



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA

DIEGO PASSOS DIOGO

**RAZÃO TRIGLICÉRIDES/HDL EM MULHERES QUE UTILIZAM E NÃO
UTILIZAM CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SALVADOR – BA

2019

DIEGO PASSOS DIOGO

**RAZÃO TRIGLICÉRIDES/HDL EM MULHERES QUE UTILIZAM E NÃO
UTILIZAM CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Medicina e Saúde Humana.

Orientador: Dr. Jefferson Petto

Salvador

2019

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas

D591 Diogo, Diego Passos

Razão triglicérides/HDL em mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral combinado. / Diogo Passos Diogo. – 2018.
57f.: il. Color; 30cm.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Petto
Mestre em Medicina e Saúde Humana.

Inclui bibliografia

1. Metabolismo dos Lipídeos. 2. Anticoncepcionais. 3. Razão Triglicérides/HDL. 4. Doenças Cardiovasculares.
I. Título.

CDU: 613.888


DIEGO PASSOS DIOGO

**“RAZÃO TRIGLICÉRIDES/HDL EM MULHERES QUE UTILIZAM E NÃO
UTILIZAM CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO”**

Dissertação apresentada à Escola
Bahiana de Medicina e Saúde
Pública, como requisito parcial para
a obtenção do Título de Mestre em
Medicina e Saúde Humana.

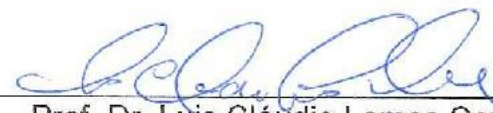
Salvador, 10 de agosto de 2018.

BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Armênio Costa Guimarães
Livre-docência

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Prof. Dr. Luis Cláudio Lemos Correia
Doutor em Medicina e Saúde

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Profª. Drª. Djeyne Silveira Wagnacker
Doutora em Medicina e Saúde Humana
Faculdade Adventista de Fisioterapia, FAFIS

Dedico este trabalho aos meus pais, Waldir e Célia, meus irmãos, e a Alana, minha companheira de todas as horas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Waldir e Célia, pela dedicação imensurável que fez tornar esse sonho possível. Realmente, o sonho que se sonha junto torna-se realidade. Declaro aqui todo o meu amor por vocês.

Aos meus irmãos Rafa e André, pelo companheirismo e fidelidade de sempre.

A Alana, que nos momentos de angústia, tristeza e preocupação me doou seu carinho e amor. Nani, você é luz. Obrigado por tudo. Amo você!

Ao professor Jefferson Petto, meu orientador. Além de exemplo docente e pesquisador, és uma pessoa de alma extraordinária que o universo colocara no meu caminho. Obrigado pela confiança e ensinamentos.

A todos os colegas do grupo de pesquisa que, sempre solícitos, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Meus agradecimentos a Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública pela oportunidade de aprendizado. Também devo dizer que sou grato por vocês Professores. Obrigado por todo conhecimento transmitido nesses dois anos. Estar com vocês realmente fez as incansáveis viagens valerem apenas. A vocês, todo o meu respeito e admiração.

Por fim, ao Laboratório de Patologia Clínica e todas as voluntárias, que doaram seu precioso tempo e fizeram com que esta pesquisa pudesse acontecer.

“Daria tudo que sei pela metade que ignoro”
René Descartes

RESUMO

Introdução: Dados da Divisão de População das Nações Unidas mostram que a prevalência do uso de estratégias contraceptivas no mundo aumentou de 55% para 63% entre os anos de 1990 e 2010. Estima-se que no Brasil, dentre os métodos contraceptivos reversíveis, 27% das mulheres utilizam algum tipo de contraceptivo oral combinado (COC). É sabido que devido ao componente estrogênico e progestagênico presentes nestes, alterações metabólicas podem ocorrer, como por exemplo, a alteração do metabolismo lipídico. Descrita como o principal marcador da doença aterosclerótica, a avaliação quantitativa da molécula de LDL não diferencia os diferentes tipos de fenótipos que a compõe. Dentre estes, foi demonstrado que a LDL do tipo B aumenta em até 3 vezes a chance de infarto quando este fenótipo predomina. Trabalhos mostram que a razão triglicérides/HDL tem relação direta com a presença desse fenótipo, o que a sugere como uma estratégia indireta de avaliação. **Objetivo:** Testar a hipótese de que mulheres que utilizam COC possuem valores de razão TG/HDL maiores quando comparadas as que não utilizam. **Métodos:** Estudo observacional de corte transversal onde foram recrutadas mulheres com idade entre 18 e 30 anos, irregularmente ativas, eutróficas, com circunferência de cintura < 80 cm, glicemia < 100 mg/dL e triglicérides de jejum < 200 mg/dL. As voluntárias foram alocadas em dois grupos: 1) o grupo que utilizava o COC (GCO) por um período mínimo de um ano; 2) o grupo que não utilizavam nenhum tipo de contraceptivo hormonal (GSCO). As variáveis bioquímicas referentes ao perfil lipídico foram analisadas entre os grupos, além do cálculo da razão TG/HDL. Devido normalidade dos dados, foi aplicado o teste t de *Student* para amostras independentes, bem como o cálculo do score d de Choen para a verificação do tamanho do efeito (TDE). **Resultados:** Foram avaliadas 106 mulheres, 52 no GCO. Verificou-se que a média da razão TG/HDL das mulheres do GCO quando comparadas àquelas do GSCO foi de 2,1 (\pm 0,8) vs 1,1 (\pm 0,5) ($p < 0,01$; TDE = 1,5), respectivamente. Ainda, as médias de todas as variáveis do perfil lipídico analisadas do GCO foram maiores com relevância estatística. **Conclusão:** Mulheres que utilizam COC apresentam a razão TG/HDL maior quando comparadas as que não utilizam, sugerindo assim a presença de um perfil lipídico mais aterogênico de LDL.

Palavras-Chave: Anticoncepcionais. Razão Triglicérides/HDL. Doenças Cardiovasculares. Metabolismo dos Lipídeos.

ABSTRACT

Introduction: Data from United Nation Population Division show an increase prevalence use of contraceptive methods, rising from 55 in 1990 to 63% in 2010. It is estimated in Brazil that, among all kinds of reversible contraceptives methods, 27% of women take any combined oral contraceptive (COC). Due to the estrogenic and progestagenic component in these pills, metabolic changes may occur, like lipid metabolism alterations. In this context, the LDL particle is considered as the main contributor to the atherosclerotic disease and its usual assessment method does not discern its different phenotypes. It has been demonstrated that subjects with predominance of phenotype B of LDL have three fold increased risk for myocardial infarction. Some studies showed that triglycerides (TG) to HDL ratio has direct relation with the presence of phenotype B of LDL, which suggests as indirect method of estimated it. **Aim:** Testing the hypothesis that women who take COC have higher values of TG/HDL ratio than those who do not take it. **Methods:** The study included women with age between 18 and 30 years old, irregularly actives, eutrophics, with waist circumference < 80 cm, blood glucose < 100 mg/dL and fasting triglycerides < 200 mg/dL. The volunteers were separated into two groups: 1) the group taking COC for at least one year (GCO); 2) the group not taking any kind of hormonal contraceptive (NOC). The biochemistry variables related to lipid profile were analyzed between the groups, besides TG/HDL calculation. Due to the normality of data, the t Student for related samples test was used. The effect size was calculated by using Choen's d score. **Results:** 106 volunteers were evaluated, which 52 of these were in the GCO. The means of TG/HDL ratio of the GCO compared to the NOC were 2.1 (± 0.8) vs 1.1 (± 0.5) ($p < 0.01$; $r = 0.49$), respectively. Still, the means of all lipid profile variables analyzed of GCO were higher with statistic relevance. **Conclusion:** Women who take COC have TG/HDL ratio higher than those who those do not take, suggesting the presence of a more atherogenic lipid profile.

Key-words: Contraceptive Agents. Triglycerides/HDL Ratio. Cardiovascular Diseases. Lipid Metabolism.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mecanismos da produção da Tríade Dislipidêmica	18
Figura 2. Mecanismos bioquímicos e celulares propostos da LDL pequena e densa	18
Quadro 1. Classificação do nível de atividade física segundo o IPAQ – versão longa.....	24

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis clínicas e antropométricas da população estudada.	28
Tabela 2. Perfil lipídico de jejum (mg/dL) da amostra estudada.....	28
Tabela 3. Razão TG/HDL entre os grupos estudados.	29

LISTAS DE SIGLAS E ABREVIACES

AVE – Acidente Vascular Encefálico
CETP – Proteína Transportadora de ésteres de Colesterol
COC – Contraceptivo Oral Combinado
CT – Colesterol Total
DAC – Doença Arterial Coronariana
DCV – Doença Cardiovascular
HAS – Hipertensão Arterial Sistmica
HDL – Lipoproteína de Alta Densidade
IMC – ndice de Massa Corpórea
INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia
LCAT – Lecitina Colesterol Aciltransferase
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade
PA – Pressão Arterial
PCR – Proteína C Reativa
TEV – Tromboembolismo Venoso
TG – Triglicérides
VLDL – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	Perfil lipídico, contraceptivos orais combinados e risco cardiovascular	15
3.2	As subclasses de LDL	17
3.2.1	Mecanismos e Aterogenicidade.....	17
3.2.2	Fenótipo B da LDL e risco cardiovascular	18
3.2.3	Métodos Diagnósticos	20
3.3	Razão triglicérides/HDL e o risco cardiovascular	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1	Desenho do estudo	23
4.2	População, critérios de inclusão e exclusão	23
4.3	Protocolo de avaliação físico-clínica	24
4.4	Protocolo de coleta laboratorial	25
4.5	Aspectos éticos	25
5	ESTATÍSTICA	27
5.1	Hipótese nula	27
5.2	Hipótese Alternativa	27
5.3	Cálculo de tamanho amostral	27
5.4	Análise dos dados	27
6	RESULTADOS	28
7	DISCUSSÃO	30
8	LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS	34
9	CONCLUSÕES	35
	REFERÊNCIAS	36
	APÊNDICES	42
	ANEXOS	45

1 INTRODUÇÃO

A utilização de métodos contraceptivos para o planejamento familiar tem crescido ao longo dos anos entre mulheres em idade reprodutiva (15 a 49 anos). Em uma análise exploratória utilizando a base de dados da Divisão de População das Nações Unidas, a prevalência do uso de estratégias contraceptivas no mundo aumentou de 55% para 63% entre os anos de 1990 e 2010⁽¹⁾. Dentre os métodos reversíveis, o contraceptivo oral é descrito como a estratégia mais utilizada para o planejamento familiar. No Brasil, estima-se que 27% das mulheres incluindo todas as classes sociais utilizam algum tipo de contraceptivo oral⁽²⁾. Um estudo realizado no município de Pelotas – Rio Grande do Sul - mostrou que 67% das mulheres em idade reprodutiva utilizavam contraceptivos orais para tal finalidade⁽³⁾. Tratando-se da região nordeste especificamente, um outro estudo transversal de base populacional utilizando os dados da Pesquisa Nacional sobre Acesso, Utilização e Promoção do Uso Racional de Medicamentos (PNAUM) mostrou uma prevalência de uso de 23,6% entre mulheres de faixa etária de 15 e 49 anos. Interessante destacar que os injetáveis teve uma prevalência de apenas 5,8%, o que denota que os contraceptivos orais são tidos como o método de primeira opção⁽⁴⁾.

Nesse contexto, os contraceptivos orais combinados (COC) têm sido a opção de escolha por grande parte da população feminina. Recebem este nome devido à combinação de um componente estrogênico e progestagênico, o que resulta no bloqueio da ovulação ao inibir a secreção dos hormônios folículo-estimulante e luteinizante^(5,6). Entretanto, algumas investigações têm mostrado que o uso continuado de COC está associado à elevação de alguns marcadores de risco cardiovascular, tais como aumento da resistência insulínica⁽⁷⁾, alteração do perfil lipídico⁽⁸⁾, elevação da pressão arterial⁽⁹⁾ e inflamação subclínica⁽¹⁰⁾.

Constituindo entre 60 a 70% do colesterol sérico total (CT), a lipoproteína de baixa densidade (LDL) é indicada como o principal marcador do perfil lipídico envolvido no processo aterosclerótico da doença arterial coronariana (DAC)^(11,12). Isso faz com que ela seja o principal alvo terapêutico quando níveis séricos dessa lipoproteína estiverem acima de 160 mg/dL⁽¹³⁾. Porém, a quantificação da LDL na prática clínica não diferencia o heterogêneo grupo de subclasses que a compõe. Baseado no tamanho da partícula e na densidade do conteúdo lipídico que carrega no plasma, a LDL é descrita em subclasses de fenótipo A e B⁽¹⁴⁾. A subclasse de fenótipo B da LDL especificamente possui um menor tamanho e maior densidade na sua composição, o que a sugere como uma classe mais aterogênica. De fato, estudos têm mostrado uma associação positiva entre a predominância do fenótipo B da LDL e

desfechos cardiovasculares não favoráveis⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Austin et al.⁽¹⁷⁾, por exemplo, mostraram um aumento de 3 vezes mais chances de indivíduos desenvolverem infarto do miocárdio quando este padrão de LDL predomina.

Além da influência genética sobre o tamanho da LDL, alguns fatores externos podem contribuir para esta condição, como por exemplo, o uso continuado de contraceptivos orais. O estudo observacional realizado por Graaf et al.⁽¹⁸⁾ corrobora com esta hipótese, pois mostrou essa associação em mulheres pré-menopáusicas que utilizavam COC de baixa dosagem. Entretanto, para a quantificação dessas subclasses foi utilizado a ultracentrifugação por densidade, método de análise direta não usual e de custo elevado para a prática clínica.

