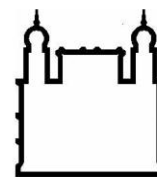




UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ



TESE DE DOUTORADO

**CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS UTILIZADOS POR
MULHERES NA BAHIA: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ALTERAÇÕES
CARDIOMETABÓLICAS E HEMOSTÁTICAS**

JÚNIA RAQUEL DUTRA FERREIRA

**Salvador – Bahia
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

**CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS UTILIZADOS POR
MULHERES NA BAHIA: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ALTERAÇÕES
CARDIOMETABÓLICAS E HEMOSTÁTICAS**

JÚNIA RAQUEL DUTRA FERREIRA

Orientadora: Prof^a Dr^a Marilda de Souza Gonçalves

Tese apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Patologia para
a obtenção do grau de Doutor.

**Salvador – Bahia
2016**

Título da Tese: "CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS UTILIZADOS POR MULHERES NA BAHIA: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ALTERAÇÕES CARDIOMETABÓLICAS E HEMOSTÁTICAS."

JUNIA RAQUEL DUTRA FERREIRA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 11 de agosto de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Olivia Lucia Nunes Costa
Professora Titular
UFBA



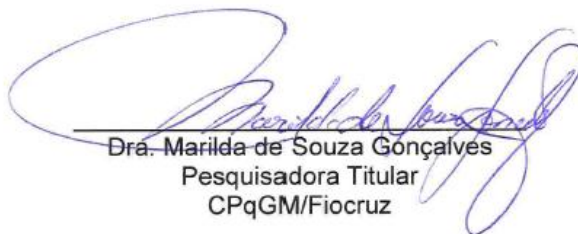
Dra. Ligia Gabrielli Fernandes
Pesquisadora
UFBA



Dr. Marco Aurelio Salvino de Araújo
Professor Adjunto
UFBA



Dra. Maria da Conceição C. de Almeida
Pesquisadora
CPqGM/Fiocruz



Dra. Marilda de Souza Gonçalves
Pesquisadora Titular
CPqGM/Fiocruz

Trabalho realizado no Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional (LHGB) - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM/Fiocruz-Ba) e no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia (UFBA), após aprovação do projeto de pesquisa no Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 08290812.0.0000.0040).

“Por trás de cada adversidade encontra-se um fragmento para a sua evolução”

Vinícius N. Moraes

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e a oportunidade de trilhar pelos caminhos da educação e da pesquisa. Obrigada por me fazer aprender com os meus acertos e erros e por me mostrar que cada pedra no caminho, ao invés de um obstáculo, é uma pausa para reflexão e seguir em frente!

À minha família, que são os amigos que Deus escolheu para mim! Pai, obrigada pelo exemplo de caráter e desapego, sempre no bom humor! Mãe, seu legado como educadora e seu amor aos livros deixou em mim marcas desafiadoras que me estimularam a questionar e buscar sempre a renovação do conhecimento. Sei que está colhendo comigo mais essa conquista, aonde quer que esteja. Aos meus queridos irmãos-amigos, presenças carinhosas e questionadoras, distâncias amenizadas pelas palavras queridas, obrigada pela força sempre! Aos tios e primos, em especial à tia Lenita, pelo carinho e cuidado, e ao tio Nilo, que perguntava sobre o desenvolvimento desse doutorado com um brilho especial nos olhos, acho que o senhor deve estar feliz com essa conquista!

Ao meu querido marido, Juninho: eu não tenho palavras para agradecer seu amor, compreensão, estímulo, esperança e por sempre manter a paciência e amenizar meus dramas, mostrando sempre o lado bom de tudo. Essa conquista é tão minha quanto sua! Agradeço ao sogro e sogra, por todo carinho e preocupação!

À minha orientadora, profa Marilda Gonçalves, minha enorme gratidão por me orientar nesta conquista! Agradeço a Deus por ter-me permitido cruzar seus caminhos e tornar-me mais uma de suas orientandas! Através de sua sabedoria, enquanto ser humano e pesquisadora, sabe sempre nos conduzir para o crescimento humano e científico, sempre primando pelo respeito ao próximo, pela dignidade e honestidade. Obrigada de coração, nossa mãe científica!

Sou muito grata também à minha co-orientadora Elisangela Adorno, que sempre esteve presente e de braços abertos, me norteando com sua sensatez, paz de espírito e palavras amigas. Obrigada por cada palavra e cada conselho, por sempre me estimular, além de toda a orientação e paciência!

Aos meus anjos sempre presentes Rayra Santiago, Caroline da Guarda e Milena Aleluia, minha enorme gratidão pelas horas a fio acompanhando o projeto, ajudando nos experimentos, nas estatísticas, nos artigos, na elaboração da tese,

sempre de uma forma divertida e esperançosa! Também compartilho essa conquista com vocês!

Aos meus anjos amigos que compartilharam meus momentos científicos, sempre dando uma mãozinha, me carregaram nos momentos de desilusão, mas também me divertiram com sua alegria, tornando a trajetória mais leve: Karina Mendes, Suellen Carvalho, Rodrigo Mota, Modeste Alexandre, Camylla Villas Boas, Jean Tadeu, Thassila Pitanga, Corynne Adanho, Luciana Fiuza, Sanzio Santana, Nathalie Veloso e Cleverson Fonseca. Obrigada pela colaboração e por me aguentarem nos momentos “high”! É muito bom participar das equipes do Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional/CPqGM/FIOCRUZ e do Laboratório Especializado em Anemias/Faculdade de Farmácia/UFBA junto com todos vocês! Agradeço também a Dalila Zanette, Vítor Maffili, Luiz Alcântara e Jaqueline Goes!

Às minhas orientandas desses quatro anos de doutorado que, junto comigo, executaram o projeto e sempre estiveram disponíveis, cuidando de cada detalhe: Carla Santos, Tuanny dos Anjos, Mirella Pinho, Larissa Castro, Jessica Ferreira e Luane Rocha.

Ao pessoal do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFBA, na pessoa da coordenadora Neci Matos, obrigada pela colaboração no projeto, em especial ao pessoal da Coleta e Recepção, da Hematologia, Bioquímica e Dilda!

Agradeço também à colaboração do pessoal do setor de Bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, ao Luís Carlos Araújo e Bárbara Mota, do Laboratório de Hematologia do Hemocentro da Bahia, à Arlete Lins Albuquerque e Hellen Azevedo, farmacêuticas bioquímicas do Laboratório de Análises Clínicas da Prefeitura de Salvador.

Aos queridos amigos Ana Leonor Godoy, Alaíse Guimarães, Maria Eugênia Mamede, Thaís Penaforte, Cynara Barbosa, Joelma Figueiredo, Cynthia Cajado, Silvana Paz, Soraia Cordeiro, Mara Spínola e José Antônio Meneses que sempre me fizeram acreditar e me acolheram nos momentos difíceis, obrigada pelo carinho!

Às minhas filhotas de quatro patas, Petit e Titita, obrigada pela alegria e por serem sempre minhas fiéis companheiras!

Ao Programa de Pós-graduação em Patologia Humana, agradeço pela oportunidade! Aos colegas da turma 2012.1, obrigada pela convivência e amizade!

Agradeço também aos serviços prestados pelos funcionários da Biblioteca de Ciências Biomédicas Eurydice Pires de Sant'Anna – CPqGM/FIOCRUZ.

A todos (gostaria de citar muita gente!) que colaboraram com essa conquista através de uma palavra amiga, de uma colaboração, de um conselho: muito obrigada!

E a todas as mulheres que participaram do projeto, minha enorme gratidão! Sem vocês, nada teria sido feito! Dedico a vocês a conclusão desse trabalho! Obrigada!

FERREIRA, Júnia Raquel Dutra. Contraceptivos orais combinados utilizados por mulheres na Bahia: perfil epidemiológico e alterações cardiometabólicas e hemostáticas. 156 f. il. Tese (Doutorado em Patologia) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2016.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os contraceptivos orais combinados (COCs) são mundialmente utilizados. Entretanto, apresentam efeitos desfavoráveis no metabolismo lipídico, glicêmico, em variáveis hemostáticas e níveis pressóricos relacionados à dose do componente estrogênico e ao tipo de progestina presente na formulação. Além disso, a condição de saúde e a predisposição genética da mulher que utiliza os COCs podem aumentar o risco cardiovascular e tromboembólico. **OBJETIVO:** Assim, o presente trabalho estudou mulheres em idade fértil, em uso de contraceptivos orais combinados, que utilizaram o serviço público de saúde na Bahia, através da avaliação de parâmetros cardiometabólicos e hemostáticos e considerando condições médicas pré-existentes. **MATERIAL E MÉTODOS:** A casuística foi composta por 609 mulheres que apresentaram idade entre 15 e 45 anos, onde 499 mulheres eram usuárias de COCs e 110 mulheres não utilizavam COCs há pelo menos dois anos. Todas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e responderam a um questionário sócio-econômico-demográfico, com dados sobre a saúde reprodutiva e o uso de COCs e tiveram a pressão arterial (PA) aferida, bem como o peso e altura e cálculo do índice de massa corporal (IMC). Além disso, foram realizadas análises de marcadores inflamatórios, hematológicos, bioquímicos, perfil hemostático, perfil de hemoglobinas e metabólitos do óxido nítrico (NO). **RESULTADOS:** Em relação aos COCs, o uso de formulações contendo 20-30 µg de etinilestradiol e 100-250 µg de levonorgestrel foi descrito por 43,7% das mulheres; no geral, a população estudada era predominantemente constituída de mulheres negras e pardas; a maioria declarou ser de baixa renda e ter concluído o ensino médio. Entre as mulheres que utilizavam COCs, 14,2% tinham pelo menos uma contraindicação para o seu uso, onde hipertensão foi a mais frequente (10,6%), seguida de hábito de fumar acima dos 35 anos (2,4%). Além disso, 1,2% das mulheres apresentaram duas ou mais contraindicações para o uso de COCs. Contraindicações de categoria 3, onde os riscos são considerados maiores que os benefícios, foram observadas em 9,8% das mulheres que utilizavam COCs e categoria 4, condição em que os COCs são contraindicados, foi observada em 3,2%. Em relação ao uso de COCs, a obesidade e as alterações nos parâmetros cardiometabólicos, verificou-se que estes fatores estavam associados ao aumento da pressão sistólica ($p \leq 0,001$), diastólica ($p = 0,001$), colesterol total ($p = 0,008$), lipoproteína de baixa densidade ($p \leq 0,001$), lipoproteína de muito baixa densidade ($p \leq 0,001$), triglicerídeos ($p \leq 0,001$), proteína C reativa (PCR) ($p \leq 0,001$) e metabólitos do NO ($p \leq 0,001$) e concentrações diminuídas de lipoproteína de alta densidade (HDL) ($p \leq 0,001$). Entretanto, somente os níveis de PCR e HDL apresentaram relevância clínica, os quais são descritos como marcadores associados ao risco cardiovascular. O uso de COCs foi independentemente associado a concentrações diminuídas de HDL, principalmente aqueles de 2ª geração de progestinas ($p < 0,001$; OR=8,976; 95% CI 2,786-28,914). **CONCLUSÕES:** A avaliação dos parâmetros hematológicos e cardiometabólicos em mulheres portadoras de hemoglobinas (Hb) variantes e usuárias de COCs demonstrou aumentos relevantes nos níveis de PCR em mulheres com HbSC e HbAC os quais parecem estar associados aos diferentes

tipos de progestinas presentes nas formulações dos COCs. Além disso, o uso de COCs parece estar associado com diminuição nos níveis de HDL em mulheres HbAC, embora clinicamente irrelevantes. Por outro lado, os níveis de D-dímero estiveram elevados em todas as mulheres portadoras de Hb variantes, independente do uso de COCs. Desta forma, o acompanhamento clínico e laboratorial, considerando o tipo de formulação de COCs prescrita e o histórico familiar, bem como as características médicas relevantes são investigações importantes que devem ser levadas em conta para se evitar desfechos indesejáveis para essas mulheres.

Palavras-chave: Contraceptivos orais combinados; Contraindicações, Tromboembolismo venoso; DCV; Obesidade, Hemoglobinas variantes.

FERREIRA, Junia Raquel Dutra. Combined oral contraceptives used by women in Bahia: epidemiological profile and cardiometabolic and hemostatic alterations. 156 f. il. Thesis (Ph.D. in Pathology) - Oswaldo Cruz Foundation, Gonçalo Moniz Institute, Salvador, 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND: Combined oral contraceptives (COCs) are used worldwide. However, those methods present undesirable effects on lipid and glucose metabolism, in hemostatic parameters and blood pressure related to the dose of the estrogen component and the progestin type present in the formulation. In addition, health condition and genetic predisposition of the woman using COCs may increase the cardiovascular and thromboembolic risk. **OBJECTIVE:** The aim of this study was to evaluate reproductive-age women COCs users in Bahia, considering pre-existent medical conditions and the associations with cardiometabolic and hemostatic parameters. **METHOD:** This sample consisted of 609 women with age of 15 to 45 years old. Of the total participants, 504 women were COC users and 110 were women who did not use COCs for at least two years. All women signed the informed consent and answered a socio-economic-demographic questionnaire emphasizing data on reproductive health and the use of COCs. All the participants had their blood pressure (BP) measured, as well as weight and height in order to calculate the body mass index (BMI). Besides, we performed the inflammatory, hematological and biochemical markers, hemostatic profile, hemoglobin profile and nitric oxide metabolites (NOm). **RESULTS:** Among the women COCs users, we identified that low dose of ethinylestradiol and levonorgestrel were reported in 43.7% of them. Overall, the women were, predominantly, black and brown (with race admixture); most of them reported low income and concluded the high school. Among all COCs users, 14.2% had at least one contraindication to COCs: hypertension was the most frequent (10.6%) followed by smoking age ≥ 35 years (2.4%). Also, 1.2% of women had two or more contraindications to COCs. Category 3 contraindications, a condition which the risks usually outweigh the advantages of using the method, were observed in 9.8% of all COCs users, and category 4 contraindications, a condition which represents an unacceptable health risk if a contraceptive method is used, were reported by 3.2%. When we verified the cardiometabolic parameters associated to obesity and contraceptive use, we observed that COCs use and obesity were associated with increased systolic ($P \leq 0.001$) and diastolic BP ($P = 0.001$); blood glucose ($P \leq 0.001$), total cholesterol ($P = 0.008$), low density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$), very low density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$), triglycerides ($P \leq 0.001$), CRP ($P \leq 0.001$) and NOm ($P \leq 0.001$), and decreased high density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$) level. However, only CRP and HDL-c levels were considered as clinically relevant, which are reported as markers associated with cardiovascular risk. COCs use was independently associated with low levels of HDL-c, especially 2nd generation progestins ($P < 0.001$; OR=8.976; 95% CI 2.786-28.914). **CONCLUSIONS:** The evaluation of hematological and cardiometabolic parameters in women carriers of different Hb variants COCs users showed significant differences. We observed relevant increases in CRP levels in HbSC and HbAC women that seem to be associated with different types of progestins present in COCs formulations. In addition, COCs use seems to be associated with decreased HDL-c levels in HbAC

women, although clinically irrelevant. Otherwise, D-dimer levels were increased in all women with Hb variants, independently of COCs use. Thus, the clinical and laboratory follow up, considering the prescription of COCs formulation, the familiar history as well as the medically relevant characteristic should be taken into account in order to avoid undesirable outcomes for reproductive-age women.

Key words: Combined oral contraceptives; Contraindications; Venous thromboembolism; Cardiovascular disease; Obesity, Hemoglobins variants.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17 β E2	17 β estradiol
AF	Anemia falciforme
AVC	Acidente vascular cerebral
CO	Contraceptivos orais
COC	Contraceptivos orais combinados
CPT	Ciproterona
DCV	Doença cardiovascular
DIE	Dienogest
DRSP	Drospirenona
DSG	Desogestrel
E2	Estradiol
E2/NOMAC	17 β -estradiol e acetato de nomegestrol
E2V	Valerato de estradiol
EE	Etinilestradiol
EE/CPT	Etinilestradiol e ciproterona
EE/DRSP	Etinilestradiol e drospirenona
EE/DSG	Etinilestradiol e desogestrel
EE/GSD	Etinilestradiol e gestodeno
EE/LNG	Etinilestradiol e levonorgestrel
EE/NET	Etinilestradiol e noretindrona
eNOS	Óxido nítrico sintase (do inglês <i>nitric oxide sintase</i>)
EST/DIE	Etinilestradiol e dienogest
EUA	Estados Unidos da América
F1+2	Fragmentos de protrombina 1+2
FDA	Agência de Administração de Alimentos e drogas (do inglês <i>Food and Drug Administration</i>)
FSH	Hormônio folículo estimulante (do inglês <i>Follicule stimulant hormon</i>)
GSD	Gestodeno
HDL	Lipoproteína de alta densidade (do inglês <i>High density lipoprotein</i>)
Hb	Hemoglobina
HbSC	Hemoglobinopatia SC

HbSS	Hemoglobinopatia SS
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1 (do inglês <i>intercellular adhesion molecule-1</i>)
IL-6	Interleucina 6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (do inglês <i>Low density lipoprotein</i>)
LH	Hormônio luteinizante (do inglês <i>Luteinizing hormone</i>)
LNG	Levonorgestrel
NET	Noretindrona
NO	Óxido nítrico (do inglês <i>nitric oxide</i>)
NOM	Metabólitos do óxido nítrico
NOMAC	Nomegestrol
PA	Pressão arterial
PCA	Proteína C ativada (do inglês <i>activated protein C</i>)
PS	Proteína S
RA	Receptor androgênico
RE	Receptor estrogênico
RG	Receptor glicocorticoide
RM	Receptor mineralocorticoide
RNAm	RNA mensageiro
RP	Receptor progestínico
SHBG	Globulina ligante de hormônio sexual (do inglês <i>sex hormone binding globulin</i>)
SUS	Sistema Único de Saúde
TAT	Complexo trombina-antitrombina
TEP	Tromboembolismo profundo
TEV	Tromboembolismo venoso
TNF	Fator de necrose tumoral (do inglês <i>tumor necrosis factor</i>)
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1 (do inglês <i>Vascular cell adhesion molecule-1</i>)
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade (do inglês <i>Very low density lipoprotein</i>)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Panorama mundial da porcentagem de mulheres de 15-49 anos, casadas ou em união estável, que utilizam métodos de contracepção, por região.....	20
Figura 2 - Panorama mundial da frequência do uso de métodos contraceptivos por mulheres entre 15-49 anos casadas ou em união estável em 2011	21
Figura 3 - Classificação das progestinas segundo a estrutura química da qual são derivadas.....	25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Composição dos COCs utilizados no Brasil, segundo dose e tipo do componente estrogênico e tipo de progestinas utilizadas.....	23
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	CONTRACEPTIVOS ORAIS: HISTÓRICO	20
2.2	USO DE COCS NO MUNDO: ESTADO DA ARTE.....	22
2.3	COMPOSIÇÃO DA FORMULAÇÃO DOS COCS: TENDÊNCIAS E CARACTERÍSTICAS DOS COMPOSTOS.....	25
2.3.1	Estrogênios e progestinas utilizados na formulação dos COCs	27
2.4	FARMACOLOGIA DOS COCS E EFICÁCIA CONTRACEPTIVA: CARACTERÍSTICAS E BASES MOLECULARES	29
2.5	ALTERAÇÕES METABÓLICAS PROVOCADAS POR COCS.....	32
2.5.1	Alterações no metabolismo lipídico	32
2.6	ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS PROVOCADAS POR COCS	36
2.6.1	Efeitos dos COCs na coagulação e fibrinólise.....	36
2.6.2	Efeitos do estrogênio e progestinas no endotélio vascular	39
2.7	EFEITOS NO METABOLISMO GLICÊMICO E PRESSÃO ARTERIAL.....	41
3	JUSTIFICATIVA	44
4	HIPÓTESE	46
5	OBJETIVOS	47
5.1	OBJETIVO GERAL	47
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	47
6	MANUSCRITOS	48
6.1	MANUSCRITO 1.....	48
6.2	MANUSCRITO 2	67
6.3	MANUSCRITO 3.....	95
7	DISCUSSÃO	114
	REFERÊNCIAS	129
	APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MULHERES ADULTAS	145
	APÊNDICE B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE IDADE	147
	APÊNDICE C -TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO PARA MENORES...	149
	APÊNDICE D:QUESTIONÁRIO PARA MULHERES PARTICIPANTES	152
	ANEXO A: APROVAÇÃO NO CEP/CPqGM/FIOCRUZ	155

1 INTRODUÇÃO

Os contraceptivos orais (COs) são mundialmente utilizados por mais de 100 milhões de mulheres. O uso dos contraceptivos orais combinados (COCs) foi aprovado em 1960 pela *Food and Drug Administration* (FDA), com aceitação ampla pela maioria dos países, uma vez que se configura em método reversível, efetivo e popular de controle familiar (ERKKOLA, 2007; PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE, 2008; GUIDA et al., 2010).

Os COCs apresentam doses com diferentes proporções de estrógenos e progestágenos. Os mais antigos continham concentrações do componente estrogênico etinilestradiol (EE) na dose de 150 µg combinado com o componente progestínico, como norgestrel ou noretisterona (MASIMASI et al., 2007; DELOUGHERY, 2011).

Nos últimos 50 anos, houve grandes avanços no desenvolvimento dos COCs. As concentrações do componente estrogênico EE, considerado responsável pelo risco de tromboembolismo venoso (TEV), foram reduzidas para 50 µg, depois para a dosagem de 30-35 µg e, subsequentemente, para a dosagem de 20 µg, alcançando a menor concentração de 10 µg, recentemente disponibilizada no mercado (DELOUGHERY, 2011; MASIMASI; SIVANANDY; THACKER, 2007; VAN VLIJMEN et al., 2007; PARKIN et al., 2011).

Na formulação combinada, os contraceptivos apresentam a atividade na prevenção da ovulação, exercida principalmente pelo progestágeno, via mecanismo de *feedback* negativo que resulta na diminuição do hormônio luteinizante (LH). Além disso, os COCs apresentam outros benefícios não contraceptivos, como controle de alterações do ciclo menstrual, tratamento de síndromes pré-menstruais, proteção contra alguns tipos de câncer, dentre outros (HAIDER, 2009; BURKMAN, BELL, SERFATY, 2011).

Em relação aos efeitos adversos, os COCs tem impacto sobre vários fatores metabólicos, incluindo marcadores hemostáticos, lipídicos, inflamatórios e proteínas hepáticas estrogênio-sensíveis e esses efeitos podem ser modulados pelo tipo de estrogênio e progestágeno incluídos nas combinações (SITRUK-WARE; NATH, 2011).

Mesmo tendo como base os seus benefícios e a facilidade de uso e com a popularidade dos hormônios femininos exógenos, alguns eventos adversos podem

advir dessas terapias, tais como a associação com o aumento do risco para TEV, bem como o risco cardiovascular aumentado em suas usuárias (ROSENDAAL, 2005; SARE, GRAY; BATH, 2008).

Além disso, riscos potenciais relacionados a comorbidades e estilo de vida, como obesidade, tabagismo, hipertensão, dentre outros, podem ser fatores que indicam restrições ao uso de COCs e, em alguns casos, os riscos de uso podem ultrapassar os benefícios, tornando o método contraceptivo contra-indicado (ROSENDAAL, 2005; VAN VLIJMEN et al., 2007; LOWE, 2008; AUSTIN, LALLY et al., 2009; HAIDER, D'SOUZA, 2009; WHO, 2015).

Uma vez que muitas mulheres usam os COCs em todo o mundo visando evitar uma gravidez não planejada, este fator continua sendo uma das causas mais comuns de TEV em mulheres jovens, além de em menor grau aumentar o risco para a ocorrência de problemas cardiovasculares (CUSHMAN et al., 2004; FISHER e BLACK, 2007; LOWE, 2008; SARE, GRAY; BATH, 2008; VAN HYLCKAMA VLIEG et al., 2009).

Os eventos trombóticos e cardiovasculares podem ser fatais ou incapacitantes e contribuem para o aumento dos gastos em saúde pública. O conhecimento de fatores de risco associados a esses eventos contribui para a melhoria da segurança e qualidade de vida das mulheres. Além disso, o uso de contraceptivos em situações de risco pode alertar para a necessidade de uma atenção maior para as mulheres em idade fértil, de forma que estes não sobrepujem os benefícios.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONTRACEPTIVOS ORAIS: HISTÓRICO

O controle de natalidade foi descrito, desde os primórdios da humanidade, pelos egípcios, em 3000 anos antes de Cristo, fato que foi registrado através de desenhos que faziam menção ao uso de preservativos em homens. Além disso, os egípcios inventaram alguns métodos contraceptivos, como o uso de tampões e esponjas vaginais embebidos em sucos de plantas, como a acácia, bem como em vinagre ou suco de limão, como mecanismos espermicidas para prevenir a gravidez (RIDDLE, 1994; SKUY, 1995).

Pinturas em cavernas da França há pelo menos 12000 a 15000 anos atrás ilustram um homem utilizando preservativo durante uma relação sexual, como forma de evitar a gravidez (PLANNED PARENTHOOD FEDERATION OF AMERICA, 2015).

Já na Grécia, no século IV antes de Cristo, Aristóteles foi o primeiro grego a escrever sobre contracepção. Segundo os costumes gregos, recomendava-se pressionar o abdômen para expulsar o sêmen pela vagina, além do uso de plantas medicinais como pinho e poejo para prevenir a gravidez (LIEBERMAN, 1973; RIDDLE, 1994; SKUY, 1995).

Na Idade Média, na Europa, vários amuletos foram recomendados para prevenir a gravidez: testículos de animais, grinaldas de ervas, fígado ou fragmentos de ossos de gatos pretos, dentre outros. Por volta de 1276 depois de Cristo, Pedro, da Espanha, que se tornou papa, aconselhava realizar o controle de natalidade através do uso de ervas que induzissem a menstruação. No Sri Lanka, recomendava-se alimentar-se de mamão, pois essa fruta contém a papaína, que interage com a progesterona. O controle da fertilidade em mulheres chinesas era feito através da ingestão de chumbo e mercúrio, o que muitas vezes levava à infertilidade ou morte (LIEBERMAN, 1973; RIDDLE, 1994; SKUY, 1995).

Os preservativos são utilizados por europeus desde o século XVI e eram feitos a partir do intestino de animais. Primeiramente, foram utilizados para prevenir a sífilis e, depois, para prevenção da gravidez. Em 1890, os preservativos foram produzidos a partir do látex, o que possibilitou sua produção e o seu uso ampliado. De 1960 em diante, houve redução no seu uso devido ao advento dos COCs, o que foi revertido

diante da infecção pelo HIV na década de 90. Outros métodos como coito interrupto, abstinência sexual e o aborto induzido também foram adotados (CHRISTIN-MAITRE, 2013).

Os contraceptivos orais (COs) foram desenvolvidos no século XX, a partir de pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de pílulas contraceptivas, como a da Sra. Margaret Sanger e Sra. Katharine Dexter McCormick, que proveram fundos de apoio aos direitos femininos e controle de natalidade. Essas iniciativas financiaram pesquisas desenvolvidas por Dr. Gregory Pincus and Dr. Min Chueh Chang, os quais estavam tentando desenvolver um contraceptivo oral à base de progesterona sintética. Adicionalmente, também foi financiado o primeiro estudo clínico, conduzido por Dr. John Rock, que comprovou o sucesso da contracepção por pílula oral (GRIMES, 2000).

Assim, os COCs foram pesquisados a partir da substância sintetizada pelo austríaco Carl Djerassi, a noretisterona, uma progestina mais potente que a progesterona e de uso oral, fato que permitiu que Gregory Pincus desenvolvesse o regime de contracepção de 21 dias para suprimir a ovulação, através do uso de combinação de um composto progestínico com outro estrogênico, uma vez que o uso contínuo gerava sangramentos frequentes e insegurança nas mulheres. Porém, sangramentos ocorriam durante o ciclo, o que causava insatisfação. Então, descobriu-se que o mestranol, um contaminante gerado durante a reação de alquilação, bem como o seu metabólito EE, reduzem o sangramento, sendo incorporados na composição dos contraceptivos orais (KNOWLES, 2015).

Assim, o primeiro contraceptivo hormonal oral contendo mestranol e noretinodrel – Enovid® - foi lançado e aprovado pela FDA em 1957 para tratamento de desordens menstruais, devido às leis da época que não permitiam às mulheres o controle da natalidade. Alguns anos após o seu lançamento e devido à capacidade desse contraceptivo em controlar a fertilidade, foi aprovado seu uso para essa finalidade em 1960 (FDA, 2016).

Devido aos vários efeitos adversos relatados a partir do uso do contraceptivo aprovado, como náuseas, vômitos, dores de cabeça e de estômago, tonturas, além de seis mortes e vinte casos não fatais de tromboembolismo, houve redução gradual na dose do componente estrogênico, além da introdução de novos compostos progestínicos, bem como de regimes diferenciados de uso, uma vez que os COCs são utilizados em todo o mundo por um número elevado de mulheres (TOWNSEND

et al., 2011, SITRUK-WARE; NATH, 2011; CHRISTIN-MAITRE, 2013; SITRUK-WARE; NATH, 2013)

2.2 USO DE COCs NO MUNDO: ESTADO DA ARTE

Diversos métodos contraceptivos são amplamente utilizados em todo o mundo, com destaque para os denominados métodos modernos de planejamento familiar (dispositivo intrauterino, pílulas, preservativos, implantes, injetáveis), os quais perfazem 57% de uso pelas mulheres casadas ou em união estável em idade reprodutiva, com variações entre os continentes e entre os diferentes países do mundo (Figura 1). Dentre esses métodos, a esterilização feminina e o uso de dispositivo intra-uterino (DIU) são os mais comuns, sendo utilizados por 19% e 14% das mulheres em união conjugal, respectivamente (CHRISTIN-MAITRE, 2013; UNITED NATIONS, 2015).

Entre os métodos hormonais orais, as pílulas ou contraceptivos orais hormonais são utilizados por 9% das mulheres, totalizando mais de 100 milhões em todo o mundo, com grandes variações regionais em seu uso. Além disso, os contraceptivos são os métodos de escolha na África e Europa, juntamente com formulações hormonais injetáveis e preservativos masculinos. Já na Ásia e América do Norte, métodos como a esterilização, os implantes e o DIU são mais comuns (CHRISTIN-MAITRE, 2013; UNITED NATIONS, 2015).

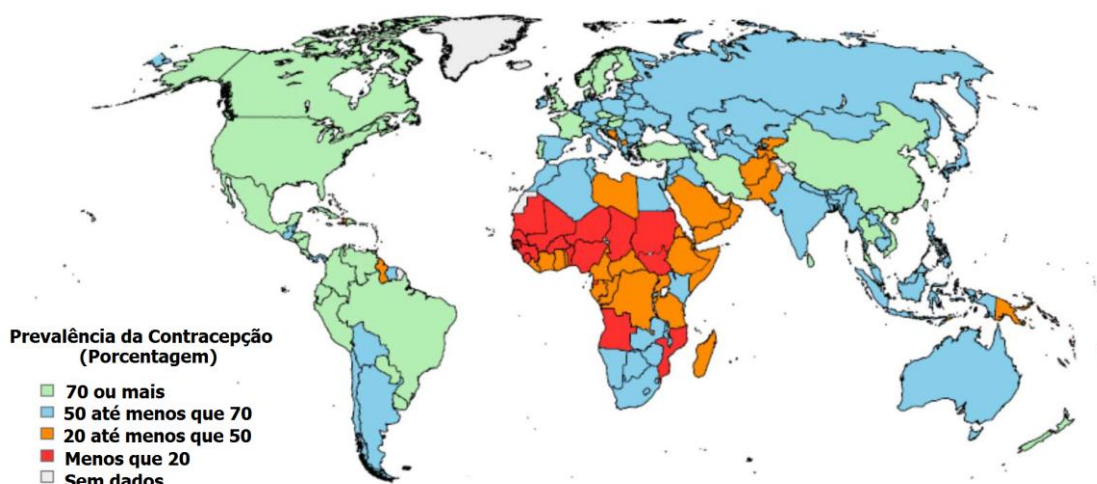
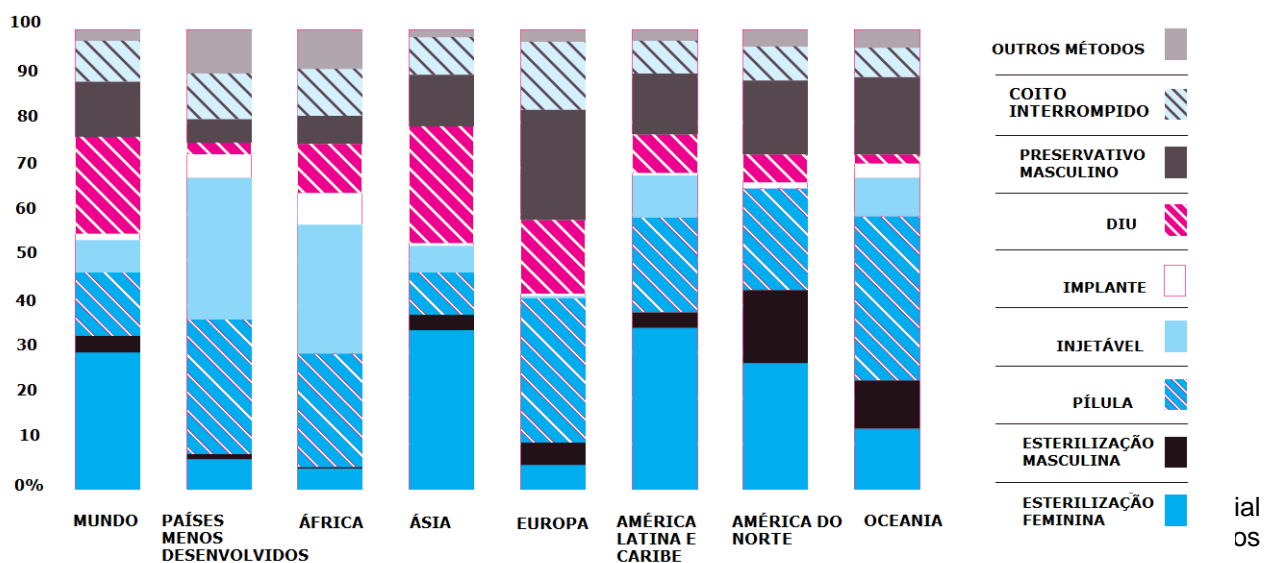


Figura 1 – Panorama mundial da porcentagem, por região, de mulheres em idades de 15-49 anos, casadas ou em união estável, que utilizam métodos de contracepção.

Fonte: Adaptado de United Nations, Department of Economic and Social Affairs – Population Division, 2015. Disponível em <http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/family/trendsContraceptiveUse2015Report.pdf> Acesso em 19 de fevereiro de 2016.

Nos EUA, a contracepção oral é a forma hormonal reversível mais amplamente utilizada. Na América Latina e Caribe, os países mais populosos, a exemplo do Brasil, apresentam frequência para o uso de contracepção acima de 70%. Dentre esses, os métodos modernos de contracepção são responsáveis por 90% das formas contraceptivas adotadas, com frequência maior de esterilização feminina, seguida do uso de contraceptivos orais (Figura 2) (PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE, 2008; UNITED NATIONS, 2015).



Fonte: Adaptado de United Nations, Department of Economic and Social Affairs – Population Division, 2015.

Disponível em <<http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/family/Infocart-World-Contraceptive-Patterns-2015.pdf>> Acesso em 14 de fevereiro de 2016. (DIU: dispositivo intra-uterino; Outros: Métodos vaginais de barreira).

Atualmente, os COCs são considerados o método de escolha para mulheres jovens em vários países em desenvolvimento, mesmo não garantindo proteção contra doenças sexualmente transmissíveis. Como foram introduzidos rapidamente desde sua aprovação em muitos países desenvolvidos, os COCs apresentam distribuição geográfica mais ampliada do que outros métodos contraceptivos, com 9% das mulheres casadas, no mundo todo, na faixa etária entre 15 a 49 anos, relatando seu uso (WHO, 1995; POPULATION REFERENCE BUREAU, 2007; TOWNSEND et al., 2011).

O uso de COCs apresenta frequência elevada, variando de 20% a 55% em quatro países da África, quatro da Ásia, onze da América Latina e Caribe, além de frequências consideradas elevadas em Marrocos e Zimbábue, ambos acima de 40% (WHO, 1995; POPULATION REFERENCE BUREAU, 2007; TOWNSEND et al., 2011). Na Alemanha, onde foi comercializado em 1961, um terço das mais de vinte milhões de mulheres em idade reprodutiva utilizam COCs (WIEGRATZ e THALER, 2011). Na América Latina e Caribe, o método contraceptivo mais utilizado é a esterilização, seguido pelo uso de contracepção hormonal oral, conforme é evidenciado pela figura 2.

Em relação ao uso mundial de métodos contraceptivos disponíveis, existem mais países onde o uso de pílulas responde por, no mínimo, 30% dos métodos

contraceptivos utilizados, diferente do uso de esterilização feminina ou dispositivos intrauterinos, métodos que são considerados de preferência mundial para prevenir gravidez, mas que apresentam grande variação regional em seu uso (WHO, 1995; POPULATION REFERENCE BUREAU: WORLD POPULATION DATA SHEET, 2007; TOWNSEND et al., 2011).

No Brasil, dados de 2015 revelaram que 79% das mulheres casadas ou em união estável utilizaram algum método de contracepção e, dentre estas, 24,1% relataram o uso de contracepção hormonal oral, abaixo somente da esterilização feminina, que foi realizada por 28,4% das mulheres em idade entre 15 a 49 anos, casadas ou em união estável. Comparando as prevalências do uso de métodos contraceptivos nos anos de 1994 a 2015, o uso de contracepção hormonal oral aumentou de 19,9% para 24,1% (POTTER, 1999; UNITED NATIONS, 2015).

