

## Elevação da Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidada em Usuárias de Contraceptivo Oral Combinado

*Elevation of Oxidized Lipoprotein of Low Density in Users of Combined Oral Contraceptives*

Alan Carlos Nery dos Santos,<sup>1,2</sup> Jefferson Petto,<sup>1,2,4</sup> Diego Passos Diogo,<sup>1,2</sup> Candice Rocha Seixas,<sup>1</sup> Lunara Horn de Souza,<sup>3</sup> Wagner Santos Araújo,<sup>1</sup> Ana Marice Teixeira Ladeia<sup>1</sup>

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública,<sup>1</sup> Salvador, BA – Brasil

Universidade Salvador (UNIFACS),<sup>2</sup> Feira de Santana, BA – Brasil

Faculdade Adventista da Bahia (FADBA),<sup>3</sup> Cachoeira, BA – Brasil

Faculdade Social da Bahia (FSBA),<sup>4</sup> Salvador, BA – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** O uso de contraceptivo oral combinado (COC) tem sido relacionado com alterações no metabolismo glicêmico, lipídico, maior estresse oxidativo e pressão arterial sistêmica, o que poderia sugerir maior oxidação da lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-colesterol) em mulheres que utilizam COC.

**Objetivo:** Testar a hipótese de que existe diferença nos valores plasmáticos da LDL-oxidada entre mulheres que utilizam e não utilizam COC, bem como avaliar a correlação entre ela e o perfil lipídico e proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-as).

**Métodos:** Foram selecionadas 42 mulheres com idade entre 18 e 35 anos, eutróficas, irregularmente ativas, com triglicerídeos < 150 mg/dL, glicemia < 100 mg/dL e que utilizavam ou não COC. Essas foram alocadas no grupo COC, formado por 21 mulheres em uso COC há pelo menos 1 ano; e grupo controle (GC), composto por 21 mulheres que não utilizavam nenhum tipo de contraceptivo hormonal há pelo menos 1 ano. Adotado um nível de significância de 5% para as análises estatísticas.

**Resultados:** Foi observado que o GCOC apresenta valores mais elevados da LDL-oxidada que o GC, respectivamente 384 mU/mL versus 283 mU/mL ( $p < 0,01$ ). Também foi observado correlação positiva entre a LDL-oxidada e a LDL-colesterol ( $r = 0,3$ ,  $p < 0,05$ ), com o colesterol total ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,01$ ) e com os triglicerídeos ( $r = 0,32$ ,  $p < 0,03$ ), não havendo correlação com a PCR-as. Na análise categorizada da LDL-oxidada, 71,4% das mulheres do GCOC e 28,6% do GC mantiveram-se acima do ponto de corte estabelecido.

**Conclusão:** Mulheres que utilizam COC apresentam valores plasmáticos mais elevados da LDL-oxidada, existindo, correlação positiva entre a LDL-oxidada e outras variáveis lipídicas. (Arq Bras Cardiol. 2018; 111(6):764-770)

**Palavras-chave:** Doenças Cardiovasculares/complicações; Anticoncepcionais Oraís Combinados; Transtornos do Metabolismo dos Lipídeos; Estresse Oxidativo; Aterosclerose; Proteína C Reativa.

### Abstract

**Background:** The use of combined oral contraceptive (COC) has been related to changes in glycemic, lipid metabolism, increased oxidative stress, and systemic blood pressure, which could suggest a higher oxidation of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol) in women on use of COC.

**Objective:** To test the hypothesis that there is a difference in the plasma values of oxidized LDL among women who use and do not use COC, as well as to evaluate the correlation between it and the lipid profile and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP).

**Methods:** Forty-two women with ages between 18 and 35 years old, who were eutrophic, irregularly active, with triglycerides < 150 mg/dL, blood glucose < 100 mg/dL, and who used or did not use COC were selected. These women were allocated in the COC group, formed by 21 women on COC use for at least 1 year; and a control group (CG), consisting of 21 women who had not used any type of hormonal contraceptive for at least 1 year. A significance level of 5% was adopted for statistical analyses.

**Results:** It was observed that GCOC showed higher values of oxidized LDL than the CG, respectively 384 mU/mL versus 283 mU/mL ( $p < 0.01$ ). A positive correlation between oxidized LDL and LDL-cholesterol ( $r = 0.3$ ,  $p < 0.05$ ), with total cholesterol ( $r = 0.47$ ,  $p < 0.01$ ) and with triglycerides ( $r = 0.32$ ,  $p < 0.03$ ) was observed, and there was no correlation with the hs-CRP. In the categorized analysis of oxidized LDL, 71.4% of GCOC women, and 28.6% of the CG remained above the established cutoff point.

