

MARIA LAURA COSTA DO NASCIMENTO

**Variação da densidade mineral óssea no puerpério
segundo amamentação, amenorréia, índice de massa
corpórea e uso de método anticoncepcional**

Tese de Doutorado

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Guilherme Cecatti

**Unicamp
2011**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

**Variação da densidade mineral óssea no puerpério
segundo amamentação, amenorréia, índice de massa
corpórea e uso de método anticoncepcional**

MARIA LAURA COSTA DO NASCIMENTO

Tese de Doutorado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia, da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde, área de concentração em Saúde Materna e Perinatal, sob a orientação do Prof. Dr. José Guilherme Cecatti.

Campinas, 2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**
Bibliotecário: Rosana Evangelista Poderoso – CRB-8ª / 6652

N17v

Nascimento, Maria Laura Costa do, 1979 -
Variação da densidade mineral óssea no puerpério
segundo amamentação, amenorréia, índice de massa
corpórea e uso de método anticoncepcional. / Maria
Laura Costa do Nascimento. -- Campinas, SP : [s.n.],
2011.

Orientador : José Guilherme Cecatti
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Puerpério. 2. Amamentação. 3. Índice de massa
corporal. 4. Anticoncepção. I. Cecatti, José Guilherme.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês: Variation of bone mineral density during postpartum
according to breastfeeding, amenorrhea, body mass index and use of
anticonceptive method

Palavras-chave em inglês:

Postpartum
Breastfeeding
Body mass index
Contraception

Titulação: Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Saúde Materna e Perinatal

Banca examinadora:

José Guilherme Cecatti
Luis Guillermo Bahamondes
Mary Angela Parpinelli
Iracema de Mattos Paranhos Calderon
Eliana Aguiar Petri Nahas

Data da defesa: 05-08-2011

Programa de Pós-Graduação: Faculdade de Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: Maria Laura Costa do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. José Guilherme Cecatti

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

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

Data: 05/08/2011

Dedico este trabalho...

*À minha filha, Giovana, por mostrar o que realmente é prioridade na vida.
Menina linda, esperta, carinhosa... A maior conquista de todas.*

Ao meu marido, Thiago, pelo carinho e compreensão.

Aos meus pais, pelo exemplo de vida pessoal e acadêmica.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Guilherme Cecatti, pelo exemplo de pesquisador e apoio durante os anos deste trabalho;

À família, por todo carinho e compreensão, sempre. Em especial à minha mãe... avó dedicada e presente, sem a sua ajuda eu não teria conseguido voltar a trabalhar com tranquilidade após o nascimento da Giovana;

Ao meu irmão, pelo incentivo em todas as etapas da minha vida. Fisicamente distante, mas muito presente e fundamental como exemplo de lealdade e profissionalismo;

Aos meus avós, pela dedicação à família e carinho;

Aos meus padrinhos, pela força, torcida e preocupação em todos os momentos importantes da minha vida;

Aos amigos, companheiros constantes em todos os momentos. Obrigada Flávia, Aninha, Mari, Josie, Carol, Tati, Bi, Paula e Luis;

Aos funcionários Unicamp e CEMICAMP (em especial à Conceição, Márcia Alice e Fátima);

Aos residentes, médicos contratados e docentes do CAISM, pelo acolhimento e suporte. Em especial à Dra Mary e Dra Fernanda... por compartilharem as dificuldades deste estudo, ao longo dos últimos anos e pela “torcida” declarada pelo sucesso do trabalho;

À Dra. Helaine e Dra Gláucia, pesquisadoras que ajudaram nas primeiras versões do projeto;

À Fabi (Fabiana Kruppa), amiga e coordenadora inicial deste estudo.
Obrigada por confiar no meu trabalho;

À Patrícia, amiga e companheira de trabalho, pelo apoio sempre e pela
cobertura na minha licença maternidade;

À Maria Helena, estatística incrível e uma boa amiga. Pessoa capaz de
se envolver com os projetos, discutir resultados e apresentação de dados.
Aprendemos muito nas inúmeras reuniões e trocas de e-mail;

Ao Lúcio, pelo constante “suporte técnico”, pela disponibilidade e carinho
com que ajudou neste trabalho;

À Vanda, bibliotecária dedicada e eficiente, sempre pronta para ajudar;

À equipe de pesquisa, amigos e parceiros da “sala vermelha”. Em
especial à Samira, pela amizade de todos os momentos e ao Rodolfo,
pelo apoio de todas as quintas-feiras e participação na busca de artigos e
elaboração de revisão de literatura;

A todas as pacientes que acompanhei durante os anos de estudo; depois
de ter filho, aprendi na pele o que significa programar consultas e ajustar
retornos. Obrigada pela disponibilidade e pelo carinho, muitas escrevem
e ligam até hoje;

Aos órgãos financiadores - FAPESP e FAEPEX, pelo suporte financeiro,
sem o qual o estudo seria impossível.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	viii
Resumo	x
Summary	xii
1. Introdução.....	14
2. Objetivos.....	20
3. Sujeitos e Método	21
3.1. Desenho do Estudo	21
3.2. Tamanho da amostra	21
3.3. Variáveis.....	21
3.4. Seleção dos sujeitos.....	23
3.5. Coleta, processamento e análise de dados	24
3.6. Aspectos éticos.....	28
4. Publicações	29
4.1. Artigo 1	30
4.2. Artigo 2	49
5. Discussão Geral	72
6. Conclusões	77
7. Referências Bibliográficas	78
8. Anexos	84
Anexo 1. Check list	84
Anexo 2. Consentimento livre e esclarecido.....	85
Anexo 3. Ficha de coleta de dados	87
Anexo 4. Cálculo de precisão para densitometria óssea.....	91
Anexo 5. Exemplo de laudo de exame de densitometria	93
Anexo 6. Carta de aprovação do projeto no CEP	94
Anexo 7. Carta de recebimento do artigo 1 na <i>Osteoporosis International</i>	96
Anexo 8. Carta de recebimento do artigo 2 na <i>Contraception</i>	97

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AMPD	Acetato de medroxiprogesterona de depósito
<i>BMD</i>	<i>Bone mineral density</i>
<i>BMI</i>	<i>Body mass index</i>
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CEMICAMP	Centro de Estudos em Saúde Reprodutiva de Campinas
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
<i>CI</i>	<i>Confidence interval</i>
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CV%	Coeficiente de Variação
DIU	Dispositivo intrauterino
<i>DMPA</i>	<i>Depot medroxyprogesterone acetate</i>
DMO	Densidade mineral óssea
DXA	Absorimetria por dupla emissão de raios X
EP	Erro de precisão
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
IC	Intervalo de confiança
<i>IRB</i>	<i>Institutional Review Board</i>

IMC	Índice de Massa Corpórea
ISCD	<i>International Society of Clinical Densitometry</i>
IUD	<i>Intrauterine device</i>
IUS	<i>Intrauterine system</i>
LAM	<i>Lactation and amenorrhea as method</i>
LH	Hormônio luteinizante
LNG	<i>Levonorgestrel</i>
LS	<i>Least squares</i>
LSC	<i>Least Significant Change</i>
MAC	Método Anticoncepcional
MANOVA	Análise de variância multivariada
MVS	Mínima Variação Significativa
pDXA	Absorimetria periférica por dupla emissão de raios X
POP	<i>Progestin only pills</i>
PTHrP	Hormônio da paratireoide
SBDens	Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica
SD	<i>Standard deviation</i>
SE	<i>Standard error</i>
SPA	<i>Single Photon Absorptiometry</i>
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
WHO	<i>World Health Organization</i>

Resumo

Objetivos: Avaliar as variações da densidade mineral óssea (DMO) até um ano de puerpério entre mulheres saudáveis, e a associação com aleitamento materno, amenorréia, índice de massa corpórea e uso de método anticoncepcional. Propõe ainda comparar as usuárias de métodos hormonais só com progestágenos com as usuárias de métodos não hormonais até 6 meses pós-parto. **Método:** estudo de coorte prospectivo, incluindo 100 mulheres saudáveis seguidas por um período de um ano no pós-parto. Mulheres consideradas elegíveis deveriam ter tido uma gestação não complicada, única, de termo (≥ 37 semanas) e nenhum antecedente de doenças que interferissem no metabolismo ósseo (como diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, tireoidopatia, hipo ou hiperparatireoidismo, hepatite, neoplasia ou doença da hipófise) ou utilização de medicação (corticosteróides, anticoagulantes, anticonvulsivantes, diuréticos tiazídicos ou drogas para tratamento de doenças tireoideanas), além do desejo de postergar uma próxima gestação por pelo menos um ano. Foram realizadas densitometrias ósseas do antebraço não dominante utilizando a dual-energy X-ray absorptiometry, além de avaliação antropométrica e coleta de informações sobre o tempo de amamentação exclusiva, amamentação total, amenorréia e uso de método contraceptivo, com 7-10 dias de puerpério, 3, 6 e 12 meses pós-parto. Aos 40 dias pós-parto foram introduzidos métodos contraceptivos, segundo a escolha individual de cada mulher, a depender de inúmeros fatores como aleitamento, necessidade de método temporário ou definitivo e condição clínica. Houve liberdade para troca de método, a critério de cada mulher. **Resultados:** Setenta e oito mulheres apresentaram seguimento completo, com todas as medidas propostas de DMO até 12 meses pós-parto. O tempo médio de aleitamento materno exclusivo foi 125,9 ($\pm 66,6$) dias, com mediana de duração total de aleitamento de 263,5 dias. A duração média da amenorréia pós-parto foi 164,2 ($\pm 119,2$) dias. A avaliação seriada de DMO mostrou perda significativa de massa óssea no rádio distal, sem valor estatisticamente significativo para o rádio ultra-distal. Ao analisar apenas os casos com uso de

contraceptivos não hormonais, a variação de DMO mostrou ser significativa para os dois sítios avaliados. A análise de variância multivariada revelou associação positiva entre DMO e IMC e uso de método contraceptivo. A análise de regressão linear múltipla mostrou correlação significativa, para o rádio distal, do valor inicial de DMO, IMC pré-gestacional, variação de IMC e escolaridade. Para o rádio ultra-distal, houve correlação significativa com a DMO inicial e IMC pré-gestacional. A análise de métodos contraceptivos, comparando a utilização de métodos não hormonais (54) e de apenas progestágenos (28), até 6 meses pós-parto, mostrou não haver diferença significativa nas características sócio-demográficas dos dois grupos. A mediana de tempo total de amamentação, calculada por tabela de vida, foi de 183 para ambos os grupos e a duração média de amenorréia pós-parto foi de 122 dias para o grupo com uso de contracepção não-hormonal e 85 dias para as usuárias de progestágeno. A análise de variância multivariada, com medidas repetidas, revelou correlação significativa entre DMO nos dois sítios avaliados e IMC, interação entre tempo e uso de MAC não-hormonal ou progestágeno e tempo total de amamentação. A regressão linear múltipla para avaliação de variáveis independentemente associadas com a DMO do rádio distal até 6 meses pós-parto evidenciou correlação positiva com o valor inicial de DMO, IMC pré-gestacional, idade e tempo total de amamentação. A mesma análise para rádio ultra-distal, mostrou associação significativa com DMO inicial, IMC pré-gestacional e tempo total de amamentação. **Conclusões:** existe uma tendência de perda de massa óssea nos primeiros seis meses pós-parto, com posterior recuperação. Contudo, o longo tempo de amamentação na amostra estudada e o tempo proposto de 12 meses para seguimento, não foram suficientes para permitir uma conclusão definitiva sobre as condições da massa óssea após o término da amamentação. Nossos achados sugerem um efeito protetor da perda óssea com a contracepção só com progestágenos em mulheres lactantes, nos primeiros seis meses pós-parto.