Além do uso para prevenir a gravidez, os COCs são também utilizados por possuírem benefícios não contraceptivos, como no tratamento da acne e hirsutismo, menorragias, dismenorréia e síndromes pré-menstruais (CHRISTIN-MAITRE, 2013).

2.3 COMPOSIÇÃO DA FORMULAÇÃO DOS COCS: TENDÊNCIAS E CARACTERÍSTICAS DOS COMPOSTOS

Como dito anteriormente, os COCs foram introduzidos no mercado mundial em 1960, quando a *FDA* aprovou a pílula composta por mestranol de 150 µg e noretinodrel, liberada anteriormente para o tratamento de distúrbios menstruais. Desde então, essas formulações são considerados o método mais reversível utilizado em todo o mundo para o controle da gravidez não planejada, além de serem altamente eficazes, acessíveis e seguros para mulheres saudáveis e não fumantes (TOWNSEND et al., 2011; WIEGRATZ; THALER, 2011; WHO, 2015). Entretanto, como as primeiras formulações eram compostas por doses elevadas do componente estrogênico, casos fatais de TEV e eventos arteriais vasculares foram atribuídos ao seu uso, de forma crescente e preocupante (EVANS; SUTTON, 2015).

Com a finalidade de se evitar os efeitos adversos provocados pelos COCs, principalmente devido à dose do componente estrogênico, mas também pelo tipo de progestágeno, novas formulações foram desenvolvidas (Quadro 1), de modo a tornar o método contraceptivo cada vez mais confiável para ser empregado no planejamento familiar. Assim, as combinações de COCs utilizadas atualmente

apresentam o etinilestradiol (EE) como principal componente estrogênico presente na preparação, com dose reduzida a um terço até um quinto em relação à primeira pílula. Em relação ao componente progestínico, foram desenvolvidos compostos sintéticos novos que, em conjunto com o tipo de estrogênio presente na formulação, promovem prevenção de gravidez e ciclos menstruais regulares, além de outras indicações (EVANS; SUTTON, 2015).

Quadro 1 – Composição dos COCs utilizados no Brasil, segundo dose e tipo do componente estrogênico e tipo de progestinas utilizadas.

ESTROGÊNIOS	EE	E2V	MESTRANOL	
	10 µg 20 µg 30 µg 35 µg 40 µg 50 µg	3 mg 2 mg 1 mg	50 µg	
PODEM SER COMBINADOS COM DIVERSAS PROGESTINAS				
PROGESTINAS	1ª Geração	2ª Geração	3ª Geração	4.a Geração
	- Diacetato de Etinodiol - Noretindrona - Acetato de noretindrona	- Levonorgestrel - Norgestrel	- Desogestrel - Norgestimato - Desogestrel - Norgestimato - Gestodeno	- Dienogest - Drospirenona - Ciproterona
FASES	<i>Monofásico</i> (21 dias)	<i>Multifásico</i> - Bifásico (10+11 dias) - Trifásico (7+7+7 dias)	<i>Estrofásico</i> (21 dias) - 20/30/35 µg EE - 30/40/30 µg EE - 3/2/1 mg EV	<i>Estrofásico</i> (84 dias) - 20/25/30/10 µg EE
	CICLOS	21 dias	28 dias 21 24 28	91 dias 84 84+7 (10 µg EE)

Fonte: Adaptado de Evans; Sutton, 2015. EE: etinilestradiol; E2V: valerato de estradiol.

2.3.1 Estrogênios e progestinas utilizados na formulação dos COCs

O primeiro componente estrogênico presente na formulação dos COCs, o mestranol, foi substituído pelo EE, utilizado inicialmente em doses de 150 µg por pílula. Com o passar dos anos, a dose do EE foi reduzida progressivamente, sendo iniciada em 35-30µg e, depois, passando para 20µg e 15µg. Atualmente, os COCs têm apresentações que variam de 15 a 50µg, onde aqueles com doses inferiores a 35µg são considerados de baixa dosagem (BENAGIANO; BASTIANELLI, FARRIS, 2008).

Outros compostos foram incluídos nas formulações para uso em contraceptivos orais. O 17β estradiol (17βE2), uma forma natural do estrogênio, foi testado desde 1970, mas sem êxito nas combinações com progestinas devido aos efeitos adversos, como sangramentos durante o ciclo menstrual. Porém, uma formulação monofásica, desenvolvida recentemente, combinando o 17βE2 com o acetato de nomegestrol (NOMAC) foi aprovada na Europa e, no Brasil, foi registrado pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2014 (GOLDZIEHER et al., 1988; MANSOUR et al., 2011; DOU, 2014).

O estrogênio sintético valerato de estradiol (E2V), que é metabolizado em 17βE2, recentemente foi incluído numa formulação oral juntamente com o dienogest (DIE). Essa formulação foi aprovada como um contraceptivo combinado quadrifásico pela Europa e EUA, também comercializado no Brasil (HOFFMANN et al., 1998; MANSOUR et al., 2011; BORGELT; MARTELL, 2012).

O estetrol (E4), estrogênio sintético similar ao estrógeno fetal derivado do estriol, é considerado um modulador seletivo do receptor do estrogênio, que está sendo testado em novas formulações contraceptivas em combinação com progestinas (GOLDZIEHER et al., 1988; VISSER; COELINGH-BENNIN, 2009).

Em relação ao componente progestínico da fórmula dos COCs, como observado em relação ao componente estrogênico, a dose e o tipo destes compostos experimentaram redução e alterações, respectivamente, ao longo dos anos (BURKMAN; BELL; SERFATY, 2011).

As progestinas são classificadas de acordo com a estrutura da qual se originaram (Figura 3). A primeira geração de progestinas presentes nas formulações de COCs, denominada noretisterona, acetato de noretisterona e noretinodrel, é derivadas da testosterona. Outros compostos surgiram a partir da testosterona, bem

como derivados da progesterona e os relacionados à espironolactona. As estruturas relacionadas à testosterona são chamadas de estranas e gonanas, quando etiniladas. As estranas são a noretindrona, o noretinodrel, o linestrenol, o acetato de norentindrona e o diacetato de etinodiol. As gonanas são o levonorgestrel (LNG), o desogestrel (DSG), o norgestimato e o gestodeno (GSD). O DIE é uma progestina derivada da estrutura não etinilada da testosterona (BURKMAN; BELL; SERFATY, 2011; CHRISTIN-MAITRE, 2013).

Outros compostos progestínicos são derivados da 17-hidroxiprogesterona, onde os mais comumente utilizados nas formulações de COCs são o acetato de ciproterona (CPT), o acetato de clormadinona e o acetato de medroxiprogesterona, conhecidos como pregnanas. A drospirenona (DRSP) é um composto progestínico utilizado em COCs análogo ao antagonista da aldosterona, a espironolactona, com atividade anti-mineralocorticóide e propriedades anti-androgênicas (ERKKOLA, 2007; HUGON-RODIN, CHABBERT-BUFFET; BOUCHARD, 2010; SITRUK-WARE; NATH, 2010).

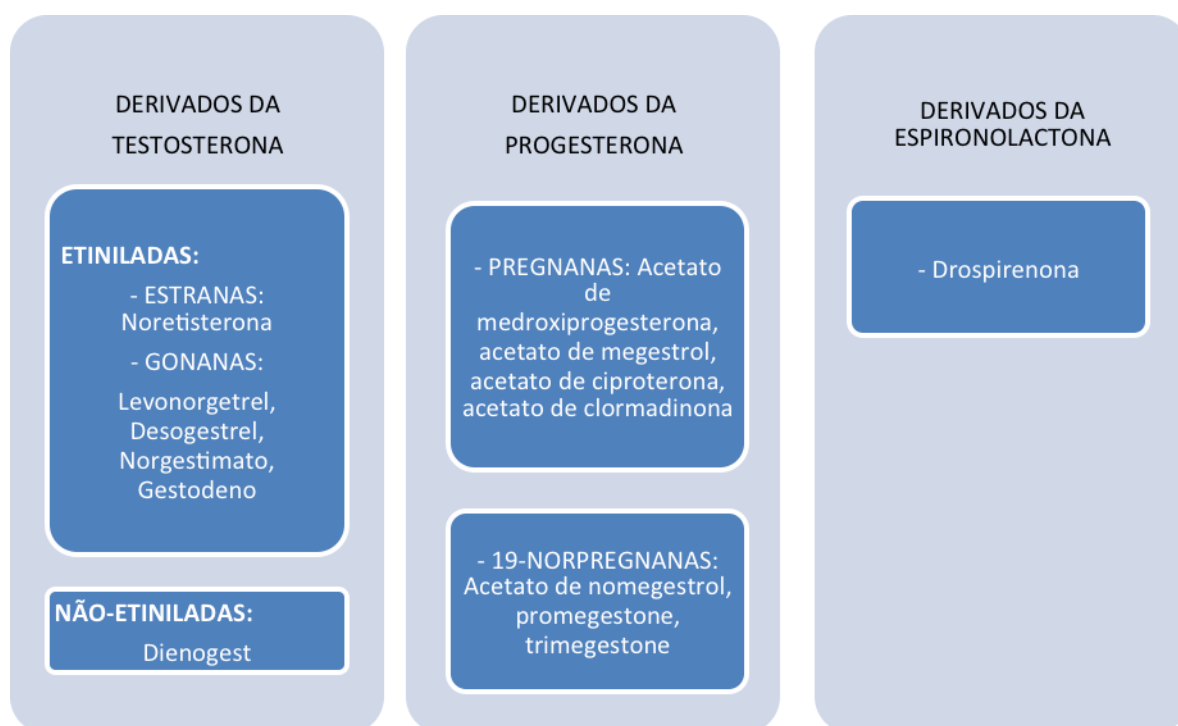


Figura 3 – Classificação das progestinas segundo a estrutura química da qual são derivadas.
 Fonte: SITRUK-WARE, 2008; BURKMAN; BELL; SERFATY, 2011; SITRUK-WARE; NATH, 2013.

Devido à diversidade de estruturas progestínicas, surgiu a classificação em gerações de acordo com a ordem de lançamento no mercado, onde a 1ª geração

consiste nas progestinas noretindrona, a 2ª geração de progestinas que inclui o LNG e o norgestrel; a 3ª geração inclui os componentes derivados da estrutura 19-nortestosterona, como o norgestimato, o DSG e o GSD; já as progestinas como o acetato de CPT e a DRSP, bem como o DIE, são, em geral, referidas como de 4ª geração devido aos efeitos adversos apresentados, porém vale ressaltar que são compostos derivados de diferentes estruturas moleculares. Além disso, essa classificação recebe críticas por agrupar compostos que podem ter comportamentos distintos (ERKKOLA, 2007; BLUMENTHAL, 2008; BURKMAN; BELL; SERFATY, et al., 2011; SITRUK-WARE e NATH, 2013).

2.4 FARMACOLOGIA DOS COCS E EFICÁCIA CONTRACEPTIVA: CARACTERÍSTICAS E BASES MOLECULARES

De um modo geral, ao serem ingeridos, os COCs são absorvidos pelo intestino e possuem metabolismo de primeira passagem no fígado, com excreção pela urina (GOLDZIEHER; STANCZYK, 2008; SCHINDLER et al., 2008).

Os COCs apresentam efeito contraceptivo devido à ação supressora no eixo hipotalâmico-pituitário-ovariano, suprimindo a liberação de gonadotrofinas. Desta forma, os COCs previnem a ovulação por suprimirem a maturação folicular e a liberação do hormônio luteinizante (LH), bem como diminuírem a sensibilidade ovariana ao hormônio folículo estimulante (FSH) e de E2, cujos efeitos estão relacionados à ação do componente progestínico. Além disso, outros efeitos adicionais são a ação periférica no aumento da viscosidade do muco cervical, na função tubária e no endométrio, diminuindo sua espessura por inibir a expressão do receptor de estrogênio, prejudicando sua receptividade. O estrogênio, na formulação, tem o efeito no controle do ciclo menstrual, regulando a proliferação do endométrio, evitando sangramentos indesejáveis durante o período (BLUMENTHAL e EDELMAN, 2008; SITRUK-WARE, 2008; WIEGRATZ; THALER, 2011; STANCZYK; ARCHER; BHAVNANI, 2013).

Todas as progestinas desempenham suas atividades devido à sua interação com o receptor progestínico (RP), mas diferem na sua afinidade de ligação aos receptores estrogênicos (RE), androgênicos (RA), receptores glicocorticóides (RG), mineralocorticóides (RM) ou à globulina ligante do hormônio sexual (SHBG). As progestinas mais recentes que apresentam atividade anti-androgênica agem por

inibição competitiva do RA ou por ligação na enzima 5 α -redutase, uma vez que interagem com a conversão de testosterona em diidrotestosterona (KUHL, 2005; SCHINDLER et al., 2008; BURKMAN; BELL; SERFATY, 2011).

Os compostos progestínicos sintéticos, em geral, são bem absorvidos no trato gastrointestinal quando administrados oralmente, alcançando a concentração plasmática máxima em 2-5 horas, apresentando meia vida longa. Sofrem metabolismo de primeira passagem, sendo metabolizadas no fígado e excretadas via urina. Progestinas como LNG, DSG (seu metabólito 3-ceto-desogestrel), GSD ligam-se à globulina ligadora de hormônio sexual (SHBG). Compostos como o DIE, a CPT e a DRSP ligam-se à albumina, em taxas que variam de 90 a 97% (SCHINDLER et al., 2008; SITRUK-WARE, 2008).

As progestinas derivadas da testosterona ou da 17-hidroxiprogesterona, como o LNG, o DSG, o norgestimato e o GSD, apresentam efeitos variáveis nos receptores androgênicos, mineralocorticóides e glicocorticóides, considerados efeitos indesejáveis, como acne e efeitos no metabolismo de lípidios (RA), retenção hídrica e de sais, inchaço (RG), bem como redução na retenção hídrica e no peso no caso de ação no RM.

Progestinas como o DIE, a DRSP, a promegestona, o acetato de NOMAC, dentre outros, foram projetadas para se ligar especificamente ao RP e não aos demais receptores esteróides, evitando assim os efeitos adversos relacionados à atividade androgênica e estrogênica. Desta forma, ao concentrar suas atividades direcionadas para a ação antiestrogênica no endométrio, associadas ao efeito antigonadotrópico, apresentam efeitos androgênicos menores e glicocorticóides relacionados como efeitos indesejáveis (KUHL, 1996; STANCZYK, 2002; SITRUK-WARE, 2008; SITRUK-WARE; NATH, 2013).

A DRSP apresenta atividade anti-androgênica e anti-mineralocorticoide, contrapondo o feito do EE na síntese hepática de angiotensinogênio, levando à diminuição da retenção de líquidos e sais e relatos de perda de peso (SITRUK-WARE, 2008).

Já o EE, utilizado na maioria das formulações de COCs, é absorvido pelo estômago e intestino e, geralmente, 90% de EE são absorvidos na primeira hora após ingestão. Passam pelo metabolismo de primeira passagem, principalmente, e recirculação entero-hepática. Taxas sanguíneas de EE apresentam variabilidade, o que parece ser influenciado por variáveis como etnicidade, idade, alimentação

recente, temperatura e atividade física. Ligam-se extensamente à albumina e apenas 1% circula como EE livre. O metabolismo do EE envolve, principalmente, hidroxilação (2-hidroxilação), sendo catalisada pelo citocromo P-450 IIIA4 hepático. Após essa etapa, os EE e os compostos hidroxilados serão conjugados a glicuronídeos, inativados e eliminados pela urina. Porém, metabólitos do EE, como os 3- e 17-sulfatos, permanecerão na circulação entero-hepática, sendo parcialmente desconjugados a EE (BLUMENTHA; EDELMAN, 2008; SITRUK-WARE, 2008; BITZER; SIMON, 2011).

Interessante notar que segundo Steingold e colaboradores (1986) a administração oral de EE resulta em distribuição maior de estrogênios circulantes para o fígado em relação aos outros tecidos, o que pode explicar os efeitos hepáticos do estrogênio, como o aumento de SHBG, da lipoproteína de alta densidade (HDL), da lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), do angiotensinogênio, além de alterações relacionadas aos fatores de coagulação. Esses efeitos relacionam-se, principalmente, ao grupo 17 α -etinil do EE, o qual impede a inativação do composto, resultando no seu metabolismo mais lento e retenção tecidual maior, bem como efeitos mais expressivos no tecido hepático, independente da rota de administração (MASHCHAK et al., 1982; KUHL, 1990).

O mecanismo de ação do EE envolve interação com RE α (RE- α) e β (RE- β), membros da superfamília de receptores nucleares, presentes em vários tecidos. Além disso, no mesmo tecido, esses receptores podem se expressar em diferentes células. O RE- α é expresso especialmente no útero, ovário, próstata, tecido adiposo branco e fígado. O RE- β é expresso no cólon, próstata, testículos, ovários, endotélio vascular, mama, dentre outros tecidos (NILSSON; GUSTAFSSON, 2002; MCDONNELL, 2004; STANCZYK et al., 2013).

Na formulação combinada, EE e diferentes progestinas interagem e os efeitos biológicos dessa combinação parecem depender da concentração de cada hormônio e do efeito de cada progestina, em relação ao seu potencial androgênico e ao seu potencial de se contrapor aos efeitos do EE. Desta forma, as progestinas de primeira geração são muito comercializadas e pouco prescritas atualmente devido às propriedades androgênicas, resultando em acne, oleosidade na pele, diminuição do HDL e da libido. Já a combinação de EE com progestinas de potencial androgênico baixo ou não androgênicas, como a DRSP, resulta em contraposição ao efeito de EE na síntese hepática de angiotensinogênio, antagonizando o efeito da aldosterona.

Assim, de acordo com cada estrutura e o esteróide de origem, as progestinas irão exercer efeitos adicionais, os quais podem ser considerados benéficos ou deletérios, levando aos efeitos adversos (SITRUK-WARE, 2008; SITRUK-WARE; NATH, 2013; CHRISTIN-MAITRE, 2013).

2.5 ALTERAÇÕES METABÓLICAS PROVOCADAS POR COCS

2.5.1 Alterações no metabolismo lipídico

Ambos os componentes da formulação dos COCs podem exercer efeitos no metabolismo das lipoproteínas, bem como alterações nas concentrações de triglicérides a depender da potência do estrogênio e da androgenicidade da progestina utilizada, que pode contrabalançar o efeito estrogênico (KUHL, 1990; SITRUK-WARE e NATH, 2011; 2013).

Como existem poucos tipos de estrogênios empregados nas formulações dos COCs, é possível diferenciar os efeitos de cada um deles no metabolismo lipoprotéico (GODSLAND, 2004).

No geral, o componente estrogênico, quando administrado oralmente, parece estar relacionado ao aumento da produção tanto de HDL quanto de VLDL, além da diminuição na lipoproteína de baixa densidade (LDL) (STEINGOLD et al., 1986; KUHL, 1990) pelo aumento da secreção de VLDL, aumento hepático da produção de triglicerídeos, inibição da expressão de lipase lipoprotéica e superregulação do receptor de LDL. O aumento das concentrações de HDL, bem como aumento na proporção de partículas maiores de HDL, ocorre devido ao aumento na síntese de apolipoproteína-I e redução na expressão e atividade da lipase hepática, mecanismo de diminuição da regulação (*downregulation*) do receptor SR-B1 exercido pelo estrogênio (WALSH et al., 1991; FLUITER; VAN DER WESTHUIJZEN; VAN BERKEL, 1998; GODSLAND, 2004; SITRUK-WARE; NATH, 2013).

Os estrogênios naturais, como o $17\beta E_2$, bem como os estrogênios conjugados, que são utilizados em terapia de reposição hormonal, apresentam impacto favorável no metabolismo lipídico de mulheres saudáveis devido ao aumento nos níveis de HDL, sem alteração nos níveis de VLDL, como pode ser evidenciado quando se utiliza o EE. Contudo, Walsh e colaboradores (1991) observaram o aumento dose-dependente nos níveis de triglicerídeos em mulheres

que utilizaram estrogênios conjugados, os quais não são capazes de gerar hipertrigliceridemia, mas podem exacerbar essa condição no caso de já se ter o aumento nos níveis de triglicerídeos anterior ao seu uso (WALSH et al., 1991; WIEGRATZ et al., 1998).

Ainda segundo os resultados de Walsh e colaboradores (1991), o mecanismo da hipertrigliceridemia induzido por estrogênios orais é distinto daquele relacionado à hipertrigliceridemia familiar. No caso da hipertrigliceridemia induzida por estrogênios, a lipólise não está comprometida, mas o aumento nos níveis de triglicerídeos está relacionado ao aumento de sua síntese, porém na hipertrigliceridemia familiar, ocorre comprometimento do processo de lipólise, resultando no aumento dos níveis de triglicerídeos, o que está ligado à diminuição dos níveis de HDL.

No mesmo estudo, Walsh e colaboradores (1991) evidenciaram que o mecanismo de redução nos níveis de LDL parece estar relacionado ao aumento da taxa de catabolismo dessa lipoproteína, superando o aumento de sua produção. O aumento da degradação de LDL pode ser explicado devido ao aumento no número de receptores de LDL, acompanhado pelo aumento no RNA mensageiro (RNAm) para o receptor de LDL (MA et al., 1986). Esses resultados estão relacionados ao efeito cardioprotetor atribuído ao estrogênio, principalmente no período de vida fértil das mulheres.

As progestinas presentes nas formulações de vários COCs podem diferir em relação à sua androgenicidade, levando a efeitos distintos no perfil lipídico e, muitas vezes agindo de forma antagônica ao efeito estrogênico (GODSLAND et al., 1990; SITRUK-WARE; NATH, 2013). As progestinas com potencial androgênico podem direcionar o metabolismo lipídico para um perfil desfavorável, ou seja, quanto menor for o potencial androgênico da progestina, menores serão os efeitos desfavoráveis dos COCs no perfil lipídico, sobressaindo-se então o efeito do estrogênio contido na formulação (GASPARD et al., 2004). Além da androgenicidade, a dose utilizada e o regime determinam o efeito oposto das progestinas em relação ao impacto do componente estrogênico no metabolismo lipídico (SITRUK-WARE, 2006).

Os COCs que contêm LNG parecem ter um efeito mais desfavorável no perfil lipídico por serem mais androgênicos que as progestinas mais recentes. Agren e colaboradores (2011) compararam o impacto no perfil lipídico de COCs contendo 17 β E2 mais acetato de nomegestrol (E2/NOMAC) em relação ao EE/LNG e

verificaram que nas mulheres que utilizaram E2/NOMAC durante 6 ciclos de tratamento, não foram encontradas alterações significativas nos níveis de colesterol total, HDL, LDL ou triglicerídeos. Já nas mulheres que utilizaram EE/LNG, foram observadas alterações significativas nas concentrações analisadas, com aumento nos níveis de LDL e triglicerídeos e redução dos níveis de HDL, sem alterações nos níveis de colesterol total.

Manning e colaboradores (1997) estudaram, em modelo animal, o efeito de EE isolado, EE/LNG e LNG isolado e demonstraram alterações nas concentrações dos componentes lipídicos. Quando comparados ao LNG utilizado isoladamente, o EE e EE/LNG interferiram favoravelmente na composição do LDL, uma vez que a partícula era menor e mais densa, com propriedades menos aterogênicas, já que continha menos colesterol e menor concentração de apolipoproteína E, considerada menos reativa com proteoglicanas arteriais.

Adams e colaboradores (2000) verificaram, em macacos, que o tratamento com estrogênio inibe a aterosclerose em 67% devido ao efeito protetor desse composto. Já quando foi utilizado o EE/LNG, essa inibição diminuiu para 28%, demonstrando que progestinas androgênicas antagonizam de forma parcial o efeito inibitório do estrogênio na aterogênese. Vale destacar que o efeito oposto de certas progestinas ao estrogênio está relacionado ao tipo e dose do estrogênio, a androgenicidade da progestina e a dose utilizada (SITRUK-WARE; NATH, 2013).

Estudo *in vitro* com células placentárias (JEC-3) mostrou que a expressão de receptores de LDL e sua taxa de captação estão aumentados quando se utilizou EE/DSG, progestina com menor potencial androgênico em comparação à combinação com EE/LNG (RAMAKRISHNAN et al., 2007). A progestina que apresenta influência mais favorável no metabolismo lipídico é a DIE, um tipo de progestina não-etinilada, também derivada da testosterona, que é considerada altamente antiandrogênica e que possui deficiência da atividade estrogênica ou glicocorticóide (SITRUK-WARE; NATH, 2011; 2013).

Vários estudos (GREENLUND et al., 1997; KEMMEREN et al., 2004; GUAZZELLI et al., 2005; WINKLER; SUDIK 2009; OLATUNJI et al., 2012) compararam o uso de COCs contendo GSD, DSG e norgestimato e evidenciaram o potencial androgênico reduzido dessas progestinas quando em combinação com EE, principalmente quando comparadas com EE/LNG. Desta forma, verificou-se um impacto reduzido no metabolismo lipídico e de carboidratos, sendo que o uso dessas

formulações parece não aumentar o risco de infarto do miocárdio. Kemmeren e colaboradores (2004) compararam o perfil lipídico de usuárias de EE/LNG e EE/DSG e concluíram que o EE/DSG apresentou influência benéfica no metabolismo lipídico, reforçando que o DSG parece contrapor o efeito estrogênico.

Estudos clínicos com formulações contendo DRSP e CPT combinadas com EE reforçaram o potencial menos androgênico desses compostos, com aumentos nos níveis de HDL. Assim, progestinas menos androgênicas não apresentaram efeito oposto ao do estrogênio no metabolismo lipídico (GASPARD et al., 2004; KLIPPING; MARR, 2005).

A DIE, uma progestina mais recente, é geralmente utilizada em associação com E2V, e parece favorecer o aumento nos níveis de HDL e de LDL (PARKE et al., 2008). Já o acetato de NOMAC, progestina derivada da testosterona, parece não ter impactos consideráveis no perfil lipídico ou em extensão menor quando comparado com a combinação EE/LNG (BASDEVANT et al., 1991; WIEGRATZ et al., 2002; AGREN et al., 2011).

As formulações contraceptivas compostas por acetato de CPT, comumente utilizadas para tratamento de hiperandrogenismo em mulheres com síndrome de ovários policísticos, e acetato de clormadinona pertencentes à classe das gestagens, são moléculas altamente antiandrogênicas. Em um estudo realizado por Prelevic e colaboradores (1990), o uso de COCs contendo EE/CPT foi associado ao aumento nos níveis séricos de HDL e triglicérides em mulheres obesas e não obesas, que apresentavam a síndrome de ovários policísticos. Além disso, observou-se a diminuição na razão entre colesterol total: HDL, nos níveis de LDL e na fração 2 do HDL.

A DRSP apresenta atividade anti-mineralocorticóide e antiandrogênica, pois neutraliza a estimulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona pelo estrogênio, além de bloquear os receptores de testosterona, reduzindo os efeitos androgênicos (KRATTENMACHER, 2000; RUBIG, 2003), o que reflete em aumentos nos níveis de HDL, com diminuição nos níveis de LDL, confirmando achados de Klipping e Marr (2005), quando estudaram mulheres que utilizaram EE/CPR com aquelas que utilizaram EE/DSG. Além disso, a DRSP utilizada em doses contraceptivas apresenta atividade antimineralocorticóide relacionada com a diminuição da retenção de água e sais; porém, a DRSP apresenta risco elevado em

relação aos efeitos pró-trombóticos (PARKIN et al., 2011; BAILLARGEON; ESSAH; NESTLER, 2014).

Gaspard e colaboradores (2004) compararam a influência de COCs contendo EE/DRP e EE/DSG no perfil lipídico de mulheres saudáveis entre 18 e 28 anos e descreveram o aumento nos níveis de triglicerídeos em ambos os tratamentos, porém dentro dos valores considerados normais. Em relação ao LDL, os níveis permaneceram estáveis; já em relação ao HDL, houve aumento nos níveis, bem como aumento da razão HDL:LDL, fato considerado benéfico em relação ao risco de doença cardiovascular (DCV).

As alterações no perfil lipídico, quando existentes, geralmente são clinicamente desfavoráveis e estão relacionadas ao risco de DCV (KEMMEREN et al., 2004; GASPARD et al., 2004; KLIPPING; MARR, 2005).

2.6 ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS PROVOCADAS POR COCS

2.6.1 *Efeitos dos COCs na coagulação e fibrinólise*

Os COCs têm impacto sobre vários fatores metabólicos, incluindo variáveis hemostáticas e proteínas hepáticas estrogênio-sensíveis, tais efeitos podem ser modulados pelo tipo de estrogênio e progestágeno nas combinações. Os aumentos nos níveis de angiotensina, apolipoproteína A1 e alterações em vários fatores de coagulação e fibrinólise podem ser incluídos nos efeitos indesejados dos COCs (SITRUK-WARE; NATH, 2011).

Os métodos contraceptivos esteróides combinados apresentam a propriedade de modular os parâmetros de coagulação e fibrinólise, uma vez que o estrogênio, por via oral ou parenteral, altera essas variáveis devido ao forte impacto no metabolismo de primeira passagem em proteínas hepáticas, devido ao seu grupamento 17 α -etinil, o que resulta no metabolismo mais lento do fármaco e na retenção tecidual prolongada (SITRUK-WARE; NATH, 2011).

Os COCs parecem alterar os níveis basais tanto de proteínas pró-coagulantes quanto daquelas relacionadas à fibrinólise, alterações moduladas pelo efeito androgênico de progestinas frente à atividade estrogênica do EE. Assim, observou-se aumento nos níveis de fibrinogênio, fragmentos de protrombina 1+2 (F1+2), dímero D, plasminogênio, complexo plasmina-antiplasmina e atividade da proteína

C. Por outro lado, os COCs apresentam efeito de redução na atividade de antitrombina, no ativador de plasminogênio tecidual e no inibidor do ativador de plasminogênio (CONARD et al., 2004; WIEGRATZ et al., 2004; SITRUK-WARE et al., 2007; VAN VLIET et al., 2008; WIEGRATZ et al., 2008).

Ambos os componentes da fórmula dos COCs, estrogênio e progesterona, contribuem para o risco de trombose. O estrógeno afeta o sistema de coagulação pelo aumento de fatores pró-coagulantes, VII, IX, X, XI e XII e reduz a concentração dos fatores anticoagulantes, caracterizados pela proteína S (PS) e antitrombina, resultando em estado pró-trombótico moderado (ROSENDAAL, 2005; SOWERS et al., 2005; STRACZEK et al., 2005; SARE; GRAY; BATH, 2008).

Os compostos contendo baixas doses do componente estrogênico (inferiores a 30 µg) ou o uso de compostos contendo E2V parecem interferir em extensão menor no sistema hemostático, especialmente em relação ao E2V, uma vez que houve um aumento menor nos níveis de SHBG, além de não haver alterações em F1+2 e nos níveis de dímero D em comparação com EE/LNG. Resultados semelhantes foram encontrados em estudo que comparou E2/NOMAC e EE/LNG (PARKE et al., 2008; AGREN et al., 2011b; JUNGE et al., 2011).

As progestinas, quando utilizadas isoladamente, parecem não interferir nos fatores de coagulação. Contudo, já foi verificado que a medroxiprogesterona parece exercer estimulação no receptor de trombina, além de contribuir para o aumento da produção de fator tecidual e atividade procoagulante na parede dos vasos devido à sua ação glicocorticoide (KUHL, 2004).

Progestinas como DSG, GSD (3ª geração), CPT e DRSP possuem atividade antiestrogênica fraca quando comparadas ao LNG (estrogenicidade total diminuída) e parecem contribuir para a instalação do estado pró-trombótico mais pronunciado quando em combinação com o estrogênio, pois o efeito do EE sobre os parâmetros anticoagulantes, segundo estudo de Kemmeren e colaboradores (2004), é contraposto, em menor grau pelo DSG quando comparado ao LNG (ROSENDAAL, 2005; SOWERS et al., 2005; STRACZEK et al., 2005; SARE; GRAY; BATH, 2008; TCHAIKOVSKI; ROSING, 2010).

Vários estudos avaliaram as formulações combinadas com progestinas de 3ª geração e EE/CPT em comparação com o EE/LNG e descreveram alterações hemostáticas desfavoráveis para as primeiras formulações (MIDDELDORP et al.,

2000; TANS et al., 2000; ORAL E HEMOSTASIS STUDY, 2003; BREMME et al., 2012; TCHAIKOVSKI et al., 2014).

Quanto ao risco de TEV, progestinas como GSD e DSG (3ª geração) e acetato de CPT são consideradas com potencial trombogênico elevado quando comparadas ao LNG (2ª geração). Segundo a literatura, o risco de evento trombótico atribuído às mulheres que utilizam compostos contendo EE com GSD ou DSG é de 1,5 a 1,7 e para CPT, o risco é de 3,9 quando comparado às usuárias de EE/LNG (KEMMEREN et al., 2001; VASILAKIS-SCARAMOZZA; JICK, 2001).

Outra influência indesejada dos COCs nos parâmetros hemostáticos é a resistência à proteína C ativada (PCA), geralmente causada por uma mutação de ponto no gene do fator V da coagulação, mas que também pode ser resultante do uso de COCs. O estudo de Tans e colaboradores (2000) verificou que o tratamento com COCs EE/DSG causa resistência mais pronunciada à PCA do que quando utiliza-se EE/LNG. Já Rosing e Tans (1997) e van Vliet e colaboradores (2005) reforçaram os achados do estudo anterior, concluindo que as usuárias de formulações combinadas contendo DSG, GSD e CPT foram mais resistentes à PCA do que as que utilizavam EE/LNG. Além disso, o último estudo encontrou associação positiva entre os níveis de SHBG e o aumento da resistência à PCA.

Ainda considerando o impacto dos COCs na resistência da PCA, Ruhl e colaboradores (2014) verificaram não somente o aumento desse efeito durante o segundo ou terceiro ciclo de uso, bem como a permanência dessa elevação durante todo o período estudado. Também, o desenvolvimento da resistência à PCA esteve associado à diminuição da PS livre e elevação de fatores pró-coagulantes, como fatores II, VII, VIII, IX, X e XIII, fibrinogênio, mas sem alterações nos níveis de trombina, F1+2 e complexo trombina-antitrombina (TAT), o que explicaria o potencial menor quanto ao desenvolvimento de TEV dos COCs, isoladamente, em comparação ao de cirurgias, fator de risco trombogênico forte.

Os riscos de desenvolvimento de TEV estão relacionados à dose de EE e aos tipos de progestinas, geralmente agrupadas em gerações. Assim, COCs em doses elevadas de EE (≥ 50 μg) têm sido associados ao risco maior de TEV quando comparados aos de baixa dose (20-30 μg) e o aumento de 10 μg na dose do EE aumenta o risco de TEV em 1,9 vezes (GERSTMAN et al., 1991; VAN HYLCKAMA VLIEG; ROSENDAAL, 2003).

Além disso, mulheres que apresentam fatores de risco para TEV e utilizam COCs apresentam risco aumentado desse evento. Assim, obesidade, tabagismo, diabetes, câncer, idade avançada, desordens mieloproliferativas, deficiências de proteínas anticoagulantes, como as PS, C e antitrombina, bem como alterações genéticas relacionadas a defeitos na coagulação (mutações nos genes do *Fator V Leiden*, *Protombina* 20210G>A) e indivíduos com doença falciforme podem apresentar risco maior de TEV (ROSENDAAL, 2005; VAN VLIJMEN et al., 2007; LOWE, 2008; AUSTIN et al., 2009; WHO, 2015).

Vale ressaltar que em mulheres jovens, o risco de TEV é de 1-3/10.000 casos-anos. Caso apresentem alteração genética predisponente (*FVL*, *Protrombina*), o risco aumenta em 5 a 10 vezes. A gravidez e a obesidade grave aumentam esse risco em 5 vezes; COCs de baixa dose de EE e progestinas de 3ª geração, bem como DRSP, aumentam em 4 vezes; os de 2ª geração e histórico familiar de TEV em 3 vezes e, por último, o tabagismo e a adiposidade moderada aumentam em 2 vezes o risco de TEV (LIDEGAARD; EDSTROM; KREINER, 2002).

2.6.2 Efeitos do estrogênio e progestinas no endotélio vascular

Os estrogênios, no geral, exercem funções regulatórias importantes no endotélio vascular e em seus componentes, o que pode explicar a proteção cardiovascular em mulheres durante a idade fértil, mas também a prevalência elevada de doenças como lúpus eritematoso, que é exacerbado pela condição de gravidez ou em mulheres que utilizam COCs (LAHITA, 1985; BEESON, 1994).

O estrogênio age nas células endoteliais através dos receptores nucleares funcionais estrogênicos, RE α e RE β , que estão localizados no citosol e no núcleo, sendo que esse complexo é translocado para o núcleo, ligando-se ao DNA e modulando a expressão gênica (MENZA; MURPHY, 2016).

Estrogênios regulam a resposta das células endoteliais a certos estímulos, que pode ser pró-inflamatória, anti-aterogênica ou compensatória, como a produção de óxido nítrico (NO), além da expressão de moléculas de adesão e do aumento de marcadores inflamatórios (CID; SCHNAPER; KLEINMAN, 2002).

A produção de NO, responsável por grande parte da vasodilatação endotelial e pela indução da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) pelos compostos estrogênicos, tem sido demonstrada em vários tecidos e parece estar relacionada à

cardioproteção. Tanto RE α quanto RE β presentes nas células endoteliais aumentam NO por estímulo da expressão gênica de eNOS e por ativação direta da produção de NO. O E2 promove vasodilatação endotélio-mediada de forma mais rápida que através do mecanismo transcricional. Além disso, o E2 ativa rapidamente a eNOS, estimulando a produção de NO (MENDELSON, 2000; 2002; BOLEGO et al., 2005; HISAMOTO; BENDER, 2005; SOBRINO et al., 2009).