É sabido que a presença da subclasse de fenótipo B da LDL possui uma estrita relação com elevados níveis séricos de triglicérides (TG) e baixos da lipoproteína de alta densidade (HDL)⁽¹⁴⁾. Isto tem chamado à atenção da comunidade científica, pois, o uso desta razão (TG/HDL) pode ser um método mais acessível e de fácil utilização na estimativa das subclasses de LDL^(19,20). Hanak et al.⁽¹⁹⁾ mostraram uma acurácia de 70% desta razão quando estabelecido um ponto de corte de 3.8, índice baseado nas recomendações internacionais para os valores de jejum desejados de TG e HDL⁽¹²⁾. Devido à contundência dos achados obtidos, a utilização da razão TG/HDL parece ser um parâmetro interessante a ser utilizado na estratificação do risco cardiovascular nas mais diferentes populações, como por exemplo, em mulheres em uso de contraceptivos hormonais.

2 OBJETIVO

Testar a hipótese de que mulheres que utilizam COC possuem valores de razão TG/HDL maiores quando comparadas as que não utilizam.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Perfil lipídico, contraceptivos orais combinados e risco cardiovascular

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas as principais causas de morbimortalidade em todo o mundo. Dados da Organização Mundial de Saúde apontam que aproximadamente 17,1 milhões de pessoas morrem por ano devido a doenças relacionadas ao aparelho cardiovascular⁽²¹⁾, nas quais se manifestam sob a forma de cardiopatia isquêmica, acidente vascular encefálico (AVE), hipertensão arterial sistêmica (HAS), entre outras⁽²²⁾. Em 2007 foram registrados no Brasil aproximadamente 308 mil óbitos decorrentes de afecções desse sistema⁽²³⁾.

A aterosclerose, definida como doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta a agressão endotelial, é o principal mecanismo fisiopatológico envolvido nesse processo⁽¹³⁾. Está bem descrito que dentre os fatores que explicam os mecanismos envolvidos na gênese da doença aterosclerótica, as alterações do perfil lipídico exerce papel de destaque. Elevações nos níveis séricos do colesterol total (CT), triglicérides (TG) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), associadas a baixas concentrações de lipoproteínas de alta densidade (HDL) favorecem o desenvolvimento da placa de ateroma⁽¹³⁾. Quando acompanhado de outros fatores de risco como a obesidade abdominal, resistência insulínica, HAS e inatividade física esse risco aumenta consideravelmente⁽²⁴⁾. Esses componentes associados elevam a sensibilidade do vaso a lesões subsequentes, dando início a um processo inflamatório com aumento da mobilização de macrófagos e neutrófilos, produção de citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, a interleucina (IL-6) e a proteína c-reativa (PCR). Com o aumento da resposta inflamatória, ocorre uma diminuição da vasodilatação e aumento do dano vascular⁽²⁵⁾.

O elegante estudo de *Framingham* realizado em 1948 foi o primeiro trabalho prospectivo a demonstrar o aumento do risco de desfechos cardiovasculares não favoráveis na presença de níveis elevados de CT e LDL⁽¹¹⁾. Em uma segunda análise após 12 anos de seguimento, a relação inversa entre as concentrações da HDL e o risco de desenvolvimento da doença arterial coronariana foi reforçada, mostrando ser uma variável protetora quando se discute os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da doença aterosclerótica⁽²⁶⁾. A partir daí, uma grande quantidade de trabalhos foram delineados e esta associação entre as alterações do perfil lipídico e o desenvolvimento da doença aterosclerótica foi estabelecida.

Atualmente, o manejo do risco cardiovascular resume-se em três metas: redução dos níveis de LDL, estratificação do risco para início do tratamento hipolipemiante e mudanças no estilo de vida^(27,28). Constituinte entre 60 a 70% do CT, a LDL é indicada como o principal marcador do perfil lipídico envolvido no processo aterosclerótico da doença arterial coronariana (DAC)^(11,12). Nesse contexto, a LDL é colocada como o principal alvo terapêutico quando níveis séricos dessa lipoproteína estiverem acima de 160 mg/dL⁽¹³⁾. Entretanto, quando se refere a indivíduos com DCV ou fatores de risco associados como diabetes ou até mesmo com aterosclerose diagnosticada, recomenda-se a manutenção dos valores basais de LDL < 100 mg/dL⁽¹²⁾.

Por ser um método reversível, o uso de COC é descrito como o método mais utilizado pela população feminina brasileira ($\pm 25\%$) para o planejamento familiar⁽²⁾. Após o início da sua utilização na década de 60, pesquisas têm sido realizadas a fim de acompanhar as repercussões metabólicas que este medicamento pode trazer a essa população⁽²⁹⁾. Evidências mostram forte associação entre o uso prolongado dos COC e o surgimento de alterações como, por exemplo, tromboembolismo venoso (TEV) e a HAS⁽⁵⁾. Sabe-se que as mulheres compartilham vários fatores de risco para o desenvolvimento da doença cardiovascular, sendo uma delas o perfil lipídico não favorável associado à inatividade física, além do uso continuado de COC^(30,31). No que diz respeito ao metabolismo lipídico, Petto et al.⁽³²⁾ mostraram valores elevados da lipemia pós-prandial de mulheres sedentárias em uso de COC quando comparadas as mulheres irregularmente ativas que utilizavam tais hormônios. Em outro estudo desses mesmos autores, foi identificado um valor de PCR (marcador inflamatório vascular) maior em mulheres sedentárias que faziam uso dessa terapia quando comparado a mulheres sedentárias que não a utilizavam⁽¹⁰⁾.

Outros trabalhos além de mostrarem essa associação entre o uso do COC e alterações do perfil lipídico⁽⁸⁾, mostram também evidências de que o seu uso pode contribuir também ao desenvolvimento de outros fatores de risco cardiovascular^(7,33). No estudo de Frempong et al.⁽⁷⁾ por exemplo, mulheres que utilizam COC apresentaram resistência insulínica e um pior desempenho no teste de tolerância a glicose quando comparadas ao grupo controle. Entretanto, o *The CARDIA Study* após uma análise prospectiva no qual acompanhou aproximadamente duas mil mulheres afro-americanas não encontrou esta associação⁽³³⁾.

Alguns trabalhos mostram alterações no metabolismo dos lípidos plasmáticos de mulheres jovens em uso de contraceptivos orais relacionadas às dosagens de estrogênio e de progesterona⁽³⁴⁻³⁶⁾. No entanto, a utilização dos contraceptivos de terceira geração predomina,

uma vez que há relatos de que estes, chamados também de baixas dosagens reduzem os possíveis efeitos adversos⁽³⁷⁾.

3.2 As subclasses de LDL

3.2.1 Mecanismos e Aterogenicidade

As moléculas de LDL presentes no plasma humano e produzidas no tecido hepático são compostas por aproximadamente 50% de colesterol (livre e esterificado), 20% de fosfolípidos, 25% de proteína (apolipoproteína B100) e apenas 5% de TG⁽³⁸⁾. Entretanto, é sabido que estas moléculas sofrem variações e apresentam-se como um heterogêneo grupo de partículas que podem alterar-se no conteúdo de colesterol presente, densidade, tamanho e até mesmo na sua significância clínica^(15,16,39,40). Estas moléculas podem ser classificadas em até sete subtipos diferentes dependendo do método laboratorial utilizado⁽¹⁴⁾. Devido a essa variedade de características observadas, os subtipos da LDL têm sido classificados em dois grupos: aquelas de maior tamanho e menor densidade denominada de fenótipo A (20,6 – 22,0 nm); e aquelas de tamanho menor e maior densidade denominadas de fenótipo B (19,0 – 20,5 nm)⁽⁴¹⁾.

Os mecanismos envolvidos que determinam a predominância de um subtipo em detrimento do outro são atribuídos a alterações metabólicas, mais especificamente a alterações de outras variáveis do perfil lipídico. Nesse contexto, as moléculas de TG são apontadas como o principal determinante do subtipo de LDL, além de influenciar concomitantemente no metabolismo da HDL⁽³⁹⁾. Na presença de altas concentrações de TG e, conseqüentemente da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), é observado um significativo aumento das atividades das enzimas proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) e a lecitina colesterol aciltransferase (LCAT)⁽⁴²⁾ (Figura 1). A CETP, especificamente, facilita a troca de TG das partículas de VLDL pelo colesterol presente nas LDL e HDL. O enriquecimento de TG nas moléculas de LDL e HDL faz com que haja uma sinalização e aumento da atividade da lipase hepática, resultando na diminuição do tamanho e acréscimo da proporção do conteúdo lipídico de ambas as lipoproteínas⁽⁴³⁾. Nessas condições, as moléculas de HDL são excretadas pelos rins, mecanismo conhecido como delipidação. Já as moléculas de LDL ficam circulantes, agora com o fenótipo alterado, ou seja, de menor tamanho e maior densidade⁽¹⁴⁾. O papel da CETP no processo de remodelação do LDL foi demonstrado em modelo animal

(macaco *rhesus*), onde o uso de anacetrapib, utilizado para inibir a CETP, promoveu redução significativa dos TG e consequente influência nas lipoproteínas plasmáticas⁽⁴⁴⁾.

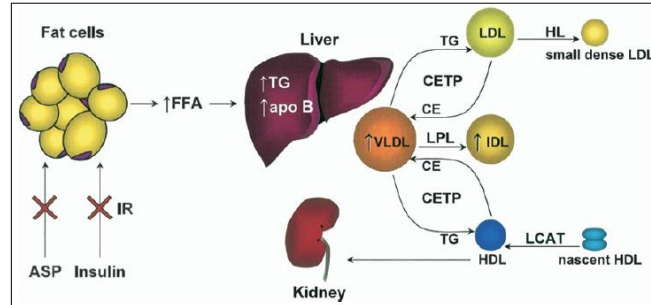


Figura 1. Mecanismos da produção da Tríade Dislipidêmica

Fonte: Mudd J. (2007)⁽¹⁴⁾

Baseado nas suas características morfológicas, além de uma permanência prolongada no plasma sanguíneo, as moléculas de LDL de fenótipo B possuem um maior poder aterogênico. Isso se dá ao fato de que estas partículas transpõem com maior facilidade a camada endotelial arterial⁽⁴¹⁾ (Figura 2). É sabido que esta migração ocorre secundariamente à lesão do endotélio, isto é, esta camada sofre alterações no que diz respeito à permeabilidade⁽⁴⁵⁾. Devido à presença de um maior conteúdo lipídico na LDL, há um aumento da atividade oxidativa por parte dos macrófagos, dando origem as células espumosas e estrias gordurosas⁽⁴⁶⁾.

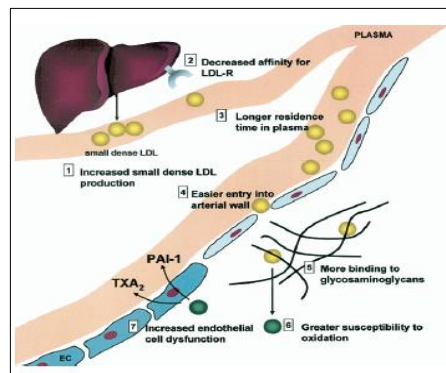


Figura 2. Mecanismos bioquímicos e celulares propostos da LDL pequena e densa

Fonte: Mudd J. (2007)⁽¹⁴⁾

3.2.2 Fenótipo B da LDL e risco cardiovascular

Baseado no entendimento dos mecanismos que explicam os diferentes fenótipos da molécula de LDL e suas diferenças no que diz respeito ao potencial aterogênico, trabalhos têm sido realizados a fim de verificar se realmente existe algum grau de relação destas moléculas com algum tipo de desfecho cardiovascular.

Já na década de 80, Crouse et al.⁽⁴⁷⁾ estudaram as diferenças moleculares da LDL em indivíduos diagnosticados com DAC, mostrando que havia uma predominância significativa de moléculas menores nesses indivíduos quando comparado ao grupo controle. De maneira semelhante, Campos et al.⁽⁴⁸⁾ (1992) ao avaliar 275 homens com DAC encontram uma prevalência de apenas 3% de moléculas grandes de LDL, ou seja, moléculas menos aterogênicas. Já no grupo controle esta proporção foi de 24%. Apesar das associações encontradas por esses dois estudos mostrarem uma inter-relação, o desenho metodológico empregado por ambos não permite estabelecer uma relação de causalidade, uma vez que se trata de estudos transversais.

Diante dessa limitação metodológica, Gardner et al.⁽¹⁵⁾, através do *Stanford Five City Project*, um dos primeiros estudos prospectivos sobre a temática, investigaram a associação entre a incidência de DAC fatal com o diâmetro de LDL circulante predominante. Na análise de regressão logística, o tamanho de LDL foi significativamente menor nos casos de DAC fatal, relacionando às partículas pequenas e densas de LDL, isto é, a LDL de fenótipo B, a um maior risco de morte por DAC. Entretanto, o tamanho da LDL parece não se apresentar como um preditor de risco independente, uma vez que esta associação desaparece após ajuste para TG⁽¹⁵⁾. Posteriormente, além de corroborar com estes achados utilizando o infarto do miocárdio como desfecho, Stampfer et al.⁽¹⁶⁾ mostraram que o diâmetro da LDL teve relação direta com o quantitativo de HDL ($r = 0,60$) e inversa ao de TG ($r = -0,71$), o que sugere uma relação de interdependência entre estas variáveis.