Palavras-chave: massa óssea, densitometria óssea, puerpério, amamentação, amenorréia, índice de massa corpórea, anticoncepção, progestágeno.

Summary

Objectives: to evaluate the bone mineral density (BMD) changes up to one year postpartum among healthy women and its association with breastfeeding, amenorrhea, body mass index and use of contraceptive methods. Progestin-only contraceptive users were further compared to non-hormonal users, up to 6 months postpartum. **Methods:** A prospective cohort study including 100 healthy women followed during one year postpartum. Eligibility criteria included: an uncomplicated term (≥ 37 weeks) pregnancy with a single fetus, no history of conditions that could affect bone metabolism (such as diabetes mellitus, chronic renal failure, hyper or hypothyroidism, hyper or hypoparathyroidism, hepatitis, cancer or pituitary diseases), no use of any medication (such as corticosteroids, anticoagulants, anticonvulsants, thiazide diuretics or drugs for the treatment of thyroid diseases), besides the intention to delay the next pregnancy for at least one year. Distal BMD was performed 7-10 days, 3, 6 and 12 months postpartum at the non-dominant forearm using dual-energy X-ray absorptiometry. Data on anthropometry, exclusive and total breastfeeding duration, amenorrhea and use of contraceptives were also collected. Contraceptive methods were introduced 40 days postpartum according to woman's choice and depending on many factors, including the infant feeding condition, need for temporary or permanent method and clinical status. Women were free to change the method on their own. **Results:** Seventy eight women had a complete follow up with all proposed BMD measurements, up to 12 months postpartum. The mean duration of exclusive breastfeeding was 125.9 (± 66.6) days, with a median total lactation period of 263.5 days. The mean duration of amenorrhea was 164.2 (± 119.2) days. Serial BMD measurements showed a significant bone mass decrease in the midshaft of the ulna, but with no significance in the ultra-distal radius. When considering only the non hormonal contraceptive users, the changes in BMD showed to be significant for both sites. Multivariate analysis of variance showed that BMI and contraceptive use were both significantly correlated with BMD. Multiple linear regression analysis showed significant correlation of midshaft ulna with baseline BMD, pre-gestational BMI, number of complete years in school and difference in BMI. For

ultradistal radius, significant correlation was showed with baseline BMD and pre-gestational BMI. For the analyses comparing non-hormonal (n=54) and progestin-only contraceptive users (n=28) up to 6 months postpartum, the baseline characteristics of the study population showed no statistical differences between groups. All women considered were still breastfeeding. Resumption of menses postpartum occurred after at a mean period of 122 days for the non-hormonal group and 85 days for the progestin-only one. Multivariate analysis of variance with repeated measurements showed that body mass index, the interaction between time and hormonal (progestin-only) or non-hormonal contraceptive use and total duration of breastfeeding were significantly correlated with bone mineral density of both sites. Multiple linear regression analysis for the evaluation of variables independently associated with BMD at the midshaft ulna at 6 months postpartum, showed significant correlation to baseline BMD, pre-gestational BMI, age, and total breastfeeding duration. The same analysis for ultradistal radius showed significant correlation with baseline BMD, pre-gestational BMI and total breastfeeding duration. **Conclusion:** there is a trend in bone loss during the first 6 months with posterior recovery. However, the long duration of breastfeeding in the sample studied and the proposed follow-up of 12 months were not sufficient to draw definitive conclusions on post weaning BMD conditions. Our findings suggest a protective effect towards bone loss with progestin-only contraception for lactating women during the first six months postpartum.

Key-words: bone density, postpartum, breastfeeding, amenorrhea, contraceptive method, progestin

1. Introdução

De acordo com os conhecimentos a respeito da fisiologia óssea, sabe-se que o esqueleto humano, além das funções de sustentação, locomoção e arcabouço para o tecido hematopoiético, tem importante papel como reservatório de cálcio, magnésio e fosfato, participando ativamente da homeostase mineral juntamente com os rins e intestino (Marx, 1993).

O íon cálcio é de particular interesse no metabolismo ósseo, pois desencadeia reações autorreguladoras de sua concentração: em uma condição supersaturada no sangue, contribui para a excitabilidade das membranas plasmáticas, para as atividades enzimáticas e para o acréscimo de todos os minerais à matriz extracelular dos ossos. No líquido citoplasmático, quando a sua concentração é extremamente baixa, desencadeia rápidos aumentos de concentração local, através de mecanismos de homeostase (Marx, 1993).

As células ósseas, por sua vez, no desempenho da função na homeostase mineral, estão sob regulação sistêmica (paratormônio, calcitonina e calcitriol) e local (fatores ativadores de osteoclastos, interleucina 1, fatores de necrose tumoral, fator de crescimento tipo 1, entre outros) e, assim, mantém parte do equilíbrio mineral (Marx, 1993).

Muitos fatores, por interferirem substancialmente na homeostase mineral, podem levar a uma densidade óssea (massa óssea por unidade de volume) diminuída, quer seja aumentando a reabsorção óssea, e/ou diminuindo a absorção intestinal ou renal do cálcio. Dentre esses fatores, destacam-se

algumas condições patológicas sistêmicas, estados metabólicos, uso de medicações e outros (Lam et al., 1988).

A ocorrência da diminuição e deterioração da microarquitetura óssea caracteriza a osteoporose, condição que predispõe a um maior risco de fraturas. Na atualidade é difícil calcular o custo em termos financeiros que esta condição representa, porque se devem estimar os custos de internação e intervenção hospitalar, lucro cessante dos familiares envolvidos, além dos gastos com medicações e cuidados em longo prazo. São reconhecidos os seguintes fatores de risco para osteoporose: idade avançada, sexo feminino, raça branca, sedentarismo, tabagismo, alcoolismo, doenças clínicas que interfiram no metabolismo do cálcio, hábitos alimentares (deficiência de ingestão de cálcio, abuso de cafeinados, uso de água não fluoretada), atividade física intensa levando a amenorréia e uso de medicações (corticoesteróides, anticonvulsivantes, heparina, antiácidos) (WHO, 2003).

Especificamente, os fatores de risco para o desenvolvimento da osteoporose decorrente de condições ginecológicas relacionam-se com o estado de hipoposterogenismo e é a pós-menopausa o exemplo mais clássico das repercussões da deficiência estrogênica sobre o metabolismo ósseo. Embora a gravidez e lactação sejam períodos fisiológicos na vida reprodutiva das mulheres e estejam, geralmente, no extremo oposto cronológico da menopausa, evidências mostram alterações ósseas decorrentes das grandes modificações surgidas nesses períodos (Lam et al., 1988).

Durante a gravidez o organismo materno sofre um grande número de alterações fisiológicas com a finalidade de preservar a homeostase materna e promover o crescimento fetal. Alguns destes ajustes apresentam implicações diretas no metabolismo do cálcio, particularmente durante o terceiro trimestre, quando um transporte maciço de cálcio através da placenta causa um balanço negativo deste íon para a mãe, desencadeado por uma série de alterações metabólicas. Sugere-se que durante a gestação ocorra um aumento do paratormônio e da vitamina D em sua forma $1,25(\text{OH})_2$ no soro, causando um

aumento da absorção intestinal de cálcio e mobilização deste dos ossos durante a gravidez (Pitkin, 1995; Sowers et al., 1991; Cross et al., 1995; Karlsson et al., 2005; Ward et al., 2005).

Assim como a gestação, o período de puerpério e lactação são também de particular interesse no metabolismo do cálcio, visto que durante essa fase as mulheres apresentam um período de amenorréia e hipoestrogenismo, sendo a deficiência estrogênica um fator conhecido e intimamente relacionado com o metabolismo do cálcio (Lam et al., 1988). O aleitamento leva à elevação de paratormônio e da prolactina, com conseqüente aumento do seqüestro de cálcio para o espaço extracelular (Cross et al., 1995; Sowers et al., 1996; Lam et al., 1988; Prentice et al., 1998). Além do hipoestrogenismo, estima-se que no aleitamento materno exclusivo ocorra perda diária aproximada de 210 mg de cálcio, transferido para o lactente através da amamentação (Kalkwarf & Specker, 1995; Abrams, 2003).

Devido às intensas modificações da gravidez, lactação e puerpério, o estudo da massa óssea de mulheres nesse período faz-se necessário, já que estão envolvidas importantes transferências de cálcio da mãe para o feto e recém-nascido, além de grandes alterações hormonais (Ward et al., 2005).

As interações bioquímicas e hormonais específicas da gestação e lactação e os mecanismos que explicam a remodelação óssea observada, ainda não são completamente compreendidos. Estudos recentes sugerem que o estímulo da sucção durante a amamentação leve à inibição hipotalâmica de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que por sua vez gera supressão de gonadotrofinas (hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH), com conseqüente hipoestrogenismo. Também ocorre maior liberação de hormônio da paratireoide (PTHrP), a partir do tecido mamário (com regulação mediada pela sucção, prolactina e receptor de cálcio), o qual, juntamente com baixos níveis estrogênicos, atua no aumento da reabsorção óssea (Wysolmerski, 2010).

