



VANESKA DE CARVALHO MELHADO

**RESISTÊNCIA INSULÍNICA EM MULHERES
SAUDÁVEIS EM IDADE REPRODUTIVA**

INSULIN RESISTANCE IN HEALTHY YOUNG WOMEN

Errata do nome da aluna:

Onde se lê:

Vaneska de Carvalho Melhado

Leia-se:

Vaneska de Carvalho Melhado Kimura


Prof.ª Dr.ª Rosana Teresa Onocko Campos
Coordenadora da Comissão de Pós-Graduação
FCM/UNICAMP
Matrícula 28.581-4

**CAMPINAS
2014**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

VANESKA DE CARVALHO MELHADO

RESISTÊNCIA INSULÍNICA EM MULHERES SAUDÁVEIS EM IDADE REPRODUTIVA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. ARLETE MARIA DOS SANTOS FERNANDES

INSULIN RESISTANCE IN HEALTHY YOUNG WOMEN

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação em
Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas – UNICAMP, para obtenção de Título de Mestra em
Ciências da Saúde, área de concentração em Fisiopatologia Ginecológica.

*Master's dissertation presented to the Obstetrics and Gynecology
Graduate Program of the School of Medical Sciences, University
of Campinas, to obtain the MSc grade in Health Science, in
the Concentration Area of Gynecological Fisiopathology.*

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNA VANESKA DE CARVALHO MELHADO
E ORIENTADA PELA PROF^a. DR^a. ARLETE MARIA DOS SANTOS FERNANDES**

Assinatura da Orientadora

Campinas, 2014

FICHA CATALOGRÁFICA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS - CRB 8/8402

M484r	Melhado, Vaneska de Carvalho, 1982- Resistência insulínica em mulheres saudáveis em idade reprodutiva / Vaneska de Carvalho Melhado. -- Campinas, SP : [s.n.], 2014. Orientador : Arlete Maria dos Santos Fernandes. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas. 1. Resistência à insulina. 2. <i>Clamp</i> euglicêmico hiperinsulinêmico. 3. Anticoncepção. 4. Composição corporal. I. Fernandes, Arlete Maria dos Santos, 1959-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.
-------	---

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Insulin resistance in healthy women in childbearing age

Palavras-chave em inglês:

Insulin resistance
Hyperinsulinemic- euglycemic clamp
Contraception
Body composition

Área de concentração: Fisiopatologia Ginecológica

Titulação: Mestra em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Arlete Maria dos Santos Fernandes [Orientador]
Cristina Aparecida Falbo Guazzelli
Denise Engelbrecht Zantut Wittmann

Data de defesa: 26-02-2014

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

Diagramação e arte-final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

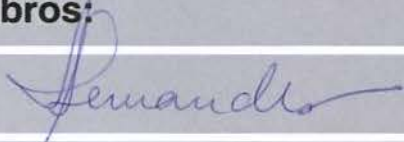
BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: VANESKA DE CARVALHO MELHADO

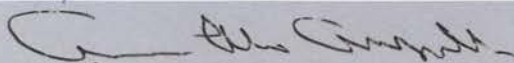
Orientadora: Prof^a. Dr^a. ARLETE MARIA DOS SANTOS FERNANDES

Membros:

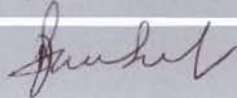
1.



2.



3.



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

Data: 26/02/2014

Dedico este trabalho...

*Aos meus queridos pais,
que sempre me incentivaram na dedicação aos estudos.*

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelo privilégio de participar deste projeto de mestrado e por ter colocado pessoas tão especiais na minha vida.

Agradeço à Dra. Arlete pela dedicada orientação e pela paciência.

Agradeço à Dra. Sarah pelas horas agradáveis e de muito aprendizado durante os clamps.

Agradeço aos meus colegas Aglécio, Gisele e Priscila.

Agradeço a toda equipe do laboratório da Unidade Metabólica.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	vii
Resumo	ix
Summary	xi
1. Introdução	13
2. Objetivos	26
2.1. Objetivo geral	26
2.2. Objetivos específicos.....	26
3. Sujeitos e Método	27
3.1. Técnica do Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico, CEH.....	29
3.2. Análise estatística.....	32
4. Publicação.....	33
5. Conclusões.....	59
6. Referências Bibliográficas.....	60
7. Anexos	66
7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	66
7.2. Anexo 2 – Ficha de Levantamento.....	69
7.3. Anexo 3 – Ficha de Levantamento Composição Corporal – DXA	72
7.4. Anexo 4 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	73
7.5. Anexo 5 – Ficha do clamp euglicêmico hiperinsulinêmico.....	74

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

- AACE** – Associação Americana dos Clínicos Endocrinologistas
- AGL** – ácidos graxos livres
- ATP III** – Painel de Tratamento de Adultos III
- CEH** – *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico
- DCV** – doença cardiovascular
- DM2** – *diabetes mellitus* tipo 2
- DSG** – desogestrel
- DXA** – absorptimetria de duplo feixe de raios-X
- EE** – etinilestradiol
- FCM** – Faculdade de Ciências Médicas
- HAS** – hipertensão arterial sistêmica
- HDL** – *high density lipoproteins*
- HOMA IR** – *Homeostasis model assessment index for insulin resistance*
- HOMA Bc** – *Homeostasis model assessment of β - cell function index*
- LDL** – *low density lipoproteins*
- MAC** – método anticoncepcional
- NHANES** – *National Health and Nutrition Examination Survey*

- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- SI** – sensibilidade insulínica
- SM** – síndrome metabólica
- SOP** – síndrome dos ovários policísticos
- R A/G** – razão androide/ginecoide
- RI** – resistência insulínica
- RISC** – *Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular disease*
- TCLE** – termo de consentimento livre e esclarecido
- TTOG** – teste de tolerância oral à glicose
- UNICAMP** – Universidade Estadual de Campinas
- VET** – valor energético total

Resumo

A resistência insulínica (RI) é um estado no qual há diminuição da resposta dos tecidos-alvo à ação da insulina. A prevalência da RI na população adulta jovem não obesa e com resposta normal ao teste de tolerância oral à glicose (TTOG) é estimada em 25%. Estudos sugerem que vários fatores poderiam contribuir com a deterioração da tolerância à glicose em mulheres jovens, entre eles a elevação do peso corporal e o uso de métodos contraceptivos (MAC) hormonais.

Objetivos: avaliar uma coorte de mulheres saudáveis em período reprodutivo e sem antecedentes que pudessem interferir no metabolismo de carboidratos, para determinar a prevalência e os fatores associados à RI. **Sujeitos e Método:** para o diagnóstico de RI foi utilizada a técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico (CEH). As variáveis estudadas foram sociodemográficas, uso atual de MAC combinado ou não hormonal, tempo de uso do MAC, composição corporal avaliada pela técnica de absorptimetria de duplo feixe de raios-X (DXA), valores de perfis lipídico e glicêmico, medidas de pressão arterial e da ingestão calórica. Foi realizada análise das médias e desvio padrão (DP) das variáveis relacionadas à RI e ao uso de MAC e regressão linear múltipla para avaliar fatores que pudessem influenciar a tendência à RI. Participaram deste estudo 47 mulheres

saudáveis, que responderam à veiculação da pesquisa, com idade de 18 a 40 anos, IMC $<30\text{kg/m}^2$ e todas realizaram CEH com 40mU de insulina. **Resultados:** do total das mulheres, 16 usavam algum tipo de método contraceptivo hormonal combinado (34%) e 31 usavam método não hormonal (66%). A prevalência de RI foi de 19,1% e significativamente maior entre as que utilizavam método hormonal (6/16) combinado em relação às que utilizavam método não hormonal (3/31). Mulheres com RI tiveram valores médios significativamente maiores de peso, IMC, massa e percentual de massa gorda, razão androide/ginecoide, e dos valores de triglicérides, insulina de jejum, HOMA IR e HOMA Bc. Após análise linear múltipla, as variáveis associadas à tendência à RI foram não ter gestação anterior, tempo de uso de MAC >1 ano e maiores valores de triglicérides.

Conclusões: Uma de cada cinco mulheres em idade reprodutiva e saudável apresentou RI e mostrou elevação de peso corporal e de cintura. É importante iniciar medidas de prevenção precoces, estimulando hábitos saudáveis de alimentação e exercícios físicos nas mulheres observadas com elevação de peso e medida de cintura durante o acompanhamento de planejamento familiar.

Palavras-chave: resistência insulínica, *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, métodos contraceptivos, composição corporal.

Summary

Insulin resistance (IR) is a state in which there is reduced response of target tissues to insulin action. The prevalence of IR in non- obese and normal response to the oral glucose tolerance test (OGTT) young adult population is estimated at 25 %. Studies suggest that several factors could contribute to the deterioration of glucose tolerance in young women, among them the elevation of body weight and the use of hormonal contraception (MAC). **Objectives:** To evaluate a cohort of healthy women in reproductive age with no history that could interfere with the metabolism of carbohydrates, to determine the prevalence and factors associated with IR. **Subjects and method:** RI for the diagnosis of the euglycemic hyperinsulinemic clamp technique (CEH) was used. The variables were sociodemographic, current use of combined hormonal MAC or not , time use MAC, body composition assessed by absorptiometry technique of dual-energy x - ray absorptiometry (DXA) , values of lipids and glucose, blood pressure measurements and caloric intake. Analysis of the mean and standard deviation (SD) related to IR and the use of CAM and multiple variable linear regression was performed to assess factors that might influence the tendency to IR. The study included 47 healthy women , who responded to the placement of

the study, aged 18-40 years, BMI < 30kg/m² and all performed with CEH 40mU insulin. **Results:** from the total of 16 women were using some sort of combination hormonal contraceptive method (34 %) and 31 used non-hormonal method (66 %). The prevalence of RI was 19.1 % and was significantly higher among women who used hormonal method (6/16) combined compared with those who used non-hormonal (3/ 31) method. RI women had significantly higher mean values of weight, BMI, weight and percentage of fat mass, because android/gynecoid, and triglycerides, fasting insulin, HOMA IR and HOMA Bc . After multiple linear analysis, the variables associated with the tendency to RI were having no previous pregnancy, duration of use of CAM > 1 year and higher levels of triglycerides. **Conclusions:** One in five women of reproductive age showed RI and healthy and showed increase in body weight and waist. It is important to start providing early prevention , encouraging healthy eating habits and exercise, observed in women with high weight and waist measurement during follow-up family planning.

Keywords: insulin resistance, hyperinsulinemic euglycemic clamp, contraception, body composition.

1. Introdução

O estado de resistência insulínica (RI) é determinado pela diminuição da resposta dos tecidos-alvo à ação da insulina (1). Em 1988, Reaven propôs ser a RI a causa central da etiologia do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), da hipertensão arterial sistêmica (HAS) e das doenças coronarianas (2). A proposição de que a RI associada às alterações metabólicas constituíam uma entidade diagnóstica, diretamente relacionada ao aumento das doenças cardiovasculares (DCV), ficou conhecida por uma variedade de nomes, como síndrome metabólica, síndrome X, síndrome dismetabólica, síndrome cardiometabólica e, por fim, síndrome da resistência insulínica (3).