No que diz respeito ao sexo e idade, a predominância dos subtipos de LDL parece se manifestar de diferentes maneiras. McNamara et al.⁽³⁹⁾, utilizando dados do *Framingham Offspring Study*, encontraram predominância significativamente maior do fenótipo B da LDL nos homens quando comparado as mulheres (43,5% vs 14,8%, respectivamente). Entretanto, apesar de significativa, houve uma correlação fraca quando comparada a idade ($r = 0,2$). Na análise de regressão múltipla foi demonstrado que TG ($r = 0,76$) tem a maior contribuição na determinação do fenótipo da LDL, corroborando assim com trabalhos citados anteriormente.

O interesse no comportamento dessas variáveis com os mais diferentes desfechos só tem aumentado, principalmente quando se fala de alterações metabólicas sabidamente conhecidas como fatores de risco para a doença cardiovascular. Mora et al.⁽⁴⁹⁾ a fim de

entender quais variáveis do perfil lipídico poderiam prever diabetes tipo 2 em mulheres saudáveis a priori, realizaram um seguimento de aproximadamente 13 anos. Interessantemente, as partículas menores da LDL e HDL mostraram associação positiva com o desfecho, mesmo após ajuste para as demais variáveis. Isso explica a relação metabólica entre estas. Já Kulanuwat⁽⁵⁰⁾ investigaram a presença dessa tríade aterogênica em indivíduos tailandeses com diferentes graus de IMC. Após seleção de uma amostra composta por 68 indivíduos, as subclasses LDL-III e LDL-IV relacionadas ao fenótipo B predominaram significativamente nos indivíduos obesos comparados aos não obesos, o que corrobora com os resultados de Olofsson et al.⁽⁴⁰⁾. Curioso observar que, além de Olofsson et al.⁽⁴⁰⁾ utilizarem o método indireto para estimar o fenótipo B da LDL, isto é, a razão TG/HDL, o ponto de corte estabelecido foi de 1,9. As recomendações da ATP III reconhecem a sua importância, entretanto desencoraja o uso da mensuração direta devido ao alto custo e difícil disponibilidade. Deste modo, surge a ideia de utilizar a relação entre o quantitativo de TG e HDL com o objetivo de estimar a predominância do fenótipo da LDL devido a sua aterogenicidade e significância clínica.

3.2.3 Métodos Diagnósticos

É sabido que a classificação das subclasses de LDL é dependente do método diagnóstico. Dentre os métodos diretos que avaliam esta lipoproteína de maneira quantitativa e qualitativa, a ressonância nuclear magnética, a ultracentrifugação por gradiente de densidade e a eletroforese por gradiente gel são os métodos mais utilizados⁽⁵¹⁾. As suas principais características são descritas a seguir:

Eletroforese por Gradiente Gel: avalia o tamanho e forma molecular da lipoproteína, nas quais são classificadas em: partículas grandes (tipo A) com dimensões entre 26.35-28.5 nm; partículas intermediárias com 25.75-26.34 nm (tipo AB); e partículas pequenas com variação de 22.0-25.74 nm (tipo B).

Ultracentrifugação por Gradiente de Densidade: pode identificar e quantificar as moléculas de LDL no plasma em até quatro subclasses: LDL-I (grande e flutuante) com variações de densidade entre 1.019-1.023 g/ml; LDL-II (intermediária) com valores entre 1.024-1.034 g/ml; LDL-III (baixa densidade) com valores entre 1.034-1.044 g/ml; e LDL-IV (muita baixa densidade) com densidades entre 1.044-1.060 g/ml⁽⁵⁰⁾.

Ressonância Nuclear Magnética: através da espectroscopia, técnica na qual utiliza uma onda magnética emitida pela molécula em estudo, a RNM consegue determinar

conjuntamente o tamanho molecular e o quantitativo do conteúdo lipídico presente na lipoproteína^(51,52). Baseado nessas características, as subclasses da LDL tem sido classificadas em dois fenótipos diferentes, (1) aquelas de tamanho maior e menor densidade denominada de fenótipo A (tamanho entre 20,6 e 22,0 nm), e (2) aquelas de menor tamanho e maior densidade denominadas de fenótipo B (tamanho médio entre 19,0 e 20,5). Este método de análise direta tem sido descrito como o padrão ouro no que diz respeito a investigação dos subtipos de lipoproteínas.

3.3 Razão triglicérides/HDL e o risco cardiovascular

Baseado nos mecanismos envolvidos no que dizem respeito ao metabolismo lipídico, alguns trabalhos têm sido realizados com diferentes populações a fim de entender a força da razão TG/HDL em prever os subtipos da LDL^(19,52,53). No intuito de facilitar a interpretação, a classificação entre fenótipos A e B tem predominado na grande maioria dos trabalhos^(51,54). Entretanto, ainda não está bem estabelecido o ponto de corte da razão que se deve adotar para categorizar os diferentes fenótipos, apesar de já haver uma utilização do valor de 3,8 em grande parte das investigações.

Com o objetivo de avaliar a acurácia desta razão, Hanak et al.⁽¹⁹⁾ limitou o valor de TG/HDL em 3,8, isto é, acima desse valor prediz predominância do fenótipo B. Este foi baseado nos valores de normalidade recomendados pela ATP III para ambas as variáveis, ou seja, TG < 150 mg/dL e HDL > 40 mg/dL. Na comparação dessas categorias com o método direto (ressonância nuclear magnética), o valor preditivo positivo e negativo para os indivíduos de ambos os sexos foi de 78% e 81%, respectivamente ($r = 0,7$). Especificamente nas mulheres, o valor preditivo negativo chegou a 90%. Em estudo semelhante, Bhalodkar et al.⁽²⁰⁾ avaliaram esta razão baseado no mesmo ponto de corte em 146 indivíduos indianos relativamente saudáveis. Homens e mulheres tiveram concentrações similares de LDL na análise geral. Entretanto, homens apresentaram significativamente menores partículas de LDL e aumento da prevalência do fenótipo B, corroborando com aos achados de McNamara et al.⁽³⁹⁾. Mais recentemente, Toé et al.⁽⁵⁵⁾ (2017) avaliaram diferentes valores de razão em uma população com amplo espectro de risco cardiovascular. Surpreendentemente, ao comparar com o grupo que possuía razão menor que 3,5, o grupo com índices acima de 5,0 apresentou uma razão de chance de aproximadamente 50 vezes de possuir o fenótipo B da LDL⁽⁵⁵⁾. Deste modo, percebe-se que esta razão pode ser uma importante ferramenta no acompanhamento clínico.

Em relação a capacidade de prever desfechos clínicos, alguns trabalhos têm mostrado significativas associações. Da Luz et al.⁽⁵⁶⁾ buscou investigar a relação entre a razão TG/HDL e a extensão da doença coronariana em 374 pacientes (média de idade 57 anos). A extensão da DAC teve relação direta com os quartis da razão. Na regressão logística, os valores de LDL e TG/HDL explicaram a extensão da doença em 22% e 30%, respectivamente. Interessantemente, não houve diferença significativa entre os valores de LDL e a extensão da doença coronariana na análise univariada baseada nos quartis. Em mulheres especificamente, estes dados corroboram com o estudo WISE, onde mostrou essa relação dos quartis da razão com eventos cardiovasculares e mortes de 544 mulheres. Nesse estudo a razão se apresentou como preditor independente de mortalidade quando ajustado para idade, raça, tabagismo, hipertensão, diabetes, e severidade da doença arterial coronariana⁽⁵³⁾. Em outro estudo de seguimento realizado com mulheres com síndrome coronariana aguda após a revascularização do miocárdio, essa associação aconteceu. Quando comparado ao tercil de menor valor, o maior tercil mostrou uma chance de morte maior de mais de 5 vezes⁽⁵⁷⁾. Curioso que esta associação tem se confirmado em até mesmo outras populações, como por exemplo, alcoolistas crônicos⁽⁵⁸⁾.

Um considerável quantitativo de evidências tem mostrado importante relação entre a razão e outras variáveis de risco para o desenvolvimento da doença cardiovascular. É sugerido que quando acima de 1,9, a razão TG/HDL já indica indivíduos com presença de resistência insulínica⁽⁵⁹⁾. Salazar et al.⁽⁵⁹⁾ ao utilizar o valor da razão de 2,5 como ponto de corte para o diagnóstico de resistência insulínica de mulheres, encontrou uma sensibilidade e especificidade de aproximadamente 40% e 80%, respectivamente. Curioso que o ponto de corte de 2,5 da razão apresenta a acurácia semelhante quando utilizado os critérios usuais para a caracterização da resistência insulínica e síndrome metabólica, confirmando assim a relação direta da razão TG/HDL com o aumento do risco de desenvolvimento da DCV⁽⁶⁰⁾. Bertsch et al.⁽⁶¹⁾ identificaram que a incidência de doença cardíaca isquêmica foi significativamente maior em pacientes com resistência insulínica, esta classificada através da razão TG/HDL.

Assim, percebe-se que a razão de TG/HDL está diretamente relacionada às alterações metabólicas, dentre elas a alteração do fenótipo da LDL bem como a predição da presença de resistência insulínica, variáveis conhecidas por aumentar a chance de ocorrer desfechos cardiovasculares não favoráveis.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

A pesquisa se caracteriza como um estudo analítico observacional de corte transversal. O uso do COC foi definido como variável preditora e a razão TG/HDL foi definida como variável desfecho.

4.2 População, critérios de inclusão e exclusão

A população do estudo foi composta por mulheres com as seguintes características: idade entre 18 e 30 anos, irregularmente ativas, eutróficas, com circunferência de cintura < 80 cm, glicemia < 100 mg/dL e triglicérides de jejum < 200 mg/dL, em uso ou não de COC. Todas as participantes eram discentes de uma faculdade privada localizada na cidade de Salvador, BA – Brasil.

A amostra foi estratificada em dois grupos: 1) grupo contraceptivo (GCO) composto por voluntárias em uso contínuo de COC de baixa dosagem de etinilestradiol (15 – 30 mcg) por um período mínimo de um ano; 2) grupo sem contraceptivo (GSCO) composto por mulheres que não utilizavam qualquer método contraceptivo hormonal por pelo menos um ano. Para classificação em irregularmente ativas foi utilizado o Questionário Internacional de Atividade Física (versão curta) (ANEXO I), desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde e pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças Norte-Americano (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*)⁽⁶²⁾. O **Quadro 1** apresenta os níveis de atividade física, bem como, suas respectivas descrições.

Quadro 1. Classificação do nível de atividade física segundo o IPAQ – versão longa.

NÍVEL	DESCRIÇÃO
Muito ativo	Aquele que cumpriu as recomendações de: a) VIGOROSA: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 minutos por sessão b) VIGOROSA: ≥ 3 dias/sem e ≥ 20 minutos por sessão + MODERADA e/ou CAMINHADA: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 minutos por sessão.
Ativo	Aquele que cumpriu as recomendações de: a) VIGOROSA: ≥ 3 dias/sem e ≥ 20 minutos por sessão; ou b) MODERADA ou CAMINHADA: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 minutos por sessão; ou c) Qualquer atividade somada: ≥ 5 dias/sem e ≥ 150 minutos/sem (caminhada + moderada + vigorosa).
Irregularmente ativo A	Aquele que atinge pelo menos um dos critérios da recomendação quanto à frequência ou quanto à duração da atividade: a) Frequência: 5 dias /semana ou b) Duração: 150 min / semana.
Irregularmente ativo B	Aquele que não atingiu nenhum dos critérios da recomendação quanto à frequência nem quanto à duração.
Sedentário	Aquele que não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

Foram excluídas as mulheres com dislipidemias (diagnosticadas e/ou em tratamento), com síndrome do ovário policístico, disfunção hepática, diabetes, hipo ou hipertireoidismo, doenças renais, dieta hipo ou hiperlipídica, histórico de etilismo e tabagismo, em uso de hipolipemiantes, corticóides, diuréticos ou beta-bloqueadores. Excluídas também, aquelas que na avaliação física apresentaram valores da pressão arterial (PA) $\geq 140/90$ mmHg.

4.3 Protocolo de avaliação físico-clínica

As voluntárias foram submetidas a um questionário padrão e exame físico com o objetivo de coletar informações gerais sobre as características da amostra (APÊNDICE I). O exame físico foi composto por medidas da PA em repouso, massa corporal total e estatura. Para a aferição da PA foram seguidas as recomendações da *American Heart Association*, sendo utilizado um tensiômetro para adulto médio devidamente calibrado pelo Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO) e um estetoscópio *duo-sonic*. A medida da estatura foi realizada com os sujeitos descalços e com os glúteos e ombros apoiados em encosto vertical, através de um estadiômetro profissional com precisão de 0,1 cm. A massa corporal total foi mensurada com balança digital de capacidade máxima de 150kg, aferida pelo INMETRO, com certificado próprio especificando margem de erro de ± 100 g. Para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC) foram utilizadas as medidas de massa e estatura, de acordo com a

equação de Quetelet: $IMC = \text{massa (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$. Para classificação em eutróficas (18,5 – 24,9 kg/m^2) foram adotados os pontos de corte preconizados pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose⁽¹³⁾.

4.4 Protocolo de coleta laboratorial

Após apresentarem os critérios pré-estabelecidos, as voluntárias foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica, localizado na cidade de Salvador, para a realização das coletas das amostras sanguíneas. Após um jejum de 12h, foi realizada uma única coleta sanguínea (10 ml) onde foram dosados os seguintes analitos: triglicérides (TG), colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e glicemia.

A avaliação do CT, HDL e TG se deram por método enzimático. A LDL foi calculada pela fórmula de Friedewald⁽⁶³⁾ e o colesterol não HDL foi calculado pela diferença entre colesterol total e HDL. Os valores da razão entre TG/HDL foram obtidos a partir destes analitos pré-estabelecidos. Já para a análise da glicemia foi utilizado o sistema de química clínica *Dade Behring-Dimension*, teste diagnóstico in vitro destinado à determinação quantitativa da glicose plasmática.