Nas últimas décadas, inúmeros estudos abordaram a avaliação seriada de DMO em mulheres no puerpério. A literatura internacional é consistente ao apresentar uma redução na massa óssea durante o final da gestação e período puerperal do aleitamento, mas traz também evidências de que, após o desmame, ocorre uma fase de total recuperação desta massa óssea (Hayslip et al., 1989; Sowers et al., 1995; Kalkwarf & Specker, 1995; Sowers et al., 1996; Honda et al., 1998; Ritchie et al., 1998; Yasumizu et al., 1998; Laskey & Prentice, 1999; Polatti et al., 1999; Gleream & Plantalech, 2000; More et al., 2001; Ensom et al., 2002; Paton et al., 2003).

O único estudo prospectivo brasileiro com avaliação da DMO em puérperas, foi realizado com adolescentes lactentes com baixa ingestão de cálcio, observando que, após o desmame, houve recuperação da massa óssea, porém com patamares inferiores aos observados em adolescentes que nunca engravidaram, sugerindo a ocorrência de um insuficiente pico de massa óssea na maturidade (Bezerra et al., 2004). Entretanto, outro estudo comparou adolescentes que amamentavam com outras que não amamentavam e observou que as primeiras tiveram um efeito protetor sobre a massa óssea (Chantry et al., 2004). A adolescência é uma condição particular, que merece ser analisada em separado.

Alguns autores tem assumido que o tempo total de aleitamento na vida da mulher durante a vida reprodutiva é um importante fator de risco para a osteoporose, associado com outros, como idade e peso corpóreo (Dursum et al., 2006; Gur et al., 2003). No entanto, outros tem afirmado o contrário, que a duração da amamentação e multiparidade não influem para a deterioração da massa óssea na pós-menopausa (Lenora, 2009; Karlsson, 2005).

A avaliação dietética, para caracterizar a ingestão de cálcio e possível risco aumentado de perda óssea também tem sido muito explorada. Durante anos houve recomendação de aumentar o seu consumo diário durante a amamentação, para suprir a perda aumentada deste íon. No entanto, os ensaios clínicos randomizados para avaliar sua reposição durante a lactação e

puerpério, especialmente desenhados para populações com carência nutricional de cálcio, não comprovaram qualquer benefício (Prentice et al., 1995; Jarjou et al., 2006) e até sugerem que seu excesso pode causar um desarranjo metabólico pós-parto, com piora na massa óssea (Jarjou et al., 2010).

Outro importante fator a ser considerado no estudo do metabolismo ósseo em puérperas, é a utilização de métodos contraceptivos. Isoladamente, a ação dos diversos métodos hormonais disponíveis tem sido extensamente abordada para caracterizar possíveis associações com DMO em idade reprodutiva e influência no risco futuro para osteoporose e fraturas (d'Arcangues, 2006). No puerpério, acrescenta-se ainda o hipoestrogenismo fisiológico e a amamentação. A interação de todos estes fatores merece atenção.

Os métodos não hormonais são considerados como primeira escolha no período pós-parto, em mulheres amamentando (IPPF, 1990). No entanto, os métodos de apenas progestágenos representam uma boa opção nos casos em que há qualquer contraindicação ou preferência da mulher, por não apresentarem efeito deletério à lactação ou ao recém-nascido, já que não contêm estrógenos (Diaz et al., 1999).

O primeiro estudo prospectivo em puérperas, avaliando o efeito do progestágeno oral (minipílula) sobre a DMO, segundo o tempo de amamentação, foi publicado por Caird em 1994. Foi um estudo com seguimento de um ano, porém com tamanho amostral muito restrito, o grupo de mulheres lactantes em uso de progestágeno foi de apenas nove. Os resultados sugeriram efeito protetor com uso deste contraceptivo.

O efeito sobre a DMO no pós-parto foi estudado com outros dois métodos exclusivamente de progestagênicos, os implantes Norplant e anéis vaginais liberadores de progesterona, em comparação com a utilização de dispositivo intrauterino (DIU). Os resultados não mostraram diferença significativa na variação da DMO entre os três grupos analisados, apresentando os

contraceptivos como seguros e sem ação deletéria em mulheres lactantes (Diaz et al., 1999).

O acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD) é um método anticoncepcional injetável, exclusivamente progestagênico, altamente efetivo, de longa duração, com segurança testada no período pós-parto (WHO, 1994). O mecanismo de ação da AMPD é impedir a ovulação ao inibir a secreção cíclica de gonadotrofinas, com consequente diminuição da produção de estrógeno (Fraser, 1981). No entanto, o efeito deste hipoestrogenismo sobre a DMO não é claro e a literatura ainda é controversa na avaliação de possível perda óssea em usuárias deste contraceptivo.

Um estudo prévio, com DMO de antebraço em mulheres em uso de AMPD, concluiu que usuárias com 35 anos ou mais, apresentaram menor massa óssea apenas no rádio ultradistal após uso superior a um ano. No entanto, esta perda não mostrou estar relacionada ao tempo de uso do contraceptivo (Bahamondes et al., 1998). Outro estudo, um ensaio clínico randomizado, com 22 mulheres na pré-menopausa, comparou o uso de implante liberador de levonorgestrel e AMPD, durante 6 meses, e revelou aumento de massa óssea com uso do implante e valores estáveis para as usuárias de AMPD (Naessen et al., 1995).

A literatura, portanto, afirma a associação entre amamentação e diminuição da massa óssea enquanto durar o aleitamento, mas embora os trabalhos internacionais sejam numerosos na área, existe a necessidade de averiguar os resultados aplicados à população brasileira, além de avançar na compreensão do uso de contraceptivos exclusivamente de progestágenos em puérperas lactantes e seu efeito sobre a massa óssea, bem como a interferência de outros fatores como o índice de massa corpórea e o tempo de amenorréia.

2. Objetivos

Objetivo geral

- Avaliar a variação da DMO de mulheres no puerpério, controlando fatores que possam interferir na densidade mineral óssea, tais como tempo de amamentação exclusiva, tempo total de amamentação, período de amenorréia, índice de massa corpórea e método anticoncepcional.

Objetivos Específicos

- Comparar a DMO de antebraço (rádio distal e ultra-distal) das mulheres em até 10 dias de puerpério e no terceiro, sexto mês e um ano pós-parto, de acordo com as características e duração do aleitamento materno (tempo de aleitamento exclusivo e total), amenorréia pós-parto, IMC e uso de método anticoncepcional.
- Comparar a massa óssea de mulheres com até 10 dias de puerpério e no terceiro e sexto mês pós-parto segundo o tipo de método anticoncepcional (não hormonal e hormonal apenas com progestágeno).

3. Sujeitos e Método

3.1. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo de coorte prospectivo, com seguimento de cada sujeito por um período de até um ano após o parto, com consultas seriadas (até dez dias, três, seis e doze meses de puerpério).

3.2. Tamanho da amostra

Para o cálculo do tamanho amostral utilizou-se um estudo prévio com medidas seriadas de DMO em puérperas (Holmberg-Martila et al., 2000). Utilizando-se o desvio padrão de $0,044\text{g/cm}^2$ para DMO no rádio distal, com diferença mínima aceitável entre a média amostral e populacional esperada de $0,010\text{ g/cm}^2$, e erro tipo 1 (alfa) de 5%; obteve-se o cálculo de 74 mulheres (Kish, 1965). Considerando-se uma perda de seguimento ao redor de 25%, o tamanho amostral sugerido foi de 100 mulheres.

3.3. Variáveis

Variáveis independentes

- Tempo de aleitamento materno exclusivo: tempo em dias durante o qual a criança recebeu exclusivamente o leite materno como alimentação.

- Tempo de aleitamento materno total: tempo em dias durante o qual a criança recebeu leite materno associado a quaisquer outros alimentos.
- Tempo de amenorréia: período em dias que a mulher permaneceu sem apresentar ciclos menstruais regulares, contando a partir da data do parto.
- Método anticoncepcional utilizado: descrição de qualquer tipo de método contraceptivo utilizado durante o período de estudo, tenha sido ele natural, de barreira, hormonal ou outro referido pela mulher.
- Índice de Massa corpórea (IMC): critério de avaliação do grau de obesidade de um indivíduo, calculado pelo pesquisador – peso, em quilogramas, mensurado em uma balança antropométrica, dividido pelo quadrado da altura, em metros (WHO, 1995). O peso corpóreo foi considerado na fase pré-gestacional (segundo relato da mulher), na última consulta de pré-natal ou admissão para o parto (última medida registrada) e em cada avaliação puerperal (com pesagem seriada).

Variáveis dependentes

- Densidade Mineral Óssea (DMO): Definida como a massa óssea ou conteúdo mineral ósseo por área de osso analisado em g/cm^2 , valores contínuos.

Variáveis de controle

- Idade da mulher: Número de anos completos da mulher quando da sua inclusão no estudo.
- Cor: Cor da pele da mulher segundo o seu próprio relato quando entrevistada: branca, preta, parda, amarela.
- Número de gestações: Número de vezes que a mulher esteve grávida.

- Número de partos: número de vezes que pariu produto conceptual vivo ou morto, pesando mais de 500g, incluindo o atual.
- Número de abortos: número de gestações que não progrediram além de 22 semanas de gravidez ou com o peso do produto conceptual menor a 500g.
- Escolaridade: número de anos completos em que a mulher frequentou escola.
- Tabagismo: hábito de fumar referido pela mulher. Essa variável foi codificada para atender a três possibilidades de resposta: “não fumante”, “fumante” ou “não durante a gestação”.

3.4. Seleção dos sujeitos

Foram selecionadas e convidadas a participar mulheres que tiveram seu parto no CAISM, UNICAMP, e que estivessem internadas na enfermaria do Alojamento Conjunto, preenchendo os critérios de seleção para a pesquisa:

Critérios de Inclusão:

Puerpéras saudáveis, com idade entre 18 e 40 anos, internadas na enfermaria de Alojamento Conjunto, após dar à luz a recém-nascidos únicos, vivos, de termo ($IG \geq 37$ semanas). Foram abordadas as mulheres que desejassem anticoncepção por um período mínimo de um ano ou que tivessem sido laqueadas e que concordassem em fazer o seguimento puerperal 12 meses.

Critérios de exclusão:

Foram excluídas as mulheres que apresentassem as seguintes condições clínicas: tratamento para infertilidade, pré-eclâmpsia, diabetes gestacional ou pré-gestacional, doenças endócrinas, hepáticas, renais, respiratórias e

cardíacas. E também aquelas em uso de medicamentos que pudessem interferir na massa óssea como corticoesteróides, anticonvulsivantes, heparina, diuréticos tiazídicos, etc.