**Conclusion:** Women who use COC have higher plasma levels of oxidized LDL, and there is a positive correlation between oxidized LDL and other lipid variables. (Arq Bras Cardiol. 2018; 111(6):764-770)

**Keywords:** Cardiovascular Diseases/complications; Contraceptives, Oral, Combined; Lipid Metabolism Disorders; Oxidative Stress; Atherosclerosis; C-Reactive Protein.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Alan Carlos Nery dos Santos •

Av. Dom João VI, 275. CEP 40290-000, Brotas, Salvador, BA – Brasil

E-mail: alansantos.pos@bahiana.edu.br, allannery.santos@hotmail.com

Artigo recebido em 10/08/2017, revisado em 11/06/2018, aceito em 02/07/2018

DOI: 10.5935/abc.20180194

## Introdução

Estudos demonstram que mulheres em idade reprodutiva, que utilizam contraceptivo oral combinado (COC), apresentam alterações no metabolismo glicêmico,<sup>1</sup> lipídico,<sup>2</sup> estresse oxidativo<sup>3</sup> e inflamação subclínica crônica.<sup>4,5</sup> Também, já foi identificado aumento nas subfrações aterogênicas da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol)<sup>6</sup> e elevação da pressão arterial sistêmica (PAS).<sup>7</sup> Em conjunto, essas alterações, apresentam associação com a oxidação da LDL-colesterol, a qual, tem sido fortemente relacionado com um perfil lipídico mais aterogênico.<sup>8</sup>

Uma vez oxidada, a LDL-colesterol apresenta várias ações na fisiologia vascular, entre elas, inibe a expressão do RNAm da enzima óxido nítrico sintetase endotelial, tendo como consequência a diminuição da produção do óxido nítrico e o favorecimento do processo aterosclerótico.<sup>9</sup> Além disso, também prejudica a proliferação, motilidade celular e a ação das células-tronco endoteliais, mecanismos capitais na endotelização das áreas lesadas no processo aterosclerótico.<sup>10,11</sup> Ainda, tem sido sugerido que valores mais elevados de LDL-oxidada, mesmo dentro dos limites de normalidade, estejam associados a maior risco de futuros eventos cardiovasculares e síndrome metabólica.<sup>1,12-14</sup>

Somado a isso, foi demonstrado que no Brasil, 33,8% das mulheres com idade entre 18 e 49 anos utilizam contraceptivos orais, sendo que dessas, mais de 13% (IC95% 10,9-15,7%) apresentam fatores de risco como o tabagismo, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e obesidade.<sup>15</sup> Esses fatores, associados ao uso dos COC podem aumentar sensivelmente o risco de eventos aterotrombóticos, mesmo em mulheres em idade reprodutiva.<sup>16,17</sup>

Contudo, para nosso conhecimento ainda não existem estudos que tenham investigado a oxidação da LDL-colesterol em mulheres jovens em uso de COC, sem outros fatores que justifiquem sua oxidação. Assim, foi testada a hipótese de que existe diferença nos valores plasmáticos da LDL-oxidada entre mulheres que utilizam e não utilizam COC, bem como foi avaliada a correlação entre a LDL-oxidada e as variáveis do perfil lipídico de jejum e a proteína c reativa.

## Métodos

### Amostra

A pesquisa caracteriza-se como um estudo analítico de corte transversal, a qual tem como variável preditora o uso de COC e variável de desfecho a LDL-oxidada.

A população estudada foi constituída por 42 mulheres autodeclaradas sadias, eutróficas, irregularmente ativas, com idade entre 19 e 30 anos, nulíparas, com valores de jejum de triglicérides < 150 mg/dL, de glicemia < 100 mg/dL e que utilizavam ou não COC. Todas as participantes eram discentes de uma faculdade privada localizada na cidade de Salvador, BA – Brasil.

A amostra foi dividida em dois grupos: grupo COC (GCOC) formado por 21 mulheres em uso de COC de baixa dosagem de etinilradiol (15 a 30 mcg) há pelo menos 1 ano; e grupo controle (GC), composto por 21 mulheres que não utilizavam nenhum tipo de contraceptivo hormonal há pelo menos 1 ano.

Para determinar se as participantes eram irregularmente ativas foi utilizado o Questionário Internacional de Atividade Física (versão longa), desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde e pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças Norte-Americano.<sup>18</sup>

Foram excluídas mulheres que relataram dislipidemia familiar, hipo- ou hipertireoidismo, histórico de alcoolismo ou tabagismo, síndrome do ovário policístico, estar em dieta hipo- ou hiperlipídica, fazer uso de suplementos alimentares ou anabolizantes, estar em uso de hipolipemiantes, corticosteroides, diuréticos ou betabloqueadores. Excluídas também, as que na avaliação física apresentaram valores da PAS  $\geq$  140/90 mmHg, circunferência abdominal  $\geq$  80 cm ou, no exame laboratorial, alteração da transaminase glutâmica pirúvica (TGP), oxidativa (TGO) ou creatinina. A TGP e TGO foram avaliadas com o intuito de identificar enfermidades pancreática e hepática, e a creatinina, para identificar a presença de disfunção renal.

Todas as participantes responderam ao questionário semiestruturado, elaborado pelos autores da pesquisa e passaram por exame físico. Esse último foi composto por medida de pressão arterial (PA) em repouso, massa corporal total, estatura e circunferência abdominal.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado com as medidas de massa e altura, de acordo com a equação de Quetelet: massa(kg)/altura<sup>2</sup> (cm). Os pontos de corte de IMC adotados foram os preconizados pela IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC),<sup>19</sup> ou seja, baixo peso (IMC < 18,5); eutrofia (IMC 18,5-24,9); sobrepeso (IMC 25-29,9) e obesidade (IMC  $\geq$  30).