As voluntárias foram orientadas a não alterarem sua dieta na semana do teste e a não praticarem nenhum esforço físico diferente do habitual, bem como a não ingerirem bebidas alcoólicas nas 24 horas anteriores a coleta. As coletas foram realizadas entre o quinto e o décimo dia do ciclo menstrual, considerando as menores flutuações hormonais, e/ou no 28º dia sem medicação (fase inativa) conforme recomendado por Casazza GA et al.⁽⁶⁴⁾ para que não houvesse influência do período menstrual no valor das variáveis sanguíneas analisadas.

4.5 Aspectos éticos

Durante todo o estudo foram observadas as diretrizes sobre a pesquisa com seres humanos da Declaração de Helsinque e da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Nobre de Feira de Santana – CAAE: 79549517.3.0000.5654. Todas as participantes receberam detalhadamente as informações sobre os objetivos do estudo, riscos e benefícios envolvidos nos procedimentos e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram

preenchidas duas vias, ficando uma em posse das participantes e a outra com os pesquisadores (APÊNDICE II).

5 ESTATÍSTICA

5.1 Hipótese nula

Não existe diferença entre os valores da razão TG/HDL entre mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral combinado.

5.2 Hipótese Alternativa

Existe diferença entre os valores da razão TG/HDL entre mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral combinado.

5.3 Cálculo de tamanho amostral

O cálculo amostral foi realizado no WinPepi, onde foi considerado uma diferença entre as médias de 0,4 e desvio padrão de 0,6, ambos extraídos de um estudo piloto prévio. Foi considerado um alfa de 5% e um beta de 80%, no qual foi necessário um total de 37 voluntárias para cada grupo.

5.4 Análise dos dados

Inicialmente, para verificação da distribuição dos dados foram aplicados os testes de simetria e curtose, o teste de *Shapiro-Wilk*, além da inspeção visual dos histogramas. Uma vez que todas aquelas variáveis de interesse no estudo apresentaram distribuição normal, estas foram descritas em média e desvio padrão.

Assim, foi utilizado o teste *t* de *Student* para amostras independentes para comparação das médias. Para o cálculo do tamanho do efeito foi utilizado o escore *d* de Choen para amostras independentes⁽⁶⁵⁾. Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 21.0, adotando-se um nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

Foi avaliado um total de 106 mulheres, 52 no GCO. As variáveis clínicas e antropométricas de ambos os grupos estão descritas na **Tabela 1**. Percebe-se que não houve significância estatística no teste de hipótese, o que denota uma homogeneidade dessas características entre os grupos estudados.

Tabela 1. Variáveis clínicas e antropométricas da população estudada.

	GCO (média ± DP)	GSCO (média ± DP)	valor de p*
Idade (anos)	23 (± 2,5)	23 (± 2,5)	0,36
IMC (kg/m ²)	22 (± 2,3)	21 (± 3,2)	0,07
PAS (mmHg)	109 (± 11, 6)	106 (± 8,5)	0,33
PAD (mmHg)	70 (± 8,4)	68 (7,9)	0,54
Glicemia	82 (± 6,1)	84 (± 7,3)	0,23
Tempo de uso do COC (anos)	4,1 (± 2,1)	-	-

COC – contraceptivo oral combinado; GCO – grupo contraceptivo; GSCO – grupo sem contraceptivo; IMC – índice de massa corpórea; PAS – pressão arterial sistólica; PAD – pressão arterial diastólica; DP – desvio padrão.

*Teste *t* de *Student* para amostras independentes.

Já a **Tabela 2** mostra o perfil lipídico de jejum de ambos os grupos. Interessante observar que para todas as variáveis analisadas o GCO apresentou médias maiores com significado estatístico, inclusive aquelas envolvidas no cálculo da razão TG/HDL.

Tabela 2. Perfil lipídico de jejum (mg/dL) da amostra estudada.

	GCO (média ± DP)	GSCO (média ± DP)	valor de p*
TG	104 (± 33,9)	53 (± 14,7)	< 0,01
HDL	54 (± 12,6)	50 (± 11,1)	0,04
CT	204 (± 41,3)	170 (± 35,3)	< 0,01
LDL	128 (± 36,4)	108 (33,9)	< 0,01
VLDL	18 (± 4,9)	10 (± 3,1)	< 0,01

GCO – grupo contraceptivo; GSCO – grupo sem contraceptivo; TG – triglicérides; CT – colesterol total; HDL - *high density lipoprotein*; LDL – *low density lipoprotein*; VLDL – *very low density lipoprotein*; DP – desvio padrão

*Teste *t* de *Student* para amostras independentes

Na **Tabela 3** está descrito a comparação intergrupos dos valores de razão TG/HDL. Observa-se que o grupo que utiliza o COC apresenta um valor estatisticamente maior no teste aplicado.

Tabela 3. Razão TG/HDL entre os grupos estudados.

	GCO (média ± DP)	GSCO (média ± DP)	valor de p*	TDE**
Razão TG/HDL	2,1 (± 0,8)	1,1 (± 0,5)	< 0,01	1,5

GCO – grupo contraceptivo; GSCO – grupo sem contraceptivo; TG – triglicérides; HDL - *high density lipoprotein*; DP – desvio padrão; IC – intervalo de confiança; TDE – tamanho do efeito.

*Teste *t* de *Student* para amostras independentes

** Escore *d* de Choen para amostras independentes.

7 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram que o uso continuado de contraceptivos orais combinados (COC) de baixa dosagem está fortemente associado à elevação nos índices da razão TG/HDL. Isto sugere que, além das alterações metabólicas que parecem ocorrer nessa população quando analisadas quantitativamente, aspectos qualitativos das variáveis envolvidas também parecem mudar. Apesar do desenho desse estudo não permitir estabelecer uma relação de causalidade entre o uso do medicamento contraceptivo e alterações no perfil lipídico de maneira geral, algumas investigações já realizadas apontam para este caminho^(7,8,18).

Algumas são as hipóteses que tentam explicar os possíveis mecanismos envolvidos nas alterações do perfil lipídico que esta população específica apresenta. Está bem documentado que na presença de resistência insulínica, um dos critérios para o diagnóstico da síndrome metabólica, mudanças do perfil lipídico ocorrem^(7,66). Sujeitos que possuem predominância do LDL de fenótipo B tem duas vezes mais chances de desenvolver diabetes do tipo 2, independente da idade, sexo e o índice de massa corpórea⁽¹⁷⁾. Mas o que explica esta inter-relação? O bloqueio da ação insulínica na célula adiposa resulta na elevação de quilomícrons remanescentes e ácidos graxos livres plasmáticos. Isto leva a um aumento da atividade celular hepática e repercussão negativa no quantitativo do conteúdo lipídico e qualidade das lipoproteínas^(14,66). Responsável em promover a deposição dos TG nas lipoproteínas, a proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) é elemento determinante nessa rota metabólica. Pietzsch e Fuecker⁽⁶⁷⁾ identificaram um aumento da atividade da CETP em indivíduos com resistência insulínica em comparação aos normoglicêmicos. Já no trabalho de Frempong et al.⁽⁷⁾ foi identificado um pior desempenho no teste de tolerância a glicose de mulheres afro-americanas em uso contraceptivos orais de baixa dosagem quando comparadas àquelas que não faziam uso destes hormônios. Curiosamente, não houve diferença no quantitativo da LDL sérica entre os grupos estudados. As diferenças identificadas apenas foram os maiores valores de TG e HDL presentes no grupo contraceptivo. Esse achado reforça a ideia de que, muito provavelmente, a LDL do grupo que fazia uso do contraceptivo possuía um fenótipo mais aterogênico.

Ainda, parece que estas alterações tem estrita relação com as dosagens de estrogênio e progestina na composição do contraceptivo⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾. Aventa-se a ideia de que a exposição crônica a estes hormônios leva a alterações enzimáticas e endócrinas que repercute no metabolismo lipídico⁽⁷¹⁾.

É sabido que o tamanho da LDL é determinado por um componente genético em aproximadamente 35%⁽⁷²⁾. Entretanto, fatores ambientais como adiposidade abdominal e dieta rica em carboidratos podem influenciar o perfil da LDL^(73,74). No presente estudo foram incluídas apenas mulheres com circunferência abdominal < 80 cm e eutróficas, o que afasta este viés metodológico. Embora não tenha ocorrido um adequado controle da dieta, as voluntárias de ambos os grupos não praticavam atividades físicas regulares e pertenciam ao mesmo contexto social, o caracteriza uma determinada homogeneidade entre os grupos.

A razão TG/HDL tem sido descrita como um importante preditor de risco cardiovascular em diferentes populações^(53,56,57). Especificamente em mulheres, este índice foi um preditor independente de mortalidade após ajuste para os demais fatores de risco já conhecidos⁽⁵³⁾. Apesar de não haver consenso a respeito de um ponto de corte específico, Hanak et al.⁽¹⁹⁾ identificaram que 89% das mulheres com índice acima de 3.8 possuíam predominância da LDL de fenótipo B, ou seja, com maior poder aterogênico. Este ponto de corte estabelecido pelos autores foi baseado nos valores máximos e mínimos de TG e HDL respectivamente, ou seja, os valores desejáveis. Interessante observar que nos resultados aqui encontrados, mesmo a razão de ambos os grupos estarem bem abaixo do valor de 3.8, o grupo de mulheres que fazem uso do COC apresenta médias significativamente maiores ao grupo controle. Dessa forma, parece que o uso continuado dessa substância resulta em alterações metabólicas, entre elas o perfil da LDL. De fato, Graaf et al.⁽¹⁸⁾ através da ultracentrifugação por densidade mostraram uma associação positiva entre o uso do COC e o predomínio de frações da LDL de menor tamanho e de maior densidade em mulheres pré-menopáusicas. Estes achados corroboram com o aqui encontrado, já que estes autores utilizaram um método de quantificação direta dos subtipos da LDL. Porém, será que mesmo apresentando uma razão maior que o grupo controle, esse índice tem algum significado clínico, uma vez que ele ainda se encontra abaixo de 3.8?

Algumas investigações tem mostrado que pacientes coronariopatas apresentam LDL sérico dentro dos valores de normalidade^(48,75-77). Sachdeva et al.⁽⁷⁷⁾ identificaram que aproximadamente 75% dos pacientes hospitalizados com DAC estavam com os níveis de LDL absolutamente normais, o que chama bastante atenção. Mas o que explica tal achado? Uma hipótese coerente de se pensar é que para estes indivíduos haveria um predomínio do subtipo B da LDL. Assim, mesmo que os níveis de LDL estejam dentro da normalidade, talvez, a principal contribuição referente ao perfil lipídico para o aumento do risco cardiovascular se dá devido à predominância do subtipo mais aterogênico desta lipoproteína. Tornvall et al.⁽⁷⁵⁾ mostraram uma associação positiva entre a LDL de subtipo B em pacientes

que sofreram infarto do miocárdio. Porém, não houve diferença entre os valores de TG e LDL entre estes e o grupo controle. De maneira semelhante, Campos et al.⁽⁴⁸⁾ identificaram valores significativamente maiores de TG em pacientes com DAC quando comparados ao controle, porém sem diferença significativa da LDL. Desta forma, parece que a razão TG/HDL oferece uma informação adicional a respeito do risco aterogênico da LDL, o que sugere ser um interessante marcador durante o acompanhamento clínico de mulheres que utilizam o COC.

Questionamentos são levantados a cerca da acurácia deste índice. Dentre os métodos utilizados para quantificação direta dos subtipos da LDL, a ressonância nuclear magnética (RNM) é descrita como padrão ouro devido a sua capacidade de mensurar tanto o tamanho da lipoproteína, como a concentração do seu conteúdo lipídico⁽⁵²⁾. Assim, alguns pesquisadores têm avaliado o nível de concordância entre a razão TG/HDL e a RNM no que diz respeito à predição do fenótipo B da LDL. Utilizando o valor de 3,8 como ponto de corte, Bhalodkar et al.⁽²⁰⁾ encontraram um valor preditivo positivo e negativo de 83% e 89%, respectivamente. Em outra investigação de mesmo objetivo, essa razão foi descrita com uma acurácia de 70% para tal finalidade⁽¹⁹⁾. Entretanto, trabalhos sugerem que mesmo diante de um valor de razão TG/HDL menor, mulheres já mostram um perfil cardiometabólico de elevado risco. Isso pôde ser observado no estudo de Salazar et al.⁽⁷⁸⁾ no qual revelou que índices $\geq 2,5$ já apresentam uma associação positiva com o aumento da insulina de jejum e HOMA-IR, diferente dos homens no qual esse valor foi $\geq 3,5$ ⁽⁷⁸⁾. Interessantemente, ambos os valores utilizados conjuntamente tiveram exatamente a mesma acurácia (0,69) em predizer presença de resistência insulínica quando comparada aos critérios do diagnóstico da síndrome metabólica⁵⁹. Já após um seguimento de 8 anos dessa população, àqueles que possuíam maior razão apresentaram algum evento cardiovascular (fatal ou não), sendo pior naqueles que eram hipertensos⁵⁸. Esta inter-relação reforça a ideia de que alterações fenotípicas negativas da LDL ocorram uma vez que a resistência insulínica é fator desencadeante nesse mecanismo.