3.5. Coleta, processamento e análise de dados

Identificação e acompanhamento dos sujeitos

A identificação do caso, na enfermaria de Alojamento Conjunto do CAISM, foi realizada pelo pesquisador principal, através de visitas diárias à enfermaria. Foi utilizado um check-list (Anexo 1) para sistematizar os critérios de inclusão e exclusão acima citados, com avaliação do prontuário médico e questionamento direto a cada mulher.

Diante de um caso elegível para o estudo, o pesquisador principal realizava o agendamento da primeira consulta, entre 7-10 dias pós-parto, momento em que ocorria a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e a inclusão da mulher no estudo (Anexo 2).

Os procedimentos para condução de cada caso foram os seguintes:

- Durante a primeira consulta, agendada entre 7-10 dias de puerpério, no Ambulatório do CEMICAMP, as mulheres eram submetidas a uma entrevista para coleta de dados sócio-demográficos, antecedente de tabagismo, dados do parto, além de medidas antropométricas (peso e altura) e informações referentes à amamentação (conforme Anexo 2). Em seguida, as mulheres eram encaminhadas para a realização da primeira densitometria óssea de antebraço.
- As mulheres tiveram seguimento clínico dentro das rotinas do serviço, sendo proporcionado atendimento médico completo, além das datas de retorno necessárias para o estudo. Portanto, todas tiveram sua revisão

puerperal agendada, no mesmo Ambulatório do CEMICAMP, após 40 dias do parto, com orientação e fornecimento de método anticoncepcional, além de atendimento extra sempre que solicitado.

- Os demais agendamentos de retornos para o estudo foram programados para 3, 6 e 12 meses pós-parto. Em cada atendimento, foram preenchidos dados de entrevista, para avaliação de tempo de aleitamento (exclusivo e total), tempo de amenorréia, método anticoncepcional, além de medida de peso e exame densitométrico (Anexo 3).
- As mulheres tiveram acesso ao contato direto com o pesquisador (via telefone do Ambulatório e também por celular) para possíveis dúvidas e para mudanças no agendamento das densitometrias, com reagendamento de acordo com a disponibilidade do serviço, considerando que estivessem dentro dos prazos possíveis admitidos pelo projeto do estudo.
- O pesquisador realizou contato telefônico com as mulheres faltantes aos exames e entrevistas por três tentativas, em três dias e horários diferentes, para conhecimento do motivo da falta, da vontade da mulher em continuar a participação no estudo e possibilidade de reagendamento.

Foram definidos como motivos para descontinuação de sujeitos:

- Não comparecimento aos retornos, após três tentativas de reagendamento ou impossibilidade de contato do pesquisador.
- Desistência da participação na pesquisa.
- Ocorrência de gravidez no período de acompanhamento.

Procedimentos – Densitometria óssea

Foram realizadas quatro densitometrias ósseas no puerpério (até dez dias pós-parto, três, seis meses e um ano de puerpério), em todas as mulheres participantes da pesquisa, para estudar possíveis diferenças de massa óssea. As mulheres foram seus próprios controles, ou seja, sua própria massa óssea foi comparada em diferentes momentos, calculando-se a diferença da densidade mineral óssea em g/cm^2 .

Para este estudo, escolheu-se a medida de densidade mineral óssea no punho. O exame foi realizado com aparelho Osteometer DPX (Técnica de densitometria por *dual-energy X-ray absorptiometry-hologic* QDR-1000w) pelo investigador e, eventualmente, por auxiliares treinados, com emissão de laudo computadorizado. Tal aparelho já estava disponível no Departamento, no mesmo espaço físico das salas de atendimento ambulatorial.

Para cada exame, foram realizadas duas medidas distintas:

- Rádio distal (com predomínio de osso cortical), no ponto com distância de 8mm entre o rádio e a ulna.
- Rádio ultra-distal, próximo à articulação com os ossos do carpo (predomínio de osso trabecular).

Os exames de densitometria foram realizados por operador treinado, com certificação da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica (ISCD). Conforme orientação internacional, com apoio da Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens) (Brandão et al., 2009), foi calculado o erro de precisão (EP), com a mínima variação significativa (MVS) do aparelho e seu operador (através da realização de três exames consecutivos em quinze mulheres diferentes, com o mesmo perfil das mulheres incluídas no estudo), com mínima variação significativa (MVS) de $0,021\text{g/cm}^2$ e coeficiente de variação (CV%) de 0,7% para o rádio distal e MVS de $0,036\text{g/cm}^2$ e CV de 2,1% para o rádio ultra-distal (Anexo 4). Um exemplo de laudo está no Anexo 5.

Processamento de dados

Os dados obtidos nas fichas de coleta foram revisados para verificar a consistência de seu preenchimento e então inseridos num módulo de entrada de dados do programa Epi-info 2000 (Data Entry), especialmente desenvolvido para as informações contidas no questionário. Esses dados foram digitados duas vezes, em épocas diferentes, para constituir um arquivo informatizado.

Os dois arquivos assim obtidos foram comparados e as inconsistências e/ou diferenças observadas foram corrigidas, recorrendo-se ao questionário original. A seguir o arquivo obtido foi submetido a testes de consistência e limpeza das informações, obtendo-se o arquivo final, utilizado para a análise dos dados. Cópias adicionais foram feitas por questão de segurança.

Análise estatística

Inicialmente fez-se a comparação das características sociodemográficas, antropométricas e obstétricas dos casos incluídos no estudo com aqueles não incluídos, e também dos casos de uso de método contraceptivo não hormonal e uso de progestágeno, utilizando-se para isso o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (para variáveis quantitativas contínuas) ou o teste qui-quadrado (para variáveis qualitativas ou quantitativas discretas).

Em seguida foi feita análise descritiva das variáveis: tempo de amamentação exclusiva e total, IMC, tempo de amenorréia e tipo de método anticoncepcional (MAC) em uso. Para as variáveis relativas a tempo, aplicou-se análise por tabela de vida para estimar a mediana de cada tempo.

Na sequência, comparou-se a DMO ao longo do tempo (medidas repetidas) utilizando-se Análise de Variância Multivariada (MANOVA). Finalmente, Análise de Variância Multivariada foi novamente utilizada, incorporando o fator: tipo de MAC e as covariáveis ao longo do tempo: tempo de amamentação, tempo de amenorreia e IMC.

Para a comparação de mulheres em uso de método contraceptivo não hormonal versus progestágeno, foi escolhido o tempo de 6 meses pós-parto,

momento de máxima variação de DMO e também com alto índice de amamentação e pouca variação no uso de MAC.

3.6. Aspectos éticos

Foram cumpridos nesse estudo todos os princípios enunciados na Declaração de Helsinque e na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. A confidencialidade dos dados pessoais foi garantida.

O projeto de pesquisa deste estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (Anexo 6).

A realização da densitometria óssea é um procedimento relativamente seguro, com utilização de baixo nível de radiação, com dose efetiva entre (0.08-4.6 μ Sv) não apresentando danos à saúde ou efeitos colaterais (Njeh et al., 1999). A dose efetiva ou equivalente é a dose que demonstra o risco biológico potencial que a radiação pode produzir nos tecidos após a sua absorção, sendo expressa em sievert (Sv). Para exemplificar, existe descrição de teratogênese a partir de dose mínima de 100mSv, ou seja, o equivalente a 100.000 exames DXA. As mulheres foram informadas sobre a técnica do exame e a sua ausência de efeitos deletérios à saúde.

Foi considerada a inclusão no estudo apenas após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, no qual se explica claramente que a sua não aceitação na participação do estudo não implicaria em qualquer distinção no seu atendimento na Instituição. Esse termo foi inicialmente lido pelo pesquisador durante a internação da puérpera no Alojamento Conjunto e efetivamente assinado durante a primeira consulta, agendada até dez dias pós-parto.

4. Publicações

1. Costa ML, Krupa FG, Rehder PM, Sousa MH, Costa Paiva L, Cecatti JG. Forearm bone mineral density changes during postpartum and the effects of breastfeeding, amenorrhea, body mass index and contraceptive use. *Osteoporos Int* 2011; (submitted). Anexo 7 (Impact factor=4.997, Qualis A1 para área Medicina III da Capes).
2. Costa ML, Cecatti JG, Krupa FG, Rehder PM, Sousa MH, Costa Paiva L. Progestin only contraception prevents bone loss in postpartum breastfeeding women. *Contraception* 2011; (submitted). Anexo 8 (Impact factor=2.369, Qualis A2 para a área Medicina III da Capes).

4.1. Artigo 1

Forearm bone mineral density changes during postpartum and the effects of breastfeeding, amenorrhea, body mass index, and contraceptive use

Maria L Costa

Fabiana G Krupa

Patricia M Rehder

Maria H Sousa

Lucia Costa-Paiva

Jose G Cecatti

Department of Obstetrics and Gynecology

School of Medical Sciences

University of Campinas, Brazil

Conflict of interest: No disclosures. The authors have full control of all primary data and the sponsors of the study had no rule at all in the analysis of data or reporting them.

Mini-abstract: Prospective cohort study performed to evaluate BMD changes up to 12 months postpartum of healthy women and its association with breastfeeding, contraceptive methods, amenorrhea, and BMI. There is a trend in bone loss during the first 6 months with posterior recovery, with evidence of a protective effect of hormonal contraception.

Correspondence:

JG Cecatti, Department of Ob&Gyn

School of Medical Sciences, University of Campinas

E-mail: cecatti@unicamp.br

Phone: +55-19-35219304

Abstract

Purpose: to evaluate bone mineral density (BMD) changes during postpartum period among healthy women and its association with breastfeeding, use of contraceptive methods, amenorrhea and body mass index (BMI).

Methods: A prospective cohort study including 100 healthy women. Distal BMD was measured 7-10 days, 3, 6, and 12 months postpartum at the non-dominant forearm using dual-energy X-ray absorptiometry. Data about breastfeeding duration, amenorrhea, contraceptive use and BMI were collected.

Results: Seventy-eight women had a complete set of BMD measurements. The mean duration of exclusive breastfeeding was 125.9 (± 66.6) days, with a median total lactation period of 263.5 days. The mean duration of amenorrhea was 164.2 (± 119.2) days. BMD measurements showed a significant decrease in the distal radius, however with no significance in the ultra-distal radius. When considering only the non-hormonal contraceptive users, the difference at 12 months was significant. Multivariate analysis of variance showed that both BMI and contraceptive use were significantly correlated with BMD. Multiple linear regression analysis showed significant correlation of distal radius with baseline BMD at the same site, pre-gestational BMI, age, years of schooling and difference in BMI. For ultradistal radius, there was a significant direct correlation with its baseline BMD and pre-gestational BMI.