A circunferência abdominal foi obtida com fita métrica metálica e inelástica, marca Starrett®, com definição de medida de 0,1 cm. Foi mensurada na menor curvatura localizada entre a última costela e a crista ilíaca sem comprimir os tecidos.<sup>20</sup>

### Protocolo da Coleta de Dados Laboratoriais

Para coleta dos dados laboratoriais, as voluntárias foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica na cidade de Salvador, BA – Brasil, onde foram realizadas as coletas das amostras sanguíneas. Depois de puncionada a veia antecubital, foram coletados 10 mL de sangue para dosagem dos triglicérides (TG), LDL-oxidada, da lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), do colesterol total (CT), glicemia, transaminase glutâmica pirúvica e oxidativa. A LDL-colesterol e a de muito baixa densidade (VLDL-colesterol) foram calculadas pela equação de Friedewald:<sup>21</sup>  $CT = HDL\text{-colesterol} + LDL\text{-colesterol} + VLDL\text{-colesterol}$ , sendo a VLDL-colesterol igual aos TG/5.

As coletas foram realizadas com as voluntárias em jejum de 12 horas. Todas foram orientadas a não alterarem sua dieta na semana do teste, a não praticarem nenhum esforço físico diferente do habitual e não ingerir bebidas alcoólicas 24 horas antes do exame laboratorial. Para o GC, as coletas foram realizadas entre o 5º e o 10º dia do ciclo menstrual, considerando as menores flutuações hormonais, conforme recomendado por Casazza e cols.<sup>22</sup> As amostras de sangue foram coletadas por um profissional capacitado e em ambiente laboratorial próprio para esse tipo de procedimento.

Para determinação da LDL-oxidada nas amostras de soro, foi utilizado o *kit* ELISA. Nessa análise, os valores da LDL-oxidada considerados normais foram entre 100 e 700 mU/mL. Já os valores de triglicerídeos, da HDL-colesterol, do colesterol total e da glicemia foram obtidos pelo método enzimático colorimétrico de Trinder.<sup>23</sup> A TGP e a TGO foram dosadas pelo método colorimétrico de Reitman-Frankel.<sup>24</sup>

O cálculo de suficiência amostral foi realizado no *software* GraphPad StatMate 2.0 for Windows, em que foi considerado uma diferença entre as médias de 63MU/mL e desvios padrão de 119,5 MU/mL (GCOC) e 43,6MU/mL (GC), ambos extraídos de estudo piloto prévio (n = 12). No intuito de anular o viés do coeficiente de variação laboratorial da dosagem da LDL-oxidada, esta quantificada em 3%, foi considerado uma diferença significativa entre os grupos de 20% para alfa e beta de 0,05 (bidirecional) e 0,80, respectivamente. Desse modo, foram necessárias 20 mulheres em cada grupo.

### Análise estatística

Inicialmente, para verificar a distribuição dos dados foram aplicados testes de simetria e curtose e o teste de *Shapiro-Wilk*. Os valores das variáveis com comportamento normal foram descritos em média e desvio padrão e os valores das variáveis não paramétricas em mediana e intervalo interquartil. As variáveis categóricas foram apresentadas como frequências absoluta e relativa.

Para a comparação intergrupos das variáveis paramétricas foi utilizado o teste *t* de Student não pareado bidirecional e para as variáveis não paramétricas o teste de *Mann-Whitney*. Verificada também a correlação entre os valores da LDL-oxidada com todas as variáveis do perfil lipídico – triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol e a PCR. Nas análises de correlação foi utilizado o coeficiente de correlação de *Spearman*.

Além das comparações intergrupos da LDL-oxidada, a amostra foi categorizada tomando como base a mediana da LDL-oxidada em mulheres que apresentavam valores da LDL-oxidada acima e abaixo da mediana. Após a categorização foi utilizado o teste exato de Fisher. Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico BioStat 5.0, adotando nível de significância de 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 de Tecnologia e Ciência de Salvador – BA sob o número 3.390/2011.

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.

### Resultados

A Tabela 1 apresenta as características clínicas e antropométricas da amostra. Nota-se a homogeneidade entre os grupos e

destaca-se a diferença entre os valores da PAS ( $p < 0,02$ ) e PCR ( $p < 0,01$ ), sendo esses, maiores no GCOC.

Ao comparar as variáveis lipídicas de jejum e a razão TG/HDL-colesterol (Tabela 2) percebe-se que o GCOC apresenta valores plasmáticos de triglicerídeos ( $p < 0,01$ ), colesterol total ( $p < 0,01$ ), HDL-colesterol ( $p < 0,04$ ), VLDL-colesterol ( $p < 0,01$ ) e a razão TG/HDL-colesterol ( $p < 0,01$ ) maiores que o GC.

Como mostrado na Figura 1, às mulheres do GCOC apresentam valores plasmáticos da LDL-oxidada (mU/mL) mais elevados do que o GC, 384 (198–410) versus 283 (208-250) ( $p < 0,01$ ).

Na Tabela 3 são apresentadas as análises de correlação entre a LDL-oxidada e as variáveis do perfil lipídico de jejum, bem como entre a LDL-oxidada e a PCR. Foi observada correlação linear moderada e positiva entre a LDL-oxidada e a LDL-colesterol, os triglicerídeos e o colesterol total.

Já na Tabela 4 pode-se observar a análise intergrupo da LDL-oxidada quando categorizada baseada no valor da mediana. Percebe-se que das mulheres do GCOC, 71,4% tiveram valores plasmáticos mais elevados da LDL-oxidada que o ponto de corte estabelecido quando comparadas àquelas do GC, que foi de 28,6% ( $p < 0,01$ ).