A partir disso, inúmeras técnicas têm sido propostas e utilizadas para avaliação da sensibilidade à insulina (3). O padrão-ouro para avaliar a RI é a técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico (CEH), no qual a insulina é infundida por via intravenosa a uma taxa constante e a glicemia plasmática é mantida estável através de taxa de infusão variável de glicose, conforme a necessidade do indivíduo em estado de repouso (3). O controle glicêmico é

realizado a cada 3-5 minutos em amostras coletadas em veia periférica. A taxa média da necessidade de infusão da glicose, no repouso, traduz a medida da sensibilidade insulínica e é quantificada em miligramas de glicose por quilo de peso por minuto pelo índice de M (3).

O objetivo do CEH é elevar a concentração de insulina no plasma agudamente e estabilizá-lo em novo patamar. A técnica é método reprodutível e quantifica a sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina (4). Foi demonstrado que a produção endógena de glicose é desprezível quando se mantém uma taxa constante de hiperinsulinemia, o que faz com que a quantidade de glicose infundida, necessária para manter a normoglicemia, seja equivalente à utilização total de glicose pelo corpo (5, 6). Nestas condições, a insulina endógena e a produção hepática de glicose são suprimidas, e o estado de equilíbrio dinâmico da glicemia plasmática é mantido, tornando a quantidade de glicose infundida reflexo direto da glicose utilizada pelo organismo (7, 8). Embora seja amplamente aceito como o método de referência para diagnóstico da RI, o CEH é caro, trabalhoso e demorado. Assim, esta técnica tem sido normalmente confinada aos ambientes de pesquisa e não é uma abordagem viável para estudos populacionais (9).

Em 1985, após examinar valores de M em 18 estudos com CEH com taxa de infusão de insulina de $40 \text{ mU/m}^2 \cdot \text{min}$, em indivíduos não obesos com tolerância normal à glicose, Bergman e cols. encontraram valor médio do M variável de 4,7 a 8,7 mg de glicose/ kg/ minuto, e propuseram uma definição conservadora da RI para valores de $M < 4,7 \text{ mg/kg/min}$ (8, 10). No entanto, outros estudos feitos em populações com diferentes níveis de tolerância à glicose,

variações de idade e peso consideraram valores de M abaixo de 4mg/kg/min como corte para diagnóstico de RI (6).

Os estudos de Reaven mostraram não haver correlação entre a glicemia plasmática de jejum e a RI nos pacientes com intolerância à glicose ou com DM2, sendo que todos esses indivíduos são resistentes, quer apresentem glicemia de jejum de 100 ou 250mg/dl (2). Além disso, alguns indivíduos com TTOG normal são tão resistentes à insulina como alguns indivíduos com intolerância à glicose ou DM2 (2). Ao estudar os valores de M em 100 indivíduos não obesos com teste de tolerância oral à glicose (TTOG) normal submetidos à técnica do CEH, observaram que cerca de 25% desses indivíduos eram considerados resistentes à insulina, pois requeriam menos do que 150 mg/m²/min de glicose exógena para manter a normoglicemia com concentrações de insulina de 100mU/ml, indicando que a RI em indivíduos normais está associada à hiperinsulinemia (7, 11).

Nesses indivíduos, as células beta-pancreáticas aumentam a secreção de insulina a fim de manter a homeostasia da glicemia às custas do estado de hiperinsulinemia (2, 3). A hiperinsulinemia resultante suprime a lipólise nos adipócitos, o que leva à diminuição da concentração de ácidos graxos livres (AGL) no plasma (12). Se a hiperinsulinemia não ocorre, há liberação dos AGL, o que causa o aumento da produção hepática de glicose (processo conhecido como gliconeogênese hepática) e inibição da captação da glicose estimulada pela insulina, piorando a hiperglicemia (2, 3). O aumento da concentração de insulina plasmática estimula a captação de glicose pelos tecidos e inibe a lipólise e, conseqüentemente, a liberação de AGL (12).

Após as refeições, um terço da glicose ingerida é captada pelo fígado e o restante é utilizado pelos tecidos periféricos, especialmente o tecido muscular esquelético (12). Em condições normais, a hiperglicemia pós-prandial estimula a secreção de insulina pelo pâncreas e a elevação da concentração de insulina plasmática, por sua vez, estimula a captação da glicose pelo tecido muscular, mantendo-se assim a glicemia dentro dos limites fisiológicos (12). No entanto, em condições de RI os tecidos-alvo não são capazes de utilizar apropriadamente a insulina produzida pelo pâncreas, o que faz com que quantidades excessivas de insulina sejam secretadas, para processar a mesma quantidade de glicose (13). Além disso, o desbalanço de energia caracterizado pelo acúmulo dos triglicerídeos ingeridos na alimentação resulta no aumento da concentração de AGL no plasma, o qual suprime ainda mais a captação da glicose pelo músculo, estimulada pela insulina (3).

A RI é característica principal do DM2 e o conceito de que a lipotoxicidade é sua principal causa já está bem estabelecido (14). Foi demonstrado que a associação dos AGL, que nos indivíduos obesos é permanentemente elevada com a hiperinsulinemia, resulta na piora da produção da insulina, fenômeno conhecido como lipotoxicidade (14). A RI induz à hiperinsulinemia e altos níveis de insulina também induzem à RI, pois leva à redução da atividade dos componentes de receptores de sinalização (14).

Apesar de a RI ser precursora do surgimento do DM2, ela, por si só, não é capaz de provocá-lo (1). Assim, o fato de um indivíduo com RI não se tornar diabético não significa que ele não irá sofrer as consequências indesejáveis da

hiperinsulinemia. Os efeitos adversos relacionados à RI estão provavelmente relacionados à hiperinsulinemia compensatória (1). Embora a RI seja o defeito fundamental fisiopatológico encontrado no DM2, na síndrome metabólica e na doença cardiovascular, ela também está associada a outras situações, como o processo de envelhecimento, dislipidemias, algumas doenças, como a síndrome dos ovários policísticos, secundária a algumas farmacoterapias, como a terapia antirretroviral (12).

A necessidade de concentrações elevadas de insulina provoca inúmeras ações como o efeito positivo nos adipócitos, provocando aumento da adiposidade (15). A hipertrigliceridemia parece também ser secundária à hiperinsulinemia e à RI (2). O grau de hipertrigliceridemia correlaciona-se com a resposta de insulina provocada pela ingestão elevada de carboidratos na dieta (16). Estudo realizado na década de 60 mostrou que a hipertrigliceridemia, na maioria dos indivíduos, resultava de um aumento da taxa de secreção de triglicerídeos hepática, secundária a elevações pós-prandiais exageradas na concentração da insulina plasmática (16).

A hiperinsulinemia também pode causar aumento da mitogênese e, assim, aumentar a incidência de algumas neoplasias (17, 18). A associação da hiperinsulinemia com o aumento da incidência de alguns tipos de câncer tem sido explicada pela adiposidade visceral e sua inter-relação com as funções endócrina, metabólica e imunológica (17, 18).

O hábito e a intensidade da atividade física correlacionam-se com a absorção da glicose estimulada pela insulina. Consequentemente, quanto mais

obeso e sedentário for um indivíduo, maior pode ser o grau de RI (2). Entretanto, há forte evidência de que associação da obesidade e RI não é simples problemática de causa-e-efeito. Estudo do *European Group for the Study of Insulin Resistance* (EGIR) sobre RI que utilizou o CEH em um grupo de indivíduos obesos, não diabéticos e normotensos, diagnosticou RI em apenas 26% dos indivíduos e prevalência de hiperinsulinemia em 38% deles (19). Embora a progressão para DM2 ocorra mais freqüentemente em indivíduos obesos em comparação com magros, esta associação é altamente dependente da predisposição genética (20). Apesar do risco aumentado, muitos indivíduos obesos não desenvolvem diabetes, o que sugere que os fatores genético e/ou ambiental desempenham importante papel. Duas características têm sido descritas como particularmente importantes para a que a obesidade possa provocar o DM2: a capacidade prejudicada de resposta do músculo esquelético à ação da insulina e a incapacidade das células beta para secretar insulina suficiente para manter a normoglicemia (20).

A taxa de obesidade vem apresentando proporções epidêmicas em todo o mundo. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde, em 2008, cerca de 300 milhões de mulheres apresentavam obesidade (21).

A obesidade tem sido comumente categorizada pelo índice de massa corpórea (IMC), calculado pela divisão do peso, em quilogramas, pelo quadrado da altura do indivíduo, em metros. As variações de IMC de 18,5 a 24,9kg/m² são denominadas como peso normal, valores de IMC de 25 a 29,9kg/m² como sobrepeso, e valores de IMC ≥ 30kg/m² definem obesidade (22). Nos Estados Unidos (EUA) 300.000 pessoas morrem anualmente por problemas relacionados à

obesidade. Segundo a *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*, cerca de 62% das mulheres com mais de 20 anos de idade apresentam sobrepeso e uma em cada três é obesa (22).

Indivíduos obesos apresentam mais fatores de risco para as DCV associadas à RI, como a HAS, DM2, dislipidemias e doenças coronarianas. A hiperinsulinemia associada a RI é uma potencial causa das alterações ateromatosas na parede arterial (23, 24).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade é responsável por 60% dos casos de DM no adulto, 20% dos casos de DCV, além de 8% a 42% de alguns tipos de câncer, tornando-se assim o maior problema de saúde pública global (25). A relação entre obesidade e mortalidade ocorre pelo risco aumentado para HAS, DM2 e DCV (26).

No mundo ocidental, a limitação da prática da atividade física associada ao hábito alimentar com maior ingestão de alimentos contendo açúcares e gorduras, de custo baixo e altamente calóricos, vêm provocando o aumento do sobrepeso e da RI (25). Um estudo com 180 mulheres saudáveis entre 18 e 45 anos que avaliou a RI através do HOMA-IR mostrou que aquelas com RI apresentaram significativamente maior quantidade em gramas de gordura ingerida na dieta, de LDL-colesterol (*low density lipoproteins*) e de triglicérides quando comparadas ao grupo-controle (25).

A RI piora a sensibilidade celular à ação da insulina e tem sido citada como a principal característica da síndrome metabólica (SM) (3). Dados do

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) estimaram que aproximadamente 25% dos adultos norte-americanos apresentam síndrome metabólica (17). Por outro lado, estudos publicados da população de Framingham mostraram que o diagnóstico de SM foi capaz de prever 25% do total de novos casos de DCV (27).

Embora seja aceito pela maioria dos autores que indivíduos com SM apresentam fatores de risco para o desenvolvimento de DCV, não tem havido consenso nos critérios necessários para seu diagnóstico. Segundo o Painel de Tratamento de Adultos III (*ATP III*) da Sociedade Americana de Cardiologia, são necessários três de cinco critérios para o diagnóstico: circunferência da cintura ≥ 88 cm para mulheres, triglicerídeos ≥ 150 mg/dl, HDL-colesterol < 50 mg/dl para mulheres, pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg, e glicemia ≥ 110 mg/dl. A OMS considera a RI como um critério necessário para o diagnóstico da SM, além de dois de quaisquer dos seguintes critérios: elevação da PA, aumento de triglicérides, queda do HDL, aumento do IMC e microalbuminúria. A Associação Americana dos Clínicos Endocrinologistas (AACE) propõe uma terceira forma para o diagnóstico da SM, que parece ser uma mistura do ATP III e da OMS, e envolve também fatores de risco, como história familiar de DM2, HAS, DCV, síndrome dos ovários policísticos (SOP), sedentarismo e idade avançada (27).

