	±7,75	0,002

+:Wilcoxon test. Statistical Significance: p< 0,05

<sup>c</sup> Difference sub-group weight gain <3kg comparing baseline and after 12 months

<sup>d</sup> Difference sub-group weight gain >3kg comparing baseline and after 12 months

## Discussion

We can consider that our population has a differential in relation to other studies evaluating the effect of DMPA, considering that our group was paired with the control group at baseline for BMI ( $\pm 1$  kg / m<sup>2</sup>) and age ( $\pm 1$  year), becoming a homogeneous group. Our study found that after 12 months of follow up the injectable DMPA users had significant weight gain (3.01 kg). As most prospective studies evaluating the effect of DMPA were for at least 30 months<sup>6, 8, 9</sup>, we can consider that the follow-up period of our study is short compared to the others, but we can already observe significant changes in important variables studied.

To better assess changes in weight and body composition, we made a subdivision of the DMPA group for weight gain (<3 kg and >3 kg), and observed significant changes in weight and body composition in both groups, but the group which gained >3kg had the more pronounced changes. This group had a mean gain of 5.53 kg, increased fat mass

(2.3 kg) and lean mass (3.18 kg) after 12 months follow-up. The increase in lean mass in users of DMPA may be explained by the androgenic effect of this contraceptive method<sup>11</sup>.

Berenson & Rahman<sup>9</sup>, to compare changes in weight and body composition between different contraceptive methods, observed at 24 months of follow-up an increase of 4.4 kg and after 36 months a gain of 5.1 kg in the DMPA group. Of the 5.1 kg that the volunteers put on after 36 months, 4.1 kg were of fat mass. Moreover, a significant increase in lean body mass after 30 months of follow-up was observed.

The main contributing factor to the increase in body weight after use of DMPA reported in most studies is the increase in fat deposits. After 30 months of follow-up users of medroxyprogesterone, Clark et al<sup>6</sup>, observed a gain of 6.1 kg, and is fully represented by increased fat mass. There are two other possible mechanisms that might explain the weight gain associated with DMPA use: the first is its glucocorticoid-like activity, which appears to be associated with increased fat, including visceral fat<sup>12</sup>. However, secondly, it is also possible that the state of hypoestrogenism induced by the injectable may be another factor responsible for the increase in weight and body fat<sup>13</sup>.

In our study, the subgroup that gained more weight at the end of the study also had a significant increase in waist circumference and HOMA-IR. Increased waist circumference is indicative of an increase in subcutaneous and visceral adipose tissue. HOMA-IR, although not yet characterized as insulin resistance (HOMA-IR > 2.5) in our group, indicates a probable trend for the development of metabolic syndrome with increased exposure time for the contraceptive method. Metabolic syndrome increases the risk of metabolic complications, including diabetes mellitus, cardiovascular disease, and insulin resistance<sup>9</sup>.

In relation to changes in inflammatory markers, we observed a slight decrease in adiponectin levels, although it was not significant in the DMPA group. A greater reduction in the levels of this marker associated with weight gain and increased body fat can contribute to the development of insulin resistance. Moreover, there was a significant increase in leptin levels in the group with greater weight gain. Leptin is directly related to body fat in both experimental models and in humans<sup>14, 15</sup>, and is also related to food intake<sup>16</sup>.

This study also has the important evaluation point of resting energy expenditure and respiratory quotient, given that data on basal metabolism with DMPA use are scarce. The basal metabolic rate increased significantly in the DMPA group and control. However, a more significant increase in this variable in subgroup DMPA which has gained more

weight (> 3 kg) can be seen. This increase is mainly explained by an increase in fat mass and lean mass as well. The respiratory quotient of the two groups decreased after 12 months follow-up, indicating a change in metabolism of energy substrates. The volunteers at baseline had a characteristic respiratory quotient of high sugar metabolism but by the end of the study the profile changed with lipids starting to metabolize.

In a study in rats (*Rattus Norvigicus*) with DMPA use in doses compatible with those used in humans, changes were observed in the lipid profile of the rats who used progestin, such as increased levels of total lipids, triglycerides, total cholesterol, LDL cholesterol and VLDL-cholesterol and in turn a reduction in HDL-cholesterol. At the end of the study they concluded that DMPA may exert a long-term atherogenic effect<sup>7</sup>.