### Discussão

Em resposta aos objetivos deste estudo, identificamos que mulheres que utilizam COC apresentam valores mais elevados da LDL-oxidada, com correlação moderada e positiva entre a LDL-oxidada com a LDL-colesterol, com o colesterol total e com os triglicerídeos. Além disso, 71,4% das mulheres que utilizam COC apresentam valores da LDL-oxidada acima do ponto de corte quando comparadas ao controle 28,6%. Assim, embora não seja possível estabelecer relação de causa-efeito perfeita em virtude do método empregado, da não estratificação dos tipos do COC e dos efeitos da regionalidade, os resultados aqui apresentados são reforçados pelas características e homogeneidade da amostra, a qual, não apresenta os clássicos fatores que sabidamente poderiam induzir o aumento da LDL-oxidada. Nesse contexto, ainda que não exista um mecanismo claramente definido, algumas hipóteses podem explicar a elevação da LDL-oxidada em mulheres que utilizam COC.

Cabe ressaltar que nos últimos anos, evidências científicas têm deixado cada vez mais claro o papel da LDL-oxidada na fisiopatologia da aterosclerose.<sup>25</sup> Contudo, ainda não existe um mecanismo claramente definido e sim, várias hipóteses que ajudam explicar a oxidação da LDL-colesterol em diferentes populações.<sup>8,25</sup> Uma dessas hipóteses, demonstra que a biodisponibilidade da LDL-colesterol, em associação com o estresse oxidativo parece ser o principal determinante para a formação da LDL-oxidada.<sup>8</sup>

Assim, embora não tenhamos verificado diferença nos valores plasmáticos da LDL-colesterol de jejum, entre os grupos estudados, sugerimos que o GCOC apresenta maior concentração da subfração mais aterogênica da LDL-colesterol. Essa partícula é caracterizada por ser pequena e densa, e por apresentar menores concentrações de antioxidantes. Em conjunto, esses fatores a torna mais

**Tabela 1 – Características clínicas e antropométricas das mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral combinado (n = 42)**

| Variáveis                                     | GCOC (n = 21)   | GC (n = 21)     | Valor de p |
|---|-----------------|-----------------|------------|
| Idade (anos)                                  | 23 ± 3,1        | 23 ± 3,4        | 0,98*      |
| Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> ) | 20 ± 2,1        | 19 ± 2,8        | 0,07*      |
| Circunferência da cintura (cm)                | 73 ± 7,8        | 70 ± 5,9        | 0,32*      |
| Pressão arterial sistólica (mmHg)             | 118 ± 8,8       | 111 ± 9,7       | 0,02*      |
| Pressão arterial diastólica (mmHg)            | 77 (74 – 80)    | 70 (70 – 80)    | 0,18**     |
| Proteína C-reativa (mg/L)                     | 2,7 (1,8 – 6,4) | 0,9 (0,5 – 1,1) | < 0,01**   |
| Glicemia (mg/dL)                              | 82 ± 6,9        | 83 ± 5,7        | 0,57*      |
| Transaminase glutâmica pirúvica (U/L)         | 15 ± 4,2        | 14 ± 3,4        | 0,16*      |
| Tempo de uso do COC (anos)                    | 3,7 ± 2,3       | –               | –          |

GCOC: grupo contraceptivo oral combinado; GC: grupo controle; COC: contraceptivo oral combinado; \*Teste t de Student bidirecional para amostras independentes; \*\*Teste de Mann-Whitney bidirecional.

**Tabela 2 – Comparação dos lipídios de jejum (mg/dL) entre os grupos estudados**

| Variáveis        | GCOC (n = 21) | GC (n = 21)  | Valor de p |
|------------------|---------------|--------------|------------|
| Triglicerídeos   | 95 (73 – 112) | 49 (40 – 64) | < 0,01**   |
| Colesterol total | 210 ± 38,6    | 183 ± 29,7   | 0,01*      |
| HDL-c            | 58 ± 19,3     | 48 ± 11,5    | 0,04*      |
| LDL-c            | 134 ± 35,1    | 126 ± 27,7   | 0,42*      |
| VLDL-c           | 19 (15 – 22)  | 10 (8 – 13)  | < 0,01**   |
| Razão TG/HDL-c   | 1,7 ± 0,5     | 1,1 ± 0,5    | < 0,01*    |

GCOC: grupo contraceptivo oral combinado; GC: grupo controle; HDL-colesterol: lipoproteína de alta densidade colesterol; LDL-colesterol: lipoproteína de baixa densidade colesterol; VLDL-colesterol: lipoproteína de muito baixa densidade colesterol; TG: triglicerídeos; \*Teste t bidirecional para amostras independentes; \*\*Teste de Mann-Whitney bidirecional.

propensas ao dano oxidativo.<sup>26</sup> Neste estudo, a hipótese em questão baseia-se no resultado da razão TG/HDL-colesterol, a qual verificamos ser significativamente maior no GCOC. Além disso, tem sido sugerido que a razão TG/HDL-colesterol possa refletir o tamanho das partículas da LDL-colesterol, sendo, valores > 1, indicativos de partículas pequenas e densas.<sup>26</sup> Em concordância com nosso estudo, Graaf et al.,<sup>6</sup> mostraram que mulheres que utilizam COC apresentam maiores concentrações da subfração aterogênica da LDL-colesterol, fato que pode sugerir um perfil lipídico mais aterogênico nessa população.