Apesar das pequenas diferenças entre os critérios utilizados, todas as associações concordam que a redução de peso e a prática da atividade física deveriam ser a intervenção primária para tratamento da SM (17, 27). A prática da atividade física pode diminuir o risco de desenvolvimento do DM2. Estudo descreveu

que a prática da caminhada por 2,5 horas/semana comparada a menos de 1 hora/semana esteve associada à diminuição de 63%-69% do risco de DM 2 (28).

Como a RI tem sido considerada a “chave” para o desenvolvimento do DM2 e da DCV, causando morbidade e mortalidade prematura, um grande estudo multicêntrico prospectivo, *Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular disease (RISC)*, tem seguido uma coorte de 1211 indivíduos saudáveis e avaliado a sensibilidade insulínica através do CEH, e o desenvolvimento da aterosclerose em longo prazo. Após três anos de seguimento, o estudo descreveu que o IMC, a insulina de jejum e o tabagismo contribuíram de forma independente para o número de fatores de risco cardiometabólicos (glicemia ≥ 110 mg/dl; triglicérides ≥ 150 mg/dl; HDL < 50 mg/dl; PA $\geq 130 \times 85$ mmHg; circunferência da cintura ≥ 80 cm) enquanto o valor da sensibilidade insulínica não foi associada ao número de fatores de risco cardiometabólicos. O papel predominante da insulina de jejum, ao contrário da RI, foi o achado mais original deste estudo, sugerindo que a hiperinsulinemia pode ser a alteração primária no DM2 (29, 30).

Vários estudos têm enfatizado a importância da composição corporal, especialmente a gordura de distribuição tipo androide ou abdominal, como fator de risco para DCV e o DM2 (31). Assim como o IMC, a circunferência da cintura e/ou a razão cintura/quadril parecem ser os preditores mais fortes para DM nas mulheres (17).

Distúrbios ovarianos parecem estar associados à gordura corporal de distribuição androide, o que é típico em mulheres saudáveis na pós-menopausa

(31). É conhecida a associação entre a composição corporal, particularmente a gordura, com a função reprodutiva feminina (31). A grande quantidade de tecido adiposo, especialmente de gordura abdominal, está associada à produção anormal de estrogênios através da aromatização (31). A obesidade e a distribuição de gordura abdominal são frequentemente encontradas em mulheres que apresentam a SOP. Mesmo entre aquelas com peso normal e SOP, cerca de 50% apresentam distribuição androide da gordura corporal (31). A SOP é uma disfunção endócrina frequente entre mulheres jovens e está associada à SM, obesidade, DM2 e DCV (32, 33). Para o tratamento da SOP, na prática clínica, tem se optado pelo uso de contraceptivos orais combinados (ACO). No entanto, Mastorakos e cols concluíram através de um ensaio clínico com 36 adolescentes, que o tratamento da SOP por 12 meses com dois tipos de formulações de ACO (desogestrel/etinilestradiol e acetato de ciproterona/ etinilestradiol) resultou na piora da sensibilidade insulínica expressa pelo *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) (33).

Estudos sugerem que vários fatores poderiam contribuir com a deterioração da tolerância à glicose em mulheres jovens, entre eles a elevação do peso corporal, a SOP, o número de gestações e o uso de métodos contraceptivos hormonais. No entanto, são poucos os estudos com mulheres que avaliaram RI pela técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico (CEH), considerado o padrão-ouro para o diagnóstico (34, 35, 36, 37).

Desde sua introdução no mercado na década 60, os ACO têm sido muito utilizados devido à facilidade de uso, eficácia, segurança e sensação de liberdade para decidir sobre a reprodução sentida pelas mulheres (15). A inibição da

ovulação e o controle de sangramento foram pontos positivos; entretanto, houve efeitos indesejados como o tromboembolismo venoso e algumas alterações do metabolismo de lipídios e carboidratos (36, 37).

Avaliando dados de um grande estudo prospectivo de 10 anos realizado nas décadas de 1960 e 70 – o *Walnut Creek Contraceptive Drug Study (CDS)*-, foi descrita prevalência de aproximadamente 16% de anormalidade no TTOG em 354 mulheres usuárias de ACO quando comparadas com 1732 mulheres não usuárias (7,7%) (38). Os autores descreveram que a progesterona (e não o estrogênio) apresentava efeito adverso em relação à tolerância à glicose, principalmente aquelas formulações com moléculas de maior propriedade androgênica apresentavam maior capacidade de alterar o metabolismo de carboidratos e lipídios (38). Apesar disso, a incidência de DM2 foi baixa e os autores sugeriram que a média de idade das mulheres durante os 10 anos da duração do estudo foi inferior a 40 anos, considerada baixa para evidenciar risco de desenvolvimento do DM2 (38).

Embora estudos tenham descrito importante papel da progesterona na sinalização para a liberação da insulina, o componente estrogênico também parece exercer ação na RI (15). Em estudo com 391 mulheres jovens saudáveis realizando o teste de tolerância à glicose via intravenosa, foi observado que os ACO podiam causar RI, enquanto que as formulações contendo apenas progestágenos não causaram nenhum efeito, reforçando que o componente estrogênico foi primariamente responsável pela piora da tolerância à glicose e que a progesterona poderia apenas modular esse efeito (39).

As formulações com doses de 30mcg de etinilestradiol (EE) associados a progesteronas de segunda geração (levonorgestrel) diminuem os receptores periféricos de insulina, causando alterações no metabolismo de carboidratos. Entretanto, também as progesteronas de terceira geração (desogestrel e gestodeno) possuem ação na redução da sensibilidade insulínica (SI), por sua ação androgênica residual (40). Estudo prospectivo com seguimento de seis meses comparou 28 mulheres saudáveis divididas em dois grupos, um utilizando a composição de 20mcg de EE e 150mcg de desogestrel e o outro grupo em uso de composto com 30mcg de EE e 2mg de clormadinona. Foi utilizado o teste de tolerância à glicose intravenosa e observou-se diminuição da sensibilidade insulínica nas mulheres do primeiro grupo, que haviam utilizado o composto com doses menores de EE, sendo o desogestrel, independentemente do EE, que afetou a sensibilidade à insulina (40).

Em outro estudo foi avaliada a sensibilidade insulínica através do teste de tolerância à glicose intravenosa em 380 indivíduos jovens e saudáveis, entre eles 50 mulheres usuárias de ACO, e avaliou fatores antropométricos e ambientais. Os pesquisadores concluíram que a sensibilidade insulínica não diferiu entre homens e mulheres, o consumo de álcool ou cigarro não afetou a sensibilidade insulínica e que, nas mulheres, o uso do ACO foi associado significativamente à diminuição da sensibilidade insulínica, em torno de 27%. Além disso, os autores observaram que o IMC foi o modulador mais importante da sensibilidade insulínica, com uma associação negativa, assim como a circunferência da cintura. Este estudo descreveu que o aumento de 1kg/m² no

IMC significou uma diminuição de 3,8% do índice da sensibilidade insulínica, enquanto o acréscimo de um centímetro na circunferência abdominal correspondeu à diminuição de 2,1% da sensibilidade insulínica (41, 42).

Estudo prospectivo com sete mulheres jovens e saudáveis para avaliar a RI pela técnica do CEH antes do início e aos três e seis meses de uso de ACO contendo 30mcg EE+ 150mcg levonorgestrel, mostrou que a utilização periférica da glicose, expressa através do valor de M, apresentou redução após três meses de uso do contraceptivo mas retornou aos valores basais aos seis meses. Foi sugerido que a RI induzida pelo uso do ACO reduzia a sensibilidade insulínica no tecido periférico de forma transitória (36).

A prevalência de DM2 tem se elevado em todo o mundo. Dados do National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) descreveram prevalência de 7% de DM nas mulheres com mais de 20 anos (21).Tendo em vista os diversos fatores que podem interferir na sensibilidade à insulina em mulheres adultas jovens e saudáveis, e em vista da importância da potencial associação entre distúrbios iniciais do metabolismo de carboidratos com morbidade cardiovascular futura, optou-se por estudar uma coorte de mulheres em idade reprodutiva e em acompanhamento de planejamento familiar, sem fatores de risco aparentes para alterações no metabolismo da glicose, e avaliar a prevalência da RI através da técnica do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a prevalência da resistência insulínica (RI) através do CEH em uma coorte de mulheres saudáveis em período reprodutivo e determinar fatores associados.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever as características sociodemográficas, gineco-obstétricas; hábitos de vida; parâmetros bioquímicos e clínicos.
- Comparar os grupos de usuárias de MAC hormonal combinado e não hormonal em relação à RI e demais variáveis.
- Comparar os grupos com e sem RI em relação às variáveis estudadas.
- Identificar possíveis variáveis com influência no valor de M.

3. Sujeitos e Método

Foi um estudo descritivo, realizado na Unidade de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia e na Unidade Metabólica do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O projeto foi aprovado pelo Conselho de Revisão Institucional e todas as voluntárias assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da admissão.

Este estudo analisou dados das mulheres admitidas através de chamada para ensaio clínico registrado sob o número NCT01527526 do *Clinical Trials*. O período de inclusão foi de fevereiro de 2011 a fevereiro de 2012. Foram incluídas neste estudo mulheres saudáveis, com idade de 18 a 40 anos, IMC < 30 kg/m² e teste de pós-carga com 75 g glicose via oral, com resultados de glicemia de jejum < 100 mg/dL e de 120' < 140 mg/dL. Foram excluídas mulheres em período de aleitamento, com antecedente familiar de primeiro grau com DM, portadoras de SOP, HAS, hiper ou hipotireoidismo, antecedente de cirurgia bariátrica, transplantadas, com transtornos psiquiátricos ou em uso de corticosteroides,

antipsicóticos, diuréticos e estatinas. Foram incluídas no estudo 47 mulheres que cumpriram os critérios de inclusão e realizaram CEH com concentração de 40mU de insulina.

Todas as voluntárias responderam a questionário, aplicado pelo mesmo pesquisador, sobre dados sociodemográficos, hábitos de vida (etilismo, tabagismo, atividade física e ingestão alimentar) e antecedentes gineco-obstétricos. Para avaliação da ingestão alimentar foi utilizado o recordatório alimentar de três dias (43) e calculado o volume energético total (VET), baseado na média da ingestão total de alimentos em quilocalorias, em 24 horas.

As mulheres foram submetidas à coleta de sangue em estado de jejum de 12 horas para avaliação laboratorial dos parâmetros bioquímicos. Foram obtidas as medidas antropométricas de peso (kg) e IMC (kg/m^2) e, para a avaliação da composição corporal, foi utilizada a técnica de absorptimetria de duplo feixe de raios-X (DXA), através de densitômetro LUNAR DPX (GE Healthcare, Lunar Corporation, Madison, WI, USA).