As progestinas, bem como a medroxiprogesterona e a progesterona, utilizadas em terapia de reposição hormonal, reduzem o efeito anti-agregante provocado pelas células endoteliais devido à diminuição na expressão de eNOS e redução nos níveis de NO, mediada pela ação nos receptores glicocorticóides, segundo estudo de Zerr-Fouineau e colaboradores (2007) realizado em células endoteliais humanas do cordão umbilical. Da mesma forma, o LNG parece atenuar o efeito do estrogênio por interferir na síntese de eNOS. Já as progestinas DSG e CPT parecem contrapor ao efeito do EE em menor extensão, melhorando a função endotelial (THOMPSON et al., 2011).

Outro efeito promovido pela ação dos estrogênios inclui também a diminuição na expressão de moléculas de adesão envolvidas na ligação de monócitos às células endoteliais, além da diminuição de citocinas envolvidas na migração dessas células para o subendotélio durante tratamento de reposição hormonal (NATHAN e CHAUDHURIL, 1997)

Os estrogênicos utilizados via oral, como o 17 β E2, estão relacionados a geração de metabólitos pró-inflamatórios, como a proteína C reativa (PCR), P-selectina, fator de necrose tumoral α (TNF- α), molécula de adesão intercelular - 1 (ICAM-1), molécula de adesão a célula vascular - 1 (VCAM-1) e fibrinogênio, devido ao metabolismo hepático de primeira passagem (DE LIGNIERES et al., 1986; VEKAVAARA et al., 2001; LACUT et al., 2003; STRANDBERG; YLIKORKALA; TIKKANEN, 2003; BROSAN; SHEPPARD; NORRIS, 2007).

Kluft e colaboradores (2002) estudaram mulheres em idade fértil em uso de COCs (DSG e GSD) e outro grupo de mulheres na menopausa utilizando 17 β E2, sendo verificado o aumento nos níveis da PCR pelo uso de COCs e TRH, uma vez que nas mulheres em uso de COCs, o aumento da PCR foi acompanhado por níveis elevados de proteínas de fase aguda como fibrinogênio, ceruloplasmina e fator de von Willebrand, mas não de interleucina-6 (IL-6).

Além disso, estrogênios parecem modular a resposta inflamatória indiretamente, através do eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal, com liberação final de corticóides pela glândula adrenal. Assim, através da estimulação desse eixo pelo estrogênio, podem ocorrer manifestações como depressão, estresse e inflamação (KELLY, QIU; RONNEKLEIV, 2005; MALYALA; KELLY; RONNEKLEIV, 2005).

2.7 EFEITOS NO METABOLISMO GLICÊMICO E PRESSÃO ARTERIAL

O uso de COCs de alta dose de EE está associado com níveis glicêmicos elevados, bem como alteração na tolerância à glicose (WYNN et al., 1979; GASPARD e LEFEBVRE, 1990); porém, mesmo com a diminuição da dose de EE e na dependência do tipo de progestina, os níveis de glicose plasmática foram 43% a 61% maiores nos casos que nos controles. Nas formulações contendo somente progestinas, foram descritos efeitos mínimos no metabolismo de carboidratos. Assim, as alterações relacionadas à glicemia parecem ser afetadas pelo componente estrogênico e moduladas, em menor ou maior grau, pelo tipo de progestina utilizada; porém, aqueles de potencial androgênico maior podem provocar aumento da resistência à insulina uma vez que se ligam ao RP, ativando-o e aumentando a secreção de insulina (GODSLAND et al., 1990).

Troisi, Cowie e Harris (2000) analisaram o metabolismo da glicose em mulheres usuárias de COCs e não encontraram alterações relevantes nos níveis glicêmicos, de hemoglobina A1c, insulina e peptídeo C.

Agren e colaboradores (2011) descreveram aumentos significativos nos níveis de glicose e insulina em usuárias de COCs contendo EE e alterações menores quando o componente estrogênio utilizado foi o E2V.

Olantuji e colaboradores (2012) verificaram em modelos de roedores que os efeitos negativos dos COCs na tolerância à glicose são dose dependente e que as formulações contendo somente progestinas não interferiram no metabolismo glicêmico.

Sitruk-Ware e Nath (2011) decreveram em uma revisão que tanto o componente EE quanto as progestinas estão envolvidos em efeitos negativos no metabolismo glicêmico, uma vez que o EE é responsável por gerar resistência à insulina e as progestinas estão associadas a alterações na meia vida da insulina e

no seu aumento. Assim, formulações de progestinas combinando EE com LNG apresentam efeitos desfavoráveis maiores no metabolismo glicêmico. Já as combinações EE/DSG e EE com noretindrona estão associadas a perfis glicêmicos mais favoráveis (GODSLAND et al., 1992).

O uso de COCs também apresenta impactos negativos na pressão arterial (PA), provavelmente devido à ação de ambos os componentes da formulação. Enquanto o componente estrogênico dos COCs apresenta efeitos benéficos na parede dos vasos sanguíneos e nas células endoteliais, uma vez que estimula o aumento de NO, resultando em vasodilatação, este composto age também no sistema renina-angiotensina-aldosterona gerando retenção de sódio, o que aumenta o volume plasmático e pode repercutir no aumento da PA. Já o componente progestínico interage, mais uma vez, antagonizando ou não o efeito do EE, a depender de seu potencial androgênico (KOVACS et al., 1986; BLUM et al., 1988; GODSLAND et al., 1995; ELGER et al., 2003).

A mulher, durante o ciclo menstrual, apresenta variações consideradas normais na PA (KELLEHER et al., 1986). Independente dessas variações, o uso de COCs contendo 50µg de EE e progestinas de 1 a 4 mg tem sido implicado em aumento moderado da PA em mulheres em idade fértil (CHASAN-TABER et al., 1996).

Considerando COCs de baixa dosagem, Nichols e colaboradores (1993) compararam o efeito de quatro formulações contendo 30 µg de EE com 1 mg de noretindrona (NET) ou 150µg de LNG ou 150 µg de DSG ou 75 µg de GSD e verificaram que todas as formulações provocaram aumento discreto, porém significativo na PA. Vale ressaltar que o GSD possui propriedade anti-mineralocorticoide, mas que é efetiva somente quando esse composto é utilizado em doses elevadas (OELKERS, 2002).

A DRSP, progestina derivada da espironolactona, com propriedades anti-mineralocorticóides pronunciadas e ação anti-androgênica, parece atenuar ou bloquear o impacto de EE na PA (ARIAS et al., 2006). Enquanto a associação da DRSP com o risco de TEV é relatada em vários estudos, seus efeitos nos níveis pressóricos parecem favoráveis em relação ao sistema cardiovascular (GRONICH; LAVI; RENNERT, 2011; GIRIBELA et al., 2012).

Em mulheres hipertensas, o uso de COCs tem sido associado ao risco aumentado para eventos cardiovasculares agudos, incluindo infarto do miocárdio e

acidente vascular cerebral isquêmico, e seu uso é considerado uma condição na qual os riscos ultrapassam as vantagens do método, segundo as recomendações de uso de métodos contraceptivos da Organização Mundial da Saúde (OMS) (CURTIS et al., 2006; LIDEGAARD et al., 2012a; WHO, 2015).

2.8 RECOMENDAÇÕES SOBRE O USO DE MÉTODOS CONTRACEPTIVOS

A OMS e a Faculdade de Saúde Sexual e Reprodutiva do Reino Unido (UK) apresentam critérios relacionados ao uso seguro de cada método contraceptivo levando em consideração as características individuais ou condições de saúde específicas das mulheres para a escolha do método (UK, 2009; WHO, 2015). As recomendações destacam a necessidade do planejamento familiar e da prevenção da gravidez não planejada, além de considerarem que o uso do método contraceptivo, em algumas condições de saúde, não deve piorar essa condição ou criar riscos adicionais para as mulheres. Adicionalmente, as recomendações também tem a preocupação de avaliar se a condição médica poderia alterar a efetividade do método, diminuindo seu potencial contraceptivo.

As recomendações de uso são apontadas em 4 categorias, a saber: Categoria 1 – não há restrições para o uso do método; Categoria 2 – as vantagens do uso do método geralmente são superiores aos riscos; Categoria 3 – os riscos do uso são superiores às vantagens do método; Categoria 4 - os riscos relacionados ao uso do método contraceptivo são inaceitáveis (UK, 2009; WHO, 2015).

Várias condições médicas ou características individuais são citadas pelos guias, considerando vários métodos contraceptivos. Em relação aos COCs, dentre as condições médicas que podem piorar o quadro de saúde da mulher ou criar mais riscos, consideradas contra-indicações de uso, destaca-se o uso de COCs em mulheres que fumam e tem idade superior a 35 anos, hipertensão, enxaqueca com aura, múltiplos fatores de risco para doenças cardíacas, diabetes com alterações sistêmicas, obesidade (IMC acima de 35 kg/m²) (somente considerado pela UK), risco de TEV, pós-parto, lactação, dentre outras (UK, 2009; WHO, 2015).

É importante notar que a escolha do método contraceptivo deve estar relacionada não só as condições de saúde da mulher, mas também o acesso ao método e facilidade de uso, além dos benefícios de se prevenir uma gravidez não planejada.

3 JUSTIFICATIVA

Os COCs são amplamente utilizados como método contraceptivo em todo o mundo por mais de 100 milhões de mulheres, mas também podem ser administrados para outras finalidades terapêuticas (ERKOLLA, 2007; HAIDER; D'SOUZA, 2009; GUIDA et al., 2010).

Como a expectativa de vida das mulheres vem crescendo a cada ano e, de forma inversa, a idade do início da atividade sexual tem diminuindo, o uso de métodos contraceptivos é importante na prevenção de uma gravidez não planejada (WHO, 2015; CAVAZOS-REHG et al., 2009).

No Brasil, os COCs estão entre os dez medicamentos mais vendidos, com formulações à base de EE+LNG ocupando o quarto e quinto lugar, segundo dados de vendas de medicamentos em 2012 (IMS, 2016). Os contraceptivos são considerados métodos reversíveis e eficazes, acessíveis, apresentam custo baixo e, a depender da formulação, podem ser adquiridos pela rede pública de saúde.

Contudo, os contraceptivos apresentam efeitos adversos variados, os quais podem gerar consequências graves para as usuárias, como o risco de TEV ou de doenças cardiovasculares (KEMMEREN et al., 2001; GASPARD et al., 2004; KLIPPING; MARR, 2005).

Assim, com a necessidade da contracepção por métodos variados, bem como o uso de COCs, aumenta-se a exposição aos efeitos adversos destes métodos, com impactos no metabolismo lipídico, glicêmico e em variáveis hemostáticas, inflamatórias, além de alterações na PA.

A literatura tem mostrado a ocorrência de eventos tromboembólicos e cardiovasculares provocados por COCs em mulheres jovens, que podem ser decorrentes do efeito de primeira passagem hepática dessas formulações, somado aos riscos relacionados à comorbidades, estilo de vida, bem como fatores genéticos predisponentes (WHO, 2015; HAIDER et al, 2009; ROSENDAAL, 2005; VAN VLIJMEN et al., 2007; LOWE, 2008; AUSTIN et al., 2009).

Entretanto, apesar de alguns estudos relatarem alterações cardiometabólicas e hemostáticas relacionadas ao uso dos COCs, a maioria das mulheres que utiliza o Serviço Único de Saúde (SUS) não tem acesso à avaliação clínica periódica e laboratorial relacionada aos riscos cardiovasculares e tromboembólicos.

Assim, estudos que avaliem as condições de saúde dessas mulheres, principalmente aquelas associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e tromboembólicas são relevantes e podem contribuir para evitar esses desfechos desfavoráveis, além de colaborar com o conhecimento epidemiológico sobre o uso de contracepção hormonal em mulheres do Estado da Bahia.

4 HIPÓTESE

Mulheres em uso de contraceptivos orais apresentam contra-indicações para este tratamento que comprometem sua saúde, nas quais os riscos são maiores que os benefícios.

O uso dos COCs está associado à alterações nos parâmetros cardiometabólicos e hemostáticos em mulheres com condições médicas pré-existentes, como obesidade e presença de hemoglobinas variantes.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Estudar mulheres em idade fértil, em uso de contraceptivos orais combinados, que utilizam o serviço público de saúde na Bahia, através da avaliação de parâmetros cardiometabólicos e hemostáticos e considerando condições médicas pré-existentes.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Descrever as formulações de COCs utilizadas, bem como as características sócio-demográficas das mulheres participantes do estudo;
- 2) Avaliar as condições de saúde ou contraindicações para o uso de COCs entre mulheres em idade reprodutiva;
- 3) Avaliar parâmetros bioquímicos e inflamatórios associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares em mulheres obesas em uso de COCs;
- 4) Avaliar a associação entre os perfis hematológico, bioquímico, inflamatório e de hemostasia em mulheres portadoras de hemoglobinas variantes em uso de COCs.

6 MANUSCRITOS

6.1 MANUSCRITO 1

Título: Combined oral contraceptives use in Brazilian women: evaluation of medical conditions and contraindications.

Autores: Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Suellen Pinheiro Carvalho², Rodrigo Mota Oliveira², Sètonджи Cocou Modeste Alexandre Yahouédéhou², Rayra Pereira Santiago^{1,2}, Carla Souza Santos², Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Caroline Conceição da Guarda^{1,2}, Elisângela Vitória Adorno², and Marilda de Souza Goncalves^{1,2*}

Situação: A ser submetido

Objetivo: *(referentes aos objetivos 1 e 2 da tese):*

Verificar a frequência de condições médicas ou contraindicações ao uso de COCs entre mulheres brasileiras em idade reprodutiva, além de descrever as formulações de COCs utilizadas.

Principais resultados:

O uso de formulações contendo 20-30 µg de etinilestradiol e 100-250 µg de levonorgestrel foi descrito por 43,7% das mulheres; no geral, a população estudada era predominantemente constituída por mulheres pretas e pardas; a maioria declarou ser de baixa renda e ter concluído o ensino médio. Entre as mulheres que utilizavam COCs, 14,2% tinham pelo menos uma contraindicação para o seu uso e a hipertensão foi mais frequente (10,6%), seguido de hábito de fumar acima dos 35 anos (2,4%). Além disso, 1,2% das mulheres apresentaram duas ou mais contraindicações para o uso de COCs. Contraindicações de categoria 3 foram observadas em 9,8% das mulheres que utilizavam COCs e categoria 4 foi observada em 3,2%.

TITLE:

Combined oral contraceptives use in Brazilian women: evaluation of medical conditions and contraindications.

Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Suellen Pinheiro Carvalho², Rodrigo Mota Oliveira², Sètonджи Cocou Modeste Alexandre Yahouédéhou², Rayra Pereira Santiago^{1,2}, Carla Souza Santos², Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Caroline Conceição da Guarda^{1,2}, Elisângela Vitória Adorno², and Marilda de Souza Goncalves^{1,2*}

¹Fundação Oswaldo Cruz - Bahia, Salvador, Brasil.; ²Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

*Corresponding author:

Marilda de Souza Gonçalves

Postal address: Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador, Bahia, Brasil, CEP 40.296-710. Email: mari@bahia.fiocruz.br. Tel: +55 71 31762226; Fax: +55 71 31762289

Keywords: Public health, epidemiology, gynecology, combined oral contraceptives, contraindications

ABSTRACT

Combined oral contraceptives (COCs) are an effective method to prevent pregnancy, but confer an increased risk of certain outcomes such as myocardial infarction, stroke or thrombosis especially in women with some contraindications to COCs use or women with comorbidities. The aim of the present study was to verify the frequency of medical conditions or contraindications to COCs among reproductive-age Brazilian women and describe the oral contraceptive pills formulations used.

Design: Cross-sectional study.

Participants: The study casuistic was compound by 499 Brazilian women COCs users, with age of 15-45 years that answered a survey about contraceptive use, the contraindications and medical conditions to COCs use according to the World Health Organization (WHO) and United Kingdom (UK) Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use. We asked about the contraindications classified as category 3 or 4, *such as hypertension, smoking at age older than 35 years, history of venous thromboembolism, diabetes with complications, and systemic lupus erythematosus with antiphospholipid antibodies, breast cancer and coronary artery disease*. In addition, we evaluated medical conditions reported as cardiovascular or thromboembolic risk factors, such as obesity, dyslipidemias, and familiar history of venous thromboembolism. Anthropometric measurements and blood pressure (BP) were taken at the enrollment, also blood sample was obtained for hematological and biochemical analyses.

Results: We identified that low dose ethinylestradiol and levonorgestrel were reported in 43.7% of women COCs users. Overall, our population was predominantly non-white and not married; most of them reported low income and concluded the high school. Among all COCs users, 14.2% had at least one contraindication to COCs: hypertension was the most frequent (10.6%) followed by smoking age \geq 35 years (2.4%). In addition, 1.2% of women had two or more contraindications to COCs. Category 3 contraindications were observed in 9.8% of all COCs users, and category 4 contraindications were reported by 3.2%.

Conclusion: The study identified a considerable rate of contraindications to COCs among reproductive-age women, including those that worsens the medical condition or creates additional health risks such as hypertension and smoking. It is important to increase the information about the contraceptive method and about their

contraindications in order to prevent unintended pregnancy with safer and most effective methods of contraception.

Strengths and limitations of this study:

- This study was the first performed about the medical conditions or contraindications to COCs conducted in Brazilian women.
- We evaluated a considerable number of women assisted in a health service using several formulations of COCs;
- Clinical analyses were performed by recommended methods and the measurements were conducted with rigorous procedures and calibrated equipment.
- We cannot give information about the long-term consequences among the women COCs users because we conducted a cross-sectional study.
- Body mass index calculation has some limitations, but is an inexpensive, reliable and easy method, recommended by World Health Organization to classify obesity.

INTRODUCTION

Combined oral contraceptives (COCs) are currently used by more than 100 millions of women worldwide, reaching 15.4% of women in reproductive age in developed countries, and in Brazil it is about 24.7% (Christin-Maitre, 2013; "Population Reference Bureau World population datasheet," 2015; United Nations, 2015). COCs are effective and reversible method to prevent unplanned pregnancy. Furthermore, COCs present non-contraceptive benefits, such as decreased risk of ovarian and endometrial cancer, and improvement of acne, headaches and premenstrual syndrome (Christin-Maitre, 2013).

Firstly, COCs had high doses of both estrogen and progestin, but their formulations changed in both compounds in order to reduce adverse effects. However, COCs use is still associated with cardiovascular complications and thromboembolic risks and some medical conditions can increase those risks (Lidegaard, Lokkegaard, Jensen, Skovlund, & Keiding, 2012; Lidegaard, Lokkegaard, Svendsen, & Agger, 2009; van Hylckama Vlieg, Helmerhorst, Vandenbroucke, Doggen, & Rosendaal, 2009; WHO, 2015).

The World Health Organization (WHO) Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use, and the United Kingdom (UK) Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use provide evidence-based recommendations for the safety contraceptive use among women with several medical comorbidities. These recommendations aim to minimize any potential risks caused by the COCs use, maximize the effectiveness of the contraceptive method, and reduce the risks associated with an unplanned pregnancy (Care, 2009; WHO, 2015). These criteria classify the contraceptive methods use as category 1, with no restriction to method use; category 2 indicates the advantages of using the contraceptive method generally outweigh the theoretical or proven risks; category 3 indicates a condition where the theoretical or proven risks usually outweigh the advantages of using the method, and category 4 indicates an unacceptable health risk if the contraceptive method is used. Recent studies reported variations of 2.38-18% of current COCs users with medical contraindications to combined hormonal contraception (Grossman et al., 2011; Xu, Eisenberg, Madden, Secura, & Peipert, 2014).

Despite the large use of COCs by the Brazilian women, to our knowledge, reports of the contraindications to COCs as well as the formulations they are using more frequently are scarce. Therefore, the present study aims to describe the COCs formulations used and estimate the frequency of medical contraindications or health conditions associated with cardiovascular and thromboembolic risks among reproductive-aged women.

MATERIALS AND METHODS

This study is part of a research protocol designed to evaluate COCs use associated with laboratorial markers in some health conditions in women COCs users. All the women who went to perform laboratorial exams in the health service of the department of Clinical Analyses and Toxicology located at the College of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Bahia (UFBA), Bahia-Brazil, aged 15 to 45 years and COCs users were invited to participate to the study. Of them, 499 women accepted to be included in the research.

A total of 499 women COCs users who accepted to participate in the study were included. They performed routine laboratory exams in the health service of the department of Clinical Analyses and Toxicology located at the College of

Pharmaceutical Sciences, Federal University of Bahia (UFBA), Bahia-Brazil, where they were invited to participate in the study. The women were not eligible for the study if they were pregnant, lactating or taking other hormonal contraceptives or hormonal therapy, being under menopause or in treatment for polycystic ovary syndrome.

The study protocol was approved by the Gonçalo Moniz Research Center at the Oswaldo Cruz Foundation (CPqGM-FIOCRUZ – Bahia - Brazil) and followed ethical principles of the Declaration of Helsinki as well as its revision. Data were collected from August 2013 to July 2014. All participants signed the informed consent form.

All the women answered a questionnaire about their characteristics, the current COCs formulation used and several health conditions that are considered categories 3 or 4 contraindications to contraceptive use according to the WHO or UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use (Care, 2009; WHO, 2015): (1) smokers over the age of 35 years (classified as category 3 if < 15 cigarettes/day or category 4 if > 15 cigarettes/day), (2) hypertension (without others risks for cardiovascular diseases) in women that self-reported hypertension and anti-hypertensive use with blood pressure adequately controlled (category 3), or if they self-reported hypertension and anti-hypertensive use and had a systolic blood pressure (BP) \geq 140-159 mm Hg or diastolic BP \geq 90–99 mm Hg on the day of the enrollment with history of hypertension (category 3), or if they self-reported hypertension and medication use and had a systolic BP greater than 160 mm Hg or diastolic BP above 100 mm Hg in the day of the enrollment with history of hypertension (category 4), (3) Multiple risk factors for cardiovascular disease such as hypertension, older age, smoking, diabetes and known dyslipidemias (women taking medication for a hyperlipidemia) (category 3/4), (4) History of venous thromboembolism (category 3 if lower risk and category 4 if higher risk), (5) Diabetes with complications (category 3 if microvascular complications or category 4 if vascular disease), (6) systemic lupus erythematosus with antiphospholipid antibodies (category 4), (7) breast cancer (category 3 if previous breast cancer without disease for 5 years or category 4 for current breast cancer), (8) Coronary artery disease (category 4), (9) Migraine with aura (category 4).

We also described some medical conditions or relevant characteristics that may be associated with cardiovascular or thromboembolic risk and require careful

follow-up for the women users of COCs in those situations, considered category 2 according to WHO criteria (WHO, 2015): (1) Family history of deep vein thrombosis or pulmonary embolism considering first-degree relatives age under 45 years with this condition, (2) known dyslipidemias without other known cardiovascular risk factors: as low-density lipoprotein (LDL-c) levels ≥ 160 mg/dl, triglycerides levels ≥ 200 mg/dl or high-density lipoprotein (HDL-c) levels ≤ 50 mg/dl, (3) diabetes among women self-reported insulin- or non-insulin-dependent treatment or when fasting glucose was above 126 mg/dl, (4) sickle cell disease.

At enrollment, blood pressure (BP) was measured after a relaxed seated position for at least 5 minutes using the Omron Model M7 digital automatic BP monitor (Omron Healthcare, Inc, Lake Forest, IL, USA). The average of the three measurements was taken as the BP value. The blood sample was taken by venipuncture after at least 12 hours of fasting. Biochemical parameters were measured in automated equipment A25 (Biosystems S.A, Costa Brava, Barcelona).

The hemoglobin profile was analyzed by high-performance liquid chromatography using the VARIANT-I hemoglobin analyzer system (BIORAD, Hercules, CA, USA). We calculate the body mass index (BMI) by dividing weight in kilograms by height in meters squared and obesity was considered according to World Health Organization (WHO) classification (WHO, 2013). Biological samples were analyzed at CPqGM-FIOCRUZ and at clinical laboratory of College of Pharmaceutical Sciences UFBA..

The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v. 20.0 was used to construct the database and process the data using descriptive statistics to characterize the studied population. Baseline characteristics of study participants were summarized with frequencies and percentages for categorical variables or with means, medians or standard deviation for continuous variables.

RESULTS

Characteristics of combined oral contraceptives users

The present study evaluated women COCs users living in Bahia, northeast of Brazil. Women median age was of 30.0 years (15.0 – 45.0). The sociodemographic characteristics of the participants of the study (n=499) are shown in table 1. Overall, our population was predominantly self-declared black and brown (mixed race) and not married; had low income and concluded the high school.

Combined oral contraceptives use: dose of estrogen and type of progestin

Data regarding the dose of estrogen compound and the type of progestin are shown in Table 2.

Women reported seven different COCs formulations in relation to the dose of estrogen combined with the type of progestin. COCs use of 20-30 µg of ethinylestradiol (EE) and 100-250 µg of levonorgestrel were reported in 43.7% (218/499) of women and the use of estradiol valerate and dienogest pills was reported in 0.6% (3/499). The use of COCs containing EE compound ≥ 50 µg was 3.4% (17/499), less common than the use of formulations with < 35 µg that was 96.0% (479/499). According to the generation of progestins, 47.1% (235/499) of women take second generation of progestin pills, 34.1% (170/499) use third generation and 18.2% (91/499) used fourth generation of progestins. The use of newer COCs was less than 1% (estradiol valerate and dienogest), and the use of norethindrone progestin (first generation) was not reported.

Medical conditions and contraindications to combined oral contraceptive use

Conditions representing either an individual's characteristics (age, obesity, family history of deep vein thrombosis, and dyslipidemias), a known pre-existing medical condition (diabetes, sickle cell disease) or a contraindication (hypertension, age ≥ 35 years smokers and multiple risk factors for cardiovascular disease) to COCs, according to US and UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive use, are shown in table 3.

Among all COCs users, 65 (13,0%) women had a contraindication to COCs (categories 3 and 4), including those with just one contraindication. Hypertension was the most frequent (10.6%) followed by smoking age ≥ 35 years (2.4%). Six (1.2%) women had two or more conditions considered contraindications to COCs including four (0.8%) participants with hypertension and dyslipidemia, 1 (0.2%) smoker with hypertension and dyslipidemia and 1 (0.2%) woman with hypertension, diabetes and dyslipidemia. Category 3 contraindications were observed in 9.8% (49/499) of all COCs users and category 4 were reported by 3.2% (16/499). Obesity type II and III and familial history of deep vein thrombosis with first-degree relative age < 45 are

considered category 3 according to UK criteria; thus, we found 26 (5.2%) and 20 (4%) women COCs users in those conditions respectively, which increases the number of women contraindicated to COCs to 117 (23.4%). Contraindications to COCs such as history of venous thromboembolism, diabetes with complications, coronary artery disease, lupus erythematosus, and breast cancer, migraine with aura, severe liver cirrhosis, gallbladder disease, liver tumors, peripartum cardiomyopathy, organ transplant and valvular heart disease were not identified among these women COCs users.

Among the conditions associated with development of cardiovascular disease or thrombosis, but that are considered as category 2, 20.2% (101/499) of women were considered obese ($BMI \geq 30 \text{ Kg/m}^2$); diabetes non-insulin dependent were observed in 1.6% (8/499) of women, insulin dependent in 0.4% (2/499) and those with fasting glucose above 126 mg/dl were 3% (15/499). According to the dyslipidemias, we observed that 5.4% (27/499) had high levels of LDL-c, 3.8% (19/499) had triglycerides above 200mg/dl and 36.9% (184/499) had HDL-c above normal-average levels. The family history of VTE was reported by 10.2% (51/499) of women COCs users. According to the hemoglobin profile, 1.6% (8/499) had the sickle cell disease (HbSS and HbSC genotypes).

DISCUSSION

The present study characterized types of COCs used by a group of reproductive-age Brazilian women and the conditions or contraindications to COCs, according criteria established by WHO and UK recommendations.

Our data suggest that women are using pill formulation of low dose of EE and no more the 1st generations of progestins. However, Hall and Trussell (2012) studied different types of COCs used by US women and found that they are keeping the use of earlier pill formulations ($\geq 30 \text{ mcg}$ estrogen, 1st and 2nd generation progestins), cited in second position, which have androgenic properties, reason for reducing its clinical prescription in several countries (Christin-Maitre, 2013; Sitruk-Ware, 2008). COCs of 2nd generation progestins are the most inexpensive formulations sold in pharmacies and delivered by Brazilian government institutions. In addition, 41.1% of studied women reported a family income of less than or equal of US\$ 220 what contributes to the acquisition of lower prices formulations. Trend in COCs use is an association of lower estrogen doses with different progestins generations in order to reduce

undesirable effects (Christin-Maitre, 2013; Lidegaard et al., 2012; van Hylckama Vlieg et al., 2009).

Among the reproductive-age women that randomly went to the health service, we observed a rate of 13% of women with medical contraindication to COCs method, similarly to Luring et al. (2016) that verified 13.2% of combined hormonal contraception users with a contraindication to estrogen use, although their study included other combined hormonal methods, such as patch and vaginal ring. Grossman et al. (2011) described rates ranging from 13.8-21.4% of contraindications in women that had obtained oral contraceptive pills from a clinic or over-the-counter. Although in our country contraceptive methods can be prescribed by physicians or acquired over-the-counter, our results were similar to those found in previous report that considered only oral contraceptive pills obtained by medical prescription (Luring et al., 2016). The concern about reducing the contraindications to COCs, that is a method widely used by Brazilian women, may be towards helping women with more information in order to ensure the access to the safest contraceptive method according to their health conditions or their own characteristics once they may desolve any contraindication during COCs use.

Contraindications to COCs observed such as smoking habit or hypertension are associated with increased risk for cardiovascular diseases and stroke when compared with non-users, although the frequency of those events in reproductive-age women are considered low (Elgan, Samsioe, & Dykes, 2003; Kemmeren et al., 2002; Lubianca, Faccin, & Fuchs, 2003; Nightingale et al., 2000; Roach et al., 2013). Despite of the low frequency of those events, women with comorbidities and those with multiple risk factors that may increase their risks of cardiovascular disease should avoid the hormonal contraceptive treatment (Lubianca et al., 2003; Roach et al., 2013; WHO, 2015). Likewise, considering the increase in blood pressure, the discontinuation of the hormonal contraception may help to control the hypertension (Narkiewicz et al., 1995).

Similarly, our analysis described women with medical conditions or characteristics that may need to be considered together to determine the choice of the contraceptive method. The main importance of the contraceptive use is preventing unintended pregnancy, but some medical circumstances may add risks to hormonal contraceptive users. The WHO and UK Medical Eligibility criteria for contraceptive use suggest four categories of contraceptive eligibility according to the

possibility of health risk or, secondarily, if the medical condition compromises the contraceptive effectiveness (Care, 2009; WHO, 2015).

The obesity (BMI ≥ 30 Kg/m²) is also included as a condition for women COCs users, defined as when the benefits of using the method outweigh the risks. Our results showed 20.2% of obese women and almost one third of the women present overweight. Although obesity is not reported as a contraindication to COCs according to WHO criteria (category 2), it is considered an independent risk factor for development of cardiovascular disease and venous thromboembolism and estrogen use in obese women may increase their risks (Allman-Farinelli, 2011; Care, 2009; Nightingale et al., 2000; WHO, 2013, 2015). In addition, obese women are more likely to develop hypertension, diabetes and dyslipidemias, reported as contraindications to COCs.

We verify the lipid levels in the group of women COCs users and we found high LDL-c and triglycerides levels and more than one third of women with HDL-c levels below normal-average, values that are adopted as criteria to dyslipidemia classification (Expert Panel on Detection & Treatment of High Blood Cholesterol in, 2001). Furthermore, dyslipidemia and other risk factors (hypertension, diabetes or smoking) were found in all six women (1.2%) with multiple risk factors for cardiovascular disease. Increased levels of LDL-c and triglycerides and decreased levels of HDL-c are risk factors for myocardial infarction (MI) and other cardiovascular diseases (Expert Panel on Detection & Treatment of High Blood Cholesterol in, 2001; Kemmeren et al., 2002). Recommendations of the UK criteria are in towards of verify the type, severity of the hyperlipidemia and the presence of other cardiovascular risk factors to analyze the safest contraceptive method for those women (Care, 2009).

We found 10.2% of women who reported VTE family history. As genetic and environmental factors interact in determining the risk of VTE, reports of family history alone cannot identify a thrombophilia. However, more attention should be given to the women with a family history of VTE in first relative degree, because screening for thrombogenic mutations is not cost-effective to test all women before the use of COCs (Care, 2009; Middledrop S, 2008; van Vlijmen et al., 2007; WHO, 2015).

Sickle cell disease (SCD) was present in 1.6% of women COCs users, pointed as category 2 in the US and UK medical eligibility criteria for contraceptive use because the pregnancy in those women has more medical complications than the use of COCs may cause. However, in this condition, progestogen-only

contraceptives seem to be safer than COCs and some studies reported benefits with respect to clinical symptoms in SCD patients (Care, 2009; de Abood, de Castillo, Guerrero, Espino, & Austin, 1997; Howard, Lillis, & Tuck, 1993; WHO, 2015). To note, we have in Brazilian population an important frequency of hemoglobin variants due to the ethnic admixture and there are scarce reports in literature about the COCs use among women carriers of this genetic condition (Adorno EV, 2005; Silva W S, 2006).

Contraception in diabetic women is an important issue because unplanned pregnancies in these cases can increase maternal and infant morbidity and mortality. We found diabetic women and those with increased levels of fasting glucose among COCs users. It is necessary to consider the possible metabolic effects of hormonal contraceptives methods and the additional risks that each women can present, reinforcing the necessity of a careful follow-up. The WHO medical eligibility criteria consider the use of progestogen-only contraceptives as an alternative in diabetic women with clinical alterations once Olantuji et al. (2012) showed that progestogen only pills do not promote changes in glicemic metabolism. However, another possibility to consider is the use of non-hormonal methods when there are risks of cardiovascular disease or vascular complications in diabetic women COCs users (Skouby, 2010).

Our study presents some limitations. The blood pressure was measured on a single day what may overestimated the frequency of women with elevated blood pressure. However, once we consider the elevated blood pressure with the use of antihypertensive treatment together, we may have reduced the error introduced. Additionally, the BMI measurements that define obesity have some limitations. However, this method is inexpensive, reliable and performed with facility.

Our findings showed that our population was predominantly self-declared non-white, constituted especially by blacks and brown (mixed race) women; more than a half reported low income and concluded the high school. Although the cost and the easy access to the COCs have an expressive importance on the choice of the contraceptive method, especially on our population, it is known that safety and efficacy are also considered. Therefore, as the frequency of the contraindications to COCs in our study is higher than 10% and some of them are considered a condition, which represents an unacceptable health risk if the COCs is used, it is important to

enhance the information about the contraceptive method and about the contraindications, each one presents.

It is clear that the main function of the contraceptive method is to prevent unplanned pregnancy, especially in women with some medical conditions that compromises their health. However, the contraceptive method indicated should consider individual characteristics and conditions of each woman in order to avoid additional risks to their health.

REFERENCES

Adorno EV, C. F., Neto, JPM, et al. (2005). Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil. *Cad Saúde Pública*, 21(1), 292-298.

Allman-Farinelli, M. A. (2011). Obesity and Venous Thrombosis: A Review. *Semin Thromb Hemost*, 37(8), 902-906. doi: 10.1055/s-0031-1297369

Care, F. O. S. R. H. (2009). UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use.

Christin-Maitre, S. (2013). History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 27(1), 3-12. doi: 10.1016/j.beem.2012.11.004

de Abood, M., de Castillo, Z., Guerrero, F., Espino, M., & Austin, K. L. (1997). Effect of Depo-Provera or Microgynon on the painful crises of sickle cell anemia patients. *Contraception*, 56(5), 313-316.

Elgan, C., Samsioe, G., & Dykes, A. K. (2003). Influence of smoking and oral contraceptives on bone mineral density and bone remodeling in young women: a 2-year study. *Contraception*, 67(6), 439-447. doi: 10.1016/S0010-7824(03)00048-9

Expert Panel on Detection, E., & Treatment of High Blood Cholesterol in, A. (2001). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 285(19), 2486-2497.

Grossman, D., White, K., Hopkins, K., Amastae, J., Shedlin, M., & Potter, J. E. (2011). Contraindications to combined oral contraceptives among over-the-counter compared with prescription users. *Obstet Gynecol*, 117(3), 558-565. doi: 10.1097/AOG.0b013e31820b0244

Hall, K. S., & Trussell, J. (2012). Types of combined oral contraceptives used by US women. *Contraception*, 86(6), 659-665. doi: 10.1016/j.contraception.2012.05.017

Howard, R. J., Lillis, C., & Tuck, S. M. (1993). Contraceptives, counselling, and pregnancy in women with sickle cell disease. *BMJ*, 306(6894), 1735-1737.