Conclusions: there was a trend in bone loss during the first 6 months postpartum with posterior recovery. Also hormonal contraceptive methods provided protection of bone loss. However, the long duration of breastfeeding and the follow-up were not sufficient to draw definitive conclusions on post weaning BMD conditions.

Keywords: bone density, postpartum, breastfeeding, amenorrhea, contraceptive method

Introduction

Osteoporosis has been extensively studied over the past decades due to its social and economical burden related to increased risk of fractures. Most risk factors are well established and include: age-related bone loss; impaired development of peak bone mass due to delayed puberty or nutritional deficits; or excessive bone loss during adulthood due to estrogen deficiency in women (i.e., menopause), undernutrition and corticosteroid use [1].

Bone metabolism is still not completely well understood during pregnancy and the post-partum period. During gestation and breastfeeding, significant changes take place with induced hormonal alterations and substantial maternal to fetal transfers of calcium under physiologic conditions that may contribute to augmented bone loss. The mechanisms controlling demineralization of the maternal skeleton during breastfeeding are also not well understood. Neither are the possible long-term consequences, as related to increased risk of osteoporotic fractures later in life [2].

Studies of bone mineral density (BMD) in pregnancy and lactation suggest that losses of maternal minerals occur during lactation and that these changes tend to recover after weaning [3,4,5]. However, relatively few controlled studies were already conducted or had a large number of subjects with a consistent prospective follow-up. The lack of a prospective cohort may have undermined the power of some studies to evaluate the effects of lactation, amenorrhea and also use of different contraceptive methods on bone mineral loss or gain during pregnancy and post-partum. Therefore the purpose of the current study was to evaluate the effects of breastfeeding, amenorrhea, BMI, and contraceptive use on the BMD changes among postpartum women.

Material and Methods

Study Design

This was a prospective cohort study conducted at the Human Reproduction Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. The Institutional Review Board approved the study and all participants signed an informed consent form prior to enrollment.

Sample size was calculated based on a previous study of BMD measurement carried out in postpartum women, considering a standard deviation of distal radius equal to 0.044 g/cm^2 [6], an alpha of 5%, and a minimum difference between the observed and true measurements of 0.010 g/cm^2 . The minimum sample size needed using these parameters was calculated as 74 women [7]. With an estimated loss of follow-up of around 25%, the final number of subjects proposed to enroll was 100.

Participant Enrollment and Follow-up

Healthy post-partum women aged 18 to 40 years were invited to participate in the study during their routine clinical care visits and provided with information to voluntarily appear for an initial study appointment 7 to 10 days post-partum. Women eligible for the study had to meet the following criteria: an uncomplicated term (≥ 37 weeks) pregnancy with a single fetus, no history of diseases before or during pregnancy that would affect calcium or bone metabolism (women with chronic diseases such as diabetes mellitus, chronic renal failure, hyperthyroidism or hypothyroidism, hyperparathyroidism or hypoparathyroidism, hepatitis, cancer or pituitary diseases were excluded), no use of medication such as corticosteroids, anticoagulants, anticonvulsants, thiazide diuretics or drugs for the treatment of thyroid disease; and intention to delay the next pregnancy for at least 12 months postpartum.

During the first appointment a complete interview and physical exam were performed to retrieve information about the subjects' demographic characteristics (age and ethnicity), obstetric history (number of pregnancies, live births, and abortions), smoking habits (number of cigarettes per day, years of smoking habit, years since giving up smoking), anthropometric information (height, weight before pregnancy, last weight measured during pregnancy), schooling history (complete years of school), and information about the actual delivery (vaginal, cesarean or forceps).

In all subsequent appointments data was collected to accurately detail the number of days since delivery, breastfeeding information (length of exclusive and total breastfeeding), days of postpartum amenorrhea and contraceptive use (regular use of contraceptives: hormonal, barrier, intrauterine device [IUD]). In addition, anthropometric measures were performed to assess subject's height and weight.

Bone Mineral Density Measurements

Distal bone mineral densitometry was performed in four different moments: 7-10 days postpartum, 3, 6, and 12 months after delivery. BMD was measured at the non-dominant forearm using dual-energy X-ray absorptiometry (DTX-200; Osteometer Meditech A/S, Rodovre, Denmark). Two BMD measurements were taken in each woman: 1. at the distal radius (cortical bone predominates), at the point at which the radius is 8 mm from the ulna (automatic scanning); and 2. at the ultra-distal radius near the joint with the bones of the carpus (where the trabecular bone predominates). BMD measurements were obtained by an operator certified as a clinical densitometrist by the International Society of Clinical Densitometry (ISCD), whose Least Significant Change (LSC) was 0.021g/cm^2 for distal radius and 0.036g/cm^2 for ultradistal radius. The coefficient of variation percentage values were 0.7% for distal radius and 1.3% for ultra-distal radius.

Statistical Methods

Comparison between subjects with a complete follow up and those excluded due to a loss to follow up was performed with respect to demographic, anthropometric and obstetric variables using Mann-Whitney non-parametric test (continuous quantitative variables) or the Chi-square test (qualitative or discrete quantitative variables). A descriptive analyzes was then performed considering total period of exclusive breastfeeding, total period of breastfeeding, postpartum amenorrhea and contraceptive methods used. The total period of lactation, exclusive breastfeeding and amenorrhea (time related variables) were calculated using life table method, to estimate the median time for each one. In addition, BMD was compared considering its changes through time (repeated measurements) using multivariate analysis of variance (MANOVA), simple, until 12 months, and also considering the factor: contraceptive method and three other covariates through the 6 months time: duration of exclusive breastfeeding, postpartum amenorrhea and BMI, all of them with repeated measurements. Finally, multiple linear regression analysis was performed to evaluate whether BMD was significantly associated with any of the studied variables between 7-10 days and 6 months postpartum, considering this was the point with the maximum decrease in BMD. The

statistical procedures were performed using the SPSS package and a 0.05 level of significance was established.

Results

A total of 225 healthy postpartum women aged 18 to 40 years were invited to participate in the study, between February 2007 and January 2009, and 100 came for the scheduled first appointment (7 to 10 days postpartum) and signed the informed consent form. These women were formally included in the analysis (Figure 1). Seventy eight women had a complete set of BMD measurements (from 7-10 days to one year postpartum). Nine women failed to return in all, but the first evaluation. Seven women lost follow-up after the second appointment (3 months postpartum) and six women lost their last assessment. Withdrawals were mostly due to change in residence, disease in a family member, loss of interest, problems in tracing the women and difficulties to schedule appointments due to their domestic commitments.

The clinical characteristics of the total study population are presented in Table 1, with a comparison between the 78 enrolled women that completed the study and the 22 women that lost follow-up (cases excluded from the analysis due to drop-out). There were no significant differences between the groups except for education history ($p=0.021$). The excluded cases had less complete years of schooling. The initial body weight assigned for the 78 complete cases was 62.5 kg, the last weight during pregnancy was 75.6 kg and 65.9 kg after 12 months postpartum.

The mean number of days postpartum at the four medical visits (BMD measurements) for the 78 completed cases were 9.2 (± 2.6); 98.6 (± 18.1); 189.2 (± 14.3) and 372.3 (± 35.7) days (data not showed). Table 2 shows that the mean duration of exclusive breastfeeding was 125.9 (± 66.6) days and a median time of 124.5 days, with a median total duration of breastfeeding of 263.5 days, considering that 33 subjects were still breastfeeding at 12 months (Cumulative continuation rate of 43%). Resumption of menses occurred after a mean period of 164.2 (± 119.2) days, considering that six subjects persisted in amenorrhea by the end of the study.

According to the BMI measured at 12 months postpartum, 7 women were classified as low weight (9%); 30 women as normal weight (38.5%); 24 as overweight

(30.8%), and 17 (21.8%) as obese. Contraceptive method was evaluated in each appointment, showing frequent changes along time (Table 2). Thirty nine women (50%) consistently maintained non hormonal methods throughout the study (especially Cu-IUD, condom and tubal ligation).

Table 3 presents changes in forearm BMD measurements (distal radius and ultra-distal radius) from baseline (7-10 days postpartum) to 12 months postpartum, considering the 78 complete cases and also the 39 cases with non-hormonal contraceptive method throughout the whole study. A significant variation was observed in the distal radius, in both groups ($p < 0.002$ and $p < 0.001$) according to the multivariate analysis of variance (with repeated measurements); however no significant difference in the ultra-distal radius analysis for the total number of subjects was detected. However, when considering only the non-hormonal contraceptive users, the difference were significant in the ultra-distal radius ($p = 0.006$). The main significant variation, in all cases, was observed between baseline and the first 3 months postpartum, however the maximum BMD decrease occurred at 6 months postpartum (Figure 2).

Cases of bone density under the expected value for women age, measured by the Z score value of each densitometry below $-2SD$, at distal radius, corresponded to 1.3% (1/78) at baseline, increasing to 2.6% (2/78) at 3 months postpartum and to 3.8% (3/78) at 6 and 12 months postpartum (data not showed). This means that two additional cases remained with low bone mass after one year postpartum.

Multivariate analysis of the BMD at distal radius and ultradistal radius up to 6 months postpartum, the period with the maximum decrease in the BMD, showed that BMI and the interaction of time and hormonal or non-hormonal contraceptive use were both significantly correlated with BMD of both sites. Duration of exclusive breastfeeding and amenorrhea were not contributory (Table 4).

Multiple linear regression analysis, for the evaluation of variables independently associated to BMD at distal radius at 6 months postpartum (Model 1), showed significant correlation to its baseline BMD, pre-gestational BMI, age, years of schooling and difference in BMI (last BMI considered during pregnancy and BMI at 6 months postpartum). The same analysis for ultradistal radius showed significant correlation with baseline BMD and pre-gestational BMI (Table 5).

Discussion

This study reports data from a postpartum cohort, with women followed with no restriction of contraceptive method or breastfeeding. All data was further analyzed to evaluate the possible influence of different variables on BMD changes during 12 months postpartum. We understand that this approach brings our results closer to the reality, with a relatively different focus than most previous studies. Our condition, as a university and reference center for women's care in a developing country, implies the responsibility of stimulating breastfeeding, with a strong approach with a trained set of professionals towards exclusive breastfeeding until 6 months and total breastfeeding up to two years after delivery. In this context, it would not be ethically acceptable to propose a study with a limited duration of lactation or with no breastfeeding at all.

The clinical characteristics of the total study population showed no significant differences between the women that completed the study and those that were lost of follow-up, except for years of schooling. The excluded cases presented less literacy. This could reflect that women with longer education period tend to understand and commit better to the importance of medical follow-up. In addition, the women with less years of schooling were probably those with more economic and social problems that could limit the accessibility for repeated postpartum visits without any concrete complaints.