O diagnóstico de RI foi definido para valores de $M < 4 \text{ mg/kg/min}$, encontrados através da técnica do CEH. As variáveis estudadas foram *sociodemográficas*: idade (anos), classe social (A+B e C+D+E) (44), escolaridade (≤ 8 anos/ > 8 anos), etnia (branca/Não branca); hábitos: tabagismo (fumante/não fumante) (45); etilismo (≤ 1 dose/ > 1 dose ao mês) (45); atividade física (ativa: exercícios aeróbicos $\geq 150'$ /semana ou inativa) (46); *cálculo energético*: VET (kcal/24h); *medidas antropométricas*: peso (kg), IMC (kg/m^2); *antecedentes*: número de gestações

(zero/ ≥ 1), número de filhos vivos (zero/ ≥ 1); *pressão arterial sistólica e diastólica* (mmHg); *método anticoncepcional* (MAC combinado/ MAC não-hormonal); *tempo de uso do método* (≤ 1 ano/ > 1 ano); *exames bioquímicos*: colesterol total (mg/dl), LDL-colesterol (mg/dl), HDL-colesterol (mg/dl), triglicérides (mg/dl), glicemia de jejum (mg/dl), insulina de jejum (μ UI/ml), HOMA IR, HOMA-B; *composição corporal*: percentagem e total de massa gorda (g), percentagem e total de massa magra (g), massa total (kg) e razão androide-ginecoide (47).

A avaliação da composição corporal pelo DXA foi realizada por equipe de três profissionais treinados e os coeficientes de variação para medidas de massa magra e massa gorda pelo DXA foram respectivamente de 0,7% e 0,9%.

3.1. Técnica do Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico, CEH

O *clamp* foi realizado seguindo a técnica previamente proposta por DeFronzo e cols (4). As mulheres que cumpriram os critérios de inclusão foram orientadas a comparecer individualmente em data previamente agendada, em estado de jejum de alimentos pelo período de 12 horas, livre ingestão de água e mantendo a alimentação como de costume habitual e sem estresse de atividade física no dia anterior. Todos os procedimentos de CEH foram realizados na Unidade Metabólica do Hospital das Clínicas da FCM/UNICAMP pela mesma equipe de médicos, biólogo e nutricionistas treinados para o procedimento.

O exame incluiu 120 minutos de período basal de observação, 120 minutos de período com infusão de insulina na concentração de 40mU, e 60

minutos para a observação do paciente após o término da infusão da insulina, momento em que foi oferecida uma refeição à voluntária e realizado o controle através da glicemia. O período de 80 minutos a 120 minutos foi considerado estado de equilíbrio. Cada *clamp* foi iniciado com a medida do peso corporal e o esvaziamento vesical, sendo o volume urinário desprezado e este horário foi considerado o início do período basal.

A seguir, duas punções em veias periféricas foram realizadas, um cateter intravenoso com *abocath* e sistema de três vias foi inserido em uma veia antecubital para a infusão de soro glicosado a 10%, utilizando uma bomba de infusão (AVI 270, 3M Health Care, USA). No mesmo sistema foi infundida outra solução contendo 47 ml de soro fisiológico (NaCl 0,9%) com adição da aspiração de 3 ml de sangue da própria paciente e de insulina regular, calculada de acordo com a superfície corpórea da mulher, e para tal, foi utilizada bomba de infusão com precisão de frações decimais (AVI syringe pump, modelo 600, 3M Health Care, USA) Uma outra punção em sentido retrógrado foi realizada e um cateter inserido em veia na região dorsal da mão para se obter as amostras de sangue. A mão puncionada foi mantida em uma caixa termostática, com temperatura entre 50° e 60°C para arterializar o sangue (48).

Desde o período inicial até imediatamente antes do início do *clamp*, foram coletadas três amostras de sangue, nos tempos -60min, -30min e -10min aproximadamente, para o cálculo da glicemia média sob a qual foi baseada a média de glicose a ser mantida durante o procedimento, mantendo as glicemias em $\pm 10\%$ da variação permitida. Após duas horas de período basal em

repouso, foram coletadas amostras de sangue no período basal para avaliação de exames de bioquímica. Foi novamente solicitado o esvaziamento vesical em recipiente para armazenamento da urina.

Nos tempos 30, 60, 90 e 120 também foram coletadas amostras para dosagens bioquímicas, de insulina e ácidos graxos livres.

A insulina foi administrada através da bomba de infusão a uma velocidade de infusão de 45,6ml/h entre os tempos 0 e 4 min, 22,8ml/h entre os tempos 4 e 7 min, e mantida a uma taxa constante de 11,4 ml/h ($40\text{mU}/\text{m}^2/\text{min}$) entre os tempos 7 e 120 min. A infusão da solução glicosada foi iniciada no tempo 0, a uma taxa de 1 mg/kg/min, aumentando para 1,5 mg/kg/min no 4º min e 2,0 mg/kg/min no 7º min. Depois do 10º min, a taxa de infusão da glicose foi alterada segundo a necessidade da voluntária, mantendo os níveis de glicemia plasmática em $\pm 10\%$ do valor inicial. As amostras de sangue foram coletadas a cada 3- 5 minutos de intervalo e analisadas pelo método ensaio enzimático, glicose oxidase, automatizado, através de glicosímetro bioanalisador de glicose YSI 2300-Stat analyzer; YSI, Yellow Springs, OH, USA). A infusão média de glicose foi calculada nos intervalos de 0-10', 10-20', 20-30', 30-40', 40-50', 50-60', 60-70', 70-80', 80-90', 90-100', 100-110', 110-120'.

Os valores de infusão de glicose foram convertidos em mg/kg/min para se determinar o valor M, ou seja, o valor médio de glicose consumida pelo organismo no período de repouso. As mulheres que apresentaram valores de M abaixo de 4 mg/kg/min foram consideradas resistentes à insulina.

3.2. Análise estatística

Para comparação de proporções foi utilizado o teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando necessário, e a comparação de medidas numéricas entre dois grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney.

Para identificar variáveis que influenciaram o valor de M foi utilizada a análise de regressão linear múltipla. Foi aplicada a transformação por postos na variável dependente devido à ausência de normalidade da distribuição. O critério de seleção de variáveis empregado foi o *stepwise*. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%.

4. Publicação

30-Jan-2014

Dear Dr. Fernandes:

Your manuscript entitled "Insulin resistance assessed by the glucose clamp technique in young women using hormonal and non-hormonal contraceptives" has been successfully submitted online and (where appropriate) will be processed for peer review in Human Reproduction.

Your manuscript ID is HUMREP-14-0123.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the Editorial Office with any queries that may arise. If there are any changes in your contact details or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/humrep> and edit your user information as appropriate. You can also view the status of your manuscript at any time by checking your "Author Centre" after logging in.

Manuscripts submitted to the ESHRE Journals are routinely screened using iThenticate anti-plagiarism software in an attempt to detect and prevent plagiarism. Where significant plagiarism is detected, we reserve the right to reject the manuscript and seek an explanation from the authors. More information about iThenticate can be found at <http://www.ithenticate.com/>.

Finally, if your manuscript is accepted for publication in Human Reproduction, you will have the option, at an additional charge, of making your paper freely available online immediately upon publication, under the new "Oxford Open" initiative (see <http://www.oxfordjournals.org/oxfordopen/about>).

Applicable Oxford Open charges can be found in the Authors' Instructions at http://www.oxfordjournals.org/humrep/for_authors/index.html

Thank you for submitting your manuscript to Human Reproduction.

Yours sincerely,

Dr Andy Williams
Managing Editor

Human Reproduction Editorial Office
editorial@humanreproduction.co.uk

Insulin resistance assessed by the glucose clamp technique in young women using hormonal and non-hormonal contraceptives

Vaneska Melhado-Kimura¹, Gisele Almeida Batista², Aglécio Luiz de Souza², Priscilla de Nazaré da Silva dos Santos¹, Sarah Monte Alegre^{2,3}, Elizabeth João Pavin³, Luis Bahamondes¹, Arlete Fernandes^{1*}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, ²Metabolic Unit and ³Department of Clinical Medicine, School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.

Running title: Insulin resistance in healthy women of reproductive age

***Corresponding author:**

Arlete Maria dos Santos Fernandes

Caixa Postal 6181,

13084-971, Campinas, SP, Brazil

Telephone: +55-19-3289-2856

Fax: +55-19-3289-2440

E-mail: arlete@fcm.unicamp.br

Abstract

STUDY QUESTION: What is the prevalence of insulin resistance (IR) in healthy women of reproductive age with no history of any changes in carbohydrate metabolism?

SUMMARY ANSWER: IR was detected in 19% of the women in this study population, thus indicating a high prevalence.

WHAT IS KNOWN ALREADY: IR has been implicated in the development of diabetes mellitus type 2 and in cardiovascular disease, and therefore, may lead to premature morbidity and mortality. During their reproductive life, women are exposed to factors that may affect carbohydrate metabolism.

STUDY DESIGN: A cross-sectional study.

MATERIALS, SETTING, METHODS: Forty-seven women of 18-40 years of age with a body mass index (BMI) $<30 \text{ kg/m}^2$, fasting glucose levels $<100 \text{ mg/dl}$ and glucose levels $<140 \text{ mg/dl}$ two hours after a 75-g oral glucose load. All were submitted to hyperinsulinemic-euglycemic clamp (HEC) with an insulin infusion rate of 40 mU/m^2 per minute. M values <4 were considered indicative of IR. Women with factors that could interfere with carbohydrate metabolism were excluded. The variables evaluated were sociodemographic characteristics, use of a combined hormonal/non-hormonal contraceptive method, duration of contraceptive use, body composition evaluated using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), lipid profile and glucose levels, blood pressure and calorie intake (kcal/24 hours) calculated from dietary recall of three days. Means and standard deviations of the variables associated with IR and contraceptive use were analyzed and multiple linear regression analysis was performed to evaluate which variables affected M values.

MAIN RESULTS AND THE ROLE OF CHANCE: Nine of the forty-seven women had IR, with a higher prevalence in hormonal contraceptive users. Women with IR were significantly heavier, with higher BMI, increased fat mass and percentage fat mass and a higher waist-to-hip ratio, as well as significantly higher triglyceride and fasting insulin levels and HOMA-IR values. The variables associated with lower M values were being a nulligravida, time of contraceptive use >1 year and higher triglyceride levels.

LIMITATIONS, REASONS FOR CAUTION: There were fewer combined hormonal contraceptive users (n=16) compared to the users of non-hormonal methods (n=31) and this may have contributed to the bias in the prevalence rates between the groups.

WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS: Young healthy women with increased weight, BMI and waist circumference should be counseled as early as possible to adopt a healthy diet and to practice regular physical activity.

STUDY FUNDING: This study received support from the Ministry of Health, the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the São Paulo Foundation for the Support of Research (FAPESP). In addition, the São Paulo State Health Department (SES-SP) provided funding through the Research for the National Health Service Initiative, PPSUS/2009, Brazil, under award #2009/53293-0.

KEY WORDS: insulin resistance; hyperinsulinemic-euglycemic clamp; contraceptive methods; combined contraceptive methods.