In conclusion, our study found significant changes in weight, body composition and metabolic profile of the population studied in the first 12 months of contraceptive use. These changes mainly increased body weight, leptin levels and HOMA-IR which can contribute to the development of some chronic complications, including obesity, insulin resistance and diabetes mellitus.

## References

1. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ et al. (2011) "National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants," *The Lancet*, vol. 377, no. 9765, pp. 557–567.
2. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde: Vigitel Brasil (2012): Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília
3. Aoi N, Soma M, Nakayama T et al. (2004), "Variable number of tandem repeat of the 5'-flanking region of type-C human natriuretic peptide receptor gene influences blood pressure levels in obesity-associated hypertension" *Hypertension Research*.vol. 27, no. 10, pp. 711–716.
4. Kosuge K, Soma M, Nakayama T et al. (2008) "Human uncoupling protein 2 and 3 genes are associated with obesity in Japanese," *Endocrine*. vol. 34, no. 1–3, pp. 87–95.
5. Kahn HS, Curtis KM, Marchbanks PA (2003) Effects of injectable or implantable progestin-only contraceptives on insulin-glucose metabolism and diabetes risk. *Diabetes Care*. 2003 Jan;26(1):216-25.

6. Pantoja M, Medeiros T, Baccarin MC, Morais SS, Bahamondes L, Fernandes AM (2009) Variations in body mass index of users of depot-medroxyprogesterone acetate as a contraceptive. *Contraception*. Feb;81(2):107-11.
7. Bakry S, Abdullah A (2008) Effect of depot medroxyprogesterone (dmpa) on body weight and serum lipid profile in adult female rats. *The Egyptian Journal of Biochemistry & Molecular Biology*. Vol 2\_ (n.1)17- 30 Jun
8. Clark MK, Dillon JS, Sowers M, Nichols S (2005) Weight, fat mass, and central distribution of fat increase when women use depot-medroxyprogesterone acetate for contraception. *Int J Obes (Lond)* 29:1252-8.
9. Berenson AB, Rahman M (2009) 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*. Mar;200(3):329.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2008.12.052.
10. WHO (1997) *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Geneva.
- 11- Camargos AF, Melo VH, Carneiro MM, Reis FM (2008) *Ginecologia ambulatorial baseada em evidências científicas*. 2 ed Belo Horizonte: Coopmed 288-290.
- 12- Harte C, Henry MT, Murphy KD, Mitchell TH (1995). Progesterone and Cushing's Syndrome. *Irish J Med Sci*; 164:274-275.
- 13- Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, Poehlman ET (2000) Effect of menopausal status on body composition and abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:226-31.
14. Pratley RE, Nicolson M, Bogardus C, Ravussin E (1997). Plasma leptin responses to fasting in Pima Indians. *American journal of Physiology*; 273 E644-E649.
15. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR et al (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New England Journal of Medicine*; 334 292-295.

16. Weigle DS, Duell PB, Connor WE, Steiner RA, Soules MR, Kuijper JL (1997) Effect of fasting, refeeding and dietary fat restriction on plasma leptin levels. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 82, 561-565.

## 9. ANEXOS

### ANEXO 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### “CLAMP EUGLICÊMICO HIPERGLICÊMICO”

A Sra. está sendo convidada a fazer um teste denominado “*clamp*” *euglicêmico hiperinsulinêmico*. Esse teste será conduzido na Unidade Metabólica, no Hospital das Clínicas, UNICAMP, coordenado pela 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.

**Benefícios:** é o melhor teste para medir a secreção de insulina (um dos principais problemas do diabetes).

**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, no Amb. Planejamento Familiar da FCM/UNICAMP, telefone: (19) 3789-2856/(19) 3521-7176, ou com a Nutricionista Gisele Batista na Unidade Metabólica –Hospital das Clínicas da UNICAMP, 6º andar ou pelo telefone (19) 3521-7155.

**Como poderei tirar dúvidas a respeito do estudo?** Entre em contato com a Dra. Arlete Fernandes, no Ambulatório de Planejamento Familiar da FCM/UNICAMP, telefone: (19) 3789-2856/(19) 3521-7176, ou com a Nutricionista Gisele Batista na Unidade Metabólica- Hospital das Clínicas Unicamp, 6º andar, ou pelo telefone (19) 3521-7155 ou (19) 3521-7837. 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 (0XX19) 3788-8936.