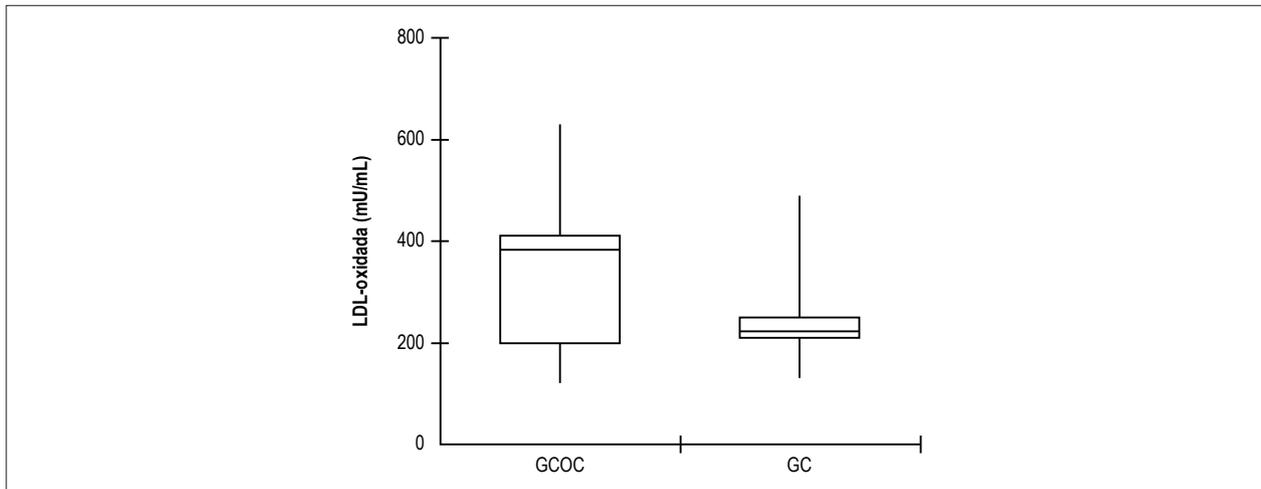
Contrapondo nosso resultado, embora em uma população como idade entre 40 e 48 anos, formulação dos contraceptivos orais diferentes, além de fatores como tabagismo, doença intestinal e atividade física, o estudo ELAN,<sup>3</sup> não identificou alterações significativas entre os valores plasmáticos da LDL-oxidada de mulheres que utilizam e não utilizam contraceptivo oral. No entanto, foi notado que nas mulheres em uso desse grupo de medicamentos, a oxidação lipídica, marcada pela maior concentração de peróxidos (–OOH), era 1,7 vezes mais elevada. Segundos os autores, esse resultado poderia ser explicado pelo maior estresse oxidativo induzido pelo etinilstradiol presente nas formulações dos COC.<sup>3</sup>

Em linha com essa observação, podemos sugerir, assim como outras pesquisas, que as mulheres em uso de COC

apresentam maior estresse oxidativo.<sup>3</sup> Hipótese que pode ser apoiada pelo significativo aumento da LDL-oxidada no GCOC, uma vez que, segundo a literatura essa lipoproteína oxidada é uma variável do estresse oxidativo.

De acordo com dados de literatura, as propriedades estrogênicas e androgênicas dos COC têm influência no estresse oxidativo, isso porque, esses hormônios apresentam várias ações sobre endotélio vascular, aumentando a biodisponibilidade do óxido nítrico, fato que não parece proteger, mas sim agredir o endotélio, pelo maior estresse oxidativo.<sup>27</sup>

Outro dado que chama atenção, é que, a LDL-oxidada apresenta correlação com outras variáveis lipídicas. De fato, nossos resultados, assim como outros estudos, indicam que a LDL-oxidada apresenta correlação moderada positiva com o colesterol total, os triglicerídeos e a LDL.<sup>8,12</sup> Essa relação pode ser parcialmente justificada por achados que indicam que um aumento de 1mg/dL nos níveis séricos do colesterol total ou da LDL-colesterol, bem como, aumento de uma unidade na relação colesterol total para HDL-colesterol, podem predizer incrementos de 0,22, 12,21 e 15,78U/L nas concentrações da LDL-oxidada respectivamente.<sup>28</sup> Segundo a literatura, os triglicerídeos podem predizer, independentemente, de variáveis como a LDL-colesterol, valores elevados da LDL-oxidada.<sup>27</sup>



**Figura 1** – O boxplot mostra maior concentração da LDL-oxidada nas mulheres em uso de contraceptivo oral combinado, quando comparadas as que não utilizam esse grupo de medicamentos ( $p < 0,01$ ). Além disso, nota-se que no GCOC a concentração dessa lipoproteína oxidada encontra-se no primeiro quartil, enquanto o GC, no terceiro quartil. A comparação da mediana entre os grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney bidirecional.