Introduction

The gold standard for diagnosing insulin resistance (IR) is the hyperinsulinemic-euglycemic clamp (HEC) (DeFronzo *et al.*, 1979). Nevertheless, this dynamic method of evaluating insulin sensitivity in individuals at rest is rather expensive, involving various professionals and a mean time of six hours. The method has been used in small sample studies including individuals with different degrees of carbohydrate intolerance, diabetes mellitus (DM) and obesity, and in collaborative studies, with the objective of screening for risk factors (Golay *et al.*, 1986; Hills *et al.*, 2004).

In a sample of 100 non-obese individuals with a normal oral glucose tolerance test (75-g OGTT) submitted to HEC, 25% were diagnosed with IR (Hollenbeck and Reaven, 1987). The association of IR with compensatory hyperinsulinemia in healthy individuals may account for adverse effects such as an increase in adiposity, hypertriglyceridemia, a decrease in high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and atherosclerosis (Reaven *et al.*, 1967; Haffner *et al.*, 1992; Rooij *et al.*, 2009; Reaven, 2012).

The multicenter study conducted in Europe and denominated *Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Disease* (RISC) was designed to evaluate insulin sensitivity using HEC and to assess the development of atherosclerosis over the long-term in 1,211 healthy individuals. After 36 months of follow-up, results showed that fasting insulin but not IR was associated with cardiometabolic risk factors, suggesting that hyperinsulinemia may be the primary change in diabetes mellitus type 2 (DM2) (Pataky *et al.*, 2013).

Healthy women of reproductive age are exposed to hormonal stimuli that may exert a negative effect on carbohydrate metabolism. Such stimuli include those occurring during pregnancy and during the use of hormonal contraceptives. Various studies have investigated the use of combined oral contraceptives (COC) with respect to carbohydrate metabolism (Perlman *et al.*, 1985; Kasdorf and Kalkhoff, 1988; Godsland *et al.*, 1991; Cagnacci *et al.*, 2009). Nevertheless, since those studies were conducted with small samples, different combinations of COC and using different methodologies, it is impossible either to confirm or refute the possibility of an interaction due to the lack of evidence (Lopez *et al.*, 2012). Other factors such as polycystic ovary syndrome (PCOS) and numerous pregnancies have been directly associated with the development of changes in glucose metabolism (Kritz-Silverstein *et al.*, 1994; Mastorakos *et al.*, 2006; Aydin *et al.*, 2013).

IR has been directly implicated in the development of DM2, which in turn is associated with cardiovascular disease (CVD), the principal cause of premature death. The correlation between IR and CVD is unclear; nonetheless, it is possible that alterations associated with IR could affect the prevalence of CVD in non-diabetic individuals (Reaven, 2012). Since women are exposed to various factors that could affect carbohydrate metabolism during their reproductive life, the objective of the present study was to determine the prevalence and factors associated with IR in healthy women of reproductive age with no history of susceptibility to altered carbohydrate metabolism.

Material and Methods

This study analyzed data from women admitted to a clinical trial (Trial registration number NCT01527526) conducted at the Human Reproduction Unit, Department of Obstetrics and Gynecology and in the Metabolic Unit, Department of Clinical Medicine, School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. The project was approved by the university's internal review board. The inclusion period began in February 2011 and ended in February 2012.

All the women fulfilled the following inclusion criteria: age 18-40 years, body mass index (BMI) $<30 \text{ kg/m}^2$, fasting glucose $<100 \text{ mg/dl}$ and glucose levels $<140 \text{ mg/dl}$ two hours after a 75-g oral glucose load. Breast-feeding women and those with systemic arterial hypertension (SAH), hyper- or hypothyroidism or kidney failure, women who had undergone organ transplantation, those with PCOS, acanthosis nigricans, hirsutism and/or hyperandrogenism were excluded. Other exclusion criteria consisted of the use of certain drugs (corticosteroids, antipsychotics, thiazides and statins), a history of bariatric surgery and first-degree family members with DM1 or 2.

Of 290 potential candidates for the study, only 72 women met all the inclusion criteria. Of these, 50 women were submitted to HEC and three were excluded following the procedure, one because of hypothyroidism, one due to problems with intravenous access during clamp and one because she was using a levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS). The data from 47 women submitted to HEC with the insulin infusion rate of $40 \text{ mU/m}^2/\text{minute}$ were

used in this study (DeFronzo *et al.*, 1979). All the women using a contraceptive method were using combination methods distributed within the Brazilian public healthcare sector: a combined oral contraceptive (COC) containing 0.15 mg of levonorgestrel and 0.03 mg of ethinylestradiol or a monthly injectable contraceptive containing 25.0 mg of medroxyprogesterone acetate and 5.0 mg of estradiol cypionate. No financial incentive of any kind was given to these volunteers.

The same investigator applied a questionnaire and took all the measurements. The women were asked about their ethnicity (white/non-white) and schooling (≤ 8 / > 8 years). Economic class was determined in accordance with mean gross household income and classified as A (US\$5,147.9–3,719.7), B (US\$2,131.8–1,191.0), C (US\$654.2–431.3), D (US\$304.9) or E (US\$186.0) according to the Brazilian Market Research Association's definitions of social class (ABEP, 2011). The questionnaire assessed the women's smoking habits [Yes: current smoker (smoked ≥ 100 cigarettes during her lifetime and was still smoking) / No: former smoker (smoked ≥ 100 cigarettes during her lifetime and stopped) or never smoked (< 100 cigarettes during her lifetime)] (Ford *et al.*, 2005). Drinking habits were defined according to whether or not the woman consumed one or more units of alcohol per month (beer, 300 ml; wine, 120 ml; or distilled alcohol, 30ml) (Ford *et al.*, 2005). The women were classified as physically active (if they performed aerobic exercise ≥ 150 minutes/week) or inactive (not performing aerobic exercise at all or for < 150 min/week), according to their self-report. Body composition was estimated using a dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) densitometer (Lunar DPX; GE Healthcare, Madison, WI, USA). The coefficients

of variation for measurements of lean body mass and fat mass by DXA were 0.7% and 0.97%, respectively.

Glucose uptake (M value) during clamp steady-state (mg/kg/min) was determined, with a cut-off limit of $M < 4$ for a diagnosis of IR. Homeostasis Model Assessment (HOMA) was used to measure IR [$\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin (mU/L)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$] and insulin secretion { $\text{HOMA beta-cell function} = (20 \times \text{fasting insulin [mU/L]} / (\text{fasting glucose [mmol/L]} - 35))$ } (Matthews *et al.*, 1985). Each woman was asked to provide a three days dietary recall (Thompson and Byers, 1994) prior to the study and her total energy intake (kcal/24 hours) was calculated using a specific program (DietWin Professional®, version 5.1, Porto Alegre, Brazil).

The variables evaluated in this study were the woman's sociodemographic characteristics, number of pregnancies, number of living children, current contraceptive method used (combined hormonal/non-hormonal), time of use of contraceptive method (≤ 1 year/ > 1 year), weight, BMI and body composition. Biochemical variables included total cholesterol (mg/dl), HDL-cholesterol and total triglyceride levels [third-generation enzymatic colorimetric method, cholesterol oxidase-phenol aminophenazone (CHOD-PAP) and glycerophosphate oxidase-phenol aminophenazone (GPO-PAP)] (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, calculated using the Friedewald equation [$\text{LDL-cholesterol mg/dL} = \text{total cholesterol-HDL-cholesterol} - (\text{triglycerides}/5)$], fasting glucose (mg/dl) and fasting insulin (chemiluminescence enzyme immunoassay, accurate at over 2 $\mu\text{IU/mL}$ (Siemens®, Llanberis, United Kingdom), HOMA-IR, HOMA beta-cell function, and M value ($< 4/ \geq 4$) were also evaluated. In addition,

blood pressure (mmHg) was measured in the dorsal decubitus position after a 20-minute resting period.

The hyperinsulinemic-euglycemic clamp (HEC) technique

In accordance with DeFronzo *et al.* (1979), the procedure was performed after 12 hours' fasting and was conducted as follows: a baseline period of 120 minutes, an experimental period of insulin infusion for 120 minutes (the interval between 60 and 120 minutes was considered the "steady-state" or clamp) and a 60-minute observation period after the insulin infusion was finished.

Three-way catheters were inserted in two peripheral veins, one in the antecubital vein in the retrograde direction, with the woman's hand in a warm box heated to 50-60°C (McGuire *et al.*, 1976), and the other in the forearm, close to the elbow, maintaining the 10% heparin solution to preserve permeability. An infusion pump delivering fractions with accuracy of one decimal place was used (AVI syringe pump, model 600, 3M Health Care, Minneapolis, MN, USA) to maintain insulin levels at 40 mU/m²/min. The insulin infusion was maintained at 45.6 ml/hour at 0-4 minutes, 22.8 ml/hour at 4-7 minutes and a constant infusion of 11.4 ml/hour thereafter until completing 120 minutes of clamp. A 10% glucose solution was delivered by an infusion pump (AVI 270, 3M Health Care, USA), administered simultaneously with insulin at doses of 1.0 mg of glucose/kg/minute (0-4 minutes), 1.5 mg/kg/minute (4-7 minutes) and 2.0 mg/kg/minute (7-10 minutes). Glucose was measured using a YSI 2300-Stat glucometer (YSI, Yellow Springs, OH, USA) at 5-10-minute intervals in 1 ml blood samples to

adjust infusion, maintaining blood glucose levels close to the mean of the baseline measurements ($\pm 10\%$). Blood samples were taken at 30, 60, 90 and 120 minutes for biochemical and insulin measurements.

Statistical Analysis

The women were distributed into groups according to whether they were using a hormonal or non-hormonal contraceptive method and, later, into other analysis groups depending on whether or not they were found to have IR. The chi-square test was used with correction for continuity, as well as Fisher's exact test. Means and standard deviations (SD) of the variables related to biochemical and anthropometric values, blood pressure levels and total energy intake were analyzed. The Mann-Whitney test was applied and multiple linear regression analysis was performed to evaluate the effect on M values.

Results

The distribution of the 47 women according to the type of contraceptive method they were using is shown in Table 1. Of the 16 users of hormonal contraception, 10 were using combined oral contraceptives (COC) and 6 were using the injectable contraceptive. A further 31 women were using a non-hormonal method such as tubal ligation, sexual abstinence, the condom or vasectomy.

There were no differences in the sociodemographic characteristics or in lifestyle habits between the two groups; however, the mean number of children in the

group of users of hormonal contraceptive methods was lower than that of the users of non-hormonal methods. Nine women (19%) had IR, a prevalence that was significantly higher in the group of users of hormonal contraceptive methods compared to the group of non-hormonal contraceptive users (Table 1).

There were no differences between the groups with respect to blood pressure, total energy intake, lipid parameters, fasting glucose or insulin measurements, HOMA-IR, HOMA beta-cell function or in M values. The only body composition measurement for which a statistically significant difference was found was the quantity of lean mass, which was greater in the group of hormonal contraceptive users (Table II).

Table III compares the women according to whether or not they had IR. The women with IR were significantly heavier, with higher values of BMI, percentage of fat mass, hip-to-waist ratio, triglyceride and fasting insulin levels, HOMA-IR and HOMA beta-cell function (Table III).

Following multiple linear regression analysis, the variables associated with a trend towards lower M values were: being a nulligravida, time of use of the contraceptive method > 1 year and higher triglyceride levels (Table IV).