We used forearm peripheral dual-energy X-ray Absorptiometry (pDXA), even knowing the limitations of peripheral measurements, considering the availability of the machine in our facility at the same ward as the outpatient clinic, the low costs of the exam, and the time saving for patients. Those factors are determinant in the study of postpartum women in developing countries.

According to the current standards, peripheral measurements other than the 33% radius by DXA cannot be used to diagnose osteoporosis and peripheral skeletal sites are not clinically useful for monitoring changes in BMD with natural evolution of the disease and its treatment. However, peripheral BMD measurements can theoretically be used when central DXA testing is not accessible, to screen patients for selection to

central DXA testing and to identify individuals who might benefit from pharmacological intervention [8,9].

Our results are in accordance to most published data of prospective controlled studies, which report a decline in maternal BMD of 3-6% after 3-6 months of lactation, especially in the peripheral skeleton [5]. The same bone loss pattern was demonstrated twenty years ago at the same skeletal sites but using the old SPA (Single Photon Absorptiometry) technology [10] and soon confirmed studying central skeleton by DXA [11]. In addition, the same trend was showed in 1996 using forearm DXA [12]. There seems to be a dose-response relationship between period of lactation and loss in BMD [13,14] with a full recovery post weaning. As most studies considering healthy women, we show very low incidence of BMD under the expected for women age, which is measured by the Z score value of each densitometry (normal when > -2). All women in this condition (3/78) were further referred to clinical follow-up (out of the study procedures) to investigate and possibly confirm bone loss.

Brazil has shown an increasing trend in the prevalence of breastfeeding in the last decades [15]. Our study reflects this tendency, with a high mean of exclusive and total period of breastfeeding. This may have an important influence in bone loss during postpartum and should be considered in future analyzes. Due to the results presented and the study duration, we could not properly evaluate all women post weaning, even though we showed a tendency of recovery in BMD towards the initial pattern.

The reported incidence of overweight and obesity of 52.6% (41/78) at 12 months postpartum reflects our national and also the world's trend towards alarming numbers of obesity and associated pathological conditions. A recent Brazilian population survey [16] shows a mean of 48% overweight in women over 20 years old. The direct association between pre gestational BMI and BMD observed in this study is in accordance with several other studies which had also showed that a higher BMI is associated to a higher preservation of bone mass. A BMI value below 20kg/m^2 is recognized as a risk factor for osteoporosis [17,18].

Although the strict control that we tried to keep the women, some possible limitations could be pointed out like not taking into account dietary calcium intake, lack of physical exercise information during pre or postpartum period, women's previous

history of contraceptive use or history of family osteoporosis and other risk factors for fracture. However, the main objective was to investigate, in a healthy population of postpartum women, changes in BMD due to different variables. From this point, other studies are needed, to confirm and to better understand the results presented and to address post weaning subjects.

Acknowledgements: Financial support was received from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) under the grant 2006/04555-3, and also from the FAEPEX/UNICAMP through the grant 421/2010.

References

1. WHO - World Health Organization (2000). Prevention and Management of Osteoporosis: report of a WHO Scientific Group. Report series 921. Geneva, WHO, 194p. Available at http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_921.pdf Access on 12/05/2011.
2. Lenora J, Lekamwasam S, Karlsson MK (2009). Effects of multiparity and prolonged breast-feeding on maternal bone mineral density: a community-based cross-sectional study. BMC Womens Health 1:19.
3. Ensom MH, Liu PY, Stephenson MD (2002). Effect of pregnancy on bone mineral density in healthy women. Obstet Gynecol Surv 57(2):99-111.
4. Karlsson MK, Ahlborg HG, Karlsson C (2005). Female reproductive history and the skeleton-a review. BJOG 112(7):851-6.
5. Laskey MA, Prentice A (1997). Effect of pregnancy on recovery of lactational bone loss. Lancet 349(9064):1518-9.
6. Holmberg-Marttila D, Sievänen H, Laippala P, Tuimala R (2000). Factors underlying changes in bone mineral during postpartum amenorrhea and lactation. Osteoporos Int 11(7):570-6.
7. Kish L (1965). Survey Sampling. New York: John Wiley and Sons, 1st ed.
8. Eis SR, Lewiecki EM (2006). Peripheral bone densitometry: Clinical applications. Arq Bras Endocrinol Metabol 50(4):596-602.
9. ISCD - The International Society for Clinical Densitometry (2007). 2007 ISCD Official Positions. Available at <http://www.iscd.org/visitors/positions/OfficialPositionsText.cfm> Access on 12/05/2011.
10. Drinkwater B, Chesnut CH 3rd (1991). Bone density changes during pregnancy and lactation in active women: a longitudinal study. Bone Miner 14(2):153-60.
11. Sowers M, Corton G, Shapiro B, Jannausch ML, Crutchfield M, Smith ML, Randolph JF, Hollis B (1993). Changes in bone density with lactation. JAMA 269(24):33130-5.

12. Affinito P, Tommaselli GA, di Carlo C, Guida F, Nappi C (1996). Changes in bone mineral density and calcium metabolism in breastfeeding women: a one year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 81(6):2314-8.
13. Laskey MA, Prentice A (1999). Bone mineral changes during and after lactation. *Obstet Gynecol* 94(4):608-15.
14. More C, Bettembuk P, Bhattoa HP, Balogh A (2001). The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporos Int* 12(9):732-7.
15. Sena MCF, Silva EF, Pereira MG (2007). Trends of breastfeeding in Brazil during the last quarter of XXth century. *Rev Bras Epidemiol* 10(4):499-505.
16. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010). [Study on Family Budgets 2008-2009. Antropometrical and nutritional status of children, adolescents and adults in Brazil]. Rio de Janeiro: IBGE, 130p. Available at http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_encaa/pof_20082009_encaa.pdf Access on 12/05/2011.
17. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E (2008). FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 19(4):385-97.
18. De Laet C, Kanis JA, Odén A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ 3rd, Meunier PJ, Pols HA, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A (2005). Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 16(11):1330-8.

Table 1. Characteristics of subjects enrolled (n=100), according to have completed (78) or not (22) the whole follow-up

Characteristics	Cases completed (78)	Cases excluded (22)	p
Age (years±SD)	26.4 [±6.44]	25.5 [±5.12]	0.668 •
Ethnicity (%)			0.626 *
White	39 (50.0)	11 (50.0)	
Black	13 (16.7)	2 (9.1)	
Other (pardo)	26 (33.3)	9 (40.9)	
Schooling (years±SD)	10.2 [±2.9]	8.8 [±2.5]	0.021 •
Smoking habit (%)			0.218 **
Yes (a)	12 (15.4)	6 (27.3)	
No	66 (84.6)	16 (72.7)	
Weight (kg±SD)			
Pre-gestational	62.5 [±12.32]	61.3 [± 8.08]	0.967 •
Last measure during gestation	75.6 [±13.45]	73.0 [±10.12]	0.492 •
At 12 months postpartum	65.9 [±13.25]	-	-
Parity (%)			0.438 *
1	31 (39.7)	7 (31.8)	
2	23 (29.5)	5 (22.7)	
≥3	24 (30.8)	10 (45.4)	
Number of deliveries (%)			0.093 *
1	33 (42.3)	9 (40.9)	
2	29 (37.2)	4 (18.2)	
≥3	16 (20.5)	9 (40.9)	
Abortion (%)			0.393 **
Yes	15 (19.2)	6 (27.3)	
No	63 (80.8)	16 (72.7)	
Type of Delivery (%)			0.355 ***
Vaginal (b)	46 (59.0)	16 (72.7)	
Cesarean section	32 (41.0)	6 (27.3)	

Mean [±SD];

• Mann-Whitney non-parametric test

* Pearson's qui-square test; ** Fisher's exact test; *** Yate's Chi-square test

(a) Includes "did not smoke during pregnancy"; (b) Includes "forceps"

Table 2. Duration of breastfeeding, BMI after 12 months, days of postpartum amenorrhea and contraceptive method for women with complete follow-up (n=78)

Characteristics					
Duration of exclusive breastfeeding (days)		Median*: 124.5			
		125.9 [66.6]			
		24 (30.8)			
		45 (57.7)			
		9 (11.5)			
0-3 months					
3-6 months					
>6 months					
Total duration of breastfeeding (days)		Median*: 263.5			
		Cumulative continuation rate *: 43%			
		33 (42)			
>12 months					
BMI after 12 months		25.94 [4.85]			
		7 (9.0)			
		30 (38.5)			
		24 (30.8)			
		17 (21.8)			
Low weight (BMI≤19.9)					
Normal weight (20.0≤BMI≤24.9)					
Overweight (25.0≤BMI≤29.9)					
Obesity (BMI≥30)					
Postpartum amenorrhea (days)		Median*: 108.2			
		164.2 [119.2]			
		6 (7.7)			
>12 months					
Contraceptive method during postpartum period		Period			
		3 months	6 months	12 months	
		Hormonal (progestin-only)	25 (32.1)	20 (25.6)	16 (21)
		Combined hormonal	1 (1.3)	2 (2.6)	10 (13)
		Cu-IUD	25 (32.1)	32 (41.0)	27 (35)
		Levonorgestrel-IUS	1 (1.3)	1 (1.3)	5 (6.4)
		Condom	13 (16.7)	14 (17.9)	10 (12.8)
		LAM	3 (3.8)	-	-
		Other (non hormonal)	4 (5.1)	3 (3.8)	2 (2.6)
		Tubal ligation	4 (5.1)	4 (5.1)	4 (5.1)
		None	2 (2.6)	2 (2.6)	4 (5.1)

* Analysis through Life Table method

Mean [SE]; n (%)

Cu-IUD: copper intrauterine device; IUS: intrauterine system; LAM: lactation and amenorrhea as method

Table 3. Mean BMD values (g/cm²) at distal radius and ultradistal radius in all women and those with non-hormonal contraceptive method according to postpartum period