Kemmeren, J. M., Tanis, B. C., van den Bosch, M. A. A. J., Bollen, E. L. E. M., Helmerhorst, F. M., van der Graaf, Y., . . . Algra, A. (2002). Risk of arterial thrombosis in relation to oral contraceptives (RATIO) study - Oral contraceptives and the risk of ischemic stroke. *Stroke*, 33(5), 1202-1208. doi: 10.1161/01.Str.0000015345.61324.3f

Lauring, J. R., Lehman, E. B., Deimling, T. A., Legro, R. S., & Chuang, C. H. (2016). Combined hormonal contraception use in reproductive-age women with contraindications to estrogen use. *Am J Obstet Gynecol*. doi: 10.1016/j.ajog.2016.03.047

Lidegaard, O., Lokkegaard, E., Jensen, A., Skovlund, C. W., & Keiding, N. (2012). Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception. *N Engl J Med*, 366(24), 2257-2266. doi: 10.1056/NEJMoa1111840

Lidegaard, O., Lokkegaard, E., Svendsen, A. L., & Agger, C. (2009). Hormonal contraception and risk of venous thromboembolism: national follow-up study. *BMJ*, 339, b2890. doi: 10.1136/bmj.b2890

Lubianca, J. N., Faccin, C. S., & Fuchs, F. D. (2003). Oral contraceptives: a risk factor for uncontrolled blood pressure among hypertensive women. *Contraception*, 67(1), 19-24. doi: Pii S0010-7824(02)00429-8

Doi 10.1016/S0010-7824(02)00429-8

Middledrop S, v. H. A. (2008). Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? *Br J Haematol*, 143(3), 321-335.

Narkiewicz, K., Graniero, G. R., Deste, D., Mattarei, M., Zoncin, P., & Palatini, P. (1995). Ambulatory Blood-Pressure in Mild Hypertensive Women Taking Oral-Contraceptives - a Case-Control Study. *American Journal of Hypertension*, 8(3), 249-253. doi: Doi 10.1016/0895-7061(95)96212-3

Nightingale, A. L., Lawrenson, R. A., Simpson, E. L., Williams, T. J., MacRae, K. D., & Farmer, R. D. (2000). The effects of age, body mass index, smoking and general health on the risk of venous thromboembolism in users of combined oral contraceptives. *Eur J Contracept Reprod Health Care*, 5(4), 265-274.

Population Reference Bureau World population datasheet. (2015).

Roach, R. E., Lijfering, W. M., Helmerhorst, F. M., Cannegieter, S. C., Rosendaal, F. R., & van Hylckama Vlieg, A. (2013). The risk of venous thrombosis in women over 50 years old using oral contraception or postmenopausal hormone therapy. *J Thromb Haemost*, 11(1), 124-131. doi: 10.1111/jth.12060

Silva W S, L. A., Oliveira S F, etal. . (2006). Avaliação da cobertura do programa de triagem neonatal de hemoglobinopatias em populações do Recôncavo Baiano, Brasil. . *Cad Saúde Pública*, 22(122561-2566).

Sitruk-Ware, R. (2008). Pharmacological profile of progestins. *Maturitas*, 61(1-2), 151-157.

Skouby, S. O. (2010). Hormonal contraception in obesity, the metabolic syndrome, and diabetes. *Ann N Y Acad Sci*, 1205, 240-244. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05662.x

United Nations, D. o. E. a. S. A., Population Division. (2015). Trends in Contraceptive Use Worldwide 2015 (ST/ESA/SER.A/349).

van Hylckama Vlieg, A., Helmerhorst, F. M., Vandenbroucke, J. P., Doggen, C. J., & Rosendaal, F. R. (2009). The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. *BMJ*, 339, b2921. doi: 10.1136/bmj.b2921

van Vlijmen, E. F., Brouwer, J. L., Veeger, N. J., Eskes, T. K., de Graeff, P. A., & van der Meer, J. (2007). Oral contraceptives and the absolute risk of venous thromboembolism in women with single or multiple thrombophilic defects: results from a retrospective family cohort study. *Arch Intern Med*, 167(3), 282-289. doi: 10.1001/archinte.167.3.282

WHO. (2013). Obesity and Overweight. Retrieved 01/18, 2016, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>

WHO. (2015). US medical eligibility criteria for contraceptive use. 2015.

Xu, H., Eisenberg, D. L., Madden, T., Secura, G. M., & Peipert, J. F. (2014). Medical contraindications in women seeking combined hormonal contraception. *Am J Obstet Gynecol*, 210(3), 210 e211-215. doi: 10.1016/j.ajog.2013.11.023

Contributors:

JRDF developed the study design, aims and analytic strategy, collected the blood sample, conducted the statistical analysis, interpreted the results and wrote the

manuscript. **SPC**, **RMO** and **SCMAY** took anthropometric measurements and blood pressure, conducted the statistical analysis and interpreted the results. **RPS** filled and cleaned the database, and revised the manuscript. **CSS** took the informed consent of patients and applied the epidemiological questionnaire. **MMA** and **CCG** applied the epidemiological questionnaire and revised the manuscript. **EVA** and **MSG** developed the study design, aims and analytic strategy; interpreted the results and revised the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Competing interests:

We have read and understood BMJ policy on declaration of interests and declare that we have no competing interests.

Data Sharing Statement:

No additional data available.

Table 1: Characteristics of women in reproductive age users of combined oral contraceptive treatment.

CHARACTERISTICS	Women COCs users (n= 499) N (%)
Age (years)	
15 - 24	138 (27.7)
25 - 34	216 (43.3)
35 - 39	77 (15.4)
≥ 40	68 (13.6)
Race	
White	38 (7.6)
Black	224 (44.9)
Brown (mixed race)	237 (47.5)
Family income (US\$)	
≤220	205 (41.1)
221 - 440	149 (29.9)
441 - 660	90 (18.0)
>660	55 (11.0)
Marital status	
Not married	250 (50.1)

Married/Cohabiting	241 (48.3)
Divorced	8 (1.6)
Education	
Elementary school	104 (20.8)
High school	229 (45.9)
University	166 (33.3)
Duration of COCs use	
≤ 1 year	290 (58.1)
> 1 year	209 (41.9)

COCs: combined oral contraceptives

Table 2: Ethinylestradiol dose and the progestin component of the COCs used by reproductive age women living in Bahia, state of Brazil

Estrogen (dose)	Progestin (dose)	Progestin Generation	N (%)*
Ethinylestradiol (20-30 µg)	Levonorgestrel (100-250 µg)	2 nd	218 (43.7)
Ethinylestradiol (50 µg)	Levonorgestrel (100-250 µg)	2 nd	17 (3.4)
Ethinylestradiol (20-30 µg)	Desogestrel (150-200 µg)	3 rd	61 (12.2)
Ethinylestradiol (15-30 µg)	Gestodene (60-75 µg)	3 rd	109 (21.8)
Ethinylestradiol (35 µg)	Cyproterone acetato	4 th	54 (10.8)
Ethinylestradiol (20-30 µg)	Drospirenone 3 mg	4 th	37 (7.4)
Estradiol Valerate	Dienogest	-	3 (0.6)
Total	-	-	499 (100.0)

* Number of individuals (percentage); COCs: combined oral contraceptives.

Table 3: Frequencies of contraindications or medical conditions in women users of combined oral contraceptives according to the WHO and UK medical eligible criteria for contraceptive use.

Conditions	N(%)	Category	
		WHO	UK
Smoking habit			
No smokers	478 (95.8)	-	-
Age < 35 years	9 (1.8)	2	2
Age ≥ 35 years			
<15 cigarettes/day	4 (0.8)	3	3
≥ 15 cigarettes/day	8 (1.6)	4	4
Body mass index, Kg/m²			
Underweight (<18.5)	25 (5.0)	-	-
Normal weight (18.5-24.9)	228 (45.7)	-	-
Overweight (25.0 – 29.9)	145 (29.1)	-	-
Obese I (30.0 – 34.9)	75 (15.0)	2	2
Obese II (35.0 – 39.9)	20 (4.0)	2	3
Obese III (≥40)	6 (1.2)	2	3
Hypertension			
No history of hypertension/ Normal BP	446 (89.4)	-	-
Adequately controlled hypertension	18 (3.6)	3	3
Elevated BP: systolic 140–159 or diastolic 90–99 mm Hg	27 (5.4)	3	3
Elevated BP: systolic ≥ 160 or diastolic ≥ 100 mm Hg	8 (1.6)	4	4
Family history of DVT			
No history of DVT	448 (89.8)	-	-
First-degree relative age ≥45 years	31 (6.2)	2	2
First-degree relative age <45 years	20 (4.0)	2	3
Dyslipidemias			
Normal	269 (53.9)	-	-
Treatment for dyslipidemia	6 (1.2)	2	-
LDL-c ≥ 160 mg/dL	27 (5.4)	2	-
Triglycerides ≥ 200 mg/dL	19 (3.8)	2	-
HDL-c ≤ 50 mg/dL	178 (35.7)	2	-
Diabetes (without complications)			
No history of diabetes	474 (95.0)	-	-
Non-insulin dependent	8 (1.6)	2	2
Insulin dependent	2 (0.4)	2	2
Fasting glucose ≥ 126 mg/dl (without treatment)	15 (3.0)	2	2
Sickle cell disease			
HbAA/HbAS/HbAC genotypes	491 (98.4)	-	-
HbSS genotype	1 (0.2)	2	2
HbSC genotype	7 (1.4)	2	2

Multiple risk factors

Without multiple risk factors	493 (98.8)	-	-
Hypertension and dyslipidemia	4 (0.8)	3/4	3/4
Hypertension and diabetes and dyslipidemia	1 (0.2)	3/4	3/4
Hypertension and dyslipidemia and smoking	1 (0.2)	3/4	3/4
TOTAL	499		

BP: blood pressure; DVT: deep vein thrombosis; LDL-c: low density cholesterol; HDL: high density cholesterol; Hb: hemoglobin; WHO: The World Health Organization Medical eligibility criteria for contraceptive use; UK: The United Kingdom Medical eligibility criteria for contraceptive use; category 2 - the advantages of using the combined oral contraceptives in this condition generally outweigh the theoretical or proven risks; category 3 - the theoretical or proven risks usually outweigh the advantages of using the combined oral contraceptive in this condition; category 4 - a condition which represents an unacceptable health risk if the combined oral contraceptive is used.

6.2 MANUSCRITO 2

Título: Obesity and oral contraceptives: evaluation of cardiometabolic parameters

Autores: Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Camylla Vilas Boas Figueiredo^{1,2}, Larissa de Castro Lima Vieira², Rayra Pereira Santiago¹, Caroline Conceição da Guarda¹, Cynara Gomes Barbosa², Ricardo Riccio Oliveira¹, Elisângela Vitória Adorno², Marilda de Souza Gonçalves^{1,2}.

Situação: Submetido

Objetivos: *(referente ao objetivo 3 da tese)*

Avaliar parâmetros bioquímicos e inflamatórios associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares em mulheres obesas em uso de COCs.

Principais resultados:

Em relação ao uso de COCs e obesidade, verificou-se que estes fatores estavam associados ao aumento da pressão sistólica ($p \leq 0,001$), diastólica ($p = 0,001$), colesterol total ($p = 0,008$), lipoproteína de baixa densidade ($p \leq 0,001$), lipoproteína de muito baixa densidade ($p \leq 0,001$), triglicerídeos ($p \leq 0,001$), proteína C reativa (PCR) ($p \leq 0,001$) e metabólitos do NO ($p \leq 0,001$) e níveis diminuídos de lipoproteína de alta densidade (HDL) ($p \leq 0,001$). Entretanto, somente os níveis de PCR e HDL apresentaram relevância clínica, os quais são reportados como marcadores associados ao risco cardiovascular. O uso de COCs foi independentemente associado a níveis diminuídos de HDL, principalmente aqueles de 2ª geração de progestinas ($p < 0,001$; OR=8,976; 95% CI 2,786-28,914).

Obesity and oral contraceptives: evaluation of cardiometabolic parameters

Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Camylla Vilas Boas Figueiredo^{1,2}, Larissa de Castro Lima Vieira², Rayra Pereira Santiago¹, Caroline Conceição da Guarda¹, Cynara Gomes Barbosa², Ricardo Riccio Oliveira¹, Elisângela Vitória Adorno², Marilda de Souza Gonçalves^{1,2}.

¹Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ, Salvador, Brasil;

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/Faculdade de Farmácia/Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil.

**Corresponding author:* Marilda de Souza Gonçalves, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA – Brasil, Postal Code: 40296-710, +55 7131762226,

e-mail: mari@bahia.fiocruz.br

JRDF: juniadutra@gmail.com

MMA: milena.aleluia@gmail.com

CVBF: myllavilas@hotmail.com

LCLV: laricastro_1@hotmail.com

RPS: rayrasantiago@hotmail.com

CCG: cguarda4@hotmail.com

CGB: cynara.barbosa@gmail.com

RR: ricardoriccio@gmail.com

EVA: liuadorno@hotmail.com

ABSTRACT

BACKGROUND

Combined oral contraceptive (COC) use has been associated with an unfavourable impact on the carbohydrate and lipid metabolism of both normal-weight and obese women.

METHODS

We performed a cross-sectional study to verify the cardiovascular parameters (blood pressure (BP), fasting serum glucose, lipid and inflammatory profile) in a population of women aged 15-45 years, considering obesity and COCs use. Our casuistic was constituted of 481 women using COCs and 110 women age-matched and COC non-users, classified as obese and nonobese according to the body mass index.

RESULTS

COCs use and obesity were associated with increased systolic ($P \leq 0.001$) and diastolic BP ($P = 0.001$), blood glucose ($P \leq 0.001$), total cholesterol ($P = 0.008$), low density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$), very low density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$), triglycerides ($P \leq 0.001$), ferritin ($P = 0.006$), CRP ($P \leq 0.001$) and NOm ($P \leq 0.001$) and decreased high density lipoprotein cholesterol ($P \leq 0.001$) level. However, only CRP and HDL-c levels were considered out of normal limits, which are reported as markers associated with cardiovascular risk. The odds of having low level of HDL-c and high level of CRP was high among obese women in the COCs users

group. COCs use was independently associated with low levels of HDL-c, especially 2nd generation progestins ($P < 0.001$; OR=8.976; 95% CI 2.786-28.914).

CONCLUSIONS

No clinical significant association among obese women COCs users and lipid and inflammatory biomarkers were found for the majority of cardiometabolic parameters. However, considering obesity and COCs use, both seem to be associated with low level of HDL-c and high level of PCR, which are associated with cardiovascular risk.

INTRODUCTION

Since its introduction in the early 1960s, hormonal contraception has been widely used by millions of women to prevent pregnancy. Among the hormonal methods, combined oral contraceptives (COCs) are the most widely used worldwide, representing the first choice contraceptive in the developed world and the third in developing countries¹⁻³.

COCs contain high doses of both oestrogen and progestin and formulations have changed over the years to reduce both compounds because of their association with cardiovascular side effects and venous thromboembolism (VTE); the risk of arterial and venous thrombosis remains in COCs to this day. COCs use increases the risk of VTE approximately twofold and the risk of arterial thrombosis (myocardial infarction and stroke) approximately threefold^{4,5}.

Several genetic and environmental factors for cardiovascular risk are also associated with arterial and venous thrombosis, such as obesity, smoking habits, family history, and others. The obesity rate has increased recently, and obesity is a worldwide concern due to its association with cardiovascular diseases (CVD), diabetes, high blood pressure (BP), high cholesterol levels and other disorders^{6,7}. According to the World Health Organization (WHO), 23% of heart disease and 44% of diabetes cases have been associated with being overweight and obese, and these health problems are classified as the fifth most common risk of deaths in the world⁷. In the United States of America and globally, obesity is among the main causes of death and disability, with expected increases in the next few years^{6,7}. Currently, more than 500 million adult men and women are obese, with body mass index (BMI) ≥ 30

kg/m², and more than 1.4 billion adults aged above 20 years old are considered overweight²⁷. More than 50% of obese individuals in the world are concentrated in only 10 countries, including Brazil⁸. Brazil has observed a change in the weight profile of its population over the past few decades, with increases in the obesity rate. Among adult Brazilian women, the estimated prevalence of obesity is 20.6%⁸. Obesity affects the overall health of the Brazilian population and increases the annual investments in health care and treatment of heart disease, stroke and diabetes patients^{9,10}. Obesity is reported as a risk factor for both arterial and venous thrombosis because of its many effects on inflammation, coagulation and fibrinolysis⁴⁻⁷. Therefore, it is plausible to assume that obese women using COCs have unfavorable alterations on cardiometabolic parameters that could worsen their health. Thus, we performed a cross-sectional study to identify the biochemical and inflammatory parameters in a population of obese women COCs users.

METHODS

Study design and casuistry

We performed a study of women who lived in the state of Bahia, Brazil. This cross-sectional study included 591 women who randomly did routine examinations in a clinical laboratory located at the “Faculdade de Farmácia” of the “Universidade Federal da Bahia (UFBA)” in Brazil. Our casuistic was constituted of 481 women using COCs with low dose of ethinylestradiol and a group of 110 women age-matched and COC non-users for at least two years. All included women were classified either as obese (OB) (BMI \geq 30 kg/m²) or nonobese (NOB) (BMI $<$ 30 kg/m²).

The study was approved by the ethics committee of the “Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (CPqGM-FIOCRUZ)” and was conducted in compliance with the ethical principles of the revised Declaration of Helsinki. Before enrollment into the study, informed written consent was obtained from all of the women. Data were collected from August 2013 to July 2014.

Women were included in the study if they met the following criteria: their age was between 15 and 45 years and they were a user of COCs for at least three months (study group) or a non-user (control group). The exclusion criteria were: surgery or immobilization within 6 months preceding study inclusion; previous history of a hysterectomy; menopause; clinically diagnosed bacterial or viral infection; pregnant or within four months after delivery; lactating; taking other hormonal contraceptives or hormonal therapy; malignancy; and auto-immune diseases. Finally, we excluded women who used the COCs due to other medical reasons and women with medical contraindications to the use of COCs.

Data collection

Information about the current generation of COCs use, length of use, demographic variables, and reproductive and health history were collected in a standard and confidential questionnaire, and anthropometric parameters were taken from each woman at enrollment. Height was measured by a fixed scale (1 cm accuracy) with their shoulders in a normal position. Weight was obtained by an electronic digital weighing scale (100g accuracy) while the women were dressed in light clothes without shoes. The BMI was obtained by dividing the weight in kilograms

by the height in metres squared. For the waist circumference measure, a nonflexible tape with 0.1 cm accuracy was positioned at the smallest area at the end of expiration, without any compulsory pressure. The BP was accessed using the Omron Model M7 digital automatic BP monitor (Omron Healthcare, Inc., Lake Forest, IL, USA) after the participant had been in a relaxed seated position for at least 5 minutes. After that, three BP readings were obtained 5 minutes apart, and the average value of the measurements was used in our analyses.

Biological analyses

Blood samples were collected by venipuncture the morning after 12h of fasting in standardized conditions, at enrollment. Biochemical analyses were performed in serum, and fibrinogen was analysed in plasma¹¹.

Glucose, iron, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-c) and triglycerides were analysed in fresh serum samples by using automated equipment (A25 Biosystems S.A, Costa Brava, Barcelona). Low density lipoprotein cholesterol (LDL-c) was determined by Friedewald's equation, except for the cases in which the triglycerides values were above 400 mg/dL. C-reactive protein (CRP) levels were measured in fresh samples by high-sensitivity assay (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Plasma fibrinogen was measured using the Destiny Plus (Tcoag, TriniCLOT, Trinity Biotech, Ireland) by the coagulometric method. Ferritin serum levels were acquired using automated equipment (Access 2 Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Nitric oxide metabolites (NOm) were investigated by the Griess method, following previous protocol¹².

The biological analyses were performed at the Laboratory of Haematology, Genetic and Computational Biology (LHGB) of the CPqGM-FIOCRUZ and at the Clinical Analyses Laboratory of the School of Pharmacy of the UFBA (LACTFAR-UFBA).

Statistical Analysis

The statistical analyses were performed using the IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 21.0 (Armonk, NY, USA) and GraphPad Prism version 6.0 (GraphPad software, San Diego, CA, USA) and we considered $P < 0.05$ as significant. Normal distribution analyses of the quantitative variables were performed using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests, and the independent t test and Mann-Whitney U tests were used to compare the median value of two groups, according to the distribution of each variable. Odds ratio and confidence interval (95% CI) were calculated, considering the risk factors for cardiovascular disease⁶. Multivariate analyses were performed to estimate the likelihood of having an HDL-c alteration as the outcome (dependent variable) and a possible interaction with the COCs progestin generation (2nd, 3rd and 4th generation), fibrinogen, CRP and triglycerides (independent variables), adjusted for age and duration of COCs use.

RESULTS

Among women in the COCs users group, 19.1% (93/481) were classified as obese and 79.9% (388/481) as nonobese (normal or overweight), while among women in the COCs nonusers group, 19.7% (21/110) were obese and 80.3% (89/110) were nonobese.

Data regarding the characteristics of women in the COCs users and nonusers groups and who were obese or nonobese are shown in Table 1. When we compared nonobese women users of COCs (388/481) with those nonusers (89/481) (P1), we verified increased levels of fasting glucose ($P<0.001$), LDL-c ($P<0.001$), VLDL-c ($P=0.002$), triglycerides ($P=0.001$), CRP ($P<0.001$), NOm ($P<0.001$) and decreased level of HDL-c ($P<0.001$) among those women users of COCs.

Additionally, we compared obese women users of COCs (93/481) with those nonusers (21/110) (Table 1 – P2). Only the following parameters were altered: ferritin ($P=0.02$), CRP ($P=0.04$) and NOm ($P=0.01$) levels were significantly increased and HDL-c levels were decreased among obese women COCs users ($P<0.001$).

Similar parameters were analysed among women users of COCs who were obese (93/481) and nonobese (388/481) (Table 1 – P3). Age ($P=0.003$), systolic blood pressure (SBP) ($P<0.001$) and diastolic blood pressure (DBP) ($P<0.001$), fasting glucose ($P=0.03$), VLDL-c ($P<0.001$), triglycerides ($P<0.001$), ferritin ($P<0.001$), CRP ($P<0.001$) and NOm ($P=0.02$) were significantly higher among obese women than those among nonobese women, while HDL-c ($P<0.001$) level was low in the obese group.

Finally, we compared obese women users of COCs (93/481) with nonobese women COCs nonusers (89/110) (Table 1 – P4). Almost all the parameters were significantly higher ($P<0.05$) among obese women users of COCs than those among nonobese women nonusers of COCs, while HDL-c ($P<0.001$) and fibrinogen were low in the obese group. Despite the alterations observed, only CRP level was above normal limits (3mg/dL) and only HDL-c level was considered under normal limits (50

mg/dL) and those values are reported as markers associated with cardiovascular risk.

The influence of duration of COCs use, age and the laboratorial parameters was also verified among all women users of COCs (data not shown). No significant association was found between the laboratorial parameters associated with cardiovascular disease and the duration of COCs use ($P>0.05$).

We evaluated the same laboratorial parameters among women, considering obesity and different progestin generation of COCs (2nd generation: levonorgestrel plus ethinylestradiol; 3rd generation: desogestrel or gestodene plus ethinylestradiol; 4th generation: drospirenone or cyproterone plus ethinylestradiol). We observed that all generations of COC progestins were associated with decreased level of HDL-c ($P<0.05$) among obese women users of COCs compared with obese women COCs nonusers (Figure 1). However, only 2nd generation pills were associated with HDL-c level under normal limits for women ($\text{HDL-c} \leq 50 \text{ mg/dL}$). CRP also presented significant differences between the studied groups, with the highest levels in women user of COCs ($P<0.05$), independently of the COCs generation (Figure 2).

We also verified the COC use, obesity or both in relation to cardiovascular risk factors categorized according to the American Heart Association¹¹, considering $\text{HDL-c} \leq 50 \text{ mg/dL}$, $\text{CRP} \geq 3 \text{ mg/L}$, fibrinogen $\geq 350 \text{ mg/dL}$, $\text{SBP} \geq 140 \text{ mm Hg}$, $\text{DBP} \geq 90 \text{ mm Hg}$ and total cholesterol $\geq 240 \text{ mg/dL}$ (Table 2).

We observed that the risk associated with CVD was higher among obese women users of COCs than that among nonobese women COCs nonusers for $\text{HDL-c} \leq 50 \text{ mg/dL}$ ($P<0.001$), $\text{CRP} \geq 3 \text{ mg/dL}$ ($P<0.001$) and $\text{SBP} \geq 140 \text{ mm Hg}$ ($P<0.001$) (Table 2).

We observed that nonobese women users of COCs had 5.8 folds the odds of having HDL-c \leq 50 mg/dL, while obese women users of COCs had 14.5 folds odds when compared with nonobese women COCs nonusers.

Additionally, the odds of having CRP \geq 3mg/dL was 8.2 and 39.8 folds higher in nonobese and obese women users of COCs respectively, than when compared with nonobese women nonusers of COCs.

The multivariate analysis adjusted for age and duration of use showed that 2nd generation progestin COC use was independently associated with levels of HDL-c \leq 50mg/dL ($P < 0.001$; OR=8.9; 95% CI 2.8-28.9) (Table 3).

DISCUSSION

This study was conducted due to the increased prevalence of obesity, especially among adolescents and women who may use COCs, and due to the impact of obesity and oral contraceptives on biochemical and inflammatory profile, mainly among markers associated with cardiovascular risk, that consequently have dangerous repercussions on the life quality of these women. Obesity was observed among 19.1% of women COCs users and 19.7% among non-users. Faramand et al. (2015) reported that 23% of obese Iranian women were COC users¹³. Pomp et al. (2007) verified that among Dutch women who had a first venous thrombosis, 21% were obese, and in the control group, 13% were obese (MEGA study)¹⁴. In a cohort study performed on American women COCs users, Hurwitz, Henry and Goldberg (2009) reported obesity rates ranging from 17.7%-32.4%¹⁵. Obesity is reported to predispose individuals to CVD and VTE after an increase in procoagulant factors, such as fibrinogen, circulating microparticles, factor VII, factor VIII, factor IX, and

factor XII¹⁶⁻¹⁸. Furthermore, obesity confers a pro-inflammatory status, and it is responsible for increasing CRP levels, an acute phase protein predictor of CVD risk. In addition, obesity causes adverse effects on arterial walls and systemic effects on inflammation¹⁹. Additionally, COCs also increases VTE and cardiovascular risks independently and in association with obesity, increasing both risks synergistically^{14,20-23}.

Our study comparing women COCs users and non-users, whether obese or not, showed significant differences among those groups especially in the lipid and inflammatory parameters. CRP, an inflammatory phase acute protein and a marker of low-grade chronic inflammation^{22,24}, was increased among obese women independent of COCs use, although CRP levels were surprisingly high among COCs users, suggesting a synergic effect between obesity and COCs use. CRP levels found in our study, especially among obese women COCs users, were higher than 3mg/dL, a borderline value that is considered as a risk factor for cardiovascular disease²⁵. Additionally, the increased level of CRP was significantly associated with all types of progestin used by the women, especially those who took 3rd generation progestins that were designed to reduce cardiovascular risk because of their beneficial effects on lipid parameters²⁶. Kluff et al. (2002) also reported a continuous and rather strong increase in CRP levels among healthy women who used COCs during 12 cycles and had suggested that this pro-inflammatory effect may explain the increased risk of thromboembolic adverse effects²⁷. Williams et al. (2004), in a cross-sectional study among obese women who used COCs, reported elevated CRP levels related to COCs and showed no difference among progestins types²². Dreon et al. (2003) had also noted a significant association of low dose COCs with higher but

normal levels of CRP²⁸. CRP, considered as an independent biomarker predictor of cardiovascular disease risk, is higher during inflammatory conditions, and this scenario may contribute to cardiovascular disease. Increases in CRP concentrations are associated with some cytokines, such as interleukin (IL)-6 and tumour necrosis factor alpha (TNF- α), mediators of inflammation that affect endothelial function and may contribute to the atherogenic process. A possible explanation for the association between obesity and increased CRP levels may be the increased cytokine secretion from adipose tissue, resulting in elevated CRP secretion by the liver^{29,30}.

Ferritin, an indicator of iron deposits, is also an inflammatory phase acute protein and was analysed in our study. The isolated use of COCs does not seem to interfere with ferritin levels. Nevertheless, obesity together with COCs use was associated with high ferritin levels, suggesting a synergic action. Alam et al. (2015) found that obese individuals had high levels of serum ferritin and CRP and attributed these results to the inflammatory status caused by increased adipose tissue, which corroborates with our results³¹. Otherwise, Eftekhari et al. (2009) found decreased ferritin levels in obese, iron-deficient Iranian adolescents, but it may be an iron-deficiency effect related to the depletion of iron deposits³². The inflammation condition induced by obesity and COCs use may synergistically affect the hepatic synthesis of ferritin, but the mechanism where COCs influence ferritin levels is not yet elucidated.

Increased NOm levels also seemed to be influenced by the effect of obesity, isolated COCs use, or a combination of both because it was observed in all of the groups that we analysed. Although oestrogens stimulate increases in NO level due to the stimulation of endothelial nitric-oxide synthase (eNOS), which control the normal

function of the endothelium, certain progestins counteract this effect by developing an endothelial alteration that may increase CVD risk³³⁻³⁵. Zerr-Fouineau et al. (2009) reported that progestins, such as levonorgestrel, had no influence on NO production by endothelial cells that were induced by 17β oestradiol³⁵. We measured the overall NOm, which may have been released by oestrogen stimulation; however, NOm is also known to be produced in high concentrations during pathologic conditions and the inflammatory process^{36,37}. Our results indicate that obese women COCs users may present an inflammatory condition due to the high levels of CRP and ferritin found in our study. Therefore, a NOm increase may also be a product of nitrosative stress.

Regarding the lipid profile, we verified that COCs and obesity present a synergistic effect on decreasing HDL-c to below-average levels among women COC users. Normal HDL-c levels are implicated in the inhibition of atherosclerosis because in vitro studies have shown its antioxidant and anti-inflammatory properties³⁸. Individuals with increased HDL-c level were reported to have reduced incidence of CVD³⁹. HDL-c concentrations directly attenuate tissue factor, selectins expression and platelet activation and indirectly promote thrombosis inhibition^{39,40}. Additionally, HDL-c inhibits oxidative alterations of LDL-c, effluxes cholesterol from macrophage cells in the atherogenesis process, increases endothelial function and suppresses the production and mobilization of some leukocytes from bone marrow⁴⁰⁻⁴⁴.

The COCs interference on the lipids profile is related to its formulation, i.e., whether it is more androgenic, antiandrogenic, oestrogenic or antiestrogenic. The progestin component of COCs, i.e., desogestrel and gestodene, are reported to raise

HDL-c and decrease LDL-c due to their antiandrogenic effect. We found low levels of HDL-c among obese women who were 2nd generation COCs users compared with that among those who took other generations, and those values are related to cardiovascular risk. Greenlund et al. (1997) studied the overall COCs influence on serum lipids among nonobese women who began using contraceptives and reported a significant decrease in HDL-c levels among COCs users compared with that among non-users in the period from 1985-1986 and no significant difference among those women analysed from 1988-1991⁴⁵. Wiegratz et al. (2002), in a study analysing women who used different types of COCs after six cycles, observed significant decreases in HDL-c and HDL2-c levels among women treated with a combination containing ethinylestradiol and levonorgestrel (EE+LEVO)⁴⁶.

Agren et al. (2011) compared the effects of COCs with nomegestrol,17 β -oestradiol and EE+LEVO after six treatment cycles and verified a significant decrease in HDL-c levels and increases in LDL-c and triglycerides levels from baseline among women using the combined formulation with levonorgestrel⁴⁷.

The oestrogen effects on the lipid profile seem to increase hepatic triglyceride synthesis, secretion of VLDL-c, inhibit lipoprotein lipase expression and improve LDL-c elimination as well as increase HDL-c levels due to the increase in apolipoprotein A-1 synthesis and decrease in hepatic lipase activity. Otherwise, progestins counteract oestrogen influences, but this is related to the antiandrogenic effects of progestins⁴⁸. Contraceptives in combination with ethinylestradiol and levonorgestrel, which is considered a second generation progestin, are reported to be more androgenic than dienogest and nomegestrol and seem to have a more unfavourable impact on lipid metabolism^{46,47}. Additionally, contraceptives in

combination with drospirenone and desogestrel, which have non-androgenic properties, are associated with an increase in HDL-c levels, and they produce a favourable lipid profile among women users⁴⁸⁻⁵⁰.

According to a study performed by Greenlund et al. (1997), the effect of COCs on the lipid profile seems to be immediate and reversible⁴⁵. Because our results showed the synergistic influence of COCs and obesity on decreasing HDL-c levels, the reversible effects of COCs may not be possible due to the inflammatory conditions observed in obese women. However, further studies are necessary to explain this observation.

Additionally, it was previously reported that HDL-c levels are inversely related to circulating levels of CRP^{51,52}. Our results showed that obese women who were COC users had above-average CRP levels and decreased HDL-c levels, configuring a possible inflammatory scenario that corroborates previous data.

Considering HDL-c and CRP levels are risk factors for CVD, we found a significant association between decreased HDL-c levels and increased CRP among obese women and those who were COCs users, strengthening the data found and confirming this association.

Our data reassure the unfavourable association of COCs and obesity, with impact on cardiometabolic parameters, especially those COCs formulations with 2nd generation progestins^{46-48,50}. We have to consider the limitations related to the BMI measurements that define obesity. However, this method is inexpensive, reliable and performed with facility. Other limitation of our study is that we were not able to

distinguish whether the alterations on lipid and inflammatory parameters are directly due to the obesity or COCs use once it is a cross-sectional study. However, we observed relevant alterations on cardiometabolic parameters in obese women COCs users.

In conclusion, we observed that obesity and COCs use were associated with alterations in laboratorial parameters related to development of cardiovascular disease, especially in decreasing HDL-c levels and increasing CRP concentrations. Moreover, COC use, especially those with 2nd generation progestins, was associated independently with low levels of HDL-c. Given the necessity of an imperative prevention of unintended pregnancy among obese women, it is important to evaluate the most effective and safe contraception methods for these women together with weight loss and health care to decrease CVD and VTE risks. Moreover, it is important to consider the presence of others conditions such as hypertension and diabetes in obese women when prescribing contraceptive methods.

REFERENCES

1. Population Reference Bureau World population datasheet. Population Reference Bureau 2015.
2. International Contraceptive Access foundation. 2015.
3. Nations U. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World contraceptive use 2011.
4. Lowe GD. Common risk factors for both arterial and venous thrombosis. *British journal of haematology* 2008;140:488-95.
5. Abdollahi M, Cushman M, Rosendaal FR. Obesity: risk of venous thrombosis and the interaction with coagulation factor levels and oral contraceptive use. *Thrombosis and haemostasis* 2003;89:493-8.
6. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2015;131:e29-322.
7. Obesity and Overweight. 2013. (Accessed 01/18, 2016, at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en.>)
8. Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2014;384:766-81.
9. Monteiro CA, Mondini L, de Souza AL, Popkin BM. The nutrition transition in Brazil. *European journal of clinical nutrition* 1995;49:105-13.
10. Organization WH. Rethinking "diseases of affluence" the economic impact of chronic diseases. 2005.
11. Imperatore G, Riccardi G, Iovine C, Rivellese AA, Vaccaro O. Plasma fibrinogen: a new factor of the metabolic syndrome. A population-based study. *Diabetes care* 1998;21:649-54.
12. de Graaf JC, Banga JD, Moncada S, Palmer RM, de Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992;85:2284-90.
13. Farahmand M, Ramezani Tehrani F, Rostami Dovom M, Hashemi S, Azizi F. The impact of oral contraceptives on cardiometabolic parameters. *Journal of endocrinological investigation* 2016;39:277-83.

14. Pomp ER, le Cessie S, Rosendaal FR, Doggen CJ. Risk of venous thrombosis: obesity and its joint effect with oral contraceptive use and prothrombotic mutations. *British journal of haematology* 2007;139:289-96.
15. Hurwitz BE, Henry N, Goldberg RB. Long-term oral contraceptive treatment, metabolic syndrome and measures of cardiovascular risk in pre-menopausal women: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* 2009;25:441-9.
16. Stein PD, Goldman J. Obesity and thromboembolic disease. *Clinics in chest medicine* 2009;30:489-93, viii.
17. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999;353:1167-73.
18. Goichot B, Grunebaum L, Desprez D, et al. Circulating procoagulant microparticles in obesity. *Diabetes & metabolism* 2006;32:82-5.
19. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *The New England journal of medicine* 2002;347:1557-65.
20. Lidegaard O, Edstrom B, Kreiner S. Oral contraceptives and venous thromboembolism: a five-year national case-control study. *Contraception* 2002;65:187-96.
21. Nightingale AL, Lawrenson RA, Simpson EL, Williams TJ, MacRae KD, Farmer RD. The effects of age, body mass index, smoking and general health on the risk of venous thromboembolism in users of combined oral contraceptives. *The European journal of contraception & reproductive health care : the official journal of the European Society of Contraception* 2000;5:265-74.
22. Williams MJA, Williams SM, Milne BJ, Hancox RJ, Poulton R. Association between C-reactive protein, metabolic cardiovascular risk factors, obesity and oral contraceptive use in young adults. *Int J Obesity* 2004;28:998-1003.
23. Tuomilehto J, Salonen JT, Marti B, et al. Body weight and risk of myocardial infarction and death in the adult population of eastern Finland. *British medical journal* 1987;295:623-7.
24. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868-74.
25. Scirica BM, Morrow DA. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? - The verdict is still out. *Circulation* 2006;113:2128-34.