**Tabela 3** – Análise de correlação entre a LDL-oxidada (mU/mL) e as variáveis do perfil lipídico de jejum (mg/dL) e PCR (mg/dL)

| Cruzamentos                  | Coefficiente de correlação (rs) | Valor de p* |
|------------------------------|---------------------------------|-------------|
| LDL-oxidada e TG             | 0,32                            | 0,03        |
| LDL-oxidada e CT             | 0,47                            | < 0,01      |
| LDL-oxidada e LDL-colesterol | 0,29                            | 0,05        |
| LDL-oxidada e HDL-colesterol | 0,26                            | 0,08        |
| LDL-oxidada e PCR            | 0,20                            | 0,19        |

LDL-oxidada: lipoproteína de baixa densidade oxidada; TG: triglicerídeos; CT: colesterol total; HDL-colesterol: lipoproteína de alta densidade colesterol; LDL-colesterol: lipoproteína de baixa densidade colesterol; PCR: Proteína C-reativa; \*Teste de correlação de Spearman.

**Tabela 4** – Análise categórica baseada na mediana da LDL-oxidada

|             |       | COC        |            | Valor de p* |
|-------------|-------|------------|------------|-------------|
|             |       | Não n (%)  | Sim n (%)  |             |
| LDL-oxidada | < 247 | 15 (71,4%) | 6 (28,6%)  | < 0,01      |
|             | > 247 | 6 (28,6%)  | 15 (71,4%) |             |

LDL-oxidada: lipoproteína de baixa densidade oxidada; COC: contraceptivo oral combinado. \*Teste Exato de Fisher.

Em concordância com a literatura, nosso estudo demonstrou aumento significativo dos valores séricos dos TG, da HDL-colesterol, da PCR, e dos valores da pressão arterial sistólica no GCOC, ao passo que, nenhuma diferença foi detectada nos valores da LDL-colesterol.<sup>29-31</sup> Contudo, é preciso ter cautela ao analisar os resultados referentes a LDL-colesterol e a HDL-colesterol, uma vez que, a razão TG/HDL-colesterol é significativamente maior nesse grupo de mulheres, o que indica, um maior potencial aterogênico relacionado ao LDL-colesterol. Em relação ao HDL-colesterol, embora em nossa amostra seus valores estejam significativamente elevados, ainda não se sabe quais os efeitos do COC sobre as suas subfrações, tendo em vista que, existem partículas aterogênicas da HDL-colesterol.<sup>32</sup>

Também é interessante notar que o uso de COC tem sido sugerido como um fator independente para elevação plasmática

da PCR em mulheres em idade reprodutiva. Esse aumento parece estar associado a alterações na função e níveis dos receptores  $\beta$  do estrogênio, aumento do cortisol, elevação do TNF- $\alpha$ , hipometilação no DNA de macrófagos e alterações na síntese hepática da PCR. Também chama atenção que o uso atual de COC pode representar de forma independente 20 a 32% da variação da PCR nessas mulheres.<sup>33</sup> Além disso, também foi mostrado que uma em cada três mulheres em uso de COC apresenta PCR > 3 mg/L, fato que segundo a literatura pode aumentar sensivelmente o risco de eventos cardiovasculares.<sup>29</sup>

Além disso, assim como nos nossos resultados, pesquisas têm demonstrado elevação significativa da pressão arterial em mulheres que utilizam COC.<sup>7,34,35</sup> De fato, segundo alguns estudos, uso do COC pode estar relacionado a quadros de hipertensão arterial leve e moderada, com aumentos que

variam entre 20 e 40mmHg, na PAS e 10 a 20 mmHg, na diastólica. Ainda segundo os estudos, essa elevação pode ser revertida no prazo de 3 meses após interrupção do COC.<sup>34</sup> Tal elevação da pressão arterial pode ocorrer devido a alterações nas concentrações de eletrólitos, estresse oxidativo, resistência à insulina e maior produção da renina e angiotensinogênio hepático nessas mulheres.<sup>34,35</sup>

Portanto, somando-se o fato de que a LDL-oxidada emerge como um fator de risco não tradicional para futuros eventos cardiovasculares em mulheres após a menopausa,<sup>14</sup> e que, na fisiopatologia da aterosclerose, além de estar presentes em todas as fases do processo aterosclerótico, ela começa a ser depositada na parede arterial de indivíduos adultos jovens, antes mesmo da formação inicial da placa de ateroma,<sup>36</sup> sugere-se que mulheres em uso de COC apresentam risco cardiovascular futuro maior que mulheres que não utilizam esse grupo de medicamentos.

A oxidação da LDL-colesterol está intimamente ligada a disfunção endotelial, em um processo de retroalimentação positiva. A disfunção endotelial associada ao processo inflamatório vascular arterial, são os principais responsáveis pela oxidação da LDL-colesterol que, por sua vez, provoca toxicidade das células endoteliais e atração quimiotática de monócitos/macrófagos retroalimentando a disfunção endotelial. Esse mecanismo é conhecido como a teoria oxidativa da aterogênese.<sup>37,38</sup>