Devido a variabilidade da população estudada pelas diferentes pesquisas, ainda não há um consenso sobre qual índice deve ser adotado no contexto clínico. Entretanto, fica claro que quanto maior este índice, maior a probabilidade da LDL de fenótipo B predominar, e que quando associado a outros fatores, a chance de eventos cardiovasculares ocorrem aumentam. No que diz respeito a mulheres em uso continuado de COC, parece haver uma estrita relação entre o tempo de uso do medicamento e alterações no perfil lipídico⁽⁸⁾. Barry et al.⁽⁸⁾ realizaram uma análise de subgrupo no seu estudo no qual identificaram uma relação direta entre o tempo de uso do COC e os níveis séricos de TG, HDL, VLDL, porém uma relação

inversa entre esta variável e o quantitativo de LDL, o que conseqüentemente irá repercutir na razão TG/HDL.

8 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Para uma adequada interpretação dos resultados encontrados no presente trabalho, algumas limitações devem ser esclarecidas. Apesar de haver um considerável número de investigações que mostram uma associação entre o uso continuado do COC e alterações metabólicas, o delineamento aqui empregado não permite estabelecer uma relação de causalidade entre as variáveis preditora e desfecho estudadas. Outro ponto importante é em relação a alguns critérios não controlados e que podem notadamente terem influenciado no resultado final, como por exemplo, o controle dietético e a não estratificação do tipo do COC. Mesmo sabendo que as voluntárias fazem parte do mesmo contexto social e que estas não estavam sob nenhum regime alimentar específico, a ausência de um inquérito alimentar aumenta a incerteza do quão esta variável pode ter influenciado nos parâmetros avaliados. Para isso, se faz necessário um estudo de seguimento com o adequado controle desta variável. Já em relação aos tipos de COC, é sabido que mesmo limitando o trabalho aos medicamentos de terceira geração, o componente progestagênico apresenta-se de diferentes tipos e dosagens nas formulações. Desse modo, avanta-se a ideia de que isto poderia influenciar o metabolismo lipídico em graus diferentes. Realizar uma análise considerando as diferentes formulações deste medicamento poderia anular este viés.

9 CONCLUSÕES

O uso continuado de COC de baixa dosagem está associado a alterações do perfil lipídico de mulheres jovens, o que resulta em elevação na razão TG/HDL. Isto sugere que esta população possui alterações metabólicas, o que pode promover mudanças no fenótipo da LDL e, por consequência, elevar o risco cardiovascular.

REFERÊNCIAS

1. Alkema L, Kantorova V, Menozzi C, Biddlecom A. National, regional, and global rates and trends in contraceptive prevalence and unmet need for family planning between 1990 and 2015: A systematic and comprehensive analysis. *Lancet* 2013;381(9878):1642–52.
2. Brasil. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher: PNDS 2006: Dimensões do Processo Reprodutivo e da Saúde da Criança. 2009.
3. Costa JSD Da, D’Elia PB, Moreira MR. Prevalência de uso de métodos contraceptivos e adequação do uso de anticoncepcionais orais na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saude Publica* 1996;12(3):339–44.
4. Farias MR, Leite SN, Tavares NUL, Oliveira MA, Arrais PSD, Bertoldi AD, et al. Utilização e acesso a contraceptivos orais e injetáveis no Brasil. *Rev. Saude Publica* 2016;50(2).
5. Brito MB, Nobre F, Vieira CS. Contracepção hormonal e sistema cardiovascular. *Sociedade Brasileira de Cardiologia* 2010;96(4):e81–9.
6. WHO. Medical Eligibility criteria for Contraceptive Use. 2015;1–276.
7. Frempong B a, Ricks M, Sen S, Sumner AE. Effect of low-dose oral contraceptives on metabolic risk factors in African-American women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008;93(6):2097–103.
8. Abdel-Barry JA, Flaf MS, Al-Namaa LM, Hassan NA. Lipoprotein changes in women taking low-dose combined oral contraceptive pills: A cross-sectional study in Basra, Iraq. *East. Mediterr. Heal. J.* 2011;17(9):684–8.
9. Harvey RE, Hart EC, Charkoudian N, Curry TB, Carter JR, Fu Q, et al. Oral Contraceptive Use, Muscle Sympathetic Nerve Activity, and Systemic Hemodynamics in Young Women. *Hypertension* 2015;66(3):590–7.
10. Petto J, Pereira LS, Santos ACN, Giesta BA, Melo TA LA. Inflamação Subclínica em Mulheres que Utilizam Contraceptivo Oral. *Rev. Bras. Cardiol.* 2013;26(6):465–71.
11. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, Mcnamara PM. Serum Cholesterol, Lipoproteins, and the Risk of Coronary Heart Disease The Framingham Study. *Ann. Intern. Med.* JANUARY 1971;74(1):1–12.
12. Services. UD of H and H. 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): final report. *Public Natl. Cholest. Educ. Program, Natl. Hear. Lung, Blood Institute, Natl. Institutes Heal.* 2002;5215(02).
13. SBC SB de C. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* 2013;101(4Supl.):1–22.

14. Mudd JO, Borlaug BA, Johnston P V., Kral BG, Rouf R, Blumenthal RS, et al. Beyond Low-Density Lipoprotein Cholesterol. Defining the Role of Low-Density Lipoprotein Heterogeneity in Coronary Artery Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50(18):1735–41.
15. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *Jama* 1996;276(11):875–81.
16. Stampfer MJ. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* 1996;276(11):882–8.
17. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Newman B, Krauss RM. Inheritance of low-density lipoprotein subclass patterns: results of complex segregation analysis. *Am. J. Hum. Genet.* 1988;43(6):838–46.
18. Graaf J, Swinkels DW, Demacker PNM, Haan AFJ SA. Differences in the Low Density Lipoprotein Profile between Oral- Contraceptive Users. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993;76(1):197–202.
19. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A, Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am. J. Cardiol.* 2004;94(2):219–22.
20. Bhalodkar NC, Blum S, Enas EA. Accuracy of the ratio of triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol for predicting low-density lipoprotein cholesterol particle sizes, phenotype B, and particle concentrations among Asian Indians. *Am. J. Cardiol.* 2006;97(7):1007–9.
21. World Health Organization. What can I do to avoid a heart attack or a stroke? [Internet]. 2012; Available from: <http://www.who.int/features/qa/27/en/>
22. Ribeiro AG, Cotta RMM, Ribeiro S. A Promoção da Saúde e a Prevenção Integrada dos Fatores de Risco para Doenças Cardiovasculares The Promotion of Health and Integrated Prevention of Risk Factors for Cardiovascular Diseases. *Ciênc saúde coletiva* 2012;17(1):7–17.
23. Nobre F, Sp A, Saad CI, Sp R, Marcelo D, Giorgi A, et al. VI Diretrizes Brasileiras. VI Diretrizes Bras. Hipertens. - Soc. Bras. Cardiol. 2010;95:1–51.
24. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case control study. *Lancet* 2004;364(9438):937–52.
25. Teixeira BC, Lopes AL, Macedo RCO, Correa CS, Ramis TR, Ribeiro JL, et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. *J. Vasc. Bras.* 2014;13(2):108–15.
26. Castelli WP. Incidence of Coronary Heart Disease and Lipoprotein Cholesterol Levels. *Jama* 1986;256(20):2835.

27. Perk J, Backer G De, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WMM, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2012;19(4):585–667.
28. Bejanaro JML, Galve E, Royo-Bordonada MA, Ezquerro EA, Armario P, Cuixart CB et al. Posicionamiento del Comité Español interdisciplinario de prevención cardiovascular y la Sociedad Española de Cardiología en el tratamiento de las dislipidemias. Divergencia entre las Guías Europeas y Estadounidenses. *Rev Esp Salud Publica* 2015;89(1):15–26.
29. Baillargeon JP, McClish 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.* 2005;90(7):3863–70.
30. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *Jama* 2002;288(1):49–57.
31. Writing Group for the Womens Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women. *Jama* 2002;288(3):321–33.
32. Petto J, Monique L, Vasques R, Pinheiro RL, Giesta BDA, Carlos A, et al. Comparação da Lipemia Pós-Prandial de Mulheres que Utilizam e Não Utilizam Contraceptivo Oral. *Arq Bras Cardiol* 2014;1–6.
33. Kim C, Siscovick DS, Sidney S, Lewis CE, Kiefe CI KT. Oral Contraceptive Use and Association With Glucose, Insulin, and Diabetes. *Diabetes Care* 2002;25(6):1027–32.
34. Boffelli D, Zajchowski DA, Yang Z, Lawn RM. Estrogen modulation of apolipoprotein(a) expression: Identification of a regulatory element. *J. Biol. Chem.* 1999;274(22):15569–74.
35. Cai A, Li L, Zhang Y, Mo Y, Mai W, Zhou Y. Lipoprotein(a): A promising marker for residual cardiovascular risk assessment. *Dis. Markers* 2013;35(5):551–9.
36. Silveira CO, Mendes SSM, Dias JA, Ferreira MCF, De Pinho Cunha Paiva S. Contracepção em mulheres com condições clínicas especiais. Critérios médicos e elegibilidade. *Reprod. e Clim.* 2014;29(1):13–20.
37. Rosenberg L, Palmer JR, Sands MI, Grimes D, Bergman U, Daling J, et al. Modern oral contraceptives and cardiovascular disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997;177(3):707–15.
38. Yang CY, Chen SH, Gianturco SH, Bradley WA, Sparrow JT, Tanimura M, et al. Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoprotein B-100. *Nature* 1986;323(6090):738–42.

39. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW SE. Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution: Results from the Framingham Offspring Study. *Journal Am. Hear. Assoc.* 1987;7:483–90.
40. Eeg-Olofsson K, Gudbjörnsdottir S, Eliasson B, Zethelius B, Cederholm J. The triglycerides-to-HDL-cholesterol ratio and cardiovascular disease risk in obese patients with type 2 diabetes: An observational study from the Swedish National Diabetes Register (NDR). *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2014;106(1):136–44.
41. Berneis K, Rizzo M. LDL size: does it matter? *Swiss Med. Wkly.* 2004;134(49–50):720–4.
42. Besler C, Lüscher TF, Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of High-density lipoprotein: Alterations in cardiovascular disease. *EMBO Mol. Med.* 2012;4(4):251–68.
43. Deckelbaum RJ, Granot E, Oschry Y, Rose L, Eisenberg S. Plasma triglyceride determines structure-composition in low and high density lipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1984;4(3):225–31.
44. McLaren DG, Previs SF, Phair RD, Stout SJ, Xie D, Chen Y, et al. Evaluation of Cholesteryl Ester Transfer Protein Activity. 2015;1–35.
45. Gottlieb M, Bonardi G, Moriguchi E. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. *Sci. Med. (Porto. Alegre).* 2005;15:203–7.
46. Moore KJ, Tabas I. The Cellular Biology of Macrophages in Atherosclerosis. *Cell* 2011;145(3):341–55.
47. Crouse JR, Parks JS, Schey HM, Kahl FR. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. *J. Lipid Res.* 1985;26:566–74.
48. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, McNamara JR, Jenner JL, Ordovas JM, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1992;12(2):187–95.
49. Mora S, Otvos J, Rosenson R, Pradhan A, Buring J, Ridker P. Lipoprotein particle size and concentration by nuclear magnetic resonance and incident type 2 diabetes in women. *Diabetes* 2010;59(5):1153.
50. Kulanuwat S, Tungtrongchitr R, Billington D, Davies IG. Prevalence of plasma small dense LDL is increased in obesity in a Thai population. *Lipids Health Dis.* 2015;14:30.
51. Ensign W, Hill N, Heward CB. Disparate LDL phenotypic classification among 4 different methods assessing LDL particle characteristics. *Clin. Chem.* 2006;52(9):1722–7.
52. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin. Chem.* 1991;37(3):377–86.

53. Bittner V, Johnson BD, Zineh I, Rogers WJ, Vido D, Marroquin OC, et al. The TG/HDL Cholesterol Ratio Predicts All Cause Mortality in Women With Suspected Myocardial Ischemia A Report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Am Hear. J.* 2009;157(3):548–55.
54. King RI, Florkowski CM, Yeo J, Walmsley TA, Shand BI, Scott RS, et al. What is the best predictor of the atherogenic LDL subclass phenotype “pattern B” in patients with type 2 diabetes mellitus? *Ann. Clin. Biochem.* 2011;48(2):166–9.
55. Toé TD. Razão Triglicérideos/HDL-Colesterol como preditor do perfil de subclasses de lipoproteínas. 2007.
56. Luz PL da, Favarato D, Faria-Neto Junior JR, Lemos P, Chagas ACP. High ratio of triglycerides to hdl-cholesterol predicts extensive coronary disease. *Clinics* 2008;63(4):427–32.
57. Wan K, Zhao J, Huang H, Zhang Q, Chen X, Zeng Z, et al. The association between triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio and all-cause mortality in acute coronary syndrome after coronary revascularization. *PLoS One* 2015;10(4):1–11.
58. Andrade MIS de, Dourado KF, Lima CR de, Orange LG de, Bento R de A, Rodrigues DA da S, et al. Razão Triglicérideo/HDL-C como Indicador de Risco Cardiovascular em Alcoolistas Crônicos. *Rev Bras Cardiol* 2012;25(4):267–75.
59. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Aizpurua M, Sisniegues CEL, Sisniegues BCL, et al. Use of the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio to identify cardiovascular disease in hypertensive subjects. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2014;8(10):724–31.
60. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Sisniegues CEL, March CE, Dulbecco CA, et al. Comparison of the abilities of the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio and the metabolic syndrome to identify insulin resistance. *Diabetes Vasc. Dis. Res.* 2013;10(4):346–52.
61. Bertsch RA, Merchant MA. Study of the Use of Lipid Panels as a Marker of Insulin Resistance to Determine Cardiovascular Risk. *Perm. J.* 2015;19(4):4–10.
62. Centers for disease control and prevention - CDC. Surveillance Systems [Internet]. 2017; Available from: <https://www.cdc.gov/physicalactivity/data/surveillance.htm>
63. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18(6):499–502.
64. Casazza GA, Suh S-H, Miller BF, Navazio FM, Brooks GA. Effects of oral contraceptives on peak exercise capacity. *J. Appl. Physiol.* 2002;93(5):1698–702.
65. Espírito Santo H DF. Calcular e apresentar tamanhos do efeito em trabalhos científicos (1): As limitações do $p < 0,05$ na análise de diferenças de médias de dois grupos. *Rev. Port. Investig. Comport. e Soc.* 2015;1(1):3–16.