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  
responsável

Assinatura do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha (se aplicável)

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



## ANEXO 2- FORMULÁRIO DE INCLUSÃO DE PACIENTES

### *Listagem para de inclusão de pacientes*

- Idade entre 18 e 35 anos [ ] Sim [ ] Não
- Glicemia < 100mg/dl [ ] Sim [ ] Não
- IMC maior que 20 e menor que 30 [ ] Sim [ ] Não
- **Não** está amamentando [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui antecedente familiar 1º grau para DM [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui hiper e hipotireoidismo [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui insuficiência renal crônica [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui transplante de qualquer órgão [ ] Sim [ ] Não
- **Não** uso crônico de corticoesteróides e antipsicóticos [ ] Sim [ ] Não
- **Não** uso crônico tiazídicos e estatinas [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui hirsutismo e/ou hiperandrogenism [ ] Sim [ ] Não
- **Não** possui Síndrome do Ovário Policístico (SOP) [ ] Sim [ ] Não
- Reside em Campinas ou próxima à região [ ] Sim [ ] Não
- Aceita voluntariamente participar do estudo [ ] Sim [ ] Não

**Somente mulheres que obtiverem SIM em todas as afirmativas poderão ser convidadas a participar do estudo**

### **ANEXO 3. PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



CEP, 23/11/09.  
(Grupo III)

**PARECER CEP:** N° 903/2009 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)  
**CAAE:** 0698.0.146.000-09

#### 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.

**INSTITUIÇÃO:** CAISM/UNICAMP

**APRESENTAÇÃO AO CEP:** 02/10/2009

**APRESENTAR RELATÓRIO EM:** 23/11/10 (O formulário encontra-se no *site* acima)

#### II - OBJETIVOS

Avaliar os possíveis mecanismos para o ganho de peso de mulheres que iniciam o contraceptivo injetável trimestral com acetato de medroxiprogesterona de depósito na dose de 150mg, (Depoprovera), durante o período de dois anos.

#### III - SUMÁRIO

Será um estudo prospectivo com 100 usuárias iniciais de AMPD, acompanhadas pelo período de dois anos. Cada usuária terá como controle uma usuária de dispositivo de cobre (DIU TCu380A), de igual idade ( $\pm 1$ ) e índice de massa corpórea ( $IMC \pm 1$ ), que cumprirá os mesmos procedimentos diagnósticos e tempo de seguimento. As mulheres com idade de 18 a 40 anos e  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ , que consultarem no ambulatório de Planejamento Familiar do Caism/UNICAMP, e optarem pelo AMPD como contraceptivo e seus controles, serão convidadas a participar do estudo. Serão aceitas aquelas que cumprirem os critérios de inclusão e assinarem o TCLE. Todas as mulheres retornarão ao serviço trimestralmente para injeção da AMPD. As 200 mulheres responderão a questionário sobre hábito alimentar, atividade física, tabagismo e etilismo, e terão aferidos a pressão arterial, peso, medidas antropométricas e de bioimpedância para avaliação da gordura corporal, e dosados em amostra de sangue o perfil lipídico, tiroídeo, função hepática, parâmetros glicêmicos (glicemia e insulina de jejum e HOMA) nos meses 0, 6, 12, 18 e 24. Uma amostra secundária e randomizada de 30 mulheres usuárias e seus controles, após concordarem e assinarem um novo TCLE, nos meses 0, 12 e 24 terão avaliadas a resistência e secreção pancreática de insulina através de clamp hiperglicêmico, dosadas as adiponectinas e apolipoproteínas A/B e serão submetidas à medida da íntima-média (IMT) da artéria carótida e diâmetro da artéria braquial por ultrassom e medidas a deposição de gordura na parede abdominal e visceral intra-abdominal, ambas através de ultrassom.

#### IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

---

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP  
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126  
Caixa Postal 6111  
13083-887 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936  
FAX (019) 3521-7187  
cep@fcm.unicamp.br



Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

#### V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

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.

#### VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

#### VII- DATA DA REUNIÃO

Homologado na X Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 27 de outubro de 2009.

*Carmen Silvia Bertuzzo*  
**Profa. Dra. Carmén Silvia Bertuzzo**  
VICE-PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM/UNICAMP