Os resultados aqui apresentados apontam mecanismos que podem ajudar a elucidar o resultado de um estudo multicêntrico que mostrou que o uso de COC está associado a um risco de infarto do miocárdio aumentado em 5 vezes na Europa e mais de 4 vezes em países não europeus. Vale ressaltar que esse aumento está intimamente ligado às formulações dos COC com ( $\geq 50 \mu\text{g}$  de estrogênio) e a presença dos clássicos fatores de risco como tabagismo, hipertensão arterial, dislipidemias e obesidade.<sup>16,17</sup> Outro interessante estudo demonstrou que mulheres em uso de COC com dosagens de etinilradiol entre 30 a  $40 \mu\text{g}$  tinham risco de trombose arterial entre 1,3 e 2,3. Já em dosagens menores ( $20 \mu\text{g}$ ), o risco foi de 0,9 e 1,7 vezes, quando comparadas as mulheres que não utilizam esse grupo de medicamentos. Esses resultados sugerem que mesmo em baixas dosagens, os COC podem aumentar o risco de aterotrombose, fato que deve ser levado em consideração durante a sua prescrição, principalmente em mulheres que apresentem fatores de risco para doenças cardiovasculares e metabólicas.<sup>17,39</sup>

Por fim, o presente estudo possui limitações que precisam ser discutidas. A não estratificação dos tipos de COC, tendo em vista que este, mesmo sendo de 3ª geração, possui diferentes formulações em concentrações de estrogênio e progestina, fato que além de poder causar diferente efeitos no metabolismo, limita a generalização dos resultados quanto ao tipo de hormônio presente na formulação dos contraceptivos. Além disso, o controle dietético não foi adequadamente realizado, embora não tenham sido

selecionadas voluntárias em controle ou limitação dietética, não se pode anular completamente a influência da dieta em nossos resultados. Também é importante salientar que as limitações apresentadas não inviabilizam os resultados deste estudo, ao contrário, adicionam dados que facilitam o entendimento das alterações no perfil lipídico de mulheres em idade reprodutiva e que utilizam COC.

## Conclusão

Em síntese, os achados deste estudo indicam que mulheres que utilizam COC apresentam significativo aumento dos valores plasmáticos da LDL-oxidada, assim como, maiores concentrações das subfrações pequenas e densas da LDL-colesterol, identificadas pela razão TG/HDL-colesterol. Também identificamos correlação moderada e positiva da LDL-oxidada com variáveis aterogênicas do perfil lipídico, podendo sugerir maior agressão vascular e, conseqüentemente, maior risco cardiovascular nessa população. Finalmente, também podemos sugerir maior estresse oxidativo, representado indiretamente pela maior concentração da LDL-oxidada nessas mulheres.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Santos ACN, Petto J, Ladeia AMT. Obtenção de dados: Santos ACN, Diogo DP, Rocha CS, Souza LH, Araújo WS. Análise e interpretação dos dados: Santos ACN, Petto J, Diogo DP, Ladeia AMT, Araújo WS. Redação do manuscrito: Santos ACN, Petto J, Araújo WS, Diogo DP, Souza LH, Rocha CS, Ladeia AMT. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Santos ACN, Petto J, Araújo WS, Diogo DP, Ladeia AMT.

## Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação acadêmica

Este estudo é parte da dissertação de mestrado de Alan Carlos Nery dos Santos pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - EBMS, Salvador.

## Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Tecnologia e Ciência de Salvador sob o número de protocolo 3.39012011. Todos os procedimentos envolvidos nesse estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, atualizada em 2013. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes incluídos no estudo.