26. Željko Reiner ALC, Guy De Backer, Ian Graham, Marja-Riitta Taskinen, Olov Wiklund, Stefan Agewall, Eduardo Alegria, M. John Chapman, Paul Durrington, Serap Erdine, Julian Halcox, Richard Hobbs, John Kjekshus, Pasquale Perrone Filardi, Gabriele Riccardi, Robert F. Storey, David Wood, Jeroen Bax, Alec Vahanian, Angelo Auricchio, Helmut Baumgartner, Claudio Ceconi, Veronica Dean, Christi Deaton, Robert Fagard, Gerasimos Filippatos, Christian Funck-Brentano, David Hasdai, Richard Hobbs, Arno Hoes, Peter Kearney, Juhani Knuuti, Philippe Kolh, Theresa McDonagh, Cyril Moulin, Don Poldermans, Bogdan A. Popescu, Željko Reiner, Udo. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *European heart journal* 2011;32:1769–818.
27. Kluft C, Leuven JA, Helmerhorst FM, Krans HM. Pro-inflammatory effects of oestrogens during use of oral contraceptives and hormone replacement treatment. *Vascular pharmacology* 2002;39:149-54.
28. Dreon DM, Slavin JL, Phinney SD. Oral contraceptive use and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Life Sci* 2003;73:1245-52.
29. Choi J, Joseph L, Pilote L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 2013;14:232-44.
30. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nature reviews Cardiology* 2009;6:399-409.
31. Alam F, Memon AS, Fatima SS. Increased Body Mass Index may lead to Hyperferritinemia Irrespective of Body Iron Stores. *Pak J Med Sci* 2015;31:1521-6.
32. Eftekhari MH, Mozaffari-Khosravi H, Shidfar F. The relationship between BMI and iron status in iron-deficient adolescent Iranian girls. *Public Health Nutr* 2009;12:2377-81.
33. Hisamoto K, Bender JR. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors. *Steroids* 2005;70:382-7.
34. Virdis A, Pinto S, Versari D, et al. Effect of oral contraceptives on endothelial function in the peripheral microcirculation of healthy women. *Journal of hypertension* 2003;21:2275-80.
35. Zerr-Fouineau M, Jourdain M, Boesch C, Hecker M, Bronner C, Schini-Kerth VB. Certain progestins prevent the enhancing effect of 17beta-estradiol on NO-mediated inhibition of platelet aggregation by endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:586-93.

36. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *The American journal of physiology* 1996;271:C1424-37.
37. Bryan NS, Grisham MB. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free radical biology & medicine* 2007;43:645-57.
38. Zerrad-Saadi A, Therond P, Chantepie S, et al. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:2169-75.
39. Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem* 2008;54:788-800.
40. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circulation research* 2006;98:1352-64.
41. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *Journal of lipid research* 2009;50 Suppl:S195-200.
42. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1987-94.
43. Tso C, Martinic G, Fan WH, Rogers C, Rye KA, Barter PJ. High-density lipoproteins enhance progenitor-mediated endothelium repair in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1144-9.
44. Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier EL, et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science* 2010;328:1689-93.
45. Greenlund KJ, Webber LS, Srinivasan S, Wattigney W, Johnson C, Berenson GS. Associations of oral contraceptive use with serum lipids and lipoproteins in young women: The Bogalusa Heart Study. *Ann Epidemiol* 1997;7:561-7.
46. Wiegratz I, Lee JH, Kutschera E, et al. Effect of dienogest-containing oral contraceptives on lipid metabolism. *Contraception* 2002;65:223-9.
47. Agren UM, Anttila M, Maenpaa-Liukko K, et al. Effects of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17beta-oestradiol compared with one containing levonorgestrel and ethinylestradiol on haemostasis, lipids and carbohydrate metabolism. *The*

European journal of contraception & reproductive health care : the official journal of the European Society of Contraception 2011;16:444-57.

48. Sitruk-Ware R, Nath A. Characteristics and metabolic effects of estrogen and progestins contained in oral contraceptive pills. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism* 2013;27:13-24.

49. Klipping C, Marr J. Effects of two combined oral contraceptives containing ethinyl estradiol 20 microg combined with either drospirenone or desogestrel on lipids, hemostatic parameters and carbohydrate metabolism. *Contraception* 2005;71:409-16.

50. Gaspard U, Endrikat J, Desager JP, Buicu C, Gerlinger C, Heithecker R. A randomized study on the influence of oral contraceptives containing ethinylestradiol combined with drospirenone or desogestrel on lipid and lipoprotein metabolism over a period of 13 cycles. *Contraception* 2004;69:271-8.

51. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000;149:139-50.

52. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *Bmj* 1996;312:1061-5.

53. Organization WH. US medical eligibility criteria for contraceptive use. 2015. 5th ed2015.

Figure legends

Figure 1: A) Comparison of HDL-c levels in obese women ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were COC non-users * $P < 0.001$, ** $P = 0.002$, *** $P = 0.04$. Mann-Whitney U test ; B) Comparison of HDL-c levels in women with $\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$ using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were COC non-users, *** $P < 0.001$. Mann-Whitney U test. HDL-c: high-density lipoprotein cholesterol; BMI: body mass index; COC-: women COCs nonusers; COC2: 2nd generations combined oral contraceptives; COC3: 3rd generations combined oral contraceptives; COC4: 4th generations combined oral contraceptives.

Figure 2: A) Comparison of CRP levels in obese women ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were COC non-users, * $P = 0.02$, ** $P = 0.04$. Mann-Whitney U test ; B) Comparison of CRP levels in women with $\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$ using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were COC non-users, *** $P < 0.001$. Mann-Whitney U test. CRP: C-reactive protein; BMI: body mass index; COC-: women COCs nonusers; COC2: 2nd generations combined oral contraceptives; COC3: 3rd generations combined oral contraceptives; COC4: 4th generations combined oral contraceptives.

Table 1 - Blood pressure, fasting glucose, lipid and inflammatory profile of the study women.

	NOB, COCs- (N=89)	NOB, COCs+ (N=388)	OB, COCs- (N=21)	OB, COCs+ (N=93)	P1	P2	P3	P4
	Median (25th -75th)	Median (25th -75th)	Median (25th -75th)	Median (25th -75th)	P-value			
Age (years)	32.5 (21.0-40.0)	29.0 (23.0-35.0)	37.0 (32.0-39.3)	32.0 (27.0-37.5)	0.2	0.07	0.003	0.07
Blood pressure								
SBP (mmHg)	110.0 (103.0-118.8)	110.0 (100.0-120.0)	115.0 (110.0-127.5)	120.0 (110.0-130.0)	0.9	0.8	<0.001	<0.001
DBP (mmHg)	70.0 (63.0-78.0)	70.0 (60.0-71.5)	76.5 (70.0-84.5)	80.0 (70.0-80.0)	0.5	0.8	<0.001	0.001
Glucose								
Blood glucose (mg/dL)	79.0 (73.3-84.0)	87.0 (82.3-95.0)	86.5 (83.5-91.8)	89.0 (83.5-98.5)	<0.001	0.1	0.03	<0.001
Lipid profile								
Total cholesterol (mg/dL)	171.5 (155.3-189.5)	178.0 (157.0-202.0)	200.0 (171.0-211.5)	184.0 (165.0-203.5)	0.1	0.3	0.1	0.008
HDL-Cholesterol (mg/dL)	75.0 (63.0-87.0)	53.0 (45.0-61.0)	71.0 (65.8-76.5)	47.0 (42.0-55.0)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
LDL-Cholesterol (mg/dL)	79.5 (65.8-97.0)	103.5 (85.5-126.6)	102.8 (67.3-120.2)	105.4 (93.7-129.5)	<0.001	0.2	0.3	<0.001
VLDL-Cholesterol (mg/dL)	15.4 (12.3-21.3)	18.6 (14.0-24.2)	20.0 (15.5-25.1)	25.8 (15.7-30.6)	0.002	0.3	<0.001	<0.001
Triglycerides (mg/dL)	76.0 (61.0-106.5)	93.0 (70.0-121.0)	103.0 (78.8-133.8)	129.0 (78.5-153.0)	0.001	0.5	<0.001	<0.001
Inflammatory profile								
Ferritin (ng/dL)	58.3 (22.1-97.0)	52.0 (29.0-83.7)	45.2 (22.9-86.1)	67.4 (38.3-151.2)	0.9	0.02	<0.001	0.006
Fibrinogen (mg/dL)	329.0 (256.0-407.0)	270.0 (197.0-337.0)	316.5 (223.3-389.8)	277.0 (205.3-380.3)	0.06	0.5	0.3	0.029
CRP (mg/L)	1.8 (1.1-3.3)	5.0 (3.0-8.0)	5.4 (2.6-12.0)	9.0 (5.9-15.0)	<0.001	0.04	<0.001	<0.001
NOm (µM)	18.7 (9.7 – 21.9)	27.0 (16.5-40.4)	21.1 (18.4-23.1)	31.7 (18.3-51.3)	<0.001	0.01	0.02	<0.001

COCs+: combined oral contraceptive users; COCs-: combined oral contraceptive non-users; NOB: nonobese; OB: obese; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; HDL-c: High density lipoprotein-cholesterol; LDL-c: low density lipoprotein-cholesterol; VLDL-c: very low density lipoprotein-cholesterol; CRP: C-reactive protein; NOm: nitric oxide metabolites; Significant P values are shown in bold; Mann-Whitney U test. P1=NOB COCs- X NOB COCs+; P2=OB COCs+ X OB COCs+; P3=NOB COCs+ X OB COCs+, P4: NOB COCs- X COCs+.

Figure 1

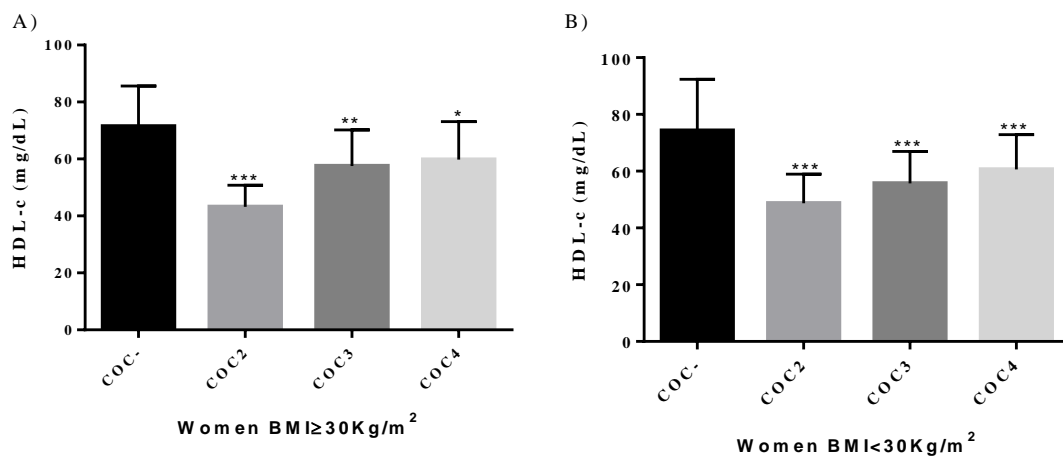


Figure 2

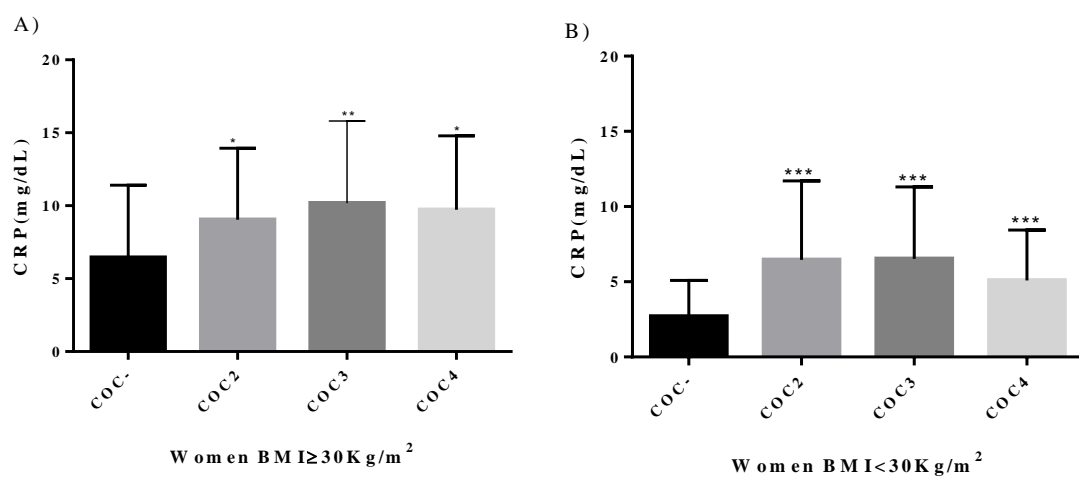


Table 2 – Parameters of cardiovascular risk among nonobese women who were COC nonusers compared with obese women users of COCs and nonusers and with nonobese women nonusers of COCs.

	NOB, COCs ⁻ (N=89)		NOB, COCs ⁺ (N=388)		OB, COCs ⁻ (N=21)		OB, COCs ⁺ (N=93)	
	N (%)	OR (95% CI)	N (%)	OR (95% CI) ^a	N (%)	OR (95% CI) ^b	N (%)	OR (95% CI) ^c
HDL ^{CVR}	9 (10.2)	-	153 (39.4)	5.8 (2.8-11.9)	3 (14.3)	1.5 (0.4 – 6.0)*	58 (62.4)	14.5 (6.5-32.6)
CRP ^{CVR}	27 (30.3)	-	303 (78.1)	8.2 (4.9-13.7)	15 (71.4)	5.7 (2.0-16.4)	88 (94.6)	39.8 (14.5-109.0)
Fibrinogen ^{CVR}	20 (22.5)	-	51 (13.1)	0.5 (0.3-0.9)	8 (38.1)	2.1 (0.8-5.8)	29 (31.2)	1.6 (0.8-3.2)
SBP ^{CVR}	2 (2.2)	-	29 (7.5)	3.5 (0.8-15.0)*	1 (4.8)	2.2 (0.2-25.2)*	16(17.2)	9.6 (2.2-43.0)*
DBP ^{CVR}	0(0)	-	31 (8.0)	-	3 (14.3)	-	14(15.1)	-
Total cholesterol ^{CVR}	3 (3.4)	-	19 (4.9)	1.5 (0.4-5.1)*	2 (9.5)	3.0 (0.5 – 19.3)*	4(4.3)	1.3 (0.3-5.9)*

^aNOB COCs⁻ x NOB COCs⁺; ^bNOB COCs⁻ x OB COCs⁻; ^cNOB COCs⁻ x OB COCs⁺; COCs⁺: combined oral contraceptive users; COCs⁻: combined oral contraceptive non-users; NOB: nonobese; OB: obese; HDL: high density lipoprotein; CRP: C-reactive protein; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; $P < 0.05$; OR: odds ratio; CI: confidence interval; χ^2 test; Fisher Exact test*. HDL^{CVR}: defined as HDL ≤ 50 mg/dL; CRP^{CVR}: defined as CRP ≥ 3 mg/L; Fibrinogen^{CVR}: defined as fibrinogen ≥ 350 mg/dL; SBP^{CVR}: defined as SBP ≥ 140 mmHg; DBP^{CVR}: defined as DBP ≥ 90 mmHg; Total cholesterol^{CVR}: defined as total cholesterol ≥ 240 mg/dL.

Table 3 - The association of COCs progestin generation on HDL-c levels.

Variables	B	SE	Wald test	P-value	OR	95% CI
Fibrinogen [§]	0.071	0.587	0.015	0.9	1.1	0.3 - 3.4
Triglycerides ^{§§}	0.791	0.689	1.317	0.3	2.2	0.6 - 8.5
CRP ^{**}	0.138	1.238	0.012	0.9	1.1	0.1– 13.0
COCs 2 nd generation	2.195	0.597	13.520	<0.001	8.9	2.8 - 28.9

HDL-C: High Density Lipoprotein - cholesterol; COCs: combined oral contraceptive; LDL-C: Low density lipoprotein-cholesterol; CRP: C-reactive protein; SE: standard error; B: coefficient; OR: Odds Ratio; CI: confidence interval; $P < 0.05$.
^{**}Defined as $CRP \geq 3$ mg/L; [§]defined as fibrinogen ≥ 350 mg/dL; ^{§§}defined as triglycerides ≥ 150 mg/dL; HDL-c as a dependent variable defined as HDL-c ≤ 50 mg/dL.

6.3 MANUSCRITO 3

Título: Cardiometabolic and hemostatic profiles of women carriers of hemoglobin variants using combined oral contraceptives

Autores:

Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Luis Carlos Araújo³, Bárbara Mota³, Jéssica Santos Ferreira², Luane Rocha Da Silva², Rayra Pereira Santiago¹, Caroline Conceição da Guarda¹, Magda Seixas Oliveira Carvalho², Elisângela Vitória Adorno^{1,2}, Marilda de Souza Gonçalves^{1,2}

Situação: A ser submetido

Objetivos: *(referentes ao objetivo 4 da tese):*

Avaliar a associação entre os perfis hematológico, bioquímico, inflamatório e de hemostasia em mulheres portadoras de hemoglobinas variantes em uso de COCs.

Principais resultados:

Foram observados aumentos relevantes nos níveis de PCR em mulheres com HbSC e HbAC sugerindo uma associação com diferentes tipos de progestinas presentes nas formulações dos COCs. Além disso, o uso de COCs parece estar associado a diminuição nos níveis de HDL em mulheres HbAC, embora clinicamente irrelevantes. Por outro lado, os níveis de dímero D estavam aumentados em todas as mulheres com Hb variantes, independentemente do uso de COCs.

**Cardiometabolic and hemostatic profiles of women carriers of hemoglobin variants
using combined oral contraceptives**

Júnia Raquel Dutra Ferreira^{1,2}, Milena Magalhães Aleluia^{1,2}, Luis Carlos Araújo³, Bárbara Mota³, Jéssica Santos Ferreira², Luane Rocha Da Silva², Rayra Pereira Santiago¹, Caroline Conceição da Guarda¹, Magda Seixas Oliveira Carvalho², Elisângela Vitória Adorno^{1,2}, Marilda de Souza Gonçalves^{1,2}

¹Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ, Salvador, Brasil;

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/Faculdade de Farmácia/Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil;

³Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia, Salvador, Brasil.

**Corresponding:* Marilda de Souza Gonçalves, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal

- Salvador/BA – Brasil, Postal Code: 40296-710, +55 7131762226,

e-mail: mari@bahia.fiocruz.br

Body text word count	2477
Abstract word count	248

JRDF: juniadutra@gmail.com

MMA: milena.aleluia@gmail.com

JSF: jel.rock@htomail.com

LRS: luaneufrates@hotmail.com

RPS: rayrasantiago@hotmail.com

CCG: cguarda4@hotmail.com

MOSC: magdaseixas@hotmail.com

EVA: liuadorno@hotmail.com

ABSTRACT

Objective

Considering the high frequency of variant Hb worldwide, this study aims to evaluate the association of hematological, lipid, glicemic, inflammatory and hemostatic profiles in women using combined oral contraceptives (COCs) and carriers of hemoglobin variants.

Study design

We performed a cross-sectional study including 591 women in reproductive-age. We investigated their hemoglobin profile and COCs use. Of them, we included 60 women with HbAA, 21 with HbAC, 25 with HbAS and 7 with HbSC profiles, all of them COCs users. Among those COCs nonusers, 51 were HbAA, 9 were HbAC and 19 HbSC. We evaluated fasting serum glucose, triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), C-reactive protein (CRP), fibrinogen, D-dimer and hematological profile.

Results

We observed significant differences in some hematological and cardiometabolic parameters in women carriers of different Hb variants and COCs users. We observed relevant increases in CRP levels in HbSC and HbAC women that seem to be associated with different types of progestins present in COCs formulations. Also, COCs use seems to be associated with decreased HDL-c levels in HbAC women, although clinically irrelevant. Otherwise, D-dimer levels were increased in all women with Hb variants, independently of COCs use.

Conclusion

Although COCs use remain an important method to prevent unintended pregnancy, contraception in women carriers of Hb variants, including those in heterozygosis, should be carefully evaluated, especially, considering the pre-existent inflammatory and pro-thrombotic conditions that together with COCs use may result in other health problems, such as cardiovascular and thromboembolic diseases.

Key-words: Variant hemoglobin, Combined oral contraceptive, inflammatory profile, lipid profile, D-dimer.

IMPLICATIONS:

- We observed pre-existent inflammatory and thrombotic conditions in women carriers of Hb variants, such as clinically relevant increased CRP and D-dimer levels that may be enhanced with COCs use.

INTRODUCTION

Combined oral contraceptives (COCs) are currently used by more than 100 millions of women worldwide and performs 8.8% of global contraceptive prevalence, reaching 15.4% in emergent countries and in Brazil it is nearly 24.7% [1]. The COCs formulation changed over the years in order to improve its safety; however, the side effects remain and women COCs users present higher risk of deep vein thrombosis (DVT) and arterial thrombosis than nonusers [1-3]. Moreover, specific medical conditions as hypertension, age, dyslipidemias, obesity, hemoglobin (Hb) variant and others need to be evaluated before the contraceptive method prescription, in order to avoid additional risks or influences in the method effectiveness[4].

Hb variants result from mutations in globin genes that may lead to changes in polypeptide chains[5]. Hemoglobin variant S (HbS) and C (HbC) have high frequency worldwide [6], and individuals with the beta S (β^S) allele in homozygosis have sickle cell anemia (SCA), a very severe disease. The association of HbS with other Hb variants or with thalassemias, including SCA profile, is named sickle cell disease (SCD). Thus, the combination of the β^S and β^C alleles give rise to the hemoglobin SC disease (HbSC), which is a SCD type, that is a lesser severe disease than SCA, although presents a wide spectrum of clinical manifestations [5].

Heterozygous individuals for HbS (HbAS) and HbC (HbAC) are asymptomatic and usually do not have anemia, but sometimes carriers of these genotypes are associated with the appearance of clinical symptoms. Thus, the HbAC genotype was associated with priapism [7] and retinopathy [8], and children with HbAC or HbAS are more susceptible to develop invasive pneumococcal disease[9]. The HbAS profile has been also associated with hematuria, exertional rhabdomyolysis, exercise-related sudden death, anemia in pregnancy and other clinical events [10].

Severe clinical complications are also reported in pregnant SCD women, such as the increase of painful episodes, infection, anemia requiring transfusion, maternal death, and problems related to fetal development[11]. Thus, these SCD women are encouraged to prevent pregnancy, with indication of hormonal contraceptive methods, especially those formulations with progestogen-only contraceptives [12].

Several studies [13-15] reported the COCs influence in hemostatic and lipid profile, and the concern about the thromboembolism and cardiovascular risks due to the steroids hormones use. In SCA women, some studies showed that the use of progestogen-only contraceptives was beneficial with respect to clinical symptoms and the concerns are towards to prevent unplanned pregnancy in those individuals [16, 17]. To our knowledge, there are no studies showing possible changes on laboratorial parameters in women with HbAS, HbAC or HbSC COCs users. Considering the high frequency of variant Hbs worldwide and the few reports related to COCs effects, we propose the investigation of cardiometabolic and hemostatic laboratorial parameters among women COCs users and hemoglobin genotypes carriers.

1. STUDY DESIGN AND METHODS

We performed a cross-sectional study that included 591 women who randomly did routine examinations in a clinical laboratory located at the “Faculdade de Farmácia” of the “Universidade Federal da Bahia (UFBA)” and from the “Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA), Bahia, state of Brazil”. Women aged 15-45 years and users of COCs during the study and for at least three months were eligible to the study and the controls were age-matched and nonusers of COCs during the research and for at least two years. The exclusion criteria were: pregnancy, after delivery (until four months), lactating or taking other hormonal contraceptives methods or hormonal therapy, infections clinically diagnosed, history of hysterectomy, women at menopause; malignancy or auto-immune diseases and women who used COCs due to other medical reasons.

We investigated the hemoglobin profile by high-performance liquid chromatography (HPLC/Variant-I; Biorad, Hercules, CA, USA) of all participants. We included 60 women with normal Hb profile (HbAA), 21 women with HbAC, 25 women with HbAS and 7 women with HbSC profiles among those COCs users. Among the women COCs nonusers, we included 51 with Hb AA, 9 HbAC and 19 HbSC profile.

The study was approved by the Research Board of the “Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (CPqGM-FIOCRUZ – Bahia - Brazil)” in accordance with the Declaration of Helsinki as well as its revision. Informed written consent was obtained from all subjects included in the study allowing their participation and sample collection.

Blood was collected by venipuncture at enrollment, between 07:00 and 10:00 A.M., after at least 12h of fasting. All samples were analyzed at Laboratory of Hematology, Genetic and Computational Biology (LHGB) of CPqGM-FIOCRUZ and at the “Faculdade de Farmácia”, of UFBA. Hematological analyses were performed in venous blood (Cell Dyn Ruby - Abbott

Diagnostics, Illinois, USA). Serum lipids and lipoproteins, and fasting glucose were performed in the automated equipment A25 (Biosystems S.A, Costa Brava, Barcelona, Spain). C-reactive protein (CRP) levels (measured by high-sensitivity assay) were acquired using automated equipment (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). The D-dimer immunoturbidimetric assay was performed in CA-1500 (Sysmex, Japan) equipment with Innovance D-dimer kit (Siemens, Marburg, Germany).

The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v. 20.0 was used to process the data using descriptive statistics to characterize the studied population. Baseline characteristics were summarized as proportions and means of selected variables. The Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests were used to determine the quantitative variables distribution and the independent t test and Mann-Whitney U tests were used to compare two groups of values within the same variable, according to the distribution of each variable.

2. RESULTS

In order to evaluate if the presence Hb variants in women using COCs would be able to promote changes in cardiometabolic and hemostatic parameters, we performed the comparison among women with the normal genotype (HbAA) and Hb variants (HbSC, HbAC and HbAS). We found that women HbAS and HbAC had higher red blood cells (RBC) count, higher mean platelets volume (MPV) and D-dimer than HbAA women; HbAC women had high red cell distribution width (RDW) (Table 1 and 2). Moreover, woman with HbAC profile had lower mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) than HbAA women (Figure 1). Women with HbAS had lower CRP than HbAA women, but in both the CRP levels were above normal limits. Additionally, in women with HbSC compared with HbAA, we observed lower hemoglobin, hematocrit, total cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol (HDL-c), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-c) and high levels

of D-dimer and reticulocyte count (Table 3). To note, the parameters evaluated were under normal limits in women HbAC and HbAS, except for CRP and d-dimer levels, which were above normal limits. Thus, the presence of Hb variants may modulate changes on laboratorial biomarkers of women COCs users.

We analyze if COCs use could be associated with changes in laboratorial biomarkers in women carriers of Hb variants. First, we evaluated the same cardiometabolic and hemostatic parameters in women group with HbAC genotype, COCs users and nonusers. We found that HbAC women users of COCs had higher reticulocyte count, higher blood glucose and CRP levels and lower mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), RDW and HDL-c than HbAC women nonusers of COCs (Table 1). The evaluation performed among HbSC women COCs users and nonusers demonstrated that HbSC women COCs users had higher significant levels of CRP compared to women COCs nonusers (Table 3). Thus, the COCs use, indeed, was associated with changes specifically on inflammatory profile due to the higher levels of CRP observed in women COCs users than nonusers.

We analyzed the CRP levels in women with Hb variants using COCs compared with those COCs nonusers, considering different progestin types used in COCs (2nd generation: levonorgestrel plus ethinylestradiol; 3rd generation: desogestrel or gestodene plus ethinylestradiol; 4th generation: drospirenone plus ethinylestradiol). We observed that CRP levels were above normal limits and significantly higher in those HbAC women using 2nd and 3rd generations of progestins than with in HbAC women COCs nonusers (Figure 1); in HbSC women COCs users, regardless of the COCs generation, the CRP levels were higher than in those HbSC women COCs nonusers (Figure 2). Once again, the significant increases in CRP levels were above the reference limits.

3. DISCUSSION

The prevention of unintended pregnancy is the most important reason for contraceptive use; however, there are some specific conditions that need to be considered related to possible risks according to the criteria of contraceptive use, as the occurrence of SCD [12, 18]. Hemoglobin variants may cause changes the tertiary hemoglobin structure and lead to alterations on the erythrocyte morphology and on hematological parameters, as we found on our results. They are frequent in our population as was previously report with 9.8% of HbAS and 6.5% of HbAC [19].

We have found that women with HbAC, HbAS and HbSC profile using COCs when compared with those with normal hemoglobin profile and COCs users presented changes in hematological and biochemical laboratorial parameters that may be considered as influenced by the Hb profile once previous reports described those changes. Seixas et al. [4] observed that some SCD patients had a specific dyslipidemic subphenotype that was characterized by low HDL-c in association with other biomarkers, including those related to inflammation. Additionally, in HbSC or HbAC genotypes, erythrocytes containing Hb C have an elevated potassium efflux, leading to intracellular cation reduction and also decreased of water content, which turn the erythrocytes dehydrated, increasing intracellular Hb concentration and cell viscosity that promote changes in hematological parameters [6]. SCA individuals have very important systemic changes in their metabolism that have been attributed to the Hb variant presence with the occurrence of intense hemolysis and vasoocclusion. However, in HbAS individuals, changes in laboratorial parameters are not commonly found [10].

We found increased CRP levels in HbSC women COCs users and these levels were not within the reference range that are reported as a predictor of cardiovascular disease risk (CRP \geq 3mg/dL) [20]. When we compared the CRP levels among heterozygous (HbAC and HbAS) and HbAA genotypes, we found higher values than the reference limits on both groups,

although the CRP levels in HbAC and HbAS women were lower than HbAA. COCs use may bring side effects and it is becoming more evident the effect on inflammatory profile [21].

Futhermore, in our study, all types of progestins in COCs formulations were statistically associated with increased levels of CRP in women HbAC and HbSC, except for the 4th generation oral contraceptive pills in HbAC women.

The CRP is considered an acute phase reactant and a biomarker of inflammatory process [22]. Increased levels of CRP were reported to be continuous and rather strong in healthy women using COCs during 12 cycles, according previous study [23]. Also, a significant association of COCs with higher levels of CRP in healthy women COCs users compared with nonusers was observed, despite CRP levels were at reference limits. Effects of hormonal replacement in postmenopausal women also demonstrated 2-fold increases in CRP levels [24] what reinforces the estrogenic effects towards a pro-inflammatory status. Additionally, it is considered predictive of cardiovascular disease risk because its elevation is associated with some cytokines, such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α), mediators of inflammation that affects endothelial function and contribute to atherogenic process [25]. Studies regarding COCs use have been associated increased cardiovascular reactivity and myocardial infarction; however, it is important to verify the best contraceptive methods for women with Hb variants due to the pre-existing inflammatory condition, in special for HbSC women[26, 27].

SCA patients present inflammatory condition, but HbAS and HbAC individuals are generally considered clinically asymptomatic. In our study, the CRP levels were high in all women COCs users and these values are considered as cardiovascular risk (CRP \geq 3 mg/dL). Surprisingly, women COCs users with HbAS and HbAC profiles presented CRP levels lower than HbAA women also COCs users. Although the mechanisms that explain the progestins

effects in women carrier of Hb variants are not very well understood, previous report showed that SCA women using progestins as medroxyprogesterone acetate or levonorgestrel plus ethinylestradiol had reduction in the frequency of painful crisis[16].

We observed the COCs association with changes in lipid profile especially decreasing HDL-c levels in HbAC women using COCs, but the values were within normal limits. However, in HbSC women, HDL-c levels remained under 50mg/dL, independently of the COCs use, and this value is considered of risk to the development of cardiovascular disease. Patients with SCD and with lower HDL-c levels are likely to have more blood transfusions due to more severe clinical disease once transfusion is a therapeutic tool used to prevent stroke and other several symptoms. Also, among patients with SCD and low HDL-c levels, cardiac abnormalities and pneumonia had high occurrences [4]. The HDL-c in normal concentrations attenuates tissue factor and selectins expression and also abolishes platelet activation; hence, thrombosis is inhibited [28]. In vitro studies reported the antioxidant and anti-inflammatory properties of the HDL-c, demonstrating its regulation on the inhibition of the atherosclerosis [29]. The estrogen, component of COCs formulations, exerts effects on lipid profile such as increase hepatic triglycerides synthesis, secretion of very-low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-c), improve LDL-c elimination, increases HDL-c levels due to the increase of apolipoprotein A-1 synthesis and decrease hepatic lipase activity. These effects are counteracted by the progestin, but it depends on their antiandrogenic effects [30].

Additionally, we found clinically significant high levels of D-dimer among women with Hb variants Hb (HbSC, HbAS and HbAC profiles) using COCs compared with those with normal Hb and COCs users. D-dimer is an assay used especially to characterize patients with DVT or in DVT recurrence [31]. It is increased when occurs the degradation of cross-linked fibrin, in coagulation activation or fibrinolysis. A previous study verified that women using COCs formulations with ethinylestradiol and levonorgestrel had increased levels of D-dimer in the

first cycle and it remained elevated until the day 21 [32]. Also, it was reported a significant increase in the fibrinolytic parameter of D-dimer in women using COCs formulations with EE plus drospirenone[33]. As women with Hb variants may present hemostatic alterations, it may be synergistically increased by COCs use, as reported by several studies [32, 33].

There are some limitations in our study. Firstly, it is a cross-sectional study without longitudinal follow-up of cardiovascular or thromboembolic end points. Despite this limitation, we found associations that are reported in case-control studies that evaluated the COCs effects in lipid and inflammatory profiles, as cited above. Second, the sample size, in some Hb profiles was reduced due to the difficult to find reproductive-age women without using a contraceptive method, especially in the HbAS group.

In conclusion, it is important to verify additional risk factors that may promote unfavorable outcomes. Therefore, as women carriers of Hb variants Hb may present a pro-inflammatory conditions, such as increased CRP and decreased HDL-c, and pro-thrombotic status, as increased D-dimer levels that together with the COCs use, may increase the chances for the development of cardiovascular and thromboembolic diseases. We reinforce the importance of counseling and prescribe appropriated contraceptive methods, such as progestogen-only contraceptives, in order to avoid more complications or health problems.

REFERENCES

- [1] Christin-Maitre S. History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2013;27:3-12.
- [2] Lowe GD. Common risk factors for both arterial and venous thrombosis. *British journal of haematology*. 2008;140:488-95.
- [3] Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet*. 1999;353:1167-73.
- [4] Seixas MO, Rocha LC, Carvalho MB, et al. Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. *Lipids in health and disease*. 2010;9:91.

- [5] Steinberg MH. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. *TheScientificWorldJournal*. 2008;8:1295-324.
- [6] Hannemann A, Weiss E, Rees DC, Dalibalta S, Ellory JC, Gibson JS. The Properties of Red Blood Cells from Patients Heterozygous for HbS and HbC (HbSC Genotype). *Anemia*. 2011;2011:248527.
- [7] Gibson BR, Peterson AC, Costabile RA. Priapism associated with hemoglobin C trait. *The Journal of urology*. 2002;168:2122.
- [8] Hingorani M, Bentley CR, Jackson H, et al. Retinopathy in haemoglobin C trait. *Eye (Lond)*. 1996;10 (Pt 3):338-42.
- [9] Poehling KA, Light LS, Rhodes M, et al. Sickle cell trait, hemoglobin C trait, and invasive pneumococcal disease. *Epidemiology*. 2010;21:340-6.
- [10] Tsaras G, Owusu-Ansah A, Boateng FO, Amoateng-Adjepong Y. Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. *The American journal of medicine*. 2009;122:507-12.
- [11] Berzolla C. Sickle Cell Disease and Pregnancy: Does Outcome Depend on Genotype or Phenotype? *International Journal of Clinical Medicine*. 2011;02:313-7.
- [12] Organization WH. Medical eligibility criteria for contraceptive use. 2015:14.
- [13] Heinemann LA, Dinger JC, Assmann A, Minh TD. Use of oral contraceptives containing gestodene and risk of venous thromboembolism: outlook 10 years after the third-generation "pill scare". *Contraception*. 2010;81:401-7.
- [14] Lidegaard O, Edstrom B, Kreiner S. Oral contraceptives and venous thromboembolism: a five-year national case-control study. *Contraception*. 2002;65:187-96.
- [15] Lidegaard O, Lokkegaard E, Jensen A, Skovlund CW, Keiding N. Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception. *The New England journal of medicine*. 2012;366:2257-66.
- [16] de Abood M, de Castillo Z, Guerrero F, Espino M, Austin KL. Effect of Depo-Provera or Microgynon on the painful crises of sickle cell anemia patients. *Contraception*. 1997;56:313-6.
- [17] Howard RJ, Lillis C, Tuck SM. Contraceptives, counselling, and pregnancy in women with sickle cell disease. *BMJ*. 1993;306:1735-7.
- [18] Healthcare FoSaR. UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use. 2009:151.
- [19] Adorno EV, Couto FD, Moura Neto JP, et al. Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil. *Cadernos de saude publica*. 2005;21:292-8.
- [20] Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*. 2001;285:2486-97.
- [21] Kowalska K, Milnerowicz H. Pro/antioxidant status in young healthy women using oral contraceptives. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2016.
- [22] Choi J, Joseph L, Pilote L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2013;14:232-44.
- [23] Dreon DM, Slavin JL, Phinney SD. Oral contraceptive use and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Life sciences*. 2003;73:1245-52.
- [24] Walsh BW, Paul S, Wild RA, et al. The effects of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85:214-8.

- [25] Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nature reviews Cardiology*. 2009;6:399-409.
- [26] Rosenberg L, Palmer JR, Rao RS, Shapiro S. Low-dose oral contraceptive use and the risk of myocardial infarction. *Archives of internal medicine*. 2001;161:1065-70.
- [27] Colella MP, de Paula EV, Machado-Neto JA, et al. Elevated hypercoagulability markers in hemoglobin SC disease. *Haematologica*. 2015;100:466-71.
- [28] Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circulation research*. 2006;98:1352-64.
- [29] Zerrad-Saadi A, Therond P, Chantepie S, et al. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2009;29:2169-75.
- [30] Sitruk-Ware R, Nath A. Characteristics and metabolic effects of estrogen and progestins contained in oral contraceptive pills. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2013;27:13-24.
- [31] Gremmel T, Ay C, Seidinger D, Pabinger I, Panzer S, Koppensteiner R. Soluble p-selectin, D-dimer, and high-sensitivity C-reactive protein after acute deep vein thrombosis of the lower limb. *Journal of vascular surgery*. 2011;54:48S-55S.
- [32] Westhoff CL, Eisenberger A, Tang R, Cremers S, Grossman LV, Pike MC. Clotting factor changes during the first cycle of oral contraceptive use. *Contraception*. 2016;93:70-6.
- [33] Stocco B, Fumagalli HF, Franceschini SA, et al. Comparative study of the effects of combined oral contraceptives in hemostatic variables: an observational preliminary study. *Medicine*. 2015;94:e385.