Postpartum period	distal radius		Ultradistal radius	
	Total (n=78)	Non-hormonal contraceptive (n=39)	Total (n=78)	Non-hormonal contraceptive (n=39)
1st evaluation (10 days)	0.473 [0.0059]	0.476 [0.0081]	0.406 [0.0067]	0.409 [0.0089]
p-value (1 st vs 2 nd evaluation) °	0.025	<0.002	0.035	0.009
2nd evaluation (3 months)	0.464 [0.0059]	0.459 [0.0071]	0.396 [0.0072]	0.392 [0.0093]
p-value (2 nd vs 3 rd evaluation) °	0.365	0.434	0.868	0.586
3rd evaluation (6 months)	0.461 [0.0058]	0.461 [0.0074]	0.395 [0.0070]	0.389 [0.0088]
p-value (3 rd vs 4 th evaluation) °	0.439	0.883	0.549	0.155
4th Evaluation (12 months)	0.463 [0.0057]	0.461 [0.0073]	0.399 [0.0077]	0.399 [0.0087]
Total p-value *	<0.002	<0.001	0.116	0.006

Mean [SD]

° Student t test for related samples

* Multivariate Analysis of Variance (with repeated measurements)

Table 4. Multivariate analysis of variance with repeated measurements until 6 months postpartum, of the bone mineral density at distal radius and ultradistal radius (g/cm^2); $n=78$

BMD/ Source of variation	LS	df	F	p
BMD distal radius				
Time	<0.01	2	0.4	0.668
Group (hormonal vs non-hormonal)	<0.02	1	1.7	0.193
Interaction Group vs Time	<0.01	2	5.2	0.007
Regression *	<0.01	3	2.5	0.060
BMD ultradistal radius				
Time	<0.01	2	1.7	0.189
Group (hormonal vs non-hormonal)	<0.01	1	0.4	0.539
Interaction Group vs Time	<0.01	2	3.3	0.040
Regression **	<0.02	3	5.1	0.002

LS: Least Squares; df: degree of freedom; F: Snedecor F Statistic

* Duration of exclusive breastfeeding ($p=0.548$); Amenorrhea duration ($p=0.801$); BMI (**$p<0.001$**)

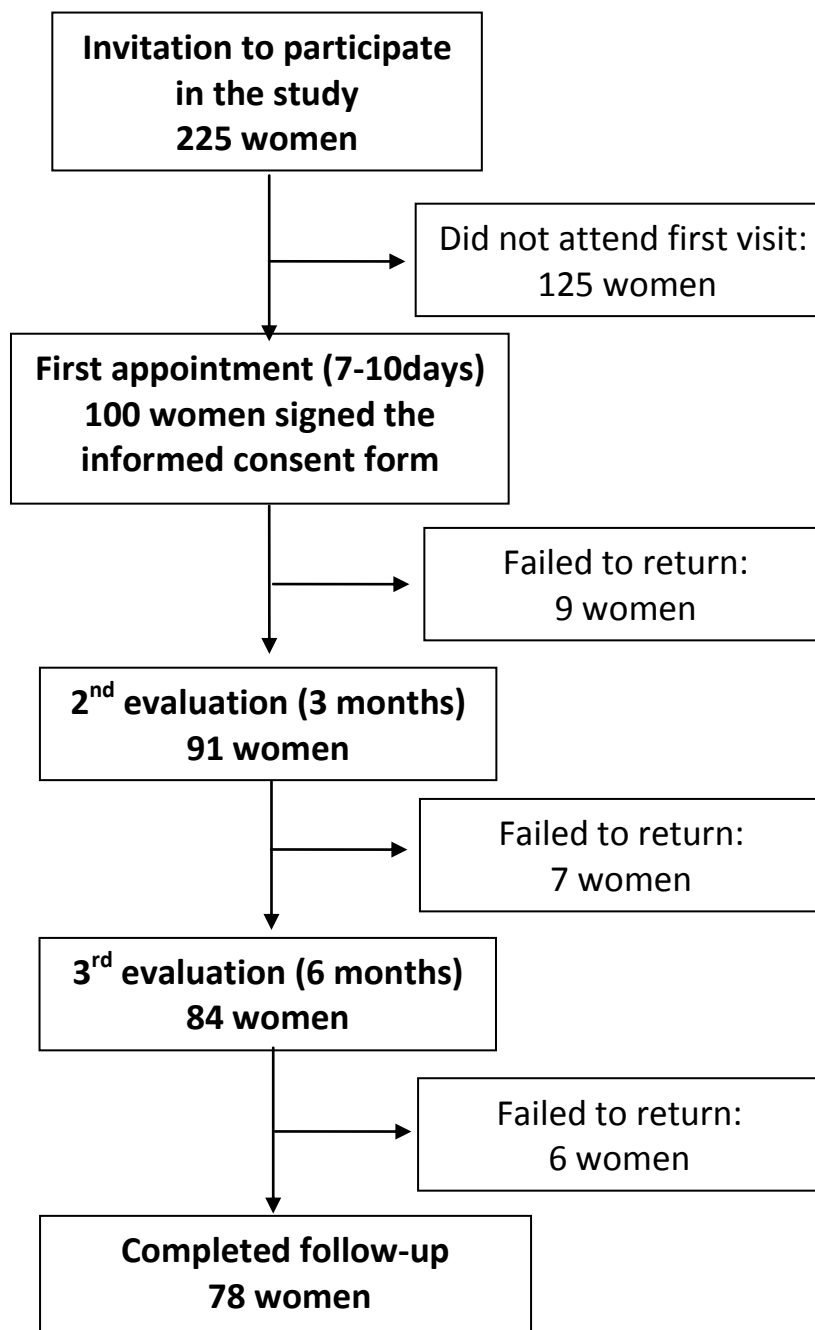
** Duration of exclusive breastfeeding ($p=0.372$); Amenorrhea duration ($p=0.804$); BMI (**$p<0.001$**)

Table 5. Variables associated to bone mineral density at the distal radius and ultradistal radius (g/cm²) at 6 months postpartum [Models 1 and 2]; n=78

Model/ Variable	Coef.	SE coef.	p
Model 1: BMD distal radius at 6 months postpartum			
BMD midshaft ulna at 7-10 days postpartum (g/cm ²)	0.656	0.041	<0.001
Pre-gestational BMI (kg/m ²)	0.004	0.001	<0.001
Age (years)	0.001	<0.001	0.032
Schooling (years)	0.002	0.001	0.013
BMI difference (kg/m ²)	0.002	0.001	0.038
Model 2: BMD ultradistal radius at 6 months postpartum			
BMD ultradistal radius at 7-10 days postpartum	0.707	0.056	<0.001
Pre-gestational BMI (kg/m ²)	0.004	0.001	<0.001

Predictors: age; ethnicity; number of pregnancies; parity; schooling; smoking; length of exclusive breastfeeding; length of total breastfeeding; duration of postpartum amenorrhea; type of contraceptive method up to 6 months; pre gestational BMI; change of BMI; Distal radius BMD (only for Model 1); Ultra distal radius BMD (only for Model 2)

Figure 1. Flow of women participating in the study



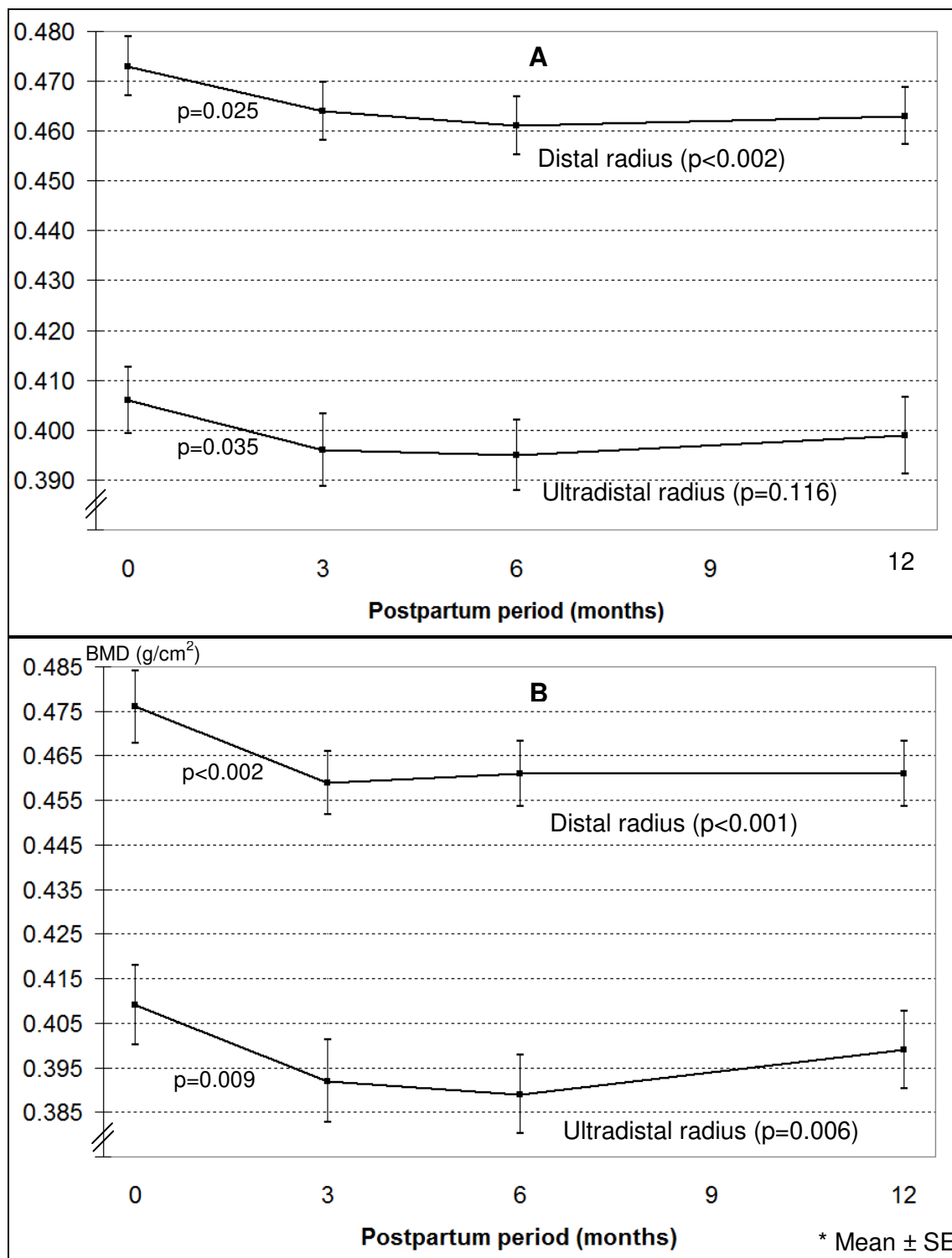


Figure 2. Mean values of BMD * (g/cm²) measured by peripheral densitometry of the distal radius and ultradistal radius among (A) women at different times of postpartum period (n=78) and (B) using non-hormonal contraceptive methods (n=39)

4.2. Artigo 2

Original research article

Progestin-only contraception prevents bone loss in postpartum breastfeeding women

Maria Laura Costa, Jose Guilherme Cecatti*, Fabiana G Krupa, Patricia Moretti Rehder, Maria Helena Sousa, Lucia Costa-Paiva

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), 13083-881 Campinas, Sao Paulo, Brazil.