Discussion

This study found a prevalence of 19% of insulin resistance in young non-obese women with normal glucose tolerance and no known predisposing factors for altered carbohydrate metabolism. This prevalence was slightly lower than that

reported in a study that evaluated 100 non-obese, 28-68 year-old individuals with normal OGTT. The sample consisted of 54 men and 46 women submitted to HEC and the prevalence of IR was 25% (Hollenbeck and Reaven, 1987). In that study, the women were not analyzed separately, the population was older, and there was no mention of polycystic ovary syndrome (PCOS) or the use of hormonal contraceptive methods or hormone therapy. Consequently, we had expected to find a much lower prevalence in the present study. Due to the restricted criteria used in the present study, the prevalence of IR found in this sample was surprising and considered high. It is possible that genetic predisposing factors for DM2 may be common in this population and not detectable from the family history and that this, together with unhealthy eating habits and a lack of physical exercise, may trigger early metabolic disorders in young women otherwise evaluated as healthy.

Glucose tolerance is maintained in individuals with IR through compensatory hyperinsulinemia. In these individuals, the beta-pancreatic cells increase insulin secretion to maintain glucose homeostasis (Reaven, 1988). Therefore, one in every five women in this study had IR and glucose tolerance at the expense of hyperinsulinemia. This group consisted of heavier women, with higher BMI, more central fat and higher triglyceride levels compared to the group of women without IR. These results correlate with reports in the literature on the adverse effects of hyperinsulinemia. It has been suggested that a higher BMI is the major factor associated with cardiovascular risk, together with central fat, which accounts for triglyceride accumulation (Hu, 2003; Ebbert & Jensen, 2013; Pataky *et al.*, 2013).

Of the factors associated with the trend towards a reduction in M values, the increase in triglycerides was an expected finding, compatible with the results from a study conducted with women of 18 to 45 years of age with IR whose triglyceride levels were found to be significantly higher than those of the controls (Carstens *et al.*, 2013). In healthy individuals, post-prandial hyperinsulinemia transitorily stimulates triglyceride secretion by the liver, whereas in individuals with IR, triglyceride levels remain permanently high (Reaven, 1967; Reaven, 1988).

The finding of an association between IR and nulligravida women contrasts with data published in the literature. A history of multiple pregnancies and high parity are factors that have been associated with an increase in insulinemia and IR irrespective of the presence of obesity and the distribution of body fat (Kritz-Silverstein *et al.*, 1994). It is possible that the nulligravida women in this sample were those who had been using contraception (either hormonal or non-hormonal contraceptive methods) for longer periods of time and for this reason an association was found between both of these variables and a trend towards lower M values. At any rate, the type of contraceptive method used was not associated with IR.

Although studies have described the important role played by progesterone signaling in insulin release, the estrogen component also appears to exert an effect on IR (Sitruk-Ware & Nath, 2013). Some studies have shown that progestogen-only formulations have no effect on IR, possibly reinforcing the primary role of the estrogen component in aggravating glucose tolerance, with progesterone being confined to a merely modulating role (Godsland *et al.*, 1991; De Leo *et al.*, 2013). Although various studies have been conducted on

changes in carbohydrate metabolism and hormonal contraceptives, few used the HEC technique, which is considered the gold standard for a diagnosis of IR. A study conducted with HEC evaluated seven young, healthy women using a formulation containing 35 µg of ethinylestradiol and 2 mg of cyproterone acetate and found no deterioration in insulin sensitivity after 6 and 12 months of use of the method (Scheen *et al.*, 1993). Another study used HEC to evaluate seven women in use of a combined oral contraceptive containing 30 µg of ethinylestradiol and 150 µg of levonorgestrel and reported a reduction in M values after three months of use of the COC, with a return to baseline values at six months. That study showed that IR induced by the use of a COC may be transitory (Kasdorf & Kalkhoff, 1988).

In the present study, a higher prevalence of IR was found in the group of hormonal contraceptive users. The fact that there were fewer women in this group compared to the group of non-hormonal contraceptive users and that there were different modes of administration of the combined formulations may have contributed to a bias in the results, making it impossible to interpret the difference in the prevalence of IR between the groups. Nevertheless, the number of women with IR in this group was surprising, since these women were healthy and not in use of any medication except for the COC.

On the other hand, it is possible that being overweight and with a high percentage of abdominal fat may have been more important than the use of hormonal contraceptive methods in relation to the diagnosis of IR in this sample. Current evidence suggests that there are no great differences in the effect of

different contraceptives on carbohydrate metabolism in non-diabetic women (Lopez *et al.*, 2012).

Reaven proposed that IR could be the central cause of the etiology of DM2, of SAH and of coronary disease, and that these alterations together in the same individual would form an entity currently referred to as the metabolic syndrome (Reaven, 1988). Despite the slight differences in the proposed diagnosis criteria between the different associations and the World Health Organization, there is a consensus that losing weight and practicing physical exercise should be the primary intervention for the treatment of the metabolic syndrome and for inhibiting DM2 (Hu, 2003; Grundy *et al.*, 2004; Balkau *et al.*, 2008). In this study, two-thirds of the women reported being physically inactive, which could have contributed to the high prevalence of IR.

Sample size was a major limitation of this study and this can in part be attributed to the technique selected. The use of the clamp technique is limiting in any study. The strength of the study lies in the selection of the women, with strict inclusion criteria to prevent biases resulting from alterations already known to facilitate the development of IR. Consequently, one in every five women had IR, and the women with IR also had clinical signs that aided diagnosis, such as being overweight and having a high waist-to-hip ratio.

These findings should serve as an alert for healthcare professionals caring for young, healthy women. Counseling on a healthy diet, losing weight and practicing physical exercise regularly is essential and should be provided at every healthcare service.

Authors' Role

VM, GAB, ALS and PS were responsible for collecting the data and preparing this manuscript. AF, EJP and SMA were responsible for writing the study protocol and were involved in the data analysis and interpretation. LB conducted a critical review of the manuscript. All the authors contributed significantly to the intellectual content of the manuscript and all approved the final version submitted for publication.

Funding: This study received support from the Ministry of Health, the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the São Paulo Foundation for the Support of Research (FAPESP). In addition, the São Paulo State Health Department (SES-SP) provided funding through the Research for the National Health Service Initiative, PPSUS/2009, Brazil, under award #2009/53293-0.

Conflict of interest: None declared.

References

ABEP. [Brazilian Association of Research Companies]. [The Brazilian Economic Classification Criteria]. [cited 2011 May 2]. Available from: <http://www.abep.org/novo/Utils/FileGenerate.ashx?id=46>

Aydin K, Cinar N, Aksoy DY, Bozdog G, Yildiz BO. Body composition in lean women with polycystic ovary syndrome: effect of ethinyl estradiol and drospirenone combination. *Contraception* 2013;87:358-362.

Balkau B, Mhamdi L, Oppert JM, Nolan J, Golay A, Porcellati F, Laakso M, Ferrannini E; EGIR-RISC Study Group. Physical activity and insulin sensitivity: the RISC study. *Diabetes* 2008;57:2613-2618.

Cagnacci A, Ferrari S, Tirelli A, Zanin R, Volpe A. Insulin sensitivity and lipid metabolism with oral contraceptives containing chlormadinone acetate or desogestrel: a randomized trial. *Contraception* 2009;79:111-116.

Carstens MT, Goedecke JH, Dugas L, Evans J, Kroff J, Levitt NS, Lambert EV. Fasting substrate oxidation in relation to habitual dietary fat intake and insulin resistance in non-diabetic women: a case for metabolic flexibility? *Nutr Metab* 2013;10:8.

DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-E223.

De Leo V, Fruzzetti F, Musacchio MC, Scolaro V, Di Sabatino A, Morgante G. Effect of a new oral contraceptive with estradiol valerate/dienogest on carbohydrate metabolism. *Contraception* 2013;88:364-368.

Ebbert JO, Jensen MD. [Fat](#) depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients* 2013;5:498-508.

Ford ES, Kohl HW 3rd, Mokdad AH, Ajani UA. Sedentary behavior, physical activity, and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Obes Res* 2005;13:608-614.

Godsland IF, Walton C, Felton C, Proudler A, Patel A, Wynn V. Insulin resistance, secretion, and metabolism in users of oral contraceptives. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:64-70.

Golay A, Chen YD, Reaven GM. Effect of differences in glucose tolerance on insulin's ability to regulate carbohydrate and free fatty acid metabolism in obese individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:1081-1088.

Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433-438.

Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes* 1992;41:715-722.

Hills SA, Balkau B, Coppack SW, Dekker JM, Mari A, Natali A, Walker M, Ferrannini E; EGIR-RISC Study Group. The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and objectives. *Diabetologia* 2004;47:566-570.

Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1169-1173.

Hu FB. Overweight and obesity in women: health risks and consequences. *J Womens Health* 2003;12:163-172.

Kasdorf G, Kalkhoff RK. Prospective studies of insulin sensitivity in normal women receiving oral contraceptive agents. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:846-852.

Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Wingard DL, Friedlander NJ. Relation of pregnancy history to insulin levels in older, nondiabetic women. *Am J Epidemiol* 1994;140:375-382.

Lopez LM, Grimes DA, Schulz KF. Steroidal contraceptives: effect on carbohydrate metabolism in women without diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;4:CD006133.

Mastorakos G, Koliopoulos C, Deligeoroglou E, Diamanti-Kandarakis E, Creatsas G. Effects of two forms of combined oral contraceptives on carbohydrate metabolism in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006;85:420-427.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-419.

McGuire EA, Helderman JH, Tobin JD, Andres R, Berman M. Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. *J Appl Physiol* 1976;41:565-573.

Pataky Z, Golay A, Laville M, Disse E, Mitrakou A, Guidone C, Gabriel R, Bobbioni-Harsch E, [RISC Investigators](#). Fasting insulin at baseline influences the number of cardiometabolic risk factors and R-R interval at 3 years in a healthy population: The RISC Study. *Diabetes Metab* 2013;39:330-336.

Perlman JA, Russell-Briefel R, Ezzati T, Lieberknecht G. Oral glucose tolerance and the potency of contraceptive progestins. *J Chronic Dis* 1985;38:857-864.

Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW. Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1967;46:1756-1767.

Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607.

Reaven G. Insulin resistance and coronary heart disease in nondiabetic individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:1754-1759.

Rooij SR, Dekker JM, Kozakova M, Mitrakou A, Melander O, Gabriel R, Guidone C, Højlund K, Murphy MS, Nijpels G : [RISC Group Investigators](#). Fasting insulin has a stronger association with an adverse cardiometabolic risk profile than insulin resistance: the RISC study. *Eur J Endocrinol* 2009;161:223-230.

Scheen AJ, Jandrain BJ, Humblet DM, Jaminet CB, Gaspard UJ, Lefèbvre PJ. Effects of a 1-year treatment with a low-dose combined oral contraceptive containing ethinyl estradiol and cyproterone acetate on glucose and insulin metabolism. *Fertil Steril* 1993;59:797-802.

Sitruk-Ware R, Nath A. Characteristics and metabolic effects of estrogen and progestins contained in oral contraceptive pills. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27:13-24.

Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 1994;124 (11Suppl):2245S-2317S.