66. Cianflone K, Paglialunga S. Regulation of fatty acid transport and storage: Influence of acylation-stimulating protein. *Scand. J. Food Nutr.* 2006;50(SUPPL. 2):92–8.
67. Pietzsch J, Fuecker K. Increased cholesteryl ester transfer protein activity in impaired glucose tolerance: relationship to high density lipoprotein metabolism. *Croat. Med. J.* 2003;44(2):171–7.
68. Schaefer EJ, Foster DM, Zech LA, Lindgren FT, Brewer HB, Levy RI. The effects of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983;57(2):262–7.
69. Crook D, Godsland IF, Wynn V. Oral contraceptives and coronary heart disease: Modulation of glucose tolerance and plasma lipid risk factors by progestins. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1988;158(6):1612–20.
70. Fotherby K. Oral contraceptives, lipids and cardiovascular disease. *J. Contracept.* 1985;31(4).
71. Tikkanen MJ NE. Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids. *Am Hear. J* 1987;113:562–7.
72. Austin MA. Genetic epidemiology of low-density lipoprotein subclass phenotypes. *Ann. Med.* 1992;24(6):477–81.
73. Terry RB, Stefanick ML, Haskell WL, Wood PD. Contributions of regional adipose tissue depots to plasma lipoprotein concentrations in overweight men and women: Possible protective effects of thigh fat. *Metabolism* 1991;40(7):733–40.
74. Kim S, Lee H, Lee DC, Lee HS, Lee JW. Predominance of small dense LDL differentiates metabolically unhealthy from metabolically healthy overweight adults in Korea. *Metabolism.* 2014;63(3):415–21.
75. Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, Hamsten A. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1991;90(1):67–80.
76. Coresh J, Kwiterovich Jr PO, Smith HH, Bachorik PS. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J. Lipid Res.* 1993;34(10):1687–97.
77. Sachdeva A, Cannon CP, Deedwania PC, LaBresh KA, Smith SC, Dai D, et al. Lipid levels in patients hospitalized with coronary artery disease: An analysis of 136,905 hospitalizations in Get With The Guidelines. *Am. Heart J.* 2009;157(1):111–7.
78. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Leiva Sisniegues CE, Balbín E, Dulbecco CA, et al. Relation Among the Plasma Triglyceride/High-Density Lipoprotein Cholesterol Concentration Ratio, Insulin Resistance, and Associated Cardio-Metabolic Risk Factors in Men and Women. *Am. J. Cardiol.* 2012;109(12):1749–53.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Questionário Padrão e Exame Físico

<u>QUESTIONÁRIO PADRÃO E EXAME FÍSICO</u>
--

Data: ___/___/_____

Horário: ___:___

1.Momento

♥ Identificação:

Nome: _____

Data de nascimento: ___/___/_____

Idade: _____

Sexo: ()F ()M

Grau de instrução: () 1º grau () 2º grau () 3º grau Outro: _____

Profissão: _____ Telefone: _____ Etnia: _____

2.Momento

♥ Fármacos

A. () Não utiliza

B. () Utiliza:

➤ Qual(is): _____

➤ Finalidade: _____

➤ Dosagem: _____

♥ Tabagismo

A. () Não fumante

B. () Fumante Quantidade: _____ Tempo de uso: _____

C. () Ex-fumante Tempo de uso: _____ Tempo de abstinência: _____

3.Momento

♥ Contraceptivo oral

A. () Não utiliza

B. () Utiliza:

➤ Tempo de uso: _____

4.Momento

♥ Limitações ao exercício

A. () Gonartrose C. () Labirintite B. () Relatos de hipoglicemia D. () Hipotensão postural

5.Momento

♥ Massa corpórea: _____ kg Altura: _____ cm IMC: _____

♥ TA em repouso:

#####	TA em sedestação (mmHg)
Braço D.	
Braço E.	

APÊNDICE B – Termo de consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: Razão TG/HDL como preditor de risco cardiovascular em mulheres que utilizam contraceptivo oral combinado

Pesquisador Responsável: **Jefferson Petto**

Pesquisador Colaborador: **Diego Passos Diogo**

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: **Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública**

Telefones para contato: **(71) 9 9182 1739 - (75) 9 8845-3308**

Nome do voluntário: _____

Idade: _____ anos R.G. _____

A Sra. _____ está

sendo convidada a participar do projeto de pesquisa “**Razão triglicérides/hdl em mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral combinado**”, de responsabilidade do pesquisador Jefferson Petto.

Justificativa e Objetivo

Esta pesquisa tem como objetivo principal avaliar o efeito do contraceptivo oral na gordura sanguínea. O que justifica esse trabalho é o fato de verificar os riscos que o uso do contraceptivo oral pode ocasionar. Isto ajudará a entender se esse tipo de medicamento altera o perfil das gorduras do sangue, o que pode aumentar a probabilidade do aparecimento de doenças do coração.

Passos do Estudo

Em primeiro lugar se faz necessário dizer que todas as informações pessoais (nome, endereço, fotos e dados pessoais) não serão expostas na pesquisa. **É necessário também dizer que os participantes não terão nenhuma despesa financeira relacionada à pesquisa.** O primeiro passo de nosso trabalho é coletar os dados clínicos através de um questionário padrão e de um exame físico. Depois será realizado um exame de sangue em jejum de 12 horas em um laboratório especializado. Nesse exame serão coletados 10 ml de sangue e então dosadas as gorduras sanguíneas: colesterol total (CT); Triglicerídeos (TG); lipoproteína de baixa

densidade (LDL); lipoproteína de alta densidade (HDL); lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), bem como a glicemia.

Todos os resultados dos testes serão armazenados e repassados ao voluntário no final da pesquisa.

Esse estudo não apresenta nenhum risco de agravamento da condição clínica do participante, nem de contágio de outras doenças. Todo o material utilizado é esterilizado e descartável e os exames serão realizados em laboratório especializado e por profissionais habilitados e experientes.

Qualquer dúvida do voluntário em relação a algum procedimento poderá ser sanada diretamente com o pesquisador responsável.

Fica assegurado o direito do voluntário, a qualquer momento do estudo, desistir de participar da pesquisa.

Eu, _____, RG nº _____
declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Salvador, ____ de _____ de 2014.

Nome e assinatura da voluntária

Nome e assinatura do responsável por obter o consentimento

Testemunha

Testemunha

ANEXOS

ANEXO A - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA
VERSÃO CURTA

Nome: _____
 Data: ____/____/____ Idade : ____ Sexo: F () M ()

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gastou fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez:

1ª) Em quantos dias da última semana você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias ____ por **SEMANA**() Nenhum

1b) Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

horas: ____ Minutos: ____

2ª) Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias ____ por **SEMANA**() Nenhum

2b) Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: ____ Minutos: ____

3ª) Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias ____ por **SEMANA**() Nenhum

3b) Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: ____ Minutos: ____

ANEXO B – ARTIGO

**WOMEN WHO TAKE LOW-DOSE COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES HAVE
GREATER TRIGLYCERIDES TO HIGH DENSITY LIPOPROTEIN RATIO THAN
THOSE WHO DO NOT USE**

Diego Passos Diogo. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMSP, Salvador, BA – Brazil. passosdiogo@hotmail.com. **Corresponding author.**

Marvyn de Santana do Sacramento. Faculdade Social da Bahia- FSBA, Salvador, BA- Brazil. marvynsantana@gmail.com

Muriele Mascarenhas Lima. Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, Feira de Santana, BA – Brazil. muri_mascarenhas@hotmail.com

Alan Carlos Nery dos Santos. Universidade Salvador. Feira de Santana, BA, Brazil. carlos.nery@unifacs.br

Ana Marice Teixeira Ladeia. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMSP, Salvador, BA – Brazil. anamarice@bahiana.edu.br

Armênio Costa Guimarães. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMSP, Salvador, BA – Brazil. armenioquimaraes17@gmail.com

Jefferson Petto. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMSP, Salvador, BA – Brazil. Universidade Salvador. Feira de Santana, BA, Brazil. Faculdade Adventista. Cachoeira, BA, Brazil. Faculdade Social da Bahia- FSBA, Salvador, BA- Brazil. petto@cardiol.br

Lipids in Health and Disease

WOMEN WHO TAKE LOW-DOSE COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES HAVE GREATER TRIGLYCERIDES TO HIGH DENSITY LIPOPROTEIN RATIO THAN THOSE WHO DO NOT USE

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	LHAD-D-19-00012	
Full Title:	WOMEN WHO TAKE LOW-DOSE COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES HAVE GREATER TRIGLYCERIDES TO HIGH DENSITY LIPOPROTEIN RATIO THAN THOSE WHO DO NOT USE	
Article Type:	Research	
Funding Information:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia	Dr Diego Passos Diogo
Abstract:	<p>Introduction: It is known that the combined oral contraceptive (COC) use has been associated with increase cardiovascular risk markers, such a lipid metabolism modifications. Small dense LDL particles (LDL phenotype B) are described as being more atherogenic than larger buoyant ones and its presence in blood is directly related to triglycerides (TG) to high density lipoprotein(HDL) ratio.</p> <p>Aim:To test the hypothesis that women who take COC have greater values of TG/HDL ratio than those who do not take it.</p> <p>Methods:The subjects consisted of women with age between 18 and 30 years old, irregularly active, eutrophics, with waist circumference < 80 cm, blood glucose < 100 mg/dL and fasting triglycerides < 200 mg/dL. The subjects were separated into two groups: 1) the group taking COC for at least one year (COG); 2) the group not taking any kind of hormonal contraceptive (NOCG).</p> <p>Results: 106 volunteers were evaluated, which 52 of these were in the COG. The means of TG/HDL ratio of the COG and NOCG were 2.1 (\pm 0.8) vs 1.1 (\pm0.5) ($p < 0.01$; ES = 1.5), respectively. Still, the means of all lipid profile variables analyzed of COG were greater with statistic relevance than the other one.</p> <p>Conclusion: Women who COC have TG/HDL ratio greater than those who do not take, suggesting the presence of lipid profile more atherogenic.</p> <p>Trial Registration: Ethics and Research Committee of Faculdade Nobre de Feira de Santana (CAAE number: 79549517.3.0000.5654)</p> <p>Key-words: Contraceptive Agents; Triglycerides/HDL Ratio; Cardiovascular Diseases; Lipid Metabolism.</p>	
Corresponding Author:	Diego Passos Diogo, specialist Escola Bahiana de Medicina e Saude Publica BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Escola Bahiana de Medicina e Saude Publica	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Diego Passos Diogo, specialist	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Diego Passos Diogo, specialist	
	Marvyn Sacramento	
	Muriele Mascarenhas Lima	
	Alan Carlos Nery dos Santos, Master	

	Ana Marice Teixeira Ladeira, Doctor
	Armênio Costa Guimarães, Doctor
	Jefferson Petto, Doctor
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
<p>Is this study a clinical trial?</p> <hr/> <p>A clinical trial is defined by the World Health Organisation as 'any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes'.</p>	No

RESUMO

Introdução: É sabido que o uso continuado de contraceptivo oral combinado (COC) está associado à elevação de marcadores de risco cardiovasculares, como por exemplo, a alteração do metabolismo lipídico. Descrita como uma subclasse de maior poder aterogênico, a presença do fenótipo B da LDL está diretamente relacionada com a razão triglicérides/HDL.

Objetivo: Testar a hipótese de que mulheres que utilizam COC possuem valores de razão TG/HDL maiores quando comparadas as que não utilizam.

Métodos: Recrutadas mulheres com idade entre 18 e 30 anos, irregularmente ativas, eutróficas, com circunferência de cintura < 80 cm, glicemia < 100 mg/dL e triglicérides de jejum < 200 mg/dL. As voluntárias foram alocadas em dois grupos: 1) o grupo que utilizavam o COC (GCO) por um período mínimo de um ano; 2) o grupo que não utilizavam nenhum tipo de contraceptivo hormonal (GSCO).

Resultados: Foram avaliadas 106 mulheres, 52 no GCO. Verificou-se que a média da razão TG/HDL das mulheres do GCO quando comparadas àquelas do GSCO foi de 2,1 (\pm 0,8) vs 1,1 (\pm 0,5) ($p < 0,01$; $r = 0,49$), respectivamente. Ainda, as médias de todas as variáveis do perfil lipídico analisadas do GCO foram maiores com relevância estatística.

Conclusão: Mulheres que utilizam COC apresentam a razão TG/HDL maior quando comparadas as que não utilizam, sugerindo assim a presença de um perfil lipídico mais aterogênico de LDL.

Registro: Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade Nobre de Feira de Santana (CAAE número: 79549517.3.0000.5654)

Palavras-Chave: Anticoncepcionais; Razão Triglicérides/HDL; Doenças Cardiovasculares; Metabolismo dos Lipídeos.