Table 1. Hematologic, lipid and inflammatory profile of women according to Hb profile and COCs use.

	HbAC COC+	HbAC COC-	HbAA COC+	P1	P2
	(N=21)	(N=9)	(N=60)	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>
	Median(25 th -75 th)	Median(25 th -75 th)	Median(25 th -75 th)		
Age (years)	28.0 (20-36)	34 (16.5-41)	29.0 (22-34.5)	0.604	0.800
Hematological profile					
Red blood cells, x10 ¹² /mL	4.8 (4.4-5.1)	4.6 (4.5 – 5.0)	4.5 (4.2-4.7)	0.348	0.001
Hemoglobin, g/dL	13.2 (12.4-13.9)	12.5 (12.5-14.0)	13.0 (12.3-13.8)	0.917	0.748
Hematocrit, %	38.9 (37.7-41.1)	37.1 (36.1 – 40.3)	39.6 (37.4-41.3)	0.062	0.977
MCV, fL	82.2 (79.4-87.5)	80.5 (79.5-85.8)	89.8 (86.9-91.6)	0.640	0.0001
HCM, pg	27.3 (25.7-29.0)	28.0 (26.6 – 30.0)	29.7 (28.3-30.4)	0.499	0.002
MCHC, %	33.1 (32.6-33.8)	34.8 (33.7 – 35.0)	33.1 (32.4-33.7)	0.001	0.445
RDW, %	11.8 (11.5-12.5)	13.2 (12.6-13.4)	11.3 (11.0-11.6)	0.001	0.006
Leukocytes, x 10 ⁹ /mL	7686.0 (6250.0-10350.0)	8214.0 (6475.0 – 9059.0)	6693.0 (5421.8-8412.0)	0.999	0.106
Reticulocytes, %	1.5 (1.2-1.8)	1.0 (0.8-1.4)	1.5 (1.1-2.0)	0.019	0.873
Platelets,x10 ³ /mL	245.0 (204.0-268.0)	233.0 (197.0 – 238.0)	238.5 (200.5 – 269.8)	0.249	0.859
MPV, fL	7.2 (6.5 – 7.9)	7.3 (6.5-8.0)	6.5 (5.8-7.4)	0.640	0.012
Glucose					
Blood glucose (mg/dL)	88.0 (82.0 – 95.0)	82.0 (76.0-85.0)	89.0 (83.0 – 95.8)	0.027	0.959
Lipid profile					
Total cholesterol (mg/dL)	193.0 (148.0-206.0)	167.0 (151.0 – 181.0)	186.5 (152.3-209.5)	0.405	0.977
HDL-cholesterol (mg/dL)	54.0 (44.0 – 63.0)	69.0 (54.0 – 81.0)	53.0 (45.3-59.0)	0.0031	0.752
LDL-cholesterol (mg/dL)	118.0 (83.0 – 133.8)	79.4 (67-108.2)	107.9 (85.7-130.9)	0.080	0.859
VLDL-cholesterol (mg/dL)	17.0 (14.8-23.8)	17.0 (14.0 – 18.8)	19.7 (14.0-26.2)	0.717	0.399
Triglycerides (mg/dL)	85 (74 – 119)	85.0 (70-94)	96.5 (69.8 – 129.5)	0.718	0.480
Inflammatory and hemostatic profile					
Iron(mg/dL)	82.0 (48.0 – 117.0)	108.0 (70.0-179.0)	86.0 (57.0 – 112.5)	0.208	0.850
CRP (mg/L)	5.0 (3.28-9.1)	1.2 (1.0-2.5)	7.0 (4.0-10.0)	0.0001	0.251
Fibrinogen (mg/dL)	266.0 (193.0-335.0)	324.0 (252.0-386.0)	285.0 (230.0-349.0)	0.321	0.317
D-dimer	0.53 (0.29-0.72)	0.43 (0.31-0.54)	0.28 (0.19-0.41)	0.404	0.008

HbAC: hemoglobin AC; HbAA: hemoglobin AA; COC+: combined oral contraceptive user; COC-: combined oral contraceptive non-user; HDL-c: High density lipoprotein; LDL-c: low density lipoprotein; VLDL-c: very low density lipoprotein; CRP: C-reactive protein; $p<0,05$; Mann-Whitney. P1: Mann-Whitney U test among AC COC+ and AC COC-; P2: Mann-Whitney U test among AC COC+ and AA COC+.

Table 2. Hematologic, lipid and inflammatory profile of women COCs users according to Hb profile.

	HbAS COC+ (N=7)	HbAA COC+ (N=19)	<i>p-value</i>
	Median(25 th -75 th)	Median(25 th -75 th)	
Age (years)	30.5 (25.3-35.0)	29.0 (22-34.5)	0.319
Hematological profile			
Red blood cells, x10 ¹² /mL	4.6 (4.3-4.9)	4.5 (4.2-4.7)	0.026
Hemoglobin, g/dL	13.5 (12.5-14.0)	13.0 (12.3-13.8)	0.115
Hematocrit, %	40.4 (38.4-42.5)	39.6 (37.4-41.3)	0.176
MCV, fL	87.6 (84.8-91.9)	89.8 (86.9-91.6)	0.554
MCH, pg	29.0 (27.7-30.5)	29.7 (28.3-30.4)	0.662
MCHC, %	33.0 (32.4-33.4)	33.1 (32.4-33.7)	0.714
RDW, %	11.6 (11.2-11.8)	11.3 (11.0-11.6)	0.176
Leukocytes, x 10 ⁹ /mL	8085 (6344-9007)	6693 (5421.8-8412.0)	0.128
Reticulocytes, %	1.3 (1.1-1.7)	1.5 (1.1-2.0)	0.252
Platelets,x10 ³ /mL	222 (187-258)	238.5 (200.5 – 269.8)	0.194
MPV, fL	7.4 (6.1-8.5)	6.5 (5.8-7.3)	0.014
Glucose			
Blood glucose (mg/dL)	86 (80.3 – 94.5)	89 (83 – 95.8)	0.368
Lipid profile			
Total cholesterol (mg/dL)	177 (163.8-194.8)	186.5 (152.3-209.5)	0.304
HDL-cholesterol (mg/dL)	52.5 (40.3 – 62.0)	53.0 (45.3-59.0)	0.659
LDL-cholesterol (mg/dL)	102.1 (82.0 – 125.7)	107.9 (85.7-130.9)	0.433
VLDL-cholesterol (mg/dL)	18.9 (15.0-24.5)	19.7 (14.0-26.2)	0.328
Triglycerides (mg/dL)	94.5 (75.0 – 122.5)	96.5 (69.8 – 129.5)	0.755
Inflammatory and hemostatic profile			
Iron(mg/dL)	93 (61.0 – 108.0)	86 (57 – 112.5)	0.925
CRP (mg/L)	4.4 (2.8-10.5)	7.0 (4.0-10.0)	0.027
D dimer (mg/dL)	0.68 (0.39-1.2)	0.28 (0.19-0.41)	0.0001

HbAS: hemoglobin AS; HbAA: hemoglobin AA; COC+: combined oral contraceptive user; COC-: combined oral contraceptive non-user;

HDL-c: High density lipoprotein; LDL-c: low density lipoprotein; VLDL-c: very low density lipoprotein; CRP: C-reactive protein; $p < 0.05$;

Mann-Whitney. P1: Mann-Whitney U test among AC COC+ and AC COC-; P2: Mann-Whitney U test among AC COC+ and AA COC+.

Table 3. Hematologic, lipid and inflammatory profile of women according to Hb profile and the COCs use.

	HbSC COC+	HbSC COC-	HbAA COC+	P1	P2
	(N=7)	(N=19)	(N=60)	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>
	Median(25 th -75 th)	Median(25 th -75 th)	Median(25 th -75 th)		
Age (years)	25.0 (24-35)	18 (16.5-33)	29.0 (22-34.5)	0.140	0.943
Hematological profile					
Red blood cells, x10 ¹² /mL	4.1 (3.4-4.6)	4.1 (3.7 – 4.5)	4.5 (4.2-4.7)	0.568	0.117
Hemoglobin, g/dL	11.9 (10.6-12.5)	11.5 (10.9-12.4)	13.0 (12.3-13.8)	0.836	0.002
Hematocrit, %	33.2 (31.2-36.5)	34 (31.9 – 36.5)	39.6 (37.4-41.3)	0.640	0.0001
MCV, fL	79.8 (78.1-91.0)	83.3 (76.0-87.4)	89.8 (86.9-91.6)	0.950	0.051
MCH, pg	27.3 (25.9-32.2)	28.4 (26 – 29.7)	29.7 (28.3-30.4)	0.959	0.273
MCHC, %	34.3 (32.8-35.4)	33.8 (33.2 – 34.4)	33.1 (32.4-33.7)	0.678	0.069
Leukocytes, x 10 ⁹ /mL	7146 (5680.0-9794.0)	8700.0 (6713.5 – 10700.0)	6693.0 (5421.8-8412.0)	0.405	0.580
Reticulocytes, %	3.7 (1.3-6.0)	3.1 (2.1-4.4)	1.5 (1.1-2.0)	0.850	0.007
Platelets,x10 ³ /mL	196.0 (180.0-321.0)	264.0 (186.0 – 375.5)	238.5 (200.5 – 269.8)	0.499	0.682
Glucose					
Blood glucose (mg/dL)	87.0 (76.0 – 97.0)	78.0 (74.5-83.5)	89.0 (83.0 – 95.8)	0.113	0.345
Lipidic profile					
Total cholesterol (mg/dL)	135.0 (99.0-148.0)	140.0 (112.0 – 160.5)	186.5 (152.3-209.5)	0.405	0.0001
HDL-cholesterol (mg/dL)	41.0 (31.0 – 49.0)	41.0 (37 – 46.5)	53.0 (45.3-59.0)	0.959	0.014
LDL-cholesterol (mg/dL)	67.4 (58.4 – 86.8)	77.0 (57.6-96.7)	107.9 (85.7-130.9)	0.532	0.002
VLDL-cholesterol (mg/dL)	15.2 (10.8-23.2)	18.0 (13.3 – 24.8)	19.7 (14.0-26.2)	0.534	0.255
Triglycerides (mg/dL)	76.0 (54 – 116)	88.0 (66.5-124.5)	96.5 (69.8 – 129.5)	0.533	0.282
Inflammatory and hemostatic profile					
Iron(mg/dL)	56.0 (46.0 – 90.0)	71.0 (59.0-94.0)	86.0 (57.0 – 112.5)	0.296	0.238
CRP (mg/L)	9.1 (7.6-23.0)	2.6 (1.7-4.5)	7.0 (4.0-10.0)	0.014	0.207
D dimer (mg/dL)	0.91 (0.68-1.2)	0.94 (0.45-1.14)	0.28 (0.19-0.41)	0.09	0.0001

SC: Hemoglobin SC; AA: Hemoglobin AA; COC+: combined oral contraceptive user; COC-: combined oral contraceptive non-user; HDL-c: High density lipoprotein; LDL-c: low density lipoprotein; VLDL-c: very low density lipoprotein; CRP: C-reactive protein; *p*<0,05; Mann- Whitney. P1: Mann-Whitney U test among SC COC+ and SC COC-; P2: Mann-Whitney U test among SC COC+ and AA COC+.

Figures legends

Figure 1. Comparison of CRP levels among women with HbAC profile using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were HbAC genotype and COCs nonusers, *P= 0.002; **P=0.005. Mann-Whitney U test; CRP: C-reactive protein; COC2: 2nd generations combined oral contraceptives; COC3: 3rd generations combined oral contraceptives; COC4: 4th generations combined oral contraceptives.

Figure 2. Comparison of CRP levels among women with HbSC profile using COCs with 2nd, 3rd and 4th generations of progestins with that in women who were HbSC genotype and COCs nonusers, *P= 0.002. Mann-Whitney U test; CRP: C-reactive protein; COC2: 2nd generations combined oral contraceptives; COC3/4: 3rd and 4th generations combined oral contraceptives.

Figure 1

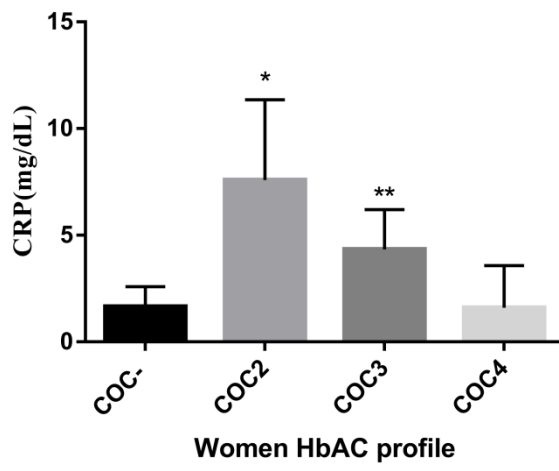
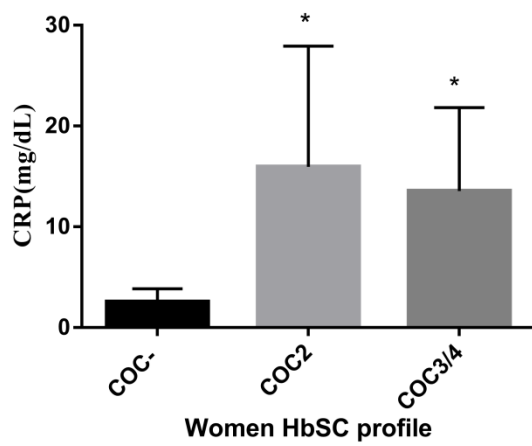


Figure 2



7 DISCUSSÃO

Os COCs são mundialmente utilizados por grande número de mulheres, desde sua aprovação em 1960 pelos EUA. Os COCs são considerados um dos métodos contraceptivos reversíveis mais eficazes na prevenção da gravidez, mas possuem efeitos adversos que devem ser considerados quando da sua prescrição (ERKKOLA, 2007; GUIDA et al., 2010).

O primeiro manuscrito caracterizou os tipos de COCs usados por um grupo de mulheres brasileiras em idade reprodutiva, além das condições que podem estar associadas com contraindicações ao uso de COCs ou situações que podem estar relacionadas aos riscos de doenças cardiovasculares e tromboembolismo.

Nossos dados sugerem que as mulheres estudadas estão utilizando pílulas com formulações de dose baixa de EE e contendo progestinas de 2^a, 3^a e 4^a gerações. Hall e Trussell (2012) estudaram diferentes tipos de COCs usados por mulheres nos EUA e verificaram uso maior de COCs de 3^a geração, seguidos dos de 1^a, 2^a e 4^a gerações de progestinas. Entretanto, COCs de gerações mais antigas (≥ 30 estrogênio mcg, 1^a e 2^a gerações de progestinas) parecem apresentar uso menor devido às propriedades androgênicas mais pronunciadas, motivo para redução de sua prescrição clínica (CHRISTIN-MAITRE, 2013; SITRUK-WARE, 2008).

COCs de 2^a geração de progestinas são as formulações mais baratas vendidas em farmácias e distribuídas por instituições de saúde do governo brasileiro. Além disso, 41,1% das mulheres estudadas relataram renda familiar inferior ou igual a 220 dólares, o que contribui para a aquisição de formulações de preços mais baixos. A tendência em relação ao uso de COCs é uma associação de doses baixas de estrogênio com diferentes gerações de progestinas, na tentativa de reduzir os efeitos indesejáveis (CHRISTIN-MAITRE, 2013; LIDEGAARD et al., 2012a,b; VAN HYLCKAMA VLIEG et al., 2009).

Entre as mulheres em idade reprodutiva que compareceram aleatoriamente ao serviço de saúde, observou-se 13,0% de mulheres com contraindicação médica ao uso de COCs, de forma semelhante ao estudo de Luring e colaboradores (2016), que verificaram 13,2% das usuárias de COCs com contraindicação para o uso de estrogênio, embora seu estudo tenha incluído outros métodos hormonais combinados, como adesivos e anéis vaginais.

Grossman e colaboradores (2011) descreveram taxas que variam de 13,8-21,4% de contraindicações em mulheres que utilizavam métodos contraceptivos hormonais e tinham obtido as pílulas de uma clínica ou que adquiriram o tratamento sem receita médica, no balcão de drogarias. Embora em nosso país os métodos contraceptivos podem ser prescritos pelos médicos ou comprados nas drogarias, nossos resultados foram similares aos encontrados em estudo anterior que abordou as contraindicações em mulheres que obtiveram os COCs através da prescrição médica (Lauring et al., 2016). Como os COCs são amplamente utilizados por mulheres brasileiras, a preocupação em relação à redução das contraindicações para o seu uso pode ser no sentido de ajudar as mulheres com mais informações sobre os métodos contraceptivos, a fim de garantir o acesso ao método mais seguro de acordo com suas condições de saúde ou com as suas próprias características.

As contraindicações relacionadas ao uso de COCs observadas no presente estudo, como hábito de fumar ou hipertensão, estão associadas com o risco aumentado para doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral, quando comparados com mulheres não usuárias, embora a frequência desses eventos em mulheres em idade reprodutiva seja baixa (ELGAN; SAMSIOE; DYKES, 2003; KEMMEREN et al., 2002; LUBIANCA; FACCIN; FUCHS, 2003; NIGHTINGALE et al., 2000; ROACH et al., 2013). Apesar da baixa frequência desses eventos, as mulheres com comorbidades e aquelas com fatores de risco múltiplos que tendem a aumentar os riscos de doenças cardiovasculares devem evitar o tratamento contraceptivo hormonal (LUBIANCA; FACCIN; FUCHS, 2003; ROACH et al., 2013; WHO, 2015). Da mesma forma, considerando-se a elevação da pressão arterial, a descontinuação do contraceptivo hormonal pode ajudar a controlar a hipertensão (NARKIEWICZ et al., 1995).

Da mesma forma, nossa análise descreveu as condições médicas ou características de mulheres que devem ser consideradas em conjunto para determinar a escolha do método contraceptivo. A principal importância do uso de métodos contraceptivos é prevenir a gravidez não planejada, mas algumas circunstâncias médicas podem adicionar riscos para usuárias de contraceptivos hormonais. As recomendações da OMS e UK para uso de anticoncepcionais sugerem quatro categorias de elegibilidade de acordo com a possibilidade de risco

para a saúde ou, em segundo lugar, se a condição médica compromete a eficácia contraceptiva (UK, 2009; WHO, 2015).

A obesidade ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) também está incluída como uma condição a ser avaliada em mulheres que utilizam COCs, categorizada como quando os benefícios de usar o método superam os riscos. Nossos resultados mostraram que 20,2% das mulheres eram obesas e quase um terço delas apresentaram sobrepeso. Embora a obesidade não seja relatada como uma contraindicação para COCs de acordo com os critérios da OMS (categoria 2), o aumento do IMC acima de 30 Kg/m^2 é considerado um fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e TEV e o uso de estrogênio em mulheres obesas pode aumentar os riscos (ALLMAN-FARINELLI, 2011; UK, 2009; NIGHTINGALE et al., 2000; WHO, 2013, 2015). Ademais, mulheres obesas são mais propensas a desenvolver hipertensão, diabetes e dislipidemias, que são descritas como contraindicações aos COCs.

Verificamos os níveis de lípidos no grupo de mulheres usuárias de COCs e encontramos concentrações elevadas de LDL-c e triglicérides e mais de um terço das mulheres com valores de HDL-C abaixo dos considerados normais, os quais são adotados como critérios para classificação de dislipidemia (NCEP, 2001).

Além disso, dislipidemia e outros fatores de risco (hipertensão, diabetes ou tabagismo) foram encontrados em todas as seis mulheres com fatores de risco múltiplos para DCV. Concentrações aumentadas de LDL e triglicérides e diminuídas de HDL são fatores de risco para infarto do miocárdio (MI) e outras doenças cardiovasculares (NCEP, 2001; KEMMEREN et al., 2002). As recomendações do manual do Reino Unido são colocadas no sentido de se verificar o tipo, a gravidade da hiperlipidemia e a presença de outros fatores de risco cardiovascular visando a análise do método contraceptivo mais seguro para as mulheres (UK, 2009).

Encontramos 10,2% das mulheres que relataram história familiar de TEV. Como fatores genéticos e ambientais interagem para determinar o risco de TEV, relatos de histórico familiar somente não podem identificar uma trombofilia. No entanto, deve ser dada mais atenção às mulheres com história familiar de TEV em parentes de primeiro grau, pois a triagem para mutações trombogênicas não é economicamente viável para testar todas as mulheres antes do uso de

contraceptivos orais combinados (UK, 2009; MIDDLEDROP, 2008; VAN VLIJMEN et al., 2007; WHO, 2015).

A doença falciforme foi verificada em 1,6% das mulheres que utilizavam COCs, apontada como categoria 2 nos critérios de elegibilidade médica dos Estados Unidos e do Reino Unido para o uso de anticoncepcionais, pois é importante evitar a gravidez nessas mulheres devido às graves complicações médicas, superiores aos riscos relacionados ao uso de COCs. No entanto, nesta condição, os contraceptivos só com progestógeno parecem ser mais seguros do que os COCs e alguns estudos relataram benefícios com relação aos sintomas clínicos em pacientes com anemia falciforme (UK, 2009; de ABOOD et al., 1997; HOWARD; LILLIS; TUCK, 1993; WHO, 2015). É importante ressaltar que a população brasileira possui frequência elevada de hemoglobinas variantes devido à mistura étnica e há poucos relatos na literatura sobre o uso de COCs entre mulheres portadoras desta condição genética (ADORNO et al., 2005; SILVA et al., 2006).

A contracepção em mulheres diabéticas é uma questão importante porque a gravidez não planejada, nestes casos, pode aumentar a morbidade e mortalidade materna e infantil. Encontramos mulheres diabéticas, bem como aquelas com concentrações elevadas de glicemia em jejum, entre as que utilizavam COCs. É necessário considerar os possíveis efeitos metabólicos dos métodos contraceptivos hormonais e os riscos adicionais que cada mulher pode apresentar, reforçando a necessidade de um acompanhamento cuidadoso. As recomendações da OMS e UK consideram o uso de contraceptivos só com progestógeno como uma alternativa em mulheres diabéticas com alterações clínicas. No entanto, outra possibilidade a se considerar é o uso de métodos não hormonais quando há riscos de doenças cardiovasculares ou complicações vasculares nessas mulheres (SKOUBY, 2010; WHO, 2015).

O presente estudo apresenta algumas limitações. A pressão arterial foi medida em um único dia, o que pode superestimar a frequência de mulheres com hipertensão. No entanto, uma vez que consideramos a elevação da pressão arterial juntamente com o uso de tratamento anti-hipertensivo, o possível erro introduzido pode ter sido eliminado.

Os resultados obtidos mostram que a população estudada foi constituída por mulheres pretas e pardas (auto-declaradas); mais da metade relatou baixa renda e concluiu o ensino médio. Embora o custo e o acesso fácil aos COCs terem

importância expressiva na escolha do método contraceptivo, especialmente na nossa população, sabe-se que a segurança e eficácia devem ser consideradas. Assim, como a frequência das contraindicações para COCs em nosso estudo é superior a 10% e alguns deles são considerados uma condição que representa um risco inaceitável para a saúde se o COC é utilizado, é importante melhorar a informação sobre o método contraceptivo e as contraindicações que cada um apresenta.

É importante ressaltar que a função principal do método contraceptivo é evitar a gravidez não planejada, especialmente em mulheres com condições médicas que comprometem a sua saúde. No entanto, a escolha do método contraceptivo deve levar em consideração as características e condições individuais a fim de se evitar os riscos adicionais para a mulher.

O segundo manuscrito foi realizado devido ao aumento da prevalência da obesidade, especialmente entre adolescentes e mulheres que podem utilizar COCs e o impacto da obesidade e dos COCs nos perfis bioquímico e inflamatório, principalmente entre os marcadores associados ao risco cardiometabólico. Já o terceiro estudo envolveu mulheres com Hb variantes e em uso de COCs, considerando também os perfis bioquímico e inflamatório, bem como o perfil hematológico e hemostático.

A obesidade foi observada em 19,1% das mulheres usuárias de COCs e 19,7% nas não usuárias. Em estudos realizados por diversos autores (POMP et al., 2007; HURWITZ; HENRY; GOLDBERG, 2009; FARAMAND et al., 2016) foram verificadas frequências de obesidade em mulheres que utilizavam COCs de 23% em mulheres iranianas, 21% em mulheres que apresentaram TVP e 13% no grupo controle, em mulheres dos países baixos e em mulheres americanas, as taxas de obesidade variaram entre 17,7% a 32,4%, respectivamente. A obesidade é relatada como fator predisponente para DCV e TEV, uma vez que tem sido associada ao aumento dos fatores pró-coagulantes, tais como fibrinogênio, micropartículas circulantes, factor VII, factor VIII, factor IX e factor XII (ROSENDAAL, 1999; GOICHOT et al., 2006; STEIN; GOLDMAN, 2009). Além disso, a obesidade confere um estado pró-inflamatório, que é responsável por aumentar as concentrações de PCR, uma proteína de fase aguda preditiva de risco de DCV. A obesidade também causa influências adversas na parede arterial e efeitos sobre a inflamação sistêmica (RIDKER et al., 2002). Vale ressaltar que os COCs também aumentam o risco de

TEV e de problemas cardiovasculares de forma independente e sua associação com obesidade favorece o aumento desses riscos de forma sinérgica (TUOMILEHTO et al., 1987; NIGHTINGALE et al., 2000; LIDEGAARD; EDSTROM; KREINER, 2002; WILLIAMS et al., 2004 ;POMP et al., 2007).

Quanto às Hb variantes, essas alterações são frequentes na nossa população, como foi mostrado em estudo prévio, com frequência de 9,8% para o genótipo HbAS e 6,5% para o genótipo HbAC (ADORNO et al., 2005).

No estudo comparando mulheres que utilizam COCs e não usuárias, obesas ou não, mostramos diferenças significativas entre o perfil lipídico e inflamatório entre os grupos estudados. Uma das alterações verificadas foi em relação aos níveis de PCR. A PCR é uma proteína de fase aguda inflamatória e um marcador de inflamação (LIBBY, 2002; WILLIAMS et al., 2004) crônica, sendo que em nosso estudo descrevemos níveis elevados em mulheres obesas, tanto nas que utilizavam COCs quanto nas mulheres não usuárias; o efeito esteve associado aos contraceptivos de forma independente ou sinérgica com a obesidade. As concentrações de PCR encontradas em nosso estudo, especialmente nas mulheres obesas em uso de COCs, foram maiores que 3mg/dL, considerado como um fator de risco para DCV (SCIRICA; MORROW, 2006). Quando analisamos as concentrações de PCR em relação à geração de progestina presente na formulação dos COCs, encontramos aumento significativo nas mulheres que utilizavam quaisquer gerações de COC, especialmente naquelas em uso de COCs de 3ª geração de progestinas (DSG e GSD), as quais foram desenvolvidas para reduzir o risco cardiovascular devido aos efeitos benéficos sobre os parâmetros lipídicos (ZELJKO et al., 2011).

Também relacionadas às alterações verificadas nos níveis de PCR em mulheres que utilizavam COCs, no terceiro manuscrito, encontramos níveis aumentados de PCR em mulheres com genótipo HbSC que utilizavam COCs, os quais não se encontravam dentro dos valores considerados normais e são reportados como preditores de risco para DCV ($PCR \geq 3$ mg/dL) (NCEP, 2001). Quando comparamos os níveis de PCR entre mulheres heterozigotas (HbAC e HbAS) e aquelas HbAA, todas em uso de COCs, verificamos valores acima dos considerados dentro do limites normais em todos os grupos, embora os valores de PCR nas mulheres HbAC e HbAS terem sido menores do que nas mulheres HbAA.

Assim, o uso de COCs pode causar efeitos adversos, os quais podem ser mais pronunciados no perfil inflamatório (KOWALSKA; MILNEROWICZ, 2016). Além do

mais, em nosso estudo, concentrações elevadas de PCR foram associadas com quase todas as gerações de progestinas presentes nas formulações de COCs em mulheres HbAC e HbSC, exceto para as progestinas de 4ª geração em mulheres HbAC, situação bem parecida à descrita em mulheres obesas em uso de COCs.

Kluft e colaboradores (2002) também relataram o aumento contínuo nas concentrações de PCR em mulheres saudáveis em uso de COCs durante 12 ciclos e sugeriram que este efeito pró-inflamatório pode explicar o aumento do risco de efeitos adversos tromboembólicos. Em mulheres obesas em uso de COCs, Williams e colaboradores (2004), em um estudo transversal, relataram concentrações elevadas de PCR relacionadas com COCs, sem relação com a geração de progestina utilizada. Dreon, Slavin e Phinney (2003) também observaram a associação significativa de COCs de dose baixa com valores aumentados de PCR, apesar de dentro daqueles considerados de referência.

A PCR é considerada como um biomarcador preditivo independente do risco de DCV e encontra-se elevada em condições inflamatórias. O aumento nas concentrações de PCR está associado a certas citocinas, tais como IL-6 e TNF- α , mediadores inflamatórios, o que afeta a função endotelial e pode contribuir para o processo aterogênico. Uma possível explicação sobre a relação entre obesidade e o aumento nas concentrações de PCR pode ser o aumento na secreção de citocinas pelo tecido adiposo, resultando na secreção elevada de PCR pelo tecido hepático (ROCHA; LIBBY, 2009; CHOI, JOSEPH; PILOTE, 2013).

Uma vez que o uso de COCs tem sido associado ao aumento da reatividade cardiovascular e ao infarto do miocárdio, é importante avaliar os melhores métodos anticoncepcionais para mulheres com Hb variantes devido à condição inflamatória pré-existente, principalmente em mulheres HbSC, bem como em mulheres obesas (ROSENBERG et al., 2001; COLELLA et al., 2015).

Indivíduos com anemia falciforme apresentam uma condição inflamatória, embora os portadores de HbAS e HbAC sejam, geralmente, clinicamente assintomáticos. Em nosso estudo, as concentrações de PCR observadas encontravam-se elevadas em todas as mulheres que utilizavam COCs e esses valores estavam dentro da faixa relacionada ao risco cardiovascular. No entanto, surpreendentemente, mulheres em heterozigose para Hb S e C, usuárias de COCs, tiveram concentrações de PCR menores que aquelas com perfil de Hb normal, também usuárias de COCs. Embora os mecanismos que explicam os efeitos de

progestinas em mulheres portadoras de Hb variantes não estejam elucidados, já foi descrito que mulheres com doença falciforme que utilizavam tratamento com acetato de medroxiprogesterona ou levonorgestrel mais etinilestradiol tiveram redução na frequência de crises dolorosas (de ABOOD et al., 1997).

A ferritina, um indicador de depósitos de ferro, também é uma proteína de fase aguda inflamatória que foi analisada no estudo envolvendo mulheres obesas. Mulheres com IMC $<30 \text{ Kg/m}^2$ e que utilizam COCs não apresentaram diferenças nas concentrações de ferritina quando comparadas aquelas que não utilizavam esse tratamento, em nosso estudo. No entanto, as concentrações de ferritina estavam aumentadas em mulheres obesas usuárias de COCs e, parece que a obesidade em associação com os COCs tem efeito sinérgico neste parâmetro. Alam e colaboradores (2015) constataram que pessoas obesas tinham concentrações elevadas de ferritina sérica e PCR, com diminuição de ferro e atribuíram estes resultados ao estado inflamatório devido ao aumento do tecido adiposo, o que corrobora com os nossos resultados. Ao contrário, Eftekhariet e colaboradores (2009) encontraram concentrações reduzidas de ferritina em adolescentes iranianas obesas com deficiência de ferro, mas esse achado pode ser devido à deficiência de ferro relacionada com a depleção dos seus depósitos. A condição de inflamação induzida pela obesidade e o uso de COCs parecem afetar, de forma sinérgica, a síntese hepática de ferritina, embora o mecanismo pelo qual os COCs aumentam essa proteína ainda não esteja elucidado.

O aumento nos níveis de metabólitos do NO também parece estar associado ao efeito da obesidade, isoladamente, ou em conjunto com o uso de COCs, uma vez que foi observado em todos os grupos de mulheres analisados pelo presente estudo. Embora os estrogênios estimulem a síntese de NO por estimularem a eNOS em células endoteliais vasculares, controlando a função normal do endotélio, certas progestinas parecem se contrapor a este efeito, desenvolvendo uma alteração endotelial que pode incorrer no aumento de risco cardiovascular (VIRDIS et al., 2003; HISAMOTO; BENDER, 2005; ZERR-FOUINEAU et al., 2009). Zerr-Fouineau e colaboradores (2009) relataram que progestinas tais como LNG não tiveram influência na produção de NO pelas células endoteliais induzidas pelo $17\beta\text{E}_2$. No presente estudo, o método de Griess permite dosar os metabólitos do NO, os quais podem ser liberados por estimulação do estrogênio, mas também podem ser produzidos em concentrações altas em condições patológicas e durante processos

inflamatórios (BECKMAN; KOPPENOL, 1996; BRYAN; GRISHAM, 2007). Os resultados do nosso estudo indicam que as mulheres obesas usuárias de COCs parecem apresentar condição inflamatória devido às concentrações elevadas de PCR e ferritina. Portanto, o aumento verificado nos níveis de metabólitos de NO pode ser oriundo de produtos do estresse nitrosativo.

Em relação ao perfil lipídico, verificou-se que os COCs e a obesidade apresentam efeito aditivo na redução das concentrações de HDL abaixo dos valores de referência, em mulheres que utilizam COCs. Concentrações normais de HDL estão implicadas na inibição da aterosclerose, uma vez que estudos *in vitro* mostraram suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (ZERRAD-SAAD et al., 2009). Indivíduos com o aumento nas concentrações de HDL foram relacionados à menor incidência de DCV (MOOVA; RADER, 2008).

Associações entre os COCs e o perfil lipídico foram observadas em mulheres portadoras de Hb variantes, , em especial a diminuição dos níveis de HDL em mulheres HbAC; porém, os valores encontravam-se dentro dos limites considerados normais. Entretanto, em mulheres HbSC, as concentrações e HDL permaneceram abaixo dos valores considerados de risco para DCV, independente do uso de COCs. Pacientes com doença falciforme e com níveis baixos de HDL são mais prováveis de ter mais transfusões sanguíneas devido à doença clínica mais grave, uma vez que as transfusões são consideradas ferramentas terapêuticas para prevenir o acidente vascular cerebral e outros sintomas graves. Além disso, entre pacientes com doença falciforme e concentrações diminuídas de HDL, anormalidades cardíacas e pneumonia ocorreram em prevalência maior (SEIXAS et al., 2011).

O HDL em concentrações normais exerce efeito em atenuar a expressão de fator tecidual e de selectinas e diminuir a ativação plaquetária direta e indiretamente, o que promove a inibição da trombose (MINEO et al., 2006; MOOVA, RADER, 2008). Além disso, o HDL tem a função de inibir as alterações oxidativas do LDL, é responsável pelo efluxo de colesterol a partir de macrófagos no processo aterogênico e exerce funções tais como a reparação endotelial e supressão na produção e mobilização de alguns leucócitos a partir da medula óssea (COCKERILL et al., 1995; MINEO et al., 2006; TSO et al., 2006; RYE et al., 2009; YVAN-CHARVET et al., 2010).

A interferência dos COCs no perfil de lipídios está relacionada à sua formulação, que pode ser com maior potencial androgênico, antiandrogênico,

estrogênico ou antiestrogênico. As progestinas presentes nos COCs, como DSG e GSD, são relacionadas ao aumento nas concentrações de HDL e diminuição de LDL devido ao seu efeito anti-androgênico. No presente estudo, foram encontradas concentrações diminuídas de HDL em mulheres obesas usuárias de COCs de 2ª geração (LNG) quando se comparou com as mulheres que utilizavam COCs com outras gerações de progestinas e esses valores estão relacionados ao risco cardiovascular.

Greenlund e colaboradores (1997) relataram a influência de COCs sobre os lipídios séricos de mulheres não obesas que começaram a usar contraceptivos em dois períodos: 1985-1986 e 1988-1991 e verificaram a diminuição significativa nas concentrações de HDL nessas mulheres comparadas àquelas que não utilizaram esse tratamento, no período de 1985-1986. Já no período de 1988-1991, não houve diferença significativa nas concentrações de HDL nas mulheres analisadas. Wiegratz e colaboradores (2002) analisaram mulheres em uso de diferentes tipos de COCs após seis ciclos e observaram redução significativa nas concentrações de HDL e HDL2 em mulheres tratadas com a combinação contendo EE + LNG. Agren e colaboradores (2011) compararam os efeitos dos contraceptivos orais contendo NOMAC+ 17 β E2 e EE/LNG após seis ciclos de tratamento e verificaram diminuição significativa nas concentrações de HDL e aumento no LDL e triglicerídeos naquelas mulheres utilizando a formulação combinada com LNG.

Os efeitos dos estrogênios sobre o perfil lipídico estão relacionados ao aumento na síntese hepática de triglicerídeos, no aumento da secreção de VLDL, inibição da expressão de lipase lipoprotéica e melhoria na eliminação do LDL; também ocorre aumento nas concentrações de HDL devido ao aumento na síntese de apolipoproteína A-1 e diminuição na atividade da lipase hepática. Já as progestinas parecem contrapor ou neutralizar o efeito estrogênios, a depender do seu potencial androgênico. Contraceptivos combinados contendo EE/LNG são considerados de segunda geração de progestinas, apresentam potencial mais androgênico do que aqueles com DIE e NOMAC e parecem ter impacto desfavorável sobre o metabolismo lipídico (GREENLUND et al, 1997; WIEGRATZ et al., 2002). Combinações com DRSP e DSG, com propriedades anti-androgênicas, estão relacionadas ao aumento nas concentrações de HDL e produzem efeitos mais favoráveis no perfil lipídico de mulheres usuárias (GASPARD et al., 2004; KLIPPING; MARR, 2005; SITRUK-WARE e NATH, 2013).