World Health Organization. *Global recommendations on physical activity for health*. 2011. WHO, Geneva.

Table I. Selected characteristics of the users of hormonal and non-hormonal contraceptive methods.

Characteristics	Hormonal n=16 n (%)	Non-hormonal n=31 n (%)	p-value
Mean age (SD)	28.0 (5.3)	28.3 (6.1)	0.8748 ^a
Ethnicity			
White	7 (43.7)	13 (41.9)	0.9051 ^b
Non-white	9 (56.2)	18 (58.1)	
Schooling			
≤ 8 years	6 (37.5)	13 (41.9)	0.7691 ^b
> 8 years	10 (62.5)	18 (58.0)	
Socioeconomic class			
A and B	5 (33.3)	13 (44.8)	0.4623 ^b
C, D and E	10 (66.6)	16 (55.1)	
Physical activity			
Yes	5 (31.2)	10 (32.2)	0.9440 ^b
No	11 (68.7)	21 (67.7)	
Smoking			
Yes	2 (12.5)	3 (9.7)	1.0000 ^c
No	14 (87.5)	28 (90.3)	
Alcohol consumption			
Yes	4 (25.0)	7 (22.6)	1.0000 ^c
No	12 (75.0)	24 (77.4)	
Mean number of pregnancies (SD)	1.0 (1.4)	1.8 (1.3)	0.0624 ^a
Mean number of living children (SD)	1.0 (1.3)	1.6 (1.1)	0.0758 ^a
Time of use of the method			
≤ 1 year	6 (37.5)	6 (19.3)	0.2893 ^c
> 1 year	10 (62.5)	25 (80.6)	
Insulin resistance			
Yes	6 (37.5)	3 (9.7)	0.0454 ^c
No	10 (62.5)	28 (90.3)	

SD: standard deviation. ^a Mann-Whitney test. ^b Chi-square with correction for continuity. ^c Fisher's exact test.

Table II. Anthropometric and biochemical variables and blood pressure in the groups of users of hormonal and non-hormonal contraceptive methods (mean $\pm$ SD).

Variables	Hormonal n=16 n (%)	Non-hormonal n=31 n (%)	p-value ^a
<i>Anthropometric variables</i>			
Weight	61.7 (8.7)	61.2 (7.7)	0.7026
BMI	23.6 (3.5)	24.5 (2.8)	0.3178
Total mass	60.5 (8.3)	59.8 (7.6)	0.6861
Fat mass	21.7 (8.6)	22.9 (5.3)	0.3515
% fat mass	36.0 (9.5)	39.6 (5.8)	0.1743
Lean mass	36.6 (3.7)	34.3 (4.0)	0.0027
% lean mass	64.0 (9.5)	60.3 (5.8)	0.1743
Waist-to-hip ratio	0.82 (0.1)	0.83 (0.1)	0.7275
<i>Biochemical variables</i>			
Total cholesterol (mg/dl)	170.4 (41.0)	161.9 (31.6)	0.7467
HDL (mg/dl)	48.4 (13.7)	49.1 (10.7)	0.7205
LDL (mg/dl)	106.7 (31.7)	97.1 (31.3)	0.5258
Triglycerides (mg/dl)	78.2 (39.2)	70.8 (25.7)	0.7380
Fasting glucose (mg/dl)	80.0 (6.1)	82.3 (6.6)	0.3111
Fasting insulin (uUI/ml)	5.6 (4.8)	3.63 (2.3)	0.1806
HOMA-IR	1.13 (1.05)	0.74 (0.5)	0.3013
HOMA beta-cell function	145.7 (185.1)	76.2 (66.1)	0.0622
M value	4.9 (1.9)	5.8 (1.2)	0.1816
Systolic blood pressure	103.7 (12.6)	106.3 (10.6)	0.6926
Diastolic blood pressure	65.3 (10.9)	69.0 (8.8)	0.2611
Total energy intake	1717.4 (545.6)	1758.2 (1630.0)	0.2476

SD: standard deviation, ^a Mann-Whitney test.

Table III. Anthropometric and biochemical variables and blood pressure in the groups of women with and without insulin resistance (M value < 4) (mean $\pm$ SD).

Variables	M value		p-value ^a
	< 4 n=9	≥ 4 n=38	
<i>Anthropometric variables</i>			
Weight	66.3 (7.1)	60.1 (7.8)	0.0468
BMI	26.4 (3.0)	23.6 (2.9)	0.0240
Total mass	64.5 (7.0)	59.0 (7.7)	0.0659
Fat mass	28.2 (6.1)	21.1 (6.0)	0.0084
% fat mass	44.5 (4.8)	36.9 (7.2)	0.0028
Lean mass	34.2 (3.0)	35.2 (4.2)	0.5077
% lean mass	55.5 (4.8)	63.0 (7.2)	0.0028
Waist-to-hip ratio	0.9 (0.1)	0.8 (0.1)	0.0255
<i>Biochemical variables</i>			
Total cholesterol (mg/dl)	172.6 (34.6)	162.9 (35.2)	0.4299
HDL (mg/dl)	48.8 (16.2)	48.1 (10.6)	0.7394
LDL (mg/dl)	104.9 (23.7)	99.4 (33.3)	0.5891
Triglycerides (mg/dl)	98.0 (43.7)	67.4 (24.0)	0.0404
Fasting glucose (mg/dl)	83.0 (7.2)	81.2 (6.4)	0.6645
Fasting insulin (uUI/ml)	7.4 (5.5)	3.5 (2.3)	0.0073
HOMA-IR	1.5 (1.2)	0.7 (0.4)	0.0080
HOMA beta-cell function	147.5 (104.5)	88.6 (125.5)	0.0482
Mean number of pregnancies (SD)	0.56 (0.88)	1.79 (1.36)	0.0121
Mean number of living children (SD)	0.44 (0.73)	1.61 (1.2)	0.0086
Systolic blood pressure	107.8 (13.0)	104.8 (10.9)	0.3802
Diastolic blood pressure	71.1 (11.6)	67.0 (9.1)	0.2830
Total energy intake (kcal)	1277.56 (356.4)	1854.9 (1477.3)	0.0812

SD: standard deviation. ^aMann-Whitney test.

Table IV. Multiple linear analysis for variables associated with a lower M value

Associated Variables	Coefficient (SE)	p-value
<i>Lowest value of M</i>		
Nulligravidas	10.69 (5.17)	0.004
Time of contraceptive use >1 year	9.18 (3.74)	0.018
Triglycerides	- 0.15 (0.05)	0.008

Variables assessed: age (years), weight (kg), BMI (< 25 / ≥ 25 kg/m²), physical activity (yes/no), total energy intake (kcal), number of pregnancies (0 / ≥ 1), contraceptive method (hormonal / non hormonal), duration of use of the contraceptive (≤ 1 year / > 1 year), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, fasting glucose, fasting insulin, HOMA-IR and HOMA beta-cell function.

5. Conclusões

- A prevalência de RI nesta coorte de mulheres saudáveis em período reprodutivo foi de 19,1%.
- Mais da metade das mulheres pertenciam à classe econômica C ou menor, eram não brancas e tinham escolaridade ≥ 8 anos. A maior parte da amostra era não tabagista e nãoetilista. Dois terços das mulheres eram fisicamente não ativas e tinham antecedente de pelo menos uma gestação e um filho vivo.
- Entre as mulheres usuárias de MAC hormonal houve maior prevalência de RI (37,5%) quando comparadas com as usuárias de MAC não hormonal (9,7%) e a diferença foi significativa. Entretanto, esse resultado deve ser interpretado com cuidado devido ao menor número de mulheres usuárias de MAC hormonal na amostra estudada. As mulheres usuárias de MAC hormonal apresentaram maior quantidade de massa magra pelo DXA quando comparadas com as de MAC não hormonal.
- As mulheres com RI apresentaram menor número de filhos vivos e menor número de gestações em relação às mulheres sem RI.
- Os valores de peso, IMC, massa e percentagem de massa gorda, razão A/G, triglicérides, insulina de jejum, HOMA IR e HOMA Bc foram significativamente maiores no grupo com RI. A tendência à diminuição do valor de M foi associada ao antecedente de nenhuma gestação, ao uso de MAC >1 ano e a maior concentração de triglicérides séricos.

6. Referências Bibliográficas

1. Levy-Marchal C, Arslanian S, Cutfield W, Sinaiko A, Druet C, Marcovecchio ML et al. Insulin resistance in children: consensus, perspective and future directions. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(12):5189-98.
2. Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-607.
3. Miranda PJ, DeFronzo RA, Califf RM, Guyton JR. Metabolic syndrome: definition, pathophysiology and mechanisms. *Am Heart J.* 2005; 149(1): 33-45.
4. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979; 237(3): E214-23.
5. Geloneze B, Tambascia MA. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006; 50(2): 208-15.
6. Tuzcu A, Yalaki S, Arikan S, Gokalp D, Bahcec M, Tuzcu S. Pituitary. 2009; 12: 330-4.
7. Wajchenberg BL, Santomauro ATMG, Nery M, Santos RF, Silva MELR, Ursich MJM et al. Resistência à insulina: métodos diagnósticos e fatores que influenciam a ação da insulina. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 1999; 43 (2):76-85.

8. Tam CS, Xie W, Johnson WD, Cefalu WT, Redman LM, Ravussin E. Defining insulin resistance from hyperinsulinemic-euglycemic clamps. *Diabetes Care*. 2012; 35(7):1605-10.
9. Venkataraman K, Khoo CM, Leow MK, Khoo EY, Isaac AV, Zagorodnov V et al. New Measure of Insulin Sensitivity Predicts Cardiovascular Disease Better than HOMA Estimated Insulin Resistance. *PLoS One*. 2013;30;8(9):e74410.
10. Bergman RN, Hope ID, Yang YJ, Watanabe RM, Meador MA, Youn JH, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo: a critical review. *Diabetes Metab Rev*. 1989; (5):411-29.
11. Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987; 64(6):1169-73.
12. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol*. 2010; 2010:476279.
13. Norris JM, Rich SS. Genetics of glucose homeostasis: implications for insulin resistance and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(9):2091-6.
14. Ye J. Role of insulin in the pathogenesis of free fatty acid-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2007;7(1):65-74.
15. Sitruk-Ware R, Nath A. Characteristics and metabolic effects of estrogen and progestins contained in oral contraceptive pills. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013; 27(1):13-24.
16. Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW. Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*. 1967 Nov;46(11):1756-67.

17. Hu FB. Overweight and obesity in women: health risks and consequences. *J Womens Health*. 2003;12(2):163-72.
18. Capasso I, Esposito E, Pentimalli F, Montella M, Crispo A, Maurea N et al. Homeostasis model assessment to detect insulin resistance and identify pacientes at high risk of breast cancer development: National Cancer Institute of Naples experience. *J Exp Clin Cancer Res*. 2013; (32): 1-6.
19. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest*. 1997;100(5):1166-73.
20. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(5):367-77.
21. Shaw KA, Edelman AB. Obesity and oral contraceptives: a clinician's guide. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013;27(1):55-65.
22. Azarbad L, Gonder-Frederick L. Obesity in Women. *Psychiatr Clin N Am*. 2010; (33): 423–440.
23. Godsland IF, Crook D, Wynn V. Clinical and metabolic considerations of long-term oral contraceptive use. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; (166): 1955-63.
24. Samaranayake NR, Ong KL, Leung RYH, Cheung BM. Management of Obesity in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2007–2008. *Ann Epidemiol*. 2012; (22): 349–353.
25. Carstens MT, Goedecke JH, Dugas L, Evans J, Kroff J, Levitt NS et al. Fasting substrate oxidation in relation to habitual dietary fat intake and insulin resistance in non-diabetic women: a case for metabolic flexibility? *Nutr Metab*. 2013; (10): 1-8.