ABSTRACT

Introduction: It is known that the combined oral contraceptive (COC) use has been associated with increase cardiovascular risk markers, such a lipid metabolism modifications. Small dense LDL particles (LDL phenotype B) are described as being more atherogenic than larger buoyant ones and its presence in blood is directly related to triglycerides (TG) to high density lipoprotein(HDL) ratio.

Aim: To test the hypothesis that women who take COC have greater values of TG/HDL ratio than those who do not take it.

Methods: The subjects consisted of women with age between 18 and 30 years old, irregularly actives, eutrophics, with waist circumference < 80 cm, blood glucose < 100 mg/dL and fasting triglycerides < 200 mg/dL. The subjects were separated into two groups: 1) the group taking COC for at least one year (COG); 2) the group not taking any kind of hormonal contraceptive (NOCG).

Results: 106 volunteers were evaluated, which 52 of these were in the GCO. The means of TG/HDL ratio of the COG and NOCG were 2.1 (\pm 0.8) vs 1.1 (\pm 0.5) ($p < 0.01$; ES = 1.5), respectively. Still, the means of all lipid profile variables analyzed of COG were greater with statistic relevance than the other one.

Conclusion: Women who COC have TG/HDL ratio greater than those who do not take, suggesting the presence of lipid profile more atherogenic.

Trial Registration: Ethics and Research Committee of Faculdade Nobre de Feira de Santana (CAAE number: 79549517.3.0000.5654)

Key-words: Contraceptive Agents; Triglycerides/HDL Ratio; Cardiovascular Diseases; Lipid Metabolism.

INTRODUCTION

The use of contraceptive methods for family planning has grown over the years among women of reproductive age (15-49 years old). In an exploratory analysis by using the United Nations Population Division database, the prevalence of contraceptive strategies worldwide increased from 55 percent up to 63 percent between 1990 and 2010¹. Among the reversible methods, oral contraceptives are presented as the most commonly used strategy for family planning. In Brazil, it is estimated that 27% of women including all social classes use some type of oral contraceptive².

In this context, combined oral contraceptives (COC) have been the choice options of a considerable part of the female population^{3,4}. However, some investigations have shown that COC continued use is associated with the elevation of some cardiovascular risk markers, such as an increased insulin resistance⁵, changes in the lipid profile⁶, elevated blood pressure⁷ and subclinical inflammation⁸.

Low-density lipoprotein (LDL) is indicated as the main marker of the lipid profile involved in the atherosclerotic process of coronary artery disease (CAD)^{9,10}. However, the quantification of LDL in clinical practice does not distinguish the heterogeneous group of subclasses that compose it. Based on the particle size and density lipid content, the LDL has been described in two different phenotypes basically: phenotype A and B¹¹. Specifically, the LDL phenotype B subclass has a smaller size and higher density in its composition, suggesting to be more atherogenic class than the phenotype A. Studies have shown a 3-fold increased risk for CAD when it pattern of LDL predominates¹².

Environmental factors may influence the expression of this phenotype, such as continued use of oral contraceptives. The observational study conducted by Graaf et al.¹³ corroborates with this hypothesis, which it was showed this association in premenopausal women who took low-dose COC. However, to quantify these subclasses it is commonly used density ultracentrifugation, an unusual method of direct analysis with a high cost for clinical practice.

It is known that the presence of the phenotype of LDL subclass B has a close relationship with high value of serum triglycerides (TG) and low value of high density lipoprotein (HDL)^{11,14}. This fact has been catch the scientific community attention, once the use of this TG/HDL ratio might be a method more accessible, user-friendly and low-cost for estimating the LDL subclasses presence^{14,15}. Hanak et al.^{14,19} showed an accuracy of 70% of this ratio when a cut-off point of 3.8 was established, based on the international recommendations for the desired fasting values of TG and HDL¹⁰. Due to the conclusiveness of these findings, the use of the TG/HDL ratio seems to be an interesting parameter to be used in the stratification of cardiovascular risk in the most varied populations, for example, in

women who take hormonal contraceptives. Thus, this study aims to test the hypothesis that women who take COC have greater TG/HDL ratio values than those women who do not.

MATERIALS AND METHOD

It is an analytic cross-sectional study in which was included women between 18 and 30 years old, irregularly active, eutrophic, with waist circumference less than 80cm, with blood glucose less than 100mg/dl and fasting triglycerides less than 200 mg/dL. The whole subjects were categorized into two groups: 1) contraceptive group (COG) composed of volunteers taking continuously low-dose of COC of ethinylestradiol (15-30mcg) for at least one year; 2) non-contraceptive group (NCOG) composed of women who did not use any hormonal contraceptive method. For classifying the physical conditioning of the subjects it was used the short version of International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), in which was developed by the World Health Organization (WHO) and the Control Center and United States Prevention (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)¹⁶.

It was excluded of the study: women with dyslipidemias (diagnosed and/or under treatment), polycystic ovary syndrome, liver dysfunction, diabetes, hypo or hyperthyroidism, kidney disease, hypo or fat diet, alcohol consumption and smoking history, in use of lipid-lowering drugs, steroids, diuretics or beta-blockers. I was also excluded those who presented in the physical evaluation blood pressure (BP) values more than 140/90mmHg.

The sample calculation was performed in WinPepi calculator, where the difference between averages was established in 0.4 with a standard deviation of 0.6, both extracted from a previous pilot study. It was considered an alpha of 5% and a beta of 80%, in which a total of 37 volunteers for each group was required.

It was followed the guidelines for the human being research written by the Helsinki Declaration and the National Health Council Resolution 466/12. This study was approved by the Ethics and Research Committee of Faculdade Nobre de Feira de Santana (CAAE number: 79549517.3.0000.5654) and all participants gave their informed consent.

PHYSICAL AND CLINICAL PROCEDURES

The volunteers were submitted to a standard questionnaire and physical examination in order to collect general information about their characteristics. Physical examination consisted of measurements of BP at rest by using a medium-sized tensiometer for adults and calibrated by the National Institute of Metrology (INMETRO), besides of a duo sonic stethoscope. This measurement followed the American Heart Association recommendations. Still, it was measured the total body weight and height. The measurement of height was performed with the subjects in completely stand up position and barefoot by

using a professional stadiometer with 0.1cm of precision. Total body weight was measured by using a digital device with maximum capacity of 150kg and ± 100 g of margin of error

For the calculation of body mass index (BMI), the measures of body weight and height were used, according to the Quetelet equation: $BMI = \text{weight (kg)}/\text{height}^2 \text{ (m)}$. For classification in eutrophic ($18.5\text{-}24.9\text{kg/m}^2$), the cut-off points recommended by the V Brazilian Guidelines for Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis¹⁷ were adopted.

LABORATORY COLLECTION

After 12 hours of fasting, 10 mL of venous blood was drawn and serum concentrations of TG, total cholesterol (CT), LDL, HDL, Very Low Density Lipoprotein (VLDL) and blood glucose (BG) were analyzed.

The evaluation of CT, HDL and TG was determined enzymatically. LDL was calculated by the Friedwaldequation¹⁸ and non-HDL cholesterol was calculated by the difference between total cholesterol and HDL. TG/HDL-c ratio values were obtained from these pre-established variables. Regarding the blood glucose analysis, it was used clinical chemistry system Dade Behring- Dimension, an in vitro diagnostic test for the quantitative determination of plasma glucose.

The volunteers were instructed not to change their diet on the test week and to avoid any unusual physical activity, as well as not to drink alcohol in the 24 hours before the collection date. The collections were performed between the fifth and tenth day of the menstrual cycle with aim of smaller fluctuations hormone, and/or 28 days without medication (inactive phase) as recommended by Casazza et al.¹⁹. Thus, there will not be influence of menstruation on the variables values.

STATISTICAL ANALYSIS

It was used the symmetry and kurtosis test and the Shapiro Wilk test to verify the data, as well as the visual inspection of the histograms. As the variables presented normal distribution, they were described in mean and standard deviation. Thus, *Student's t* test for independent samples was performed to compare means. For the effect size calculation, the Cohen d score was performed for independent samples²⁰. All analyzes were performed in the statistical package SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 21.0, adopting a level of significance of 5%.

RESULTS

The population included 106 women, 52 in the COG. The clinical and anthropometric variables of both groups are described in table 1. There was no statistical significance among them in the hypothesis test, showing homogeneity of these characteristics among the groups evaluated.

Table 1. Clinical and anthropometric variables of the study population.

	COG (mean ± SD)	NCOG (mean ± SD)	p value *
Age (years)	23 (± 2.5)	23 (± 2.5)	0.36
BW (kg)	58 (± 9.1)	55 (± 8.5)	0.28
Height (cm)	161 (± 5.7)	163 (± 5.7)	0.15
BMI (kg / m ²)	22 (± 2.3)	21 (± 3.2)	0.07
SBP (mmHg)	109 (± 11.6)	106 (± 8.5)	0.33
DBP (mmHg)	70 (± 8.4)	68 (7.9)	0.54
BG	82 (± 6.1)	84 (± 7.3)	0.23

COG – contraceptive oral group ; NCOG - non-contraceptive oral group; BW – body weight; BMI - body mass index; SBP - systolic blood pressure; DBP - diastolic blood pressure; SD - standard deviation; BG – blood glucose

*Student's *t* test for independent samples.

Table 2 shows the fasting lipid profile of both groups. It is interesting to note that for all analyzed variables the COG showed significantly higher averages, including those involved in TG/HDL ratio calculation.

Table 2. Fasting lipid profile (mg/dL) of the sample studied

	COG (mean ± SD)	NCOG (mean ± SD)	p value *
TG	104 (± 33.9)	53 (± 14.7)	<0.01
HDL	54 (± 12.6)	50 (± 11.1)	0.04
CT	204 (± 41.3)	170 (± 35.3)	<0.01
LDL	128 (± 36.4)	108 (± 33.9)	< 0.01
VLDL	18 (± 4.9)	10 (± 3.1)	<0.01

COG– contraceptive oral group; NCOG - non-contraceptive oral group; TG - triglycerides; CT - total cholesterol; HDL - high density lipoprotein; LDL - low density lipoprotein ; VLDL - very low density lipoprotein ; SD - standard deviation

*Student *t* test for independent samples

Intergroup comparison of TG/HDL ratio values is described in Table 3. Besides the COG to present a statistically higher value in the applied test, a high effect size can be observed, which confirms the significance of the finding.

Table 4. TG/HDL ratio between the groups studied.

	COG (mean ± SD)	NCOG (mean ± SD)	p value*	ES**
TG/HDL ratio	2.1 (± 0.8)	1.1 (± 0.5)	<0.01	1.5

COG – contraceptive oral group; NCOG - non-contraceptive oral group; TG - triglycerides; HDL - high density lipoprotein; SD - standard deviation

ES - effect size performed by the Cohen d score

* Student *t*-test for independent samples

DISCUSSION

The results show that continued use of low-dose combined oral contraceptives (COC) is strongly associated with elevated TG/HDL ratio. This suggests that the profile of LDL in this population is more atherogenic, that is, it has smaller size and more density (subclass of phenotype B). Although the design of this study does not allow to establish a causal relationship between use of contraceptive pill and changes in the lipid profile, some investigations have already pointed out to it^{5,6,13}.

Some hypotheses try to explain possible mechanisms involved in the alterations of the lipid profile on this specific population. It is well documented that in the presence of insulin resistance, in which is one of the criteria for metabolic syndrome diagnosis, changes in the lipid profile occur^{5,21}. Subjects who present LDL phenotype B predominance have twice more chance to develop type 2 diabetes, regardless of age, sex and body mass index¹². But what explains this interrelationship? The blocking insulin action in the adipose tissue results in elevation of remaining chylomicrons and plasma free fatty acids. This leads to an increase in hepatic cellular activity and promote a negative repercussion in the quantitative lipid content and quality of the lipoproteins^{11,21}. Responsible for promoting the deposition of TG in lipoproteins, the cholesteryl ester transport protein (CETP) is a determining factor in this metabolic pathway. Pietzsch and Fuecker²² identified an increase in CETP activity in individuals with insulin resistance compared to normoglycemics. In the work of Frempong et al.⁵ poorer performance in the glucose tolerance test was identified in African-American women using low-dose oral contraceptives in relation to those who did not use these hormones. Interestingly, there was no any difference in serum LDL levels between the groups studied. The differences identified were only the highest values of TG and HDL in the contraceptive group. This finding reinforces the idea that, most likely, LDL in the contraceptive group had a more atherogenic phenotype.

Moreover, it seems that these alterations are closely related to the estrogen and progestin dosages in the contraceptive composition²³⁻²⁵. The idea is that the chronic exposure to these hormones leads to enzymatic and endocrine changes that affect the lipid metabolism²⁶.

It is known that LDL size is determined by a genetic component in approximately 35%^{12,27}. However, environmental factors such as abdominal adiposity and a high-carbohydrate diet can influence the LDL profile^{28,29}. In the present study, only women with an abdominal circumference <80cm and eutrophic were included, which excludes this methodological bias. Although there was no adequate control of the diet, the volunteers of both groups did not practice regular physical activities and belonged to the same social context, characterizing certain homogeneity between the groups.

The TG/HDL ratio has been described as an important predictor of cardiovascular risk in different populations^{30,31,32}. Specifically in women, this index was an independent predictor of mortality after adjustment for the other known risk factors³⁰. Although there is no consensus regarding a specific cut-off point, Hanak et al.¹⁴ identified that 89% of women with an index above 3.8 had a predominance of LDL of phenotype B, that is, with greater atherogenic power. This cut-off point established by the authors was based on the maximum and minimum values of TG and HDL respectively, according to international guidelines¹⁰. Interestingly, in the results found here, even though both groups are well below the 3.8 value, the group of women who use COC presents significantly higher average values in relation to control group. Thus, it seems that the continued use of this substance results in metabolic changes, for example, changes in the LDL profile. In fact, Graaf et al.¹³ by using the density ultracentrifugation method showed a positive association between COC use and the predominance of smaller size and higher density fractions of LDL in premenopausal women. These findings corroborate with the results of the present study, since these authors used a method of direct quantification of the LDL subclasses. However, even with a higher ratio than the control group, does this index have any clinical significance since it is still below 3.8?