De acordo com o estudo realizado por Greenlund e colaboradores (1997), o efeito dos COCs no perfil lípido parece ser imediato e reversível. Como nossos resultados mostraram a influência sinérgica de COCs e obesidade na diminuição das concentrações de HDL, estes efeitos reversíveis de COCs podem não ser devido às condições inflamatórias observadas em mulheres com aumento de peso. No entanto, mais estudos são necessários para explicar esta questão.

Além disso, estudos demonstraram que as concentrações de HDL estão inversamente relacionadas às de PCR (MENDALL et al., 1996; COOK et al., 2000). Os resultados encontrados no presente estudo mostraram que as mulheres obesas que utilizavam COCs apresentaram concentrações elevadas de PCR, bem como diminuição de HDL, configurando um possível microambiente inflamatório, sendo que esses achados corroboram com os dados encontrados na literatura e estão relacionados com o aumento do risco de DCV.

Nossos dados reforçam a associação desfavorável dos COCs e da obesidade com impactos nos parâmetros cardiometabólicos, principalmente em relação às formulações com progestinas de 2ª geração (WIEGRATZ et al., 2002; GASPARD et al., 2004; KLIPPING; MARR, 2005; AGREN et al., 2011; SITRUK-WARE; NATH, 2013).

Em relação aos demais parâmetros avaliados nas mulheres com perfis de Hb como HbAC, HbAS e HbSC em uso de COCs quando comparadas com aquelas com perfil de Hb normal e que também usavam COCs, no geral, houve alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, as quais parecem estar relacionadas ao perfil de Hb presente. Estudos anteriores já descreveram essas alterações, como o de Seixas e colaboradores (2011) que observaram que alguns pacientes com doença falciforme podem ter um subfenótipo dislipidêmico específico, caracterizado por concentrações diminuídas de HDL em associação com outros biomarcadores, incluindo alguns relacionados com o perfil inflamatório. Em pacientes portadores de Hb C (HbSC e HbAC), os eritrócitos contendo esse tipo de Hb apresentam efluxo elevado de potássio, levando à redução do cátion intracelular e, conseqüente, diminuição do conteúdo de água, tornando o eritrócito desidratado, com o aumento da concentração intracelular de Hb e aumento da viscosidade, promovendo alterações nos parâmetros hematológicos (HANNEMANN et al., 2011).

Indivíduos com anemia falciforme apresentam importantes alterações nos parâmetros laboratoriais atribuídas à Hb variante, que são decorrentes da intensa

hemólise e vasoclusão. No entanto, nos indivíduos com HbAS, as alterações nos exames laboratoriais não são comumente encontradas (TSARAS et al., 2009).

Em relação às concentrações de dímero D, também foram encontrados níveis elevados clinicamente significativos entre mulheres com Hb variantes que utilizavam COCs quando comparadas àquelas com perfil de hemoglobinas normal, sob o mesmo tratamento contraceptivo hormonal. A dosagem de dímero D é um teste utilizado para discriminar entre pacientes com TVP e aqueles sem essa condição ou em pessoas com risco aumentado de recorrência para TVP (GREMMEL et al., 2011).

O dímero D encontra-se aumentado quando ocorre a degradação de fibrina estabilizada, durante a ativação da coagulação ou em processos de fibrinólise. Verificou-se, em uma pesquisa realizada em mulheres em uso de formulações de COCs com EE e LNG, o aumento nos níveis de dímero D no primeiro ciclo, que permaneceram elevados até o 21º dia (WESTHOFF et al., 2016). Foi relatado, também, o aumento significativo nos níveis de dímero D em mulheres utilizando formulações combinadas com EE e DRSP (STOCCO et al., 2015). Como as mulheres com hemoglobinas variantes podem apresentar alterações na hemostasia, essa condição pode ser concomitantemente aumentada pelo uso de COCs, como relatado por vários estudos (STOCCO et al., 2015; WESTHOFF et al., 2016).

Algumas limitações são comuns aos dois estudos realizados com mulheres obesas e com aquelas com Hb variantes, ambas em uso de COCs, que seria em relação ao desenho de estudo, por se tratar de desenho transversal, não foram avaliados os desfechos relacionados a eventos cardiovasculares ou tromboembólicos. Apesar dessa limitação, foram encontradas associações já foram reportadas em estudos casos controle que avaliaram o impacto dos COCs nos perfis lipídico e inflamatório, como discutido anteriormente. Em segundo lugar, devido à dificuldade de encontrarmos mulheres em idade reprodutiva sem a utilização de métodos contraceptivos, tivemos alguns grupos com poucos pacientes, como no grupo das mulheres HbAS, bem como o grupo de mulheres que não utilizavam COCs.

Em relação ao estudo envolvendo mulheres obesas, devemos considerar como limitação a utilização do IMC em classificar a obesidade. No entanto, este método é barato, confiável e realizado com facilidade, além de ser recomendado pela OMS para esta finalidade (WHO, 2015).

Em conclusão aos dois estudos realizados, observou-se que tanto a obesidade e o uso de COCs estiveram associados a alterações nos parâmetros laboratoriais relacionados ao desenvolvimento de DCV, principalmente na diminuição das concentrações de HDL, independentemente associadas às progestinas de 2ª geração, e ao aumento nas concentrações de PCR.

Ademais, mulheres com Hb variantes em uso de COCs parecem também apresentar uma condição pró-inflamatória, como elevação dos níveis de PCR e diminuição nas concentrações de HDL, além de um estado pró-trombótico, com aumento nos níveis de dímero D, os quais quando aliados ao uso de COCs podem aumentar as chances de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e tromboembólicas.

Dada a necessidade imperativa de prevenção de gravidez não planejada em mulheres com alterações que podem predispor a um risco maior de saúde, como obesidade e presença de Hb variantes, é importante a avaliação de métodos contraceptivos mais eficazes e seguros para essas mulheres a fim de diminuir os riscos de DCV e TEV. Além disso, deve-se considerar a presença de outras condições como hipertensão e diabetes, além de se conhecer o perfil de Hb, no momento da prescrição de métodos contraceptivos.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou as condições associadas ao uso de COCs por mulheres em idade fértil, considerando parâmetros cardiometabólicos e hemostáticos, sendo possível obter as seguintes conclusões:

1. As mulheres participantes eram, em sua maioria, pretas ou pardas, solteiras; descreveram baixa renda e ensino médio completo. Segundo a formulação dos COCs, foi verificado, predominantemente, o uso da combinação de etinilestradiol com levonorgestrel, classificados como contraceptivos de segunda geração de progestinas;

2. Foi observada frequência elevada de mulheres com contra-indicações para o uso de COCs, segundo critérios da OMS, principalmente hipertensão e hábito de fumar entre aquelas com mais de 35 anos e associadas a condições consideradas como fatores de risco para DCV, tais como diabetes e dislipidemias, que tornam necessária a avaliação de riscos e benefícios desse método de contracepção, quando propostos para tratamento;

3. Nas mulheres estudadas, a obesidade e o uso de COCs, em associação, parecem estar relacionados com alterações clinicamente relevantes de parâmetros bioquímicos e inflamatórios, importantes para o desenvolvimento de DCV, tais como redução nos níveis de HDL e aumento nas concentrações de PCR. Nas mulheres obesas, o uso de COCs de segunda geração de progestinas parece estar associado, de forma independente, com a redução nos níveis de HDL.

4. Nas mulheres portadoras de Hb variantes e em uso de COCs, foram observadas diferenças significativas em alguns parâmetros hematológicos e cardiometabólicos. Observou-se o aumento importante nas concentrações de PCR em mulheres HbSC e HbAC, os quais parecem estar associados a diferentes tipos de progestinas presentes nas formulações dos contraceptivos estudados. Além disso, nas mulheres HbAC, o uso de COCs parece estar associado com a redução nas concentrações de HDL. Entretanto, a elevação nos níveis de dímero D foi observada em todas as mulheres com Hb variantes, independentemente do uso de COCs.

Tendo como base o conjunto dos dados analisados no presente estudo, ficou evidente a necessidade de se realizar uma avaliação criteriosa e individualizada das mulheres em uso de COCs ou candidatas potenciais a esse tipo de tratamento.

Adicionalmente, estudos com acompanhamento dessas mulheres, principalmente aquelas com Hb variantes, devem ser realizados para comprovar os resultados encontrados. Desta forma, o acompanhamento clínico e laboratorial, considerando o tipo de formulação de COCs prescrita e o histórico familiar, bem como as características médicas relevantes são investigações importantes que devem ser levadas em conta para se evitar desfechos indesejáveis para essas mulheres.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. R. et al. Low-dose contraceptive estrogen-progestin and coronary artery atherosclerosis of monkeys. **Obstet. Gynecol.**, v. 96, n. 2, p. 250-255, 2000.
- ADORNO, E. V. et al. Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil. **Cad. Saude Publ.**, v. 21, n. 1, p. 292-298, 2005.
- AGREN, U. M. et al. Effects of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17beta-oestradiol compared with one containing levonorgestrel and ethinylestradiol on haemostasis, lipids and carbohydrate metabolism. **Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care**, v. 16, n. 6, p. 444-457, 2011.
- AGREN, U. M. et al. Effects of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17beta-oestradiol in comparison to one containing levonorgestrel and ethinylestradiol on markers of endocrine function. **Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care**, v. 16, n. 6, p. 458-467, 2011b.
- ALAM, F.; MEMON, A. S.; FATIMA, S. S. Increased Body Mass Index may lead to Hyperferritinemia Irrespective of Body Iron Stores. **Pakistan J. Med. Scien.**, v. 31, n. 6, p. 1521-1526, 2015.
- ALLMAN-FARINELLI, M. A. Obesity and Venous Thrombosis: A Review. **Seminars Thromb. Hemost.**, v. 37, n. 8, p. 902-906, 2011.
- ARIAS, R. D. et al. Changes in bleeding patterns with depot medroxyprogesterone acetate subcutaneous injection 104 mg. **Contraception**, v. 74, n. 3, p. 234-238, 2006.
- AUSTIN, H. et al. Hormonal contraception, sickle cell trait, and risk for venous thromboembolism among African American women. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 200, n. 6, p. 620 e1-3, jun. 2009.
- BAILLARGEON, J. M.; DK; ESSAH, PA; NESTLER, JE. Association between the current use of low-dose oral contraceptives and cardiovascular arterial disease: a meta-analysis. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 90, n. 7, p. 3863-3870, 2014.
- BASDEVANT, A. et al. Effects of norgestrel acetate (5 mg/d) on hormonal, metabolic and hemostatic parameters in premenopausal women. **Contraception**, v. 44, n. 6, p. 599-605, 1991.
- BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **Am J. Physiol.**, v. 271, n. 5 Pt 1, p. C1424-37, 1996.
- BEESON, P. B. Age and sex associations of 40 autoimmune diseases. **Am. J. Med.**, v. 96, n. 5, p. 457-62, may. 1994.
- BENAGIANO, G.; BASTIANELLI, C.; FARRIS, M. Hormonal contraception: present and future. **Drugs Today (Barc)**, v. 44, n. 12, p. 905-923, 2008.

BITZER, J.; SIMON, J. A. Current issues and available options in combined hormonal contraception. **Contraception**, v. 84, n. 4, p. 342-356, 2011.

BLUM, M. et al. Influence of oral contraceptive treatment on blood pressure and 24-hour urinary catecholamine excretion in smoking as compared with non-smoking women. **Adv. Contracept.**, v. 4, n. 2, p. 143-149, 1988.

BLUMENTHAL, P. D.; EDELMAN, A. Hormonal contraception. **Obstet. Gynecol.**, v. 112, n. 3, p. 670-684, 2008.

BOLEGO, C. et al. The acute estrogenic dilation of rat aorta is mediated solely by selective estrogen receptor-alpha agonists and is abolished by estrogen deprivation. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 313, n. 3, p. 1203-1208, 2005.

BORGELT, L. M.; MARTELL, C. W. Estradiol valerate/dienogest: a novel combined oral contraceptive. **Clin. Ther.**, v. 34, n. 1, p. 37-55, 2012.

BREMME, K. et al. The APC-PCI concentration as an early marker of activation of blood coagulation: a study of women on combined oral contraceptives. **Thromb. Res.**, v. 130, n. 4, p. 636-639, 2012.

BROSNAN, J. F.; SHEPPARD, B. L.; NORRIS, L. A. Haemostatic activation in post-menopausal women taking low-dose hormone therapy: less effect with transdermal administration? **Thromb. Haemost.**, v. 97, n. 4, p. 558-565, 2007.

BRYAN, N. S.; GRISHAM, M. B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 43, n. 5, p. 645-657, 2007.

BURKMAN, R.; BELL, C.; SERFATY, D. The evolution of combined oral contraception: improving the risk-to-benefit ratio. **Contraception**, v. 84, n. 1, p. 19-34, 2011.

CARE, F. O. S. R. H. **UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use**. 2009.

CAVAZOS-REHG, P. A. et al. Age of sexual debut among US adolescents. **Contraception**, v. 80, n. 2, p. 158-162, 2009.

CHASAN-TABER, L. et al. Prospective study of oral contraceptives and hypertension among women in the United States. **Circulation**, v. 94, n. 3, p. 483-489, 1996.

CHEANG, K. I. et al. Divergent effects of a combined hormonal oral contraceptive on insulin sensitivity in lean versus obese women. **Fertil. Steril.**, v. 96, n. 2, p. 353-359 e1, 2011.

CHOI, J.; JOSEPH, L.; PILOTE, L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. **Obes. Rev.**, v. 14, n. 3, p. 232-44, 2013.

CHRISTIN-MAITRE, S. History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. **Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 27, n. 1, p. 3-12, 2013.

CID, M. C.; SCHNAPER, H. W.; KLEINMAN, H. K. Estrogens and the vascular endothelium. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 966, p. 143-157, 2002.

COCKERILL, G. W. et al. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 15, n. 11, p. 1987-1994, 1995.

COLELLA, M. P. et al. Elevated hypercoagulability markers in hemoglobin SC disease. **Haematologica**, v. 100, n. 4, p. 466-471, 2015.

CONARD, J. et al. Progestogen-only contraception in women at high risk of venous thromboembolism. **Contraception**, v. 70, n. 6, p. 437-441, 2004.

COOK, D. G. et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, v. 149, n. 1, p. 139-150, 2000.

CURTIS, K. M. et al. Combined oral contraceptive use among women with hypertension: a systematic review. **Contraception**, v. 73, n. 2, p. 179-188, 2006.

CUSHMAN, M. et al. Estrogen plus progestin and risk of venous thrombosis. **JAMA**, v. 292, n. 13, p. 1573-1580, 2004.

DE ABOOD, M. et al. Effect of Depo-Provera or Microgynon on the painful crises of sickle cell anemia patients. **Contraception**, v. 56, n. 5, p. 313-316, 1997.

DE LIGNIERES, B. et al. Biological effects of estradiol-17 beta in postmenopausal women: oral versus percutaneous administration. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 62, n. 3, p. 536-541, 1986.

DELOUGHERY, T. G. Estrogen and thrombosis: controversies and common sense. **Rev. Endocr. Metab. Disord.**, v. 12, n. 2, p. 77-84, 2011.

DOU. **Ofício de aprovação de registro de medicamento novo: STEZZA.**, 2016/02/16 2014. Disponível em: < <http://www.in.gov.br/autenticidade.html> [código de verificação: 10102014033100180] >.

DREON, D. M.; SLAVIN, J. L.; PHINNEY, S. D. Oral contraceptive use and increased plasma concentration of C-reactive protein. **Life Sci.**, v. 73, n. 10, p. 1245-1252, 2003.

EFTEKHARI, M. H.; MOZAFFARI-KHOSRAVI, H.; SHIDFAR, F. The relationship between BMI and iron status in iron-deficient adolescent Iranian girls. **Publ. Health Nutr.**, v. 12, n. 12, p. 2377-2381, 2009.

ELGAN, C.; SAMSIOE, G.; DYKES, A. K. Influence of smoking and oral contraceptives on bone mineral density and bone remodeling in young women: a 2-year study. **Contraception**, v. 67, n. 6, p. 439-447, 2003.

ELGER, W. et al. Conception and pharmacodynamic profile of drospirenone. **Steroids**, v. 68, n. 10-13, p. 891-905, 2003.

ERKKOLA, R. Recent advances in hormonal contraception. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol.**, v. 19, n. 6, p. 547-553, 2007.

EVANS, G.; SUTTON, E. Oral contraception. **Med. Clin. N. Am.**, v. 99, p. 479-503. 2015.

FARAHMAND, M. et al. The impact of oral contraceptives on cardiometabolic parameters. **J. Endocrinol. Invest.**, v. 39, n. 3, p. 277-283, 2016.

FDA. **FDA's Approval of the First Oral Contraceptive, Enovid**. 2016/01/112 2016. Disponível em: <
<http://www.fda.gov/AboutFDA/WhatWeDo/History/ProductRegulation/SelectionsFromFDLIUpdateSeriesonFDAHistory/ucm092009.htm> >.

FISHER, W. A.; BLACK, A. Contraception in Canada: a review of method choices, characteristics, adherence and approaches to counselling. **CMAJ**, v. 176, n. 7, p. 953-961, 2007.

FLUITER, K.; VAN DER WESTHUIJZEN, D. R.; VAN BERKEL, T. J. In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 14, p. 8434-8438, 1998.

GASPARD, U. et al. A randomized study on the influence of oral contraceptives containing ethinylestradiol combined with drospirenone or desogestrel on lipid and lipoprotein metabolism over a period of 13 cycles. **Contraception**, v. 69, n. 4, p. 271-278, 2004.

GASPARD, U. J.; LEFEBVRE, P. J. Clinical aspects of the relationship between oral contraceptives, abnormalities in carbohydrate metabolism, and the development of cardiovascular disease. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 163, n. 1 Pt 2, p. 334-343, 1990.

GERSTMAN, B. B. et al. Oral contraceptive estrogen dose and the risk of deep venous thromboembolic disease. **Am. J. Epidemiol.**, v. 133, n. 1, p. 32-37, 1991.

GILLUM, L. A.; MAMIDIPUDI, S. K.; JOHNSTON, S. C. Ischemic stroke risk with oral contraceptives - A meta-analysis. **JAMA**, v. 284, n. 1, p. 72-78, 2000.

GIRIBELA, C. R. et al. A combined oral contraceptive containing drospirenone changes neither endothelial function nor hemodynamic parameters in healthy young women: a prospective clinical trial. **Contraception**, v. 86, n. 1, p. 35-41, 2012.

GODSLAND, I. F. et al. Insulin resistance, secretion, and metabolism in users of oral contraceptives. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 74, n. 1, p. 64-70, 1992.

GODSLAND, I. F. et al. Relationships between blood pressure, oral contraceptive use and metabolic risk markers for cardiovascular disease. **Contraception**, v. 52, n. 3, p. 143-149, 1995.

GODSLAND, I. F. et al. The effects of different formulations of oral contraceptive agents on lipid and carbohydrate metabolism. **N. Engl. J. Med.**, v. 323, n. 20, p. 1375-1381, 1990.

GODSLAND, I. F. Biology: risk factor modification by OCs and HRT lipids and lipoproteins. **Maturitas**, v. 47, n. 4, p. 299-303, 2004.

GOICHOT, B. et al. Circulating procoagulant microparticles in obesity. **Diabetes Metab.**, v. 32, n. 1, p. 82-85, 2006.

GOLDZIEHER, J. W. et al. Human pharmacokinetics of ethynyl estradiol 3-sulfate and 17-sulfate. **Steroids**, v. 51, n. 1-2, p. 63-79, 1988.

GOLDZIEHER, J. W.; STANCZYK, F. Z. Oral contraceptives and individual variability of circulating levels of ethinyl estradiol and progestins. **Contraception**, v. 78, n. 1, p. 4-9, 2008.

GREENLUND, K. J. et al. Associations of oral contraceptive use with serum lipids and lipoproteins in young women: the Bogalusa Heart Study. **Ann. Epidemiol.**, v. 7, n. 8, p. 561-567, 1997.

GREMMEL, T. et al. Soluble p-selectin, D-dimer, and high-sensitivity C-reactive protein after acute deep vein thrombosis of the lower limb. **J. Vasc. Surg.**, v. 54, n. 6 Suppl, p. 48S-55S, 2011.

GRONICH, N.; LAVI, I.; RENNERT, G. Higher risk of venous thrombosis associated with drospirenone-containing oral contraceptives: a population-based cohort study. **CMAJ**, v. 183, n. 18, p. E1319-25, 2011.

GROSSMAN, D. et al. Contraindications to combined oral contraceptives among over-the-counter compared with prescription users. **Obstet. Gynecol.**, 117(3), 558-565, 2011.

GRIMES, D. A. History and future of contraception: developments over time. **Contracept. Rep.**, v. 10, n. 6, p. 15-25, 2000.

GUAZZELLI, C. A. et al. Evaluation of lipid profile in adolescents during long-term use of combined oral hormonal contraceptives. **Contraception**, v. 71, n. 2, p. 118-121, 2005.

GUIDA, M. et al. Review of the safety, efficacy and patient acceptability of the combined dienogest/estradiol valerate contraceptive pill. **Int. J. Womens Health**, v. 2, p. 279-290, 2010.

HAIDER, Z.; D'SOUZA, R. Non-contraceptive benefits and risks of contraception. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 23, n. 2, p. 249-262, 2009.

HALL, K. S.; TRUSSELL, J. Types of combined oral contraceptives used by US women. **Contraception**, v. 86, n. 6, p. 659-665, 2012.

HANNEMANN, A. et al. The Properties of Red Blood Cells from Patients Heterozygous for HbS and HbC (HbSC Genotype). **Anemia**, v. 2011, p. 248527, 2011.

HISAMOTO, K.; BENDER, J. R. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors. **Steroids**, v. 70, n. 5-7, p. 382-387, 2005.

HOFFMANN, H. et al. Approaches to the replacement of ethinylestradiol by natural 17beta-estradiol in combined oral contraceptives. **Exp. Toxicol. Pathol.**, v. 50, n. 4-6, p. 458-64, 1998.

HOWARD, R.J., LILLIS, C.; TUCK, S.M. Contraceptives, counseling, and pregnancy in women with sickle cell disease. **BMJ**, v. 306, n. 6894, p. 1735-1737, 1993.

HUGON-RODIN, J.; CHABBERT-BUFFET, N.; BOUCHARD, P. The future of women's contraception: stakes and modalities. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1205, p. 230-239, 2010.

HURWITZ, B. E.; HENRY, N.; GOLDBERG, R. B. Long-term oral contraceptive treatment, metabolic syndrome and measures of cardiovascular risk in pre-menopausal women: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. **Gynecol. Endocrinol.**, v. 25, n. 7, p. 441-449, 2009.

IMS HEALTH, 2016. Disponível em: <<http://www.imshealth.org>> Acesso em: 2016/02/02.

JUNGE, W. et al. Metabolic and haemostatic effects of estradiol valerate/dienogest, a novel oral contraceptive: a randomized, open-label, single-centre study. **Clin. Drug Investig.**, v. 31, n. 8, p. 573-584, 2011.

KELLEHER, C. et al. Blood pressure alters during the normal menstrual cycle. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 93, n. 5, p. 52352-6, 1986.

KELLY, M. J.; QIU, J.; RONNEKLEIV, O. K. Estrogen signaling in the hypothalamus. **Vitam. Horm.**, v. 71, p. 123-145, 2005.

KEMMEREN, J. M. et al. Risk of arterial thrombosis in relation to oral contraceptives (RATIO) study - Oral contraceptives and the risk of ischemic stroke. **Stroke**, v. 33, n. 5, p. 1202-1208, 2002.

KEMMEREN, J. M.; ALGRA, A.; GROBBEE, D. E. Effect of second and third generation oral contraceptives on lipid metabolism in the absence or presence of the factor V Leiden mutation. **Blood**, v. 103, n. 3, p. 927-933, 2004.

KEMMEREN, J. M.; ALGRA, A.; GROBBEE, D. E. Third generation oral contraceptives and risk of venous thrombosis: meta-analysis. **BMJ**, v. 323, n. 7305, p. 131-134, 2001.

KLIPPING, C.; MARR, J. Effects of two combined oral contraceptives containing ethinyl estradiol 20 microg combined with either drospirenone or desogestrel on lipids, hemostatic parameters and carbohydrate metabolism. **Contraception**, v. 71, n. 6, p. 409-416, 2005.

KLUFT, C. et al. Pro-inflammatory effects of oestrogens during use of oral contraceptives and hormone replacement treatment. **Vascul. Pharmacol.**, v. 39, n. 3, p. 149-154, 2002.

Planned parenthood. Federation of America, 2015. Disponível em: < www.plannedparenthood.org >. Acesso em: 18/11/2015.

KOVACS, L. et al. The effect of the contraceptive pill on blood pressure: a randomized controlled trial of three progestogen-oestrogen combinations in Szeged, Hungary. **Contraception**, v. 33, n. 1, p. 69-77, 1986.

KOWALSKA, K.; MILNEROWICZ, H. Pro/antioxidant status in young healthy women using oral contraceptives. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 2016.

KRATTENMACHER, R. Drospirenone: pharmacology and pharmacokinetics of a unique progestogen. **Contraception**, v. 62, n. 1, p. 29-38, 2000.

KUHL, H. Effects of progestogens on haemostasis. **Maturitas**, v. 24, n. 1-2, p. 1-19, 1996.

KUHL, H. Mechanisms of sex steroids. Future developments. **Maturitas**, v.47, n. 4, p. 285-291, 2004.

KUHL, H. Pharmacokinetics of oestrogens and progestogens. **Maturitas**, v.12, n. 3, p. 171-197, 1990.

KUHL, H. Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. **Climacteric**, v. 8 Suppl 1, p. 3-63, aug. 2005.

LACUT, K. et al. Differential effects of oral and transdermal postmenopausal estrogen replacement therapies on C-reactive protein. **Thromb Haemost**, v. 90, n. 1, p. 124-131, 2003.

LAHITA, R. G. Sex steroids and the rheumatic diseases. **Arthritis Rheum**, v. 28, n. 2, p. 121-126, feb. 1985.

LAURING, J. R. et al. Combined hormonal contraception use in reproductive-age women with contraindications to estrogen use. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, 2016.

LAWRIE TA, H. F., MAITRA NK, ET AL. Types of progestins in combined oral contraception: effectiveness and side-effects. **Cochrane Db. Syst. Rev.** v. 11, n. 5, p. CD004861, 2011.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868-74, 2002.

LIDEGAARD, O. et al. Hormonal contraception and risk of venous thromboembolism: national follow-up study. **BMJ**, v. 339, p. b2890, 2009.

LIDEGAARD, O. et al. Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception. **N. Engl. J. Med.**, v. 366, n. 24, p. 2257-2266, 2012a.

LIDEGAARD, O. et al. Venous thrombosis in users of non-oral hormonal contraception: follow-up study, Denmark 2001-10. **BMJ**, v. 344, p. e2990, 2012b.

LIDEGAARD, O.; EDSTROM, B.; KREINER, S. Oral contraceptives and venous thromboembolism: a five-year national case-control study. **Contraception**, v. 65, n. 3, p. 187-196, 2002.

LIEBERMAN, J. J. A Short History Of Birth Control. **Am. Biol. Teacher**, v. 35, n. 6, p. 315-319, 1973.

LOWE, G. D. Common risk factors for both arterial and venous thrombosis. **Br. J. Haematol.**, v. 140, n. 5, p. 488-495, 2008.

LUBIANCA, J. N.; FACCIN, C. S.; FUCHS, F. D. Oral contraceptives: a risk factor for uncontrolled blood pressure among hypertensive women. **Contraception**, v. 67, n. 1, p. 19-24, 2003.

MA, P. T. et al. Increased mRNA for low density lipoprotein receptor in livers of rabbits treated with 17 alpha-ethinyl estradiol. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**, v. 83, n. 3, p. 792-796, 1986.

MALYALA, A.; KELLY, M. J.; RONNEKLEIV, O. K. Estrogen modulation of hypothalamic neurons: activation of multiple signaling pathways and gene expression changes. **Steroids**, v. 70, n. 5-7, p. 397-406, 2005.

MANNING, J. M. et al. Effects of contraceptive estrogen and progestin on the atherogenic potential of plasma LDLs in cynomolgus monkeys. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Bio.**, v. 17, n. 7, p. 1216-1223, 1997.

MANSOUR, D. et al. Efficacy and tolerability of a monophasic combined oral contraceptive containing norgestrel acetate and 17beta-oestradiol in a 24/4 regimen, in comparison to an oral contraceptive containing ethinylestradiol and drospirenone in a 21/7 regimen. **Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care**, v. 16, n. 6, p. 430-443, 2011.

MASHCHAK, C. A. et al. Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 144, n. 5, p. 511-518, 1982.

MASIMASI, N.; SIVANANDY, M. S.; THACKER, H. L. Update on hormonal contraception. **Cleve Clin. J. Med.**, v. 74, n. 3, p. 186, 188-190, 193-194, 2007.

MCDONNELL, D. P. The molecular determinants of estrogen receptor pharmacology. **Maturitas**, v. 48 Suppl 1, p. S7-12, 2004.

MENAZZA, S.; MURPHY, E. The Expanding Complexity of Estrogen Receptor Signaling in the Cardiovascular System. **Circ. Res.**, v. 118, n. 6, p. 994-1007, 2016.

MENDALL, M. A. et al. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. **BMJ**, v. 312, n. 7038, p. 1061-1065, 1996.

MENDELSON, M. E. Mechanisms of estrogen action in the cardiovascular system. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 74, n. 5, p. 337-343, 2000.

MENDELSON, M. E. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. **Am. J. Cardiol.**, v. 89, n. 12A, p. 12E-17E; discussion 17E-18E, 2002.

MIDDELDORP, S. et al. Effects on coagulation of levonorgestrel- and desogestrel-containing low dose oral contraceptives: a cross-over study. **Thromb. Haemost.**, v. 84, n. 1, p. 4-8, 2000.

MIDDLEDROP, S. V. H. A. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? **Br. J. Haematol.**, v. 143, n. 3, p. 321-335, 2008.

MINEO, C. et al. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. **Circ. Res.**, v. 98, n. 11, p. 1352-1364, 2006.

MOVVA, R.; RADER, D. J. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. **Clin. Chem.**, v. 54, n. 5, p. 788-800, 2008.

NARKIEWICZ, K. et al. Ambulatory Blood-Pressure in Mild Hypertensive Women Taking Oral-Contraceptives - a Case-Control Study. **Am. J. Hyper.**, v. 8, n. 3, p. 249-253, 1995.

NATHAN, L.; CHAUDHURI, G. Estrogens and atherosclerosis. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 37, p. 477-515, 1997.

NCEP. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486-2497, 2001.

NICHOLS, M. et al. Effect of four combined oral contraceptives on blood pressure in the pill-free interval. **Contraception**, v. 47, n. 4, p. 367-376, apr. 1993.

NIGHTINGALE, A. L. et al. The effects of age, body mass index, smoking and general health on the risk of venous thromboembolism in users of combined oral contraceptives. **Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care**, v. 5, n. 4, p. 265-274, 2000.

NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J. A. Biological role of estrogen and estrogen receptors. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.**, v. 37, n. 1, p. 1-28, 2002.

OELKERS, W. Antimineralocorticoid activity of a novel oral contraceptive containing drospirenone, a unique progestogen resembling natural progesterone. **Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care**, v. 7 Suppl 3, p. 19-26; discussion 42-3, 2002.

OLATUNJI, L. A. et al. Combined estrogen-progestogen but not progestogen-only oral contraceptive alters glucose tolerance and plasma lipid profile in female rats. **Pathophysiology**, v. 19, n. 1, p. 29-34, 2012.

ORAL CONTRACEPTIVE - HEMOSTASIS STUDY GROUP. The effects of seven monophasic oral contraceptive regimens on hemostatic variables: conclusions from a large randomized multicenter study. **Contraception**, v. 67, n. 3, p. 173-185, 2003.

PARKE, S. J., W; MELLINGER, U.; JUNGE, W. Oral comparative effects of a four-phasic regimen of estradiol valerate/dienogest versus ethinylestradiol/levonorgestrel on haemostatic parameters. **Hum. Reprod.**, v. 23, n. i77, 2008.

PARKIN, L. et al. Risk of venous thromboembolism in users of oral contraceptives containing drospirenone or levonorgestrel: nested case-control study based on UK General Practice Research Database. **BMJ**, v. 342, p. d2139, 2011.

POMP, E. R. et al. Risk of venous thrombosis: obesity and its joint effect with oral contraceptive use and prothrombotic mutations. **Br. J. Haematol.**, v. 139, n. 2, p. 289-96, 2007.

POPULATION REFERENCE BUREAU: **World Population Data Sheet**. 2007.

POTTER, J. E. The persistence of outmoded contraceptive regimes: the cases of Mexico and Brazil. **Popul. Develop. Rev.**, v. 25, n. 4, p. 703-739, 1999.

PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE, M. Hormonal contraception: recent advances and controversies. **Fertil. Steril.**, v. 90, n. 5 Suppl, p. S103-113, 2008.

PRELEVIC, G. M. et al. Effects of a low-dose estrogen-antiandrogen combination (Diane-35) on lipid and carbohydrate metabolism in patients with polycystic ovary syndrome. **Gynecol. Endocrinol.**, v. 4, n. 3, p. 157-168, 1990.

RAMAKRISHNAN, G. et al. Study of low-density lipoprotein receptor regulation by oral (steroid) contraceptives: desogestrel, levonorgestrel and ethinyl estradiol in JEG-3 cell line and placental tissue. **Contraception**, v. 76, n. 4, p. 297-305, 2007.

RIDDLE, J. M. Ever Since Eve...Birth Control in the Ancient World. **Archaeology**, n.47, v.2, p.29-35, 1994.

RIDKER, P. M. et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **N. Engl. J. Med.**, v. 347, n. 20, p. 1557-1565, 2002.

ROACH, E.R. et al. The risk of venous thrombosis in women over 50 years old using oral contraception or postmenopausal hormone therapy. **J.Thromb. Haemost**, V.11, n.1, p. 124-131, 2013.

ROCHA, V. Z.; LIBBY, P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nat. Rev. Cardiol.**, v. 6, n. 6, p. 399-409, 2009.

ROSENBERG, L. et al. Low-dose oral contraceptive use and the risk of myocardial infarction. **Arch. Intern. Med.**, v. 161, n. 8, p. 1065-1070, 2001.

ROSENDAAL, F. R. Venous thrombosis: a multicausal disease. **Lancet**, v. 353, n. 9159, p. 1167-1173, 1999.

ROSENDAAL, F.R. et al. Estrogens, progestogens and thrombosis. **J. Thromb. Haemost.**, v. 1, n. 7, p. 1371-1380, 2003.

ROSENDAAL, F. R. Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. **Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program**, p. 1-12, 2005.

ROSING, J. et al. Oral contraceptives and venous thrombosis: different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. **Br. J. Haematol.**, v. 97, n. 1, p. 233-238, 1997.

RUBIG, A. Drospirenone: a new cardiovascular-active progestin with antialdosterone and antiandrogenic properties. **Climacteric**, v. 6 Suppl 3, p. 49-54, 2003.

RUHL, H. et al. Impact of hormone-associated resistance to activated protein C on the thrombotic potential of oral contraceptives: a prospective observational study. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e105007, 2014.

RYE, K. A. et al. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. **J. Lipid Res.**, v. 50 Suppl, p. S195-200, 2009.

SARE, G. M.; GRAY, L. J.; BATH, P. M. Association between hormone replacement therapy and subsequent arterial and venous vascular events: a meta-analysis. **Eur. Heart J.**, v. 29, n. 16, p. 2031-2041, 2008.

SCHINDLER, A. E. C., C. et al. Reprint of Classification and pharmacology of progestins. **Maturitas**, v. 61, n. 1-2, p. 171-180, 2008.

SCIRICA, B. M.; MORROW, D. A. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? - The verdict is still out. **Circulation**, v. 113, n. 17, p. 2128-2134, 2006.

- SILVA, W S et al. Avaliação da cobertura do programa de triagem neonatal de hemoglobinopatias em populações do Recôncavo Baiano, Brasil. **Cad. Saúde Públ.**, v. 22, n. 122561-122566, 2006.
- SITRUK-WARE, R. et al. Effects of oral and transvaginal ethinyl estradiol on hemostatic factors and hepatic proteins in a randomized, crossover study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 92, n. 6, p. 2074-2079, 2007.
- SITRUK-WARE, R; NATH, A. The use of newer progestins for contraception. **Contraception**, v. 82, p. 410-417, 2010.
- SITRUK-WARE, R. New progestagens for contraceptive use. **Hum. Reprod. Update**, v. 12, n. 2, p. 169-178, 2006.
- SITRUK-WARE, R. Pharmacological profile of progestins. **Maturitas**, v. 61, n. 1-2, p. 151-7, 2008.
- SITRUK-WARE, R.; NATH, A. Metabolic effects of contraceptive steroids. **Rev. Endocr. Metab. Disord.**, v. 12, n. 2, p. 63-75, 2011.
- SITRUK-WARE, R.; NATH, A. Characteristics and metabolic effects of estrogen and progestins contained in oral contraceptive pills. **Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 27, n. 1, p. 13-24, 2013.
- SKOUBY, S. O. Hormonal contraception in obesity, the metabolic syndrome, and diabetes. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1205, p. 240-244, 2010.
- SKUY, P. Tales of Contraception. **Am. Biol. Teacher**, 1995.
- SOBRINO, A. et al. Estradiol stimulates vasodilatory and metabolic pathways in cultured human endothelial cells. **PLoS One**, v. 4, n. 12, p. e8242, 2009.
- SOWERS, M. R. et al. Hemostatic factors and estrogen during the menopausal transition. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 90, n. 11, p. 5942-5948, 2005.
- SPOSITO, A. C. et al. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88 Suppl 1, p. 2-19, 2007.
- STANCZYK, F. Z. Pharmacokinetics and potency of progestins used for hormone replacement therapy and contraception. **Rev. Endocrinol. Metab. Disord.**, v. 3, n. 3, p. 211-224, 2002.
- STANCZYK, F. Z.; ARCHER, D. F.; BHAVNANI, B. R. Ethinyl estradiol and 17beta-estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. **Contraception**, v. 87, n. 6, p. 706-727, 2013.
- STEIN, P. D.; GOLDMAN, J. Obesity and thromboembolic disease. **Clin. Chest Med.**, v. 30, n. 3, p. 489-493, 2009.