## Referências

1. Kim C, Siscovick DS, Sidney S, Lewis CE, Kiefe CI, Koepsell TD; CARDIA Study. Oral contraceptive use and association with glucose, insulin, and diabetes in young adult women: the CARDIA Study. *Coronary Artery Risk Development in Young Adults*. *Diabetes Care*. 2002;25(6):1027-32.
2. Petto J, Vasques LM, Pinheiro RL, Giesta Bde A, Santos AC, Gomes Neto M, et al. Comparison of postprandial lipemia between women who are on oral contraceptive methods and those who are not. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(3):245-50.
3. Pincemail J, Vanbelle S, Gaspard U, Collette G, Haleng J, Cheramy-Bien JP, et al. Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40–48 years from the ELAN study in the province of Liège, Belgium. *Hum Reprod*. 2007;22(8):2335-43.
4. Sørensen CJ, Pedersen OB, Petersen MS, Sørensen E, Kotzé S, Thøner LW, et al. Combined oral contraception and obesity are strong predictors of low-grade inflammation in healthy individuals: results from the Danish Blood Donor Study (DBDS). *PLoS One*. 2014;9(2):e88196.
5. Petto J, Pereira LS, Santos AC, Giesta BA, Melo TA, Ladeia AM. Inflamação subclínica em mulheres que utilizam contraceptivo oral. *Rev Bras Cardiol*. 2013;26(6):465-71.
6. de Graaf J, Swinkels DW, Demacker PN, de Haan AF, Stalenhoef AF. Differences in the low density lipoprotein subtraction profile between oral contraceptive users and controls. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76(1):197-202.
7. Harvey RE, Hart EC, Charkoudian N, Curry TB, Carter JR, Fu Q. Oral contraceptive use, muscle sympathetic nerve activity, and systemic hemodynamics in young women. *Hypertension*. 2015;66(3):590-7.
8. Holvoet P, De Keyser D, Jacobs DR Jr. Oxidized LDL and the metabolic syndrome. *Future Lipidol*. 2008;3(6):637-49.
9. Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1995;270(1):319-24.
10. Yang H, Mohamed AS, Zhu S. Oxidized low density lipoprotein, stem cells, and atherosclerosis. *Lipids Health Dis*. 2012 Jul 2;11:85.
11. Xavier HT, Abdalla DS, Martinez TL, Ramires JF, Gagliardi AR. Effects of oxidized LDL on in vitro proliferation and spontaneous motility of human coronary artery endothelial cells. *Arq Bras Cardiol*. 2004;83(6):493-7; 488-92.
12. Holvoet P, Kritchevsky SB, Tracy RP, Mertens A, Rubin SM, Butler J, et al. The metabolic syndrome, circulating oxidized LDL, and risk of myocardial infarction in well-functioning elderly people in the health, aging, and body composition cohort. *Diabetes*. 2004;53(4):1068-73.
13. Rietzschel ER, Langlois M, De Buyzere ML, Segers P, De Bacquer D, Bekaert S, et al; Asklepios Investigators. Oxidized low-density lipoprotein cholesterol is associated with decreases in cardiac function independent of vascular alterations. *Hypertension*. 2008;52(3):535-41.
14. Mascarenhas-Melo F, Sereno J, Teixeira-Lemos E, Ribeiro S, Rocha-Pereira P, Cotterill E, et al. Markers of increased cardiovascular risk in postmenopausal women: focus on oxidized-LDL and HDL Subpopulations. *Dis Markers*. 2013;35(2):85-96.
15. Corrêa DA. Uso de contraceptivos orais entre mulheres de 18 a 49 anos: inquérito populacional telefônico. [Dissertação]. Belo Horizonte. Escola de Enfermagem da UFMG; 2012.
16. Acute myocardial infarction and combined oral contraceptives: results of an international multicentre case-control study. WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception. *Lancet*. 1997;349(9060):1202-9.
17. 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.
18. US Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Division of Nutrition and Physical Activity. [Internet]. Physical activity and health: a report of the Surgeon General. Executive Summary; 1996. [Cited in 2014 Dec 20]. Available from: <http://www.cdc.gov/nccdphp/sgr/summary.htm>
19. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al. [IV Brazilian Guideline for dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88 Suppl 1:2-19.
20. World Health Organization. (WHO). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii,1-253.
21. 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.
22. Casazza GA, Suh SH, Miller BF, Navazio FM, Brooks GA. Effects of oral contraceptives on peak exercise capacity. *J Appl Physiol* (1985). 2002;93(5):1698-702.
23. Casella M. Home monitoring of blood glucose by owners of diabetic cats and dogs: technical problems and evaluation of differences between home and hospital blood glucose curves. [Tese]. Zuriq: Faculdade de Medicina Veterinária; 2003.
24. Burtis CA, Brun DE, Ashwood ER, Tietz. *Fundamentos de química clínica*. 6ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara- Koogan; 1998.
25. Leiva E, Wehinger S, Guzmán L, Orrego R. Role of oxidized LDL in atherosclerosis, hypercholesterolemia. London: Intech Open Limited, The Shard; 2015.
26. Maruyama C, Imamura K, Teramoto T. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb*. 2003;10(3):186-91.
27. Andozia MB, Vieira CS, Franceschini SA, Torqueti Tolloi MR, Silva de Sá MF, Ferriani RA. Ethinylestradiol and estradiol have different effects on oxidative stress and nitric oxide synthesis in human endothelial cell cultures. *Fertil Steril*. 2010;94(5):1578-82.
28. Barbosa KB, Volp AC, Hermsdorff HH, Navarro-Blasco I, Zulet MÁ, Martínez JA, et al. Relationship of oxidized low density lipoprotein with lipid profile and oxidative stress markers in healthy young adults: a translational study. *Lipids Health Dis*. 2011 Apr 19;10:61.
29. Santos AC, Petto J, Oliveira FT, Diogo DP, Ladeia AM. C-reactive protein in oral contraceptive users: related factors and cardiovascular risk. *Int J Cardiovasc Sci*. 2016;29(4):320-5.
30. Godsland IF, Crook D, Simpson R, Proudler T, Felton C, et al. The effects of different formulations of oral contraceptive agents on lipid and carbohydrate metabolism. *N Engl J Med*. 1990;323(20):1375-81.
31. Sherif K. Benefits and risks of oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(6 Pt 2):S343-8.
32. Oravec S, Dostal E, Dukát A, Gavorník P, Kucera M, Gruber K. HDL subfractions analysis: a new laboratory diagnostic assay for patients with cardiovascular diseases and dyslipoproteinemia. *Neuro Endocrinol Lett*. 2011;32(4):502-9.
33. Raitakari M, Mansikkaniemi K, Marniemi J, Viikari JS, Raitakari OT. Distribution and determinants of serum high-sensitive C-reactive protein in a population of young adults: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *J Intern Med*. 2005;258(5):428-34.
34. Lubianca JN, Moreira LB, Gus M, Fuchs FD. Stopping oral contraceptives: an effective blood pressure-lowering intervention in women with hypertension. *J Hum Hypertens*. 2005;19(6):451-5.
35. Haroon S, Naveed KA. Effect of hormonal contraceptives on serum electrolytes and blood pressure. *JPMI*. 2014;28(4):409-13.
36. Uchida Y, Maezawa Y, Uchida Y, Hiruta N, Shimoyama E. Localization of oxidized low-density lipoprotein and its relation to plaque morphology in human coronary artery. *PLoS One*. 2013;8(2):e55188.
37. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
38. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868-74.
39. Lidegaard O, Lokkegaard E, Jensen A, Skovlund CW, Keiding N. Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception. *N Engl J Med*. 2012;366(24):2257-66.