26. Reaven GM. Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease. *Med Clin N Am.* 2011; (95): 875-92. *J Clin Invest.* 1967; 46(11):1756-67.
27. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation.* 2004; 109(3):433-8.
28. Balkau B, Mhamdi L, Oppert JM, Nolan J, Golay A, Porcellati F et al. EGIR-RISC Study Group. Physical activity and insulin sensitivity: the RISC study. *Diabetes.* 2008; 57(10):2613-8.
29. Hills SA, Balkau B, Coppack SW, Dekker JM, Mari A, Natali A et al. The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and objectives. *Diabetologia.* 2004;47(3):566-70.
30. Pataky Z, Golay A, Laville M, Disse E, Mitrakou A, Guidone C et al. Fasting insulin at baseline influences the number of cardiometabolic risk factors and R-R interval at 3years in a healthy population: The RISC Study. *Diabetes Metab.* 2013; 39(4):330-6.
31. Kirchengast S, Huber J. Body composition characteristics and fat distribution patterns in young infertile women. *Fertil Steril.* 2004;81(3):539-44.
32. Aydin K, Cinar N, Aksoy DY, Bozdog G, Yildiz BO. Body composition in lean women with polycystic ovary syndrome: effect of ethinyl estradiol and drospirenone combination. *Contraception.* 2013; 87(3):358-62.
33. Mastorakos G, Koliopoulos C, Deligeoroglou E, Diamanti-Kandarakis E, Creatsas G. Effects of two forms of combined oral contraceptives on carbohydrate metabolism in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2006; 85(2):420-7.

34. Skouby SO. Hormonal contraception in obesity, the metabolic syndrome, and diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1205:240-4.
35. Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E, Wingard DL, Friedlander NJ. Relation of pregnancy history to insulin levels in older, nondiabetic women. *Am J Epidemiol* 1994; 140:375-382.
36. Kasdorf G, Kalkhoff RK. Prospective studies of insulin sensitivity in normal women receiving oral contraceptive agents. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 66(4):846-52.
37. Spellacy WN, Ellingson AB, Tsibris JC. The effects of two triphasic oral contraceptives on carbohydrate metabolism in women during 1 year of use. *Fertil Steril.* 1989; 51(1):71-4.
38. Perlman JA, Russell-Briefel R, Ezzati T, Lieberknecht G. Oral glucose tolerance and the potency of contraceptive progestins. *J Chronic Dis.* 1985; 38(10):857-64.
39. Godsland IF, Walton C, Felton C, Proudler A, Patel A, Wynn V. Insulin resistance, secretion, and metabolism in users of oral contraceptives. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74(1):64-70.
40. Cagnacci A, Ferrari S, Tirelli A, Zanin R, Volpe A. Insulin sensitivity and lipid metabolism with oral contraceptives containing chlormadinone acetate or desogestrel: a randomized trial. *Contraception.* 2009; 79(2):111-6.
41. Clausen JO, Borch-Johnsen K, Ibsen H, Bergman RN, Hougaard P, Winther K et al. Insulin sensitivity index, acute insulin response, and glucose effectiveness in a population-based sample of 380 young healthy Caucasians. Analysis of the impact of gender, body fat, physical fitness, and life-style factors. *J Clin Invest.* 1996; 98(5):1195-209.

42. Clausen JO, Borch-Johnsen K, Pedersen O. Relation between birth weight and the insulin sensitivity index in a population sample of 331 young, healthy Caucasians. *Am J Epidemiol.* 1997; 146(1):23-31.
43. Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr.* 1994;124(11Suppl):2245S-2317S.
44. ABEP. [Brazilian Association of Research Companies]. [The Brazilian Economic Classification Criteria]. Available at <http://www.abep.org/novo/Utils/FileGenerate.ashx?id=46> Accessed on: 2 May 2011.
45. Ford ES, Kohl HW, Mokdad AH, Ajani UA. Sedentary behavior, physical activity, and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Obes Res.* 2005;13(3):608-14.
46. World Health Organization. Global recommendations on physical activity for health. Geneva: WHO, 2011.
47. Kelly TL, Wilson KE, Heymsfield SB. Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. *PLoS One.* 2009;4(9):e7038. doi: 10.1371/journal.pone.0007038.
48. McGuire EAH, Heldermaun JH, Tobin JD, Andres R, Berman M. Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. *J Appl Physio.* 1976, 41: 1312-18.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

“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”

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

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

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

Quem não deve participar do estudo: mulheres com diabetes, as que tiverem mãe, pai ou filhos com diabetes. Mulheres com hipertensão, hiper e hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, transplantadas de qualquer órgão, portadoras de Ovário Policístico e mulheres que estejam usando os seguintes medicamentos: corticoesteroides, antipsicóticos,

tiazídicos e estatinas. ou com glicemia de jejum $\geq 100\text{mg/dl}$. As mulheres que fizeram cirurgia bariátrica.

Procedimentos do estudo: você deverá comparecer ao primeiro dia agendado, em jejum de 12 horas. Serão verificados pressão arterial, frequência cardíaca, peso, altura. Algumas perguntas sobre a sua saúde e tratamentos médicos realizados serão feitas. Uma veia do antebraço será puncionada para coleta de sangue em jejum. Logo depois você tomará um copo com solução de glicose de 75 mg. Após duas horas dessa tomada será coletada uma segunda amostra de sangue. Se todas as informações e os exames de sangue forem normais, você poderá participar do estudo. Então, serão anotadas as medidas da cintura, quadril, coxa, pescoço, pregas de gordura, será perguntado sobre sua alimentação e serão realizados dois exames: ultrassonografia (do abdome e dos vasos do pescoço e do braço) e a densitometria.

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

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

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

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

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

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

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

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

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador responsável

Campinas, ____/____/____

7.2. Anexo 2 – Ficha de Levantamento

AVALIAÇÃO DE CONSUMO ALIMENTAR, DE GASTOS ENERGÉTICOS E DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS DE USUÁRIAS DO ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA DE DEPÓSITO

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

() DEPO () CONTROLE

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Nome: _____ Número: _____

HC: _____ PF: _____

Escolaridade: () $\leq$ 8 anos () $>$ 8 anos Cor: () branca () não branca

Ant. Familiar: HAS () Não () Sim. Quem? _____

Ant. Familiar: DM tipo1/2 () Não () Sim. Quem? _____

Familiar: Obesidade () Não () Sim. Quem? _____

Retornos	BASAL	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses
	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
PESO (kg)					
ALTURA (m)		XXXXXXXX	XXXXXXXX	XXXXXXXX	XXXXXXXX
IMC (kg/m ²)					
PA(mm/Hg)					
Acantose		() Sim	() Sim	() Sim	() Sim
nigricans	Não	() Não	() Não	() Não	() Não

Retornos	BASAL	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses
	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
Circunferências (cm)					
PESCOÇO					
BRAÇO					
CINTURA					
QUADRIL					
COXA					
RELAÇÃO C/Q					
Prega cutânea (mm)					
TRICIPITAL					
BICIPITAL					
SUPRAILÍACA					
ABDOMINAL					
SUBESCAPULAR					

Avaliação dos Hábitos

Retornos	BASAL	3 Meses	6 Meses	9 Meses	12 Meses
Consumo- Hábito/sem	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
TABAGISMO					
Não fumante					
Fumante					
Ex-fumante					
ETILISMO					
< 1 dose					
1-5 doses					
>5 doses					
ATIVIDADE FÍSICA/sem					
Sedentário					
Regular <150'					
Intensa $\geq$ 150'					
μ INGESTA CALÓRICA DIÁRIA (Kcal)					
GEB					
GET					

REGISTRO ALIMENTAR

Horários	Alimentos (Quantidade: Medidas Caseiras)

7.3. Anexo 3 – Ficha de Levantamento Composição Corporal – DXA

DISTRIBUIÇÃO CORPORAL –DEXA										
Nome:							H.C:		P.F.:	
	Tecido (%gordura)		Massa Total (Kg)		Tecido (g)		Gordo (g)		Magro (g)	
	Baseline	12m	Baseline	12m	Baseline	12m	Baseline	12m	Baseline	12m
	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___
Braços										
Pernas										
Troncos										
Androide										
Ginecoide										

7.4. Anexo 4 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



CEP, 28/06/11.
(PARECER CEP: N° 903/2009)

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesqui

PARECER

I - IDENTIFICAÇÃO:

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

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Luis Bahamondes

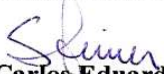
II – PARECER DO CEP.

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

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

III – DATA DA REUNIÃO.

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


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

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

7.5. Anexo 5 – Ficha do clamp euglicêmico hiperinsulinêmico

UNIDADE METABÓLICA - Med Interna, DCM, UNICAMP								Clamp euglicêmico Hiperinsulinêmico				
Nome				Data				Protocolo				
Peso		Altura		Tempo	[Glic]	Ajuste	Tempo Aj	Inf Rate	tempo	IR	IR+SC	M
Sup Corp		IMC		min	mg/dl	ml/h	min	mg/kg/min	min	mg/kg/min		
				Media bas								
Solução de		U insulina simples							0-20			
Insulina	3.0 ml	hemacel ou sangue		-120					20-40			
	47.0 ml	S. Fisiológico		-60					40-60			
				-30					60-80			
				-20					80-100			
Infusão cte	a = 1 mU/kg.min			0					100-120			
	ou 40mU/m2.min			4					120-180			
velocidade =	0.19ml/min			7					100-120			
Ins = ((a*50ml)/0.19ml)/1000				10					120-140			
				15					140-160			
				20					160-180			
Ins =		U		25					0-60			
				30					60-120			
0-4' = 4* velocidade infusão cte	45.6 ml/h			35					0-80			
4-7' = 2* velocidade infusão cte	22.8 ml/h			40					80-120			
7-180' = 1* velocidade infusão cte	11.4 ml/h			45					120-180			
1				50								
				55					I R	taxa de infusão de glic		
				60					S C	space correction = 0.125*(G1-G2) (mg/dl)		
Glicose				65								
1mg/kg/min = (peso/conc Sglic) * 60min				70					Urina basal			
(ml/h)				75					tempo	min		
conc SG 10% = 100mg/ml				80					volume	ml		
				85								
		Ajuste bomba		90					Urina clamp			
1.0 mg/kg/min =		ml/h		95					tempo	min		
1.5 mg/kg/min =		ml/h		100					volume	ml		
2.0 mg/kg/min =		ml/h		105								
2.5 mg/kg/min =		ml/h		110								
3.0 mg/kg/min =		ml/h		115					Observações:			
3.5 mg/kg/min =		ml/h		120								
4.0 mg/kg/min =		ml/h										