STEINGOLD, K. A. et al. Enhanced hepatic extraction of estrogens used for replacement therapy. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 62, n. 4, p. 761-766, 1986.

STOCCO, B. et al. Comparative study of the effects of combined oral contraceptives in hemostatic variables: an observational preliminary study. **Medicine (Baltimore)**, v. 94, n. 4, p. e385, 2015.

STRACZEK, C. et al. Prothrombotic mutations, hormone therapy, and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration. **Circulation**, v. 112, n. 22, p. 3495-500, 2005.

STRANDBERG, T. E.; YLIKORKALA, O.; TIKKANEN, M. J. Differing effects of oral and transdermal hormone replacement therapy on cardiovascular risk factors in healthy postmenopausal women. **Am. J. Cardiol.**, v. 92, n. 2, p. 212-214, 2003.

TANS, G. et al. A randomized cross-over study on the effects of levonorgestrel- and desogestrel-containing oral contraceptives on the anticoagulant pathways. **Thromb. Haemost.**, v. 84, n. 1, p. 15-21, 2000.

TCHAIKOVSKI, S. N. et al. Changes in haemostatic parameters during the menstrual cycle and subsequent use of drospirenone-containing oral contraceptives. **Thromb. Res.**, v. 134, n. 5, p. 1032-1037, 2014.

TCHAIKOVSKI, S. N.; ROSING, J. Mechanisms of estrogen-induced venous thromboembolism. **Thromb. Res.**, v. 126, n. 1, p. 5-11, 2010.

THOMPSON, A. K. et al. Combined oral contraceptive pills containing desogestrel or drospirenone enhance large vessel and microvasculature vasodilation in healthy premenopausal women. **Microcirculation**, v. 18, n. 5, p. 339-346, 2011.

TOWNSEND, J. W. et al. New strategies for providing hormonal contraception in developing countries. **Contraception**, v. 83, n. 5, p. 405-409, 2011.

TROISI, R. J.; COWIE, C. C.; HARRIS, M. I. Oral contraceptive use and glucose metabolism in a national sample of women in the united states. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 183, n. 2, p. 389-395, 2000.

TSARAS, G. et al. Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. **Am. J. Med.**, v. 122, p. 507-512, 2009.

TSO, C. et al. High-density lipoproteins enhance progenitor-mediated endothelium repair in mice. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 26, n. 5, p. 1144-1149, 2006.

TUOMILEHTO, J. et al. Body weight and risk of myocardial infarction and death in the adult population of eastern Finland. **Br. Med. J. (Clin Res Ed)**, v. 295, n. 6599, p. 623-627, 1987.

UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use. Faculty of Sexual and Reproductive Healthcare, 2009.

UNITED NATIONS. D. O. E. A. S. A., Population Division. **Trends in Contraceptive Use Worldwide** 2015 (ST/ESA/SER.A/349). 2015.

VAN HYLCKAMA VLIEG, A. et al. The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. **BMJ**, v. 339, p. b2921, 2009.

VAN HYLCKAMA VLIEG, A.; ROSENDAAL, F. R. Interaction between oral contraceptive use and coagulation factor levels in deep venous thrombosis. **J. Thromb. Haemost.**, v. 1, n. 10, p. 2186-2190, 2003.

VAN VLIET, H. A. et al. Association between sex hormone-binding globulin levels and activated protein C resistance in explaining the risk of thrombosis in users of oral contraceptives containing different progestogens. **Hum. Reprod.**, v. 20, n. 2, p. 563-568, 2005.

VAN VLIET, H. A. et al. Different effects of oral contraceptives containing different progestogens on protein S and tissue factor pathway inhibitor. **J. Thromb. Haemost.**, v. 6, n. 2, p. 346-351, 2008.

VAN VLIJMEN, E. F. et al. Oral contraceptives and the absolute risk of venous thromboembolism in women with single or multiple thrombophilic defects: results from a retrospective family cohort study. **Arch. Intern. Med.**, v. 167, n. 3, p. 282-289, 2007.

VASILAKIS-SCARAMOZZA, C.; JICK, H. Risk of venous thromboembolism with cyproterone or levonorgestrel contraceptives. **Lancet**, v. 358, n. 9291, p. 1427-1429, 2001.

VEHKAVAARA, S. et al. Effects of oral and transdermal estrogen replacement therapy on markers of coagulation, fibrinolysis, inflammation and serum lipids and lipoproteins in postmenopausal women. **Thromb. Haemost.**, v. 85, n. 4, p. 619-625, 2001.

VIRDIS, A. et al. Effect of oral contraceptives on endothelial function in the peripheral microcirculation of healthy women. **J. Hypertens.**, v. 21, n. 12, p. 2275-2280, 2003.

VISSER, M. C.; COELINGH-BENNINK, H.T.J. Clinical implications of estetrol. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 114, p. 85-89, 2009.

WALSH, B. W. et al. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. **N. Engl. J. Med.**, v. 325, n. 17, p. 1196-1204, 1991.

WALSH, B. W. et al. The effects of hormone replacement therapy and raloxifene on C-reactive protein and homocysteine in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 85, n. 1, p. 214-218, 2000.

WESTHOFF, C. L. et al. Clotting factor changes during the first cycle of oral contraceptive use. **Contraception**, v. 93, n. 1, p. 70-76, 2016

WHO. **Managing contraceptive products: Requirements for the quality assurance of hormonal contraceptive**. 1995.

WHO. **Obesity and Overweight**. 2013. Accessed 01/18, 2016, at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>.

WHO. **US medical eligibility criteria for contraceptive use**. 2015.

WIEGRATZ, I. et al. Effect of two oral contraceptives containing ethinyl estradiol and gestodene or norgestimate on different lipid and lipoprotein parameters. **Contraception**, v. 58, n. 2, p. 83-91, 1998.

WIEGRATZ, I. et al. Effect of dienogest-containing oral contraceptives on lipid metabolism. **Contraception**, v. 65, n. 3, p. 223-229, 2002.

WIEGRATZ, I. et al. Effect of four oral contraceptives on hemostatic parameters. **Contraception**, v. 70, n. 2, p. 97-106, 2004.

WIEGRATZ, I. et al. Effects of conventional or extended-cycle regimen of an oral contraceptive containing 30 mcg ethinylestradiol and 2 mg dienogest on various hemostasis parameters. **Contraception**, v. 78, n. 5, p. 384-391, 2008.

WIEGRATZ, I.; THALER, C. J. Hormonal contraception--what kind, when, and for whom? **Dtsch. Arztebl. Int.**, v. 108, n. 28-29, p. 495-505; quiz 506, 2011.

WILLIAMS, B. et al. Guidelines for management of hypertension: report of the fourth working party of the British Hypertension Society, 2004-BHS IV. **J. Hum. Hypertens.**, v. 18, n. 3, p. 139-185, 2004.

WILLIAMS, M. J. et al. Association between C-reactive protein, metabolic cardiovascular risk factors, obesity and oral contraceptive use in young adults. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 28, n. 8, p. 998-1003, 2004.

WINKLER, U. H.; SUDIK, R. The effects of two monophasic oral contraceptives containing 30 mcg of ethinyl estradiol and either 2 mg of chlormadinone acetate or 0.15 mg of desogestrel on lipid, hormone and metabolic parameters. **Contraception**, v. 79, n. 1, p. 15-23, 2009.

WYNN, V. et al. Comparison of effects of different combined oral-contraceptive formulations on carbohydrate and lipid metabolism. **Lancet**, v. 1, n. 8125, p. 1045-1049, 1979.

YVAN-CHARVET, L. et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. **Science**, v. 328, n. 5986, p. 1689-1693, 2010.

ŽELJKO REINER et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. **Eur. Heart J.**, v. 32, p. 1769–1818, 2011.

ZERRAD-SAAD, A. et al. HDL3-mediated inactivation of LDL-associated phospholipid hydroperoxides is determined by the redox status of apolipoprotein A-I and HDL particle surface lipid rigidity: relevance to inflammation and atherogenesis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 29, n. 12, p. 2169-2175, 2009.

ZERR-FOUINEAU, M. et al. Certain progestins prevent the enhancing effect of 17beta-estradiol on NO-mediated inhibition of platelet aggregation by endothelial cells. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 29, n. 4, p. 586-593, 2009.

ZERR-FOUINEAU, M. et al. Progestins overcome inhibition of platelet aggregation by endothelial cells by down-regulating endothelial NO synthase via glucocorticoid receptors. **FASEB J.**, v. 21, n. 1, p. 265-273, 2007.

APÊNDICE A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MULHERES ADULTAS

INVESTIGADOR: Marilda Gonçalves e Júnia Raquel Dutra Ferreira

INSTITUIÇÃO: FIOCRUZ E Universidade Federal da Bahia (UFBA)

TELEFONE: (71)3283 6900; CEP/FIOCRUZ/CPqGM: (71) 3176-2285

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RISCO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO EM MULHERES EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS

DESCRIÇÃO E OBJETIVO DO ESTUDO

Este é um estudo que quer verificar fatores de risco de trombose, que significa o entupimento das veias por um coágulo, em mulheres que tomam anticoncepcional (pílula) oral e comparar com os achados em mulheres que não utilizam pílula e que nunca tiveram a trombose venosa.

Desta forma, eu fui convidada para participar dessa pesquisa. Minha participação será de minha própria vontade. Se eu concordar em participar, permitirei que seja coletado o meu sangue para análises relacionadas ao estudo (hematológicas, bioquímicas e genéticas). Compreendo que a minha participação não implicará na retirada de sangue adicional, de modo que será utilizada uma quantidade remanescente da mesma amostra coletada para a realização dos exames solicitados pelo médico. Também concordo que as amostras colhidas sejam armazenadas e possam ser utilizadas em futuros estudos, desde que estes estudos adicionais sejam analisados por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e sigam os aspectos éticos determinados nas resoluções 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde.

Além disso, a minha amostra armazenada poderá ser utilizada em outras pesquisas aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Fui esclarecida que a coleta do sangue causa certo desconforto, mas será realizada por pessoa treinada e com material descartável e novo.

Também entendi que responderei a perguntas relacionadas ao estudo.

Caso eu queira, posso me retirar da pesquisa quando quiser, sem nenhum problema para mim.

Ficarei com uma cópia deste papel que estou lendo, que recebe o nome de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que vai ser por mim assinado e pela pesquisadora responsável. Este termo terá os telefones da pesquisadora responsável, sendo que posso ligar para ela quando tiver qualquer dúvida sobre o assunto.

RISCOS ASSOCIADOS AO ESTUDO

Comunicamos que o sangue será colhido do braço e a coleta poderá acarretar em riscos e desconfortos, como sangramento e dor. Entretanto, o risco da coleta de sangue é considerado baixo, pois a coleta de sangue será realizada por pessoal habilitado e especializado, visando diminuir esses riscos. Fui orientada que receberei os resultados dos exames do meu sangue assim que as análises forem feitas. A realização de coletas adicionais dependerá do médico e estará relacionada, simplesmente, ao seu acompanhamento clínico.

BENEFÍCIOS

Participando deste estudo, estarei fazendo exames que poderei levar para um médico para ver se estou saudável. Além disso, estarei contribuindo para verificar o risco

que nós mulheres podemos ter ou não tomando anticoncepcionais/pílulas e se existe algum exame que possa prever esse risco. Compreendo que a minha participação no estudo não trará benefícios imediatos, mas possibilitará a obtenção de dados que poderão ser utilizados futuramente no acompanhamento de indivíduos que apresentem alterações relacionadas ao tromboembolismo, bem como na implantação de políticas de saúde.

CONFIDENCIALIDADE E AVALIAÇÃO DOS REGISTROS

Minha participação neste estudo será confidencial, ou seja, nada que eu disser será mostrado para outras pessoas, e os registros ou resultados do estudo serão divulgados em nível científico e para autoridades de saúde pública para que contribuam para a saúde da população. Minha identidade permanecerá sempre em segredo. Os registros da sua participação no estudo serão mantidos confidencialmente, sendo do conhecimento apenas da equipe participante do projeto e do médico que o acompanha. As amostras coletadas serão identificadas por código, bem como os dados individuais dos exames e testes, que serão do conhecimento somente dos pesquisadores envolvidos na pesquisa. Desta forma, a sua identidade será mantida em segredo e nenhum outro grupo terá acesso às informações coletadas, tais como seguradoras, empregadores ou superiores, de acordo com a resolução CNS 340/2004, item V.1.e

DIREITO A RETIRADA DO ESTUDO

Eu tenho direito de fazer qualquer pergunta sobre os riscos durante minha participação neste estudo. Posso sair deste estudo, caso queira.

Eu serei informada sobre qualquer nova informação relacionada ao estudo. Eu poderei ligar para a pesquisadora responsável Marilda Gonçalves e a doutoranda Júnia Raquel Dutra Ferreira, cujo número de telefone é (71) 3283-6955, para tirar qualquer dúvida. Também poderei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz/FIOCRUZ, cujo número de telefone é: (71) 3176-2285.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A minha participação neste estudo é voluntária. Se eu não quiser participar deste estudo, não terei nenhum problema. Eu tenho o direito de manter uma cópia assinada deste documento.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Após ter recebido informações claras, eu concordo com minha participação no estudo.

Assinatura do Paciente do Estudo	/ / Data
Assinatura da 1ª Testemunha	/ / Data
Assinatura da 2ª Testemunha	/ / Data
Assinatura do Investigador	/ / Data

APÊNDICE B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE IDADE**INVESTIGADORES:** Marilda Gonçalves e Júnia R. Dutra Ferreira**INSTITUIÇÃO:** CPqGM/Fiocruz e Universidade Federal da Bahia**TELEFONES:** (71)3283 6955; CEP/FIOCRUZ/CPqGM: (71) 3176-2285**TÍTULO: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RISCO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO EM MULHERES EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS****DESCRIÇÃO E OBJETIVO DO ESTUDO**

Este é um estudo que quer verificar algumas causas de entupimento das veias (trombose) por um coágulo em mulheres que tomam pílula para não engravidar, por via oral (pela boca), e ver se isso é igual nas mulheres que não utilizam pílula e que nunca tiveram a trombose venosa.

Então, minha filha ou a pessoa que sou responsável foi convidada para participar dessa pesquisa. Por ela ser menor de idade, eu sou responsável por ela e respondo por ela. A participação dela será de sua própria vontade e de acordo com a minha permissão. Se eu concordar que ela participe, permitirei que seja coletado o seu sangue para análises relacionadas ao estudo (hematológicas, bioquímicas e genéticas). Além disso, a amostra armazenada poderá ser utilizada em outras pesquisas aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa, para os mesmos fins.

Fiquei sabendo que a coleta de sangue dói um pouco, mas será feita por pessoa treinada e com material limpo, que nunca foi utilizado, e que será jogado fora após o uso (material descartável).

Também entendi que ela responderá a perguntas relacionadas ao estudo e que terá sua pressão medida, além do seu peso, altura, quadril e cintura.

Caso ela queira ou eu ache necessário, ela pode se retirar da pesquisa quando quiser, sem nenhum problema para mim ou para ela. Também concordo que as amostras colhidas sejam armazenadas e possam ser utilizadas em futuros estudos, desde que estes estudos adicionais sejam analisados por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e sigam os aspectos éticos determinados nas resoluções 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde.

Ficarei com uma cópia deste papel que estou lendo, que recebe o nome de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que vai ser por mim assinado, pois sou responsável por ela, e pela pesquisadora responsável. Este termo terá os telefones da pesquisadora responsável e do Comitê de Ética em Pesquisas Humanas do CPqGM/FIOCRUZ, sendo que posso ligar quando tiver qualquer dúvida sobre o assunto.

RISCOS ASSOCIADOS AO ESTUDO

Eu fui esclarecido (a) que a coleta de sangue que será realizada na minha filha ou na pessoa a qual sou responsável dói um pouco, causa um desconforto, mas será feita por pessoal treinado para isso. Eu fui orientado (a) que receberei os resultados dos exames de sangue dela assim que as análises forem feitas.

BENEFÍCIOS

Participando deste estudo, minha filha ou a pessoa que sou responsável estará fazendo exames que poderemos levar para um médico para ver se ela está saudável. Além disso, estaremos contribuindo para verificar se existe algum risco relacionado às

mulheres que tomam anticoncepcionais/pílulas e se existe algum exame que possa adiantar esse risco.

CONFIDENCIALIDADE E AVALIAÇÃO DOS REGISTROS

A participação, neste estudo da minha filha ou da pessoa que sou responsável será confidencial, ou seja, nada que ela disser será mostrado para outras pessoas e os registros ou resultados do estudo serão escritos em revistas científicas e para autoridades de saúde pública para que contribuam para a saúde da população. A identidade dela permanecerá sempre em segredo. As amostras coletadas serão identificadas por código, bem como os dados individuais dos exames e testes, que serão do conhecimento somente dos pesquisadores envolvidos na pesquisa. Desta forma, a sua identidade será mantida em segredo e nenhum outro grupo terá acesso às informações coletadas, tais como seguradoras, empregadores ou superiores, de acordo com a resolução CNS 340/2004, item V.1.e.

DIREITO A RETIRADA DO ESTUDO

Eu e a minha filha ou a pessoa da qual sou responsável, temos o direito de fazer qualquer pergunta sobre o estudo durante a participação. Também posso querer que minha filha ou a pessoa que sou responsável saia deste estudo, se eu quiser.

Eu e minha filha ou a pessoa que sou responsável seremos informados sobre qualquer nova informação do estudo. Eu poderei ligar para a pesquisadora responsável Marilda Gonçalves e a doutoranda Júnia Raquel Dutra Ferreira, cujo número de telefone é (71) 3283-6955, para tirar qualquer dúvida. Também poderei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas com seres humanos do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz/FIOCRUZ, cujo número de telefone é: (71) 3176-2285.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A participação da minha filha ou a pessoa que sou responsável neste estudo é voluntária, ou seja, ela participa se quiser e com a minha permissão. Se eu não quiser que ela participe deste estudo, não teremos nenhum problema. A pesquisadora tem que me dar uma cópia assinada deste documento.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Após ter recebido informações claras, eu concordo com a participação nesse estudo da minha filha ou a pessoa a qual sou responsável legal.

Assinatura do pai/mãe/responsável	/ / Data
Assinatura da 1ª Testemunha	/ / Data
Assinatura da 2ª Testemunha	/ / Data
Assinatura do Investigador	/ / Data

APÊNDICE C - TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO PARA MENORES

O assentimento informado para a criança/adolescente não substitui a necessidade de consentimento informado dos pais ou guardiães. O assentimento assinado pela criança demonstra a sua cooperação na pesquisa.

Assentimento informado para _____

Este formulário de assentimento informado é para adolescentes femininas entre as idades de 15 a 17 anos que comparecerão ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia ou ao Serviço de Hematologia do HUPES e que estamos convidando a participar da pesquisa: **“AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RISCO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO EM MULHERES EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS”**.

INTRODUÇÃO

Meu nome é Júnia Raquel Dutra Ferreira e o meu trabalho consiste em verificar algumas causas de entupimento das veias (trombose) por um coágulo em mulheres que tomam pílula para não engravidar, por via oral (pela boca), e ver se isso é igual nas mulheres que não utilizam pílula e que nunca tiveram a trombose venosa. É importante realizar estudos que possam ajudar a compreender melhor esta situação e também colaborar para verificar se existe algum risco relacionado às mulheres que tomam anticoncepcionais/pílulas e se existe algum exame que possa adiantar esse risco. Eu vou informar você e convidá-la a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você vai participar na pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem. Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir a vontade para conversar. Você pode decidir se quer participar ou não depois de ter conversado sobre a pesquisa e não é preciso decidir imediatamente. Pode haver algumas palavras que você não entenda ou coisas que você quer que eu explique mais detalhadamente porque você ficou mais interessado ou preocupado. Por favor, interrompa a qualquer momento e eu explicarei.

OBJETIVOS

Este é um estudo que quer verificar algumas causas de entupimento das veias (trombose) por um coágulo em mulheres que tomam pílula para não engravidar, por via oral (pela boca), e ver se isso é igual nas mulheres que não utilizam pílula e que nunca tiveram a trombose venosa e também verificar se existe algum exame que possa adiantar essa alteração.

ESCOLHA DOS PARTICIPANTES

Estamos realizando esta pesquisa com você porque precisamos analisar mulheres de 15 a 40 anos que utilizam pílulas nessas diferentes idades.

VOLUNTARIEDADE DE PARTICIPAÇÃO

Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu atendimento no laboratório ou no Serviço de Hematologia. Até mesmo se disser "sim" agora, poderá mudar de ideia depois, sem nenhum problema.

PROCEDIMENTOS

Será coletado sangue para análises relacionadas ao estudo (hematológicas, bioquímicas e genéticas). O sangue será coletado do braço com materiais novos, estéreis e descartáveis, por pessoal habilitado e especializado. Você pode me pedir que eu explique a qualquer momento mais informações sobre o processo.

RISCOS

A pesquisa não oferece riscos, uma vez que as amostras serão coletadas para as análises de rotina e por pessoal qualificado, sem a ocorrência de problemas aos pacientes, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis e tubos estéreis para coleta de sangue. Ao paciente também será assegurada a entrega dos resultados das análises do seu sangue.

DESCONFORTOS

A coleta de sangue que será realizada dói um pouco, por alguns segundos causa um desconforto, mas será feita por pessoal treinado para isso. Se você sentir mais alguma coisa, como dor mais forte ou mal estar, fale comigo ou com seus pais.

Após a coleta e análise do sangue, os resultados dos exames de seu sangue serão entregues a você ou seus pais/responsável.

Eu conferi se a adolescente entendeu os riscos e desconfortos da pesquisa:

____ SIM ____ NÃO.

Benefícios

Participando deste estudo, você estará fazendo exames que podem ser levados para um médico para ver se está saudável. Além disso, estaremos contribuindo para verificar se existe algum risco relacionado às mulheres que tomam anticoncepcionais/pílulas e se existe algum exame que possa adiantar esse risco.

CONFIDENCIALIDADE

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalhe na pesquisa. Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão informados para você e para seus pais.

As informações sobre você serão coletadas na pesquisa e ninguém, exceto os investigadores, poderá ter acesso a elas. Qualquer informação sobre você terá um número ao invés de seu nome. Só os investigadores saberão qual é o seu número e manteremos em segredo. Ela não será compartilhada com quem quer que seja, exceto por alguém que tenha permissão de acesso à informação, tais como: pesquisadores e o seu médico.

DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

Quando terminarmos a pesquisa ou no andamento dela, eu lhe darei um papel com os seus resultados de seu sangue por escrito. Depois, iremos falar com mais pessoas, cientistas e outros, sobre a pesquisa. Faremos isto escrevendo e compartilhando relatórios e indo para as reuniões com pessoas que estão interessadas no trabalho que fazemos. Também divulgaremos os resultados em revistas voltadas para a publicação de material científico, mas sempre mantendo seu nome em segredo.

DIREITO DE RECUSA OU RETIRADA DO ASSENTIMENTO INFORMADO

Você tem o direito de estar ou não nesta pesquisa. Ninguém ficará bravo ou desapontado com você se você disser não, pois a escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer "sim" agora e mudar de idéia depois e tudo continuará bem.

CONTATO

Eu escrevi um número de telefone e endereço onde você pode me localizar ou ao grupo de pesquisa, bem como o Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ, se você estiver por perto, você poderá vir e nos ver. Se você quiser falar com outra pessoa tal como o seu professor ou doutor ou tia, não tem problema.

CEP/ CpqGM/FIOCRUZ - Comitê de Ética em Pesquisa – Centro de Pesquisa Professor Gonçalo Moniz/FIOCRUZ– Tel:71 31762327, e-mail:cep@bahia.fiocruz.br

Dra. Marilda de Souza Gonçalves – Coordenadora do projeto –Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ Tel: 71-3176-2226

Júnia Raquel Dutra Ferreira – Farmacêutica bioquímica responsável pelo desenvolvimento do projeto no CPqGM – FIOCRUZ e na FAC-FAR-UFBA. Tel : (0XX71) 3481-4237 e no Laboratório LACTFAR–UFBA tel: (0XX71) 3283-6955 ou (0XX71) 8240-6062.

CERTIFICADO DO ASSENTIMENTO

Eu entendi que a pesquisa é para verificar se existe algum risco relacionado às mulheres que tomam anticoncepcionais/pílulas e se existe algum exame que possa adiantar esse risco. Eu entendi que eu darei uma amostra de sangue através de uma picada no braço para realização dos testes.

Assinatura da criança/adolescente:_____

Assinatura dos pais/responsáveis:_____

Ass. Pesquisador:_____

Dia/mês/ano:_____

APÊNDICE D:QUESTIONÁRIO PARA MULHERES PARTICIPANTES

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RISCO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO EM MULHERES EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS.

QUESTIONÁRIO	Data da coleta:	Local: FFAR() HUPES ()
I. TRIAGEM E TCLE		
1. Informações sobre o estudo e confiabilidade do estudo – TCLE		
2. Nome da paciente:	SIGLA{SIG}:	
Endereço:	Data de nascimento ____/____/____	
Telefone:	REGISTRO{REG}:	IDADE{ID}:
3. Qual a sua cor? {COR} () BRANCA{0} () NEGRA{1} () PARDA{2} () AMARELA{3} () INDÍGENA{4}		
II – FATOR DE INCLUSÃO: (PARA SER INCLUÍDA NO ESTUDO, A PACIENTE TEM QUE USAR ANTICONCEPCIONAL ORAL – VIDE LISTA).		
USA ANTICONCEPCIONAL ORAL?() Sim () Não		
III – FATORES DE EXCLUSÃO (SE A PACIENTE APRESENTAR PELO MENOS UM DESSES FATORES, NÃO PODE SER INCLUÍDA NO ESTUDO)		
A) Pós parto (até 4 semanas)?	() Sim	() Não
B) Uso de outro tipo de método contraceptivo ou terapia hormonal que não via oral:	() Sim	() Não
C) Cirurgia ortopédica nos últimos 12 meses?	() Sim	() Não
D) Imobilização nas últimas 6 semanas?	() Sim	() Não
E) Viagem de longa distância no último mês?	() Sim	() Não
F) Já teve ou tem câncer?	() Sim	() Não
G) Tem Lúpus Eritematoso Sistêmico? Ou SAF?	() Sim	() Não
H) Apresenta algum problema de coagulação/trombofilia que não seja hereditário?	() Sim – Qual? _____	() Não
I) Faz ou fez tratamento quimioterápico?	() Sim	() Não
J) Utiliza Terapia de Reposição Hormonal?	() Sim	() Não
K) Apresenta policitemia ou mieloma múltiplo?	() Sim	() Não
L) Usa cateter venoso central?	() Sim	() Não
M) Está grávida no momento?	() Sim	() Não
N) Esteve acamada nos últimos 2 meses?	() Sim	() Não
O) É menopausada?	() Sim	() Não
II. QUESTIONÁRIO		
5. Qual seu estado civil?{ESTCIV} () Solteira{0} () União estável{UE} () Casada{CAS} () Divorciada{DIV} () Viúva {VI}		
6. Nível de escolaridade{NESC}? () Sem alfab {SA} () 4ºANO {4ª} () 9ºANO{9ª} () 3ºANO/MÉDIO{3A} () SUPERIOR {SUP}		
7. Renda familiar{REN}? () 1 salário mínimo{1SM} () 2salários mínimos{2SM} () 3{3SM} () 4 salários mínimos {4SM} () 5 salários mínimos {5SM} () acima de 6 salários mínimos {6SM} () Bolsa família ou escola {BF}		
8. Idade da 1ª gestação {ID1GEST}:		
9. Nº total de abortos {QTABOR}:		
10. Nº de partos normais{QTPARTN}:		
11. Nº de partos cesáreos{QTCESA}:		
12. Nº total de partos (N+C) {TOTPAR}=		
13. Data/idade da primeira menstruação (menarca){IDMENST}: ____/____/____ ou _____ anos		
14. Data da última menstruação ____/____/____ () não sabe informar () menopausada{MENO}		

15. Qual a sua procedência?{PROCED}	Nasceu em {NASC}:	Mora em{MORA}:
16. Você utiliza CO {CO}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca usei{2}
Se sim, há quanto tempo usa? {TCO}	<input type="checkbox"/> < 6 meses {0} <input type="checkbox"/> 1 ano {1} <input type="checkbox"/> 2 anos{2} <input type="checkbox"/> 3 anos{3} <input type="checkbox"/> >4 anos{4}	
Se sim, qual CO usa?{QUALCO}		
17. Você fuma {FUMO}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca fumei{2} <input type="checkbox"/> Fumei no passado{3}
Se sim, há quanto tempo fuma? [TFUMA]	<input type="checkbox"/> < 6 meses {0} <input type="checkbox"/> 1 ano {1} <input type="checkbox"/> 2 anos{2} <input type="checkbox"/> 3 anos{3} <input type="checkbox"/> >4 anos{4}	
Se sim, quantos cigarros fuma por dia? {QTCIG}	<input type="checkbox"/> < um maço{0} <input type="checkbox"/> 1 maço{1} <input type="checkbox"/> > 1 maço{2}	
Se parou de fumar, há qt tempo parou? {TPARAFUMO}	<input type="checkbox"/> < 6 meses {0} <input type="checkbox"/> 1 ano {1} <input type="checkbox"/> 2 anos{2} <input type="checkbox"/> 3 anos{3} <input type="checkbox"/> >4 anos{4}	
18. Tem diabetes{DIAB}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Se sim, está controlada? {DIABCONTR}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Faz uso de medicamento{DIABMED}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca tratei{2}
Se sim, qual medicamento? [QUALMEDICDIAB]		
19. Tem pressão alta? {PRESALT}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Se sim, está controlada? {PRESCONTR}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Usa medicamento? {PRESMEDIC}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca usei{2}
Se sim, qual medicamento? {QUALMEDICPRES}		
Aferição da Pressão Arterial no ato da entrevista: {APA}		
20. Você utiliza algum outro medicamento {OUTROMEDIC}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca usei{2}
21. Já teve algum evento de trombose{TROMB}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1}
Qual exame indicou a trombose?{EXAMTROMB}		
Quando foi? Ano? {QDTROMB}		
Em qual membro?{MEMBRTROMB}		
Faz uso de anticoagulante? {USOANTCOAG}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1}
Qual anticoagulante? {QUALANTCOAG}		
22. Alguém da sua família (pai, mãe, irmãos) já teve trombose{TROMBFAM}?	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1}
Se sim, quem{TROMBFAMQUEM}?	<input type="checkbox"/> pai{0} <input type="checkbox"/> mãe{1} <input type="checkbox"/> irmã/ão{2} <input type="checkbox"/> tia/o{3} <input type="checkbox"/> avó/ô{4}	
24. Você consome bebida alcoólica? {BEBALC}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1}
Se sim, qual a frequência? {FREQALC}	<input type="checkbox"/> Diariamente {0}	
	<input type="checkbox"/> 1-2 vezes na semana {1}	
	<input type="checkbox"/> 2-3 vezes por semana{2}	
	<input type="checkbox"/> menos que 1 vez na semana{3}	
27. INDICE DE MASSA CORPÓREA {IMC} (IMC= Peso(kg) / Altura(m) ²) =		
Altura{ALT}:	Medida da circunferência abdominal:	
Peso{PESO}:		
Classificação {CLASIMC}	<input type="checkbox"/> < 18,5	<input type="checkbox"/> Baixo Peso [0]

	<input type="checkbox"/> 18,5 – 24,9	<input type="checkbox"/> Peso Normal [1]
	<input type="checkbox"/> ≥ 25,0	<input type="checkbox"/> Sobrepeso[2]
	<input type="checkbox"/> 25,0 – 29,9	<input type="checkbox"/> Pré-obeso [3]
	<input type="checkbox"/> 30,0 – 34,9	<input type="checkbox"/> Obeso I [4]
	<input type="checkbox"/> 35,0 – 39,9	<input type="checkbox"/> Obeso II [5]
	<input type="checkbox"/> ≥ 40,0	<input type="checkbox"/> Obeso III [6]
28. Tem colesterol alto?{COLEST}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Faz uso de medicamento? {COLESTMEDIC}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Nunca tratou{2}
Se sim, qual medicamento? {QUALMEDICCOLEST}		
30. Pratica atividade física? {ATVFIS}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1}
Se sim, com qual frequência? [ATVFISFREQ]	<input type="checkbox"/> Atividade física intensa, profissional e/ou orientada e diária [0] <input type="checkbox"/> Atividade física moderada, 3 - 4 vezes/semana (caminhada, natação) [1] <input type="checkbox"/> Atividade física leve, 2 – 3 vezes/semana [2] <input type="checkbox"/> Atividade física sedentária, 1 vez na semana [3] <input type="checkbox"/> Inatividade física [4] OBS.: Se assinalados itens 3 e 4, os entrevistados serão considerados sedentários	
31. Tem anemia falciforme?{FALC}	<input type="checkbox"/> Não {0}	<input type="checkbox"/> Sim {1} <input type="checkbox"/> Não sei{2}
Doença falciforme{FALCSSLAS}:	<input type="checkbox"/> Homozigoto{0}	<input type="checkbox"/> Heterozigoto{1}

ANEXO A: APROVAÇÃO NO CEP/CPQGM/FIOCRUZ

CENTRO DE PESQUISAS
GONÇALO MONIZ -
FIOCRUZ/BA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RISCO PARA TROMBOEMBOLISMO VENOSO EM MULHERES EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS.

Pesquisador: Marilda Gonçalves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 08290812.0.0000.0040

Instituição Proponente: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - CPqGM/ FIOCRUZ/ BA

Patrocinador Principal: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - CPqGM/ FIOCRUZ/ BA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 211.772-4

Data da Relatoria: 28/02/2013

Apresentação do Projeto:

Avaliação do papel do uso de contraceptivos orais sobre a ocorrência de tromboembolismo venoso.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o risco de tromboembolismo venoso em mulheres em idade fértil que fazem uso regular de contraceptivos orais pela investigação de biomarcadores associados a ativação endotelial, hemostasia, inflamação e trombose.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A coleta de sangue é um procedimento simples, mas que pode causar um pequeno incômodo à paciente. Esse procedimento será realizado por pessoal habilitado e treinado. A entrevista será realizada por pessoal treinado, em sigilo e respeitando as decisões da paciente. Portanto, os riscos são mínimos. Quanto aos benefícios, os resultados dos exames serão encaminhados para o médico que acompanha as pacientes, uma vez que podem contribuir para a avaliação da paciente para seu acompanhamento médico. No curto prazo, os participantes não terão benefício direto da pesquisa. Os resultados da pesquisa poderão se reverter em benefícios para o participante e para outros com a mesma condição, caso algum biomarcador seja identificado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Princípios científicos - A frequência de tromboembolia venosa em mulheres ente 15 e 40 anos não

Endereço: RuaWaldemar Falcão, 121
Bairro: Candeal CEP: 40.296-710
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)3176-2327 Fax: (71)3176-2285 E-mail: cep@bahia.fiocruz.br

**CENTRO DE PESQUISAS
GONÇALO MONIZ -
FIOCRUZ/BA**



foi mencionada na revisão da literatura, bem como o cálculo do tamanho amostral. O estudo é de corte transversal com componente analítico tipo caso-controle. Tanto para um estudo como para o outro, o cálculo do tamanho amostral é necessário.

Procedimentos envolvendo seres humanos - A pesquisa envolve a coleta de amostra de sangue para realização de exames hematológicos, bioquímicos e de biologia molecular, além da obtenção de dados através de entrevista de mulheres em idade fértil (15 a 40 anos). Os métodos descritos são de domínio da equipe.

Aspectos éticos - Este projeto não envolve populações vulneráveis e OGMs. As análises genéticas propostas serão para diagnóstico, de modo que o projeto não se enquadra em projeto de pesquisa em genética humana e não requer ser submetido para a CONEP. Há garantia de sigilo e anonimato dos sujeitos da pesquisa, indícios de comunicação dos resultados às autoridades e declaração de contato ao CEP em caso de descontinuidade da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos são adequados.

Recomendações:

Incluir dados sobre a morbidade de tromboembolia venosa em mulheres ente 15 e 40 anos na revisão da literatura e o cálculo do tamanho amostral em métodos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências descritas anteriormente foram atendidas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SALVADOR, 06 de Março de 2013

**Assinador por:
Adriana Lanfredi Rangel
(Coordenador)**

Este parecer reemitido substitui o parecer número 211772-3 gerado na data 06/03/2013 13:06:14.

Endereço: RuaWaldemar Falcão, 121		CEP: 40.296-710
Bairro: Candeal	Município: SALVADOR	
UF: BA	Telefone: (71)3176-2327	Fax: (71)3176-2285
		E-mail: cep@bahia.fiocruz.br