Some investigations have shown that coronary heart patients have serum LDL within normal values³³⁻³⁶. Sachdeva et al.³⁶ identified that approximately 75% of patients hospitalized with CAD had their LDL levels absolutely normal, which drawing an important attention. But what explains such a finding like this? A consistent hypothesis of thinking is that for these individuals there would be a predominance of the B subtype of LDL. Thus, even if LDL levels are according to normal range, perhaps the main contribution regarding the lipid profile to increase cardiovascular risk is due to the predominance of the more atherogenic subclass of this lipoprotein. Tornvall et al.³⁴ showed a positive association between LDL subclass B in patients who suffered myocardial infarction. However, there was no any difference between TG and LDL values between these and the control

group. Similarly, Campos et al.³³ identified significantly higher values of TG in patients with CAD compared with control, but without significant difference regarding of LDL. Thus, it seems that the TG/HDL ratio offers additional information about the atherogenic risk of LDL, suggesting being an interesting marker during the clinical follow-up of women who use COC. Questions are raised up about the accuracy of this index. Among the methods used for direct quantification of LDL subtypes, magnetic resonance imaging (MRI) is described as a gold standard because of its ability to measure size of the lipoprotein and the concentration of its lipid content³⁷. Thus, some researchers have evaluated the level of agreement between TG/HDL ratio and MRI with respect to the prediction of LDL phenotype B. By using the value of 3.8 as the cut-off point, Bhalodkar et al.¹⁵ found a positive and negative predictive value of 83% and 89%, respectively. In another investigation with the same purpose, this ratio was described with an accuracy of 70%¹⁴. Due to the variability of the population studied by the different researches, there is still no consensus in relation to what index should be adopted in the clinical context. However, it is clear that the higher this index, the greater probability of LDL phenotype B predominate. With regarding to women in continuous use of COC, there appear to be strict relationship between the using time of drug and changes in the lipid profile.⁶ Barry et al.⁶ performed a subgroup analysis in their study in which they identified a direct relationship between the time of COC use and the serum levels of TG, HDL, VLDL. However it was showed an inverse relationship between this variable and the LDL quantity, which will consequently affect the TG/HDL ratio.

Finally, it is important to note that although the TG/HDL ratio is higher in women taking COC, which may imply a higher risk of developing cardiovascular disease, the TG/HDL ratios is within normal limits. Therefore, it is imperative that physicians assess the benefits and risks individually before prescribing the use of COC, considering elements such as physical exercise, nutritional status, family history and other triggering factors of cardiovascular diseases, choosing the most appropriate contraceptive method.

CONCLUSION

Continued use of low-dose COC is strongly associated with changes in the lipid profile of young women, resulting in elevation in TG/HDL ratio. This suggests that this population has metabolic alterations in which can impact the LDL profile and increase the cardiovascular risk.

List of abbreviations

Combined oral contraceptive (COC)
High density lipoprotein (HDL)

Triglycerides (TG)
Group taking COC for at least one year (COG)
Group not taking any kind of hormonal contraceptive (NOCG)
Low-density lipoprotein (LDL)
Coronary artery disease (CAD)
International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)
World Health Organization (WHO)
Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
Blood pressure (BP)
National Institute of Metrology (INMETRO)
Body mass index (BMI)
Total cholesterol (CT)
Very Low Density Lipoprotein (VLDL)
Blood glucose (BG)
Diastolic blood pressure (BDP)
Body weight (BW)
Standard deviation (SD)
Effect size (ES)
Cholesteryl ester transport protein (CETP)

DECLARATIONS

Ethics approval and consent to participate

This study was approved by the Ethics and Research Committee of Faculdade Nobre de Feira de Santana (CAAE number: 79549517.3.0000.5654) and all participants gave their informed consent.

Consent for publication

All participants gave their informed consent for publication.

Availability of data and material

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

We declare there is no conflict of interest.

Funding

This study obtained funding from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) through the granting of a master's degree to Diego Passos Diogo.

Authors' contributions

Acknowledgements

Not applicable.

REFERENCES

1. Alkema L, Kantorova V, Menozzi C, Biddlecom A. National, regional, and global rates and trends in contraceptive prevalence and unmet need for family planning between 1990 and 2015: A systematic and comprehensive analysis. *Lancet*. 2013;381(9878):1642–1652.
2. BRASIL. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher: PNDS 2006: Dimensões do Processo Reprodutivo e da Saúde da Criança. 2009.
3. Brito MB, Nobre F, Vieira CS. Contracepção hormonal e sistema cardiovascular. *Soc. Bras. Cardiol*. 2010;96(4):e81–e89.
4. WHO. Medical Eligibility criteria for Contraceptive Use. 2015;1–276. Available from: [www.who.int/reproductive health](http://www.who.int/reproductive_health)
5. Frempong B a, Ricks M, Sen S, Sumner AE. Effect of low-dose oral contraceptives on metabolic risk factors in African-American women. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2008;93(6):2097–103.
6. Abdel-Barry JA, Flaf MS, Al-Namaa LM, Hassan NA. Lipoprotein changes in women taking low-dose combined oral contraceptive pills: A cross-sectional study in Basra, Iraq. *East. Mediterr. Heal. J*. 2011;17(9):684–688.
7. Harvey RE, Hart EC, Charkoudian N, Curry TB, Carter JR, Fu Q, et al. Oral Contraceptive Use, Muscle Sympathetic Nerve Activity, and Systemic Hemodynamics in Young Women. *Hypertension*. 2015;66(3):590–597.
8. Petto J, Pereira LS, Santos ACN, Giesta BA, Melo TA LA. Inflamação Subclínica em Mulheres que Utilizam Contraceptivo Oral. *Rev. Bras. Cardiol*. 2013;26(6):465–471.
9. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, Mcnamara PM. Serum Cholesterol, Lipoproteins, and the Risk of Coronary Heart Disease The Framingham Study. *Ann. Intern. Med*.

- JANUARY. 1971;74(1):1–12.
10. Services. UD of H and H. 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): final report. Public Natl. Cholest. Educ. Program, Natl. Hear. Lung, Blood Institute, Natl. Institutes Heal. 2002;5215(02).
 11. Mudd JO, Borlaug BA, Johnston P V., Kral BG, Rouf R, Blumenthal RS, et al. Beyond Low-Density Lipoprotein Cholesterol. Defining the Role of Low-Density Lipoprotein Heterogeneity in Coronary Artery Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50(18):1735–1741.
 12. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Newman B, Krauss RM. Inheritance of low-density lipoprotein subclass patterns: results of complex segregation analysis. *Am. J. Hum. Genet.* 1988;43(6):838–46.
 13. Graaf J, Swinkels DW, Demacker PNM, Haan AFJ SA. Differences in the Low Density Lipoprotein Profile between Oral- Contraceptive Users. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993;76(1):197–202.
 14. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A, Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am. J. Cardiol.* 2004;94(2):219–222.
 15. Bhalodkar NC, Blum S, Enas EA. Accuracy of the ratio of triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol for predicting low-density lipoprotein cholesterol particle sizes, phenotype B, and particle concentrations among Asian Indians. *Am. J. Cardiol.* 2006;97(7):1007–1009.
 16. Centers for disease control and prevention - CDC. Surveillance Systems [Internet]. 2017; Available from: <https://www.cdc.gov/physicalactivity/data/surveillance.htm>
 17. SBC SB de C. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* 2013;101(4Supl.):1–22.
 18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18(6):499–502.
 19. Casazza GA, Suh S-H, Miller BF, Navazio FM, Brooks GA. Effects of oral contraceptives on peak exercise capacity. *J. Appl. Physiol.* 2002;93(5):1698–702.
 20. Espirito-Santo, H. e Daniel, F. B. (2015). Calcular e apresentar tamanhos do efeito em trabalhos científicos (1): As limitações do $p < 0,05$ na análise de diferenças de médias

- de dois grupos. *Revista Portuguesa De Investigação Comportamental e Social*, 1(1), 3–16.
21. Cianflone K, Paglialunga S. Regulation of fatty acid transport and storage: Influence of acylation-stimulating protein. *Scand. J. Food Nutr.* 2006;50(SUPPL. 2):92–98.
 22. Pietzsch J, Fuecker K. Increased cholesteryl ester transfer protein activity in impaired glucose tolerance: relationship to high density lipoprotein metabolism. *Croat. Med. J.* 2003;44(2):171–177.
 23. Schaefer EJ, Foster DM, Zech LA, Lindgren FT, Brewer HB, Levy RI. The effects of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983;57(2):262–267.
 24. Crook D, Godsland IF, Wynn V. Oral contraceptives and coronary heart disease: Modulation of glucose tolerance and plasma lipid risk factors by progestins. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1988;158(6):1612–1620.
 25. Fotherby K. Oral contraceptives, lipids and cardiovascular disease. *J. Contracept.* 1985;31(4).
 26. Tikkanen MJ NE. Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids. *Am Hear. J.* 1987;113:562–567.
 27. Austin MA. Genetic epidemiology of low-density lipoprotein subclass phenotypes. *Ann. Med.* 1992;24(6):477–81.
 28. Terry RB, Stefanick ML, Haskell WL, Wood PD. Contributions of regional adipose tissue depots to plasma lipoprotein concentrations in overweight men and women: Possible protective effects of thigh fat. *Metabolism.* 1991;40(7):733–740.
 29. Kim S, Lee H, Lee DC, Lee HS, Lee JW. Predominance of small dense LDL differentiates metabolically unhealthy from metabolically healthy overweight adults in Korea. *Metabolism.* 2014;63(3):415–421.
 30. Bittner V, Johnson BD, Zineh I, Rogers WJ, Vido D, Marroquin OC, et al. The TG/HDL Cholesterol Ratio Predicts All Cause Mortality in Women With Suspected Myocardial Ischemia A Report from the Women’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Am Hear. J.* 2009;157(3):548–555.
 31. Luz PL da, Favarato D, Faria-Neto Junior JR, Lemos P, Chagas ACP. High ratio of triglycerides to hdl-cholesterol predicts extensive coronary disease. *Clinics.* 2008;63(4):427–432.
 32. Wan K, Zhao J, Huang H, Zhang Q, Chen X, Zeng Z, et al. The association between triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio and all-cause mortality in acute

- coronary syndrome after coronary revascularization. *PLoS One*. 2015;10(4):1–11.
33. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, McNamara JR, Jenner JL, Ordovas JM, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1992;12(2):187–195.
 34. Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, Hamsten A. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 1991;90(1):67–80.
 35. Coresh J, Kwiterovich Jr PO, Smith HH, Bachorik PS. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J. Lipid Res.* 1993;34(10):1687–1697.
 36. Sachdeva A, Cannon CP, Deedwania PC, LaBresh KA, Smith SC, Dai D, et al. Lipid levels in patients hospitalized with coronary artery disease: An analysis of 136,905 hospitalizations in Get With The Guidelines. *Am. Heart J.* 2009;157(1):111–117.
 37. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin. Chem.* 1991;37(3):377–386.

COVER LETTER

Disturbance in the lipid profile is one of the biological factors involved in the process of atherosclerosis development and this can occur in women taking pills. The LDL is indicated as the main marker and has a strong association with the coronary artery disease. However, some investigations have pointed out to the different subclasses of the LDL, which it was describe basically in two profiles and with different power of atherogenicity: LDL phenotype A and phenotype B. People with the LDL phenotype B have 3-fold increased riskforcoronary artery disease.

This paper entitled **Women WhoTake Low-Dose Combined Oral Contraceptives Have Greater Triglycerides to High Density Lipoprotein Ratio than Those Who Do Not Use** produced by Diego Passos Diogo, Marvyn de Santana do Sacramento, Muriele Mascarenhas Lima, Alan Carlos Nery dos Santos, Ana Marice Teixeira Ladeia, Armênio Costa Guimarães and Jefferson Petto describe the relationship between others variables of the lipid profile with the possible predominance of LDL phenotype B, once there are studies that show a directly and inversely relationship with triglycerides and high density lipoprotein,

respectively. There is no any investigation about this ratio in women taking oral contraceptive pills.

All the authors listed above state this paper has not been and will not be submitted to any other journal while under consideration of **Lipids in Health and Disease**. Still, all of them approved the submission of this version and take full responsibility for the manuscript.

Author's contribution: Conception and design of the research- Diogo DP and Petto J; Acquisition of data- Do Sacramento MS, Lima MM and Dos Santos ACN; Analysis and interpretation of the data – Diogo DP; Writing of the manuscript – Diogo DP and Petto J; Critical review of the important content - Ladeia AMT and Guimarães AC.

This article represents honest work and the validity of its results can be certified. In addition, this paper represents part of Diego Passos Diogo master dissertation for Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - EBMSP, Salvador, BA - Brazil and all authors declare there is no conflict of interest. This study was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Best regards,

Diego Passos Diogo (passosdiogo@hotmail.com)

Marvyn de Santana do Sacramento (marvynsantana@gmail.com)

Muriele Mascarenhas Lima (muri_mascarenhas@hotmail.com)

Alan Carlos Nery dos Santos (allannery.santos@hotmail.com)

Ana Marice Teixeira Ladeia (anamarice@bahiana.edu.br)

Armênio Costa Guimarães (armenioguimaraes17@gmail.com)

Jefferson Petto (gfpecba@bol.com.br)