Running title: bone mass with breastfeeding and contraception

Corresponding author:

JG Cecatti

PO Box 6030

13083-881 Campinas-SP, Brazil

Tel.: +55-19-35219482

Fax: +55-19-35219304

E-mail: cecatti@unicamp.br

Abstract

Background: There is a trend in bone loss during the first 6 months postpartum and a complete recovery post weaning, with a few studies addressing contraceptive use during this period and some evidence towards protection of bone loss with progestin-only contraceptive methods.

Objective: The study was conducted to evaluate forearm bone mineral density (BMD) of breastfeeding postpartum women using non-hormonal and progestin-only contraceptive methods.

Study design: A prospective cohort study of postpartum women had an analysis performed at 6 months associating BMD and contraceptive use. Forearm BMD was performed 7-10 days, 3, and 6 months postpartum. Eighty-two women were analyzed comparing non-hormonal (54) and progestin-only (28) contraceptive methods. Information about breastfeeding duration, amenorrhea and body mass index (BMI) was collected.

Results: Baseline characteristics of the study population showed no statistical differences between groups. The median duration of breastfeeding for both groups was 183 days. A significant BMD variation was observed for the non-hormonal group ($p < 0,001$) according to the multivariate analysis of variance, however no statistical difference detected for the progestin-only group. BMI, interaction between time and hormonal or non-hormonal contraceptive use and total duration of breastfeeding were significantly correlated with BMD.

Conclusions: Our findings suggest a preventive effect towards bone loss with progestin-only contraception.

Keywords: Bone mineral density; Progestin; Contraception; Breastfeeding

1. Introduction

Changes in bone mass in pre-menopausal women under physiological hypo-estrogenic conditions have been studied to understand and evaluate aspects of its pathogenesis and prevention of osteoporosis [1,2].

Bone metabolism during pregnancy and the postpartum is not completely well understood. During gestation and breastfeeding, substantial changes take place with hormonal variations and maternal-to-fetal transfers of calcium that might contribute to bone loss. However, the mechanisms controlling demineralization of the maternal skeleton during lactation are still not well recognized. Studies of BMD suggest that losses of maternal minerals occur during lactation and that these changes tend to recover after weaning [3].

Many factors can influence bone metabolism in this specific condition, including gestational weight gain, body composition, pattern of physical activity, smoking status, medication history, eating disorders and also contraceptive method used. Non-hormonal contraceptives are considered the first choice for lactating women [4], however progestin-only methods are a good option if any contraindication or preference does exist. They have no deleterious effect on breastfeeding, infant growth or early child development [5].

However, few studies have addressed different contraceptive methods during lactation and their influence in bone mass alterations. There are limited data on the impact of progestin-only contraceptive methods on bone metabolism during breastfeeding [5-7] with no suggestion of deleterious impact on BMD and in fact possible protection against loss of BMD.

This study evaluated serial forearm BMD values among breastfeeding healthy postpartum women using depot medroxyprogesterone acetate (DMPA), progestin-only pills (POPs) or levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS) through the first 6 months postpartum, in comparison to users of non-hormonal contraceptive methods.

2. Material and Method

2.1 Study Design:

This was a prospective cohort study performed at the Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medical Sciences, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. All participants signed an informed consent form prior to enrollment and the Institutional Review Board previously approved the study protocol.

Sample size was calculated based on a previous study of serial BMD measurement in postpartum women, considering a standard deviation of distal radius equal to 0.044 g/cm² [8], a type I error of 5%, and a minimum difference between the observed and true measurements of 0.010 g/cm². Using these parameters, the minimum sample size needed was calculated as 74 women [9]. Considering an estimated loss to follow-up of around 25%, the final number of subjects proposed for enrollment was 100. For the analysis currently presented, we report the effect of contraceptive use on BMD for breastfeeding women until 6 month postpartum. This period was chosen because the bone loss is maximum, the prevalence of breastfeeding is very high and the women are still using the same contraceptive method which was initiated around the 42nd postpartum day.

2.2. Participant Enrollment and Follow-up:

Healthy postpartum women aged 18 to 40 years were invited to participate in the study during their routine clinical care visits. They were informed about the study and invited to attend an initial study appointment scheduled 7 to 10 days postpartum. Women eligible for the study had to meet the following criteria: an uncomplicated term (≥ 37 weeks) pregnancy with a single fetus, no history of diseases before or during pregnancy that would affect calcium or bone metabolism (women with chronic diseases such as diabetes mellitus, hyperthyroidism or hypothyroidism, chronic renal failure, hyperparathyroidism or hypoparathyroidism, hepatitis, cancer or pituitary diseases were excluded), no use of any medication that could interfere with bone metabolism (such as corticosteroids, anticoagulants, anticonvulsants, thiazide diuretics or drugs for the treatment of thyroid disease), and intention to delay the next pregnancy for at least 12 months postpartum.

During the first appointment, a complete interview and physical exam were performed to obtain information of women: age, ethnic group, number of previous pregnancies, live births, cesarean sections and abortions, smoking habits, height, weight before pregnancy, last weight measured during pregnancy, schooling history and information about the actual mode of delivery. At all subsequent appointments (at around 3 and 6 months postpartum), data were collected to detail the number of days since delivery, duration of exclusive and total breastfeeding, days of postpartum amenorrhea and subject's height and weight.

2.3. Contraceptive management

Contraceptive method was introduced 42 days postpartum according to the woman's choice and depending on many factors, including the infant feeding condition, need for

temporary or permanent method and clinical status. Women were advised to schedule extra visits in case of doubts or adverse effects. Basically, all methods were available, but for this analysis we are focusing on only women who chose non-hormonal (condom, lactation amenorrhea method (LAM), tubal ligation, Cu-IUD) or progestin-only methods (POPs, DMPA, and LNG-IUS).

The study took place at a university reference center for women's care in a developing middle income country, with a team of professionals trained towards recommending and orienting exclusive breastfeeding until 6 months after delivery. We planned a prospective cohort study comparing BMD trends in postpartum breastfeeding women using non-hormonal contraception or progestin-only contraception.

2.4. Bone mineral density measurements

Distal BMD was performed at 7-10 days postpartum, 3 and 6 months after delivery. BMD was measured at the non-dominant forearm using dual X-ray absorptiometry (DTX-200; Osteometer Meditech A/S, Rodovre, Denmark). Each woman had two BMD measurements considered: at distal radius (cortical bone predominates), at the point at which the radius is 8 mm from the ulna (automatic scanning); and at the ultra-distal radius near the articulation with the bones of the carpus (where the trabecular bone predominates). BMD measurements were performed by an operator certified as a clinical densitometrist by the International Society of Clinical Densitometry (ISCD). The coefficient of variation percentage values were 0.7% for distal radius and 1.3% for ultra-distal radius.

2.5. Statistical Methods

Comparison between subjects with complete follow-up of six months postpartum was performed considering demographic, anthropometric and obstetric variables using Mann-Whitney non-parametric test (continuous quantitative variables) or the chi-square test (qualitative or discrete quantitative variables) comparing the 54 cases of non-hormonal contraceptive use and the 28 cases of progestin-only hormonal contraceptive use. A descriptive analysis was then performed taking into account the total period of exclusive breastfeeding, total duration of breastfeeding and postpartum amenorrhea. The median of total length of lactation, exclusive breastfeeding and amenorrhea (time-related variables) were calculated using life table method, to estimate the duration for each one. In addition, BMD was compared considering its changes through time (repeated measurements) using multivariate analysis of variance (MANOVA), and also considering the factors contraceptive method and three other covariates through the 6-month period: duration of exclusive breastfeeding, postpartum amenorrhea and BMI, all of them with repeated measurements. Lastly, multiple linear regression analysis was conducted to evaluate whether BMD at 6 months in both skeletal sites was significantly associated with any of the studied variables. The statistical procedures were performed using the SPSS package and a 0.05 level of significance was established.

3. Results

From the healthy postpartum women, aged 18 to 40 years, who were invited to participate in the study, between February of 2007 and January of 2009, 100 came for the scheduled first appointment (7 to 10 days postpartum), signed the informed consent

form and then were formally included in the study. Eighty four women had completed the follow-up at 6 months.

These 84 postpartum women were grouped according to their contraceptive method of choice. The majority (54 women) used non-hormonal methods (Cu-IUD 31; condom 12, tubal ligation 5, and others 6). Thirty women used hormonal contraceptives, with predominance of progestin-only methods: DMPA 21, progestin-only pills 6 and levonorgestrel-releasing intrauterine system 1. Two women were using combined oral contraceptive at 6 months of evaluation and were excluded; the present analysis focused therefore on 82 women.

Considering the progestin-only group (28 women), there were 13 women with exclusive use of DMPA and 3 women with exclusive use of progestin-only pills (POPs). In the remaining 11 cases they started using a non-hormonal method and then changed to the progestin-only method.

The clinical characteristics of the study population are presented in Table 1, with a comparison between the 54 enrolled women who used non-hormonal contraception and the 28 remaining women who used hormonal progestin-only contraception. There were no statistical differences between the groups.

The mean time (in days postpartum) for the three medical follow-up visits (BMD measurements) of the 82 cases considered were 9.2 (± 2.6), 100.2 (18.8), and 190.9 (± 16.2) days respectively.

Table 2 shows that the median duration of exclusive breastfeeding was 137 days for the non-hormonal group and 113 for the progestin-only group ($p=0.143$), evaluated by life table method. Both had the same median time of total lactation length, 183 days.

Resumption of menses postpartum occurred after at a median period of 122 days for the non-hormonal group and 85 days for the hormonal one.

Table 3 shows changes in BMD measurements (distal radius and ultra-distal radius) from baseline (7-10 days postpartum) to 6 months postpartum, considering women using non-hormonal contraceptives and women using progestin-only contraceptives. A significant BMD decrease was observed in both skeletal sites for the non-hormonal group ($p < 0.001$) according to multivariate analysis of variance (with repeated measurements), however no significant difference in the analysis for the progestin-only group was detected (Fig. 1 and 2).

The same analysis was performed considering the 13 cases using only DMPA as the progestin-only group, through the whole period analyzed, with no shift to any other contraceptive method. There was no significant difference in BMD during this period for this specific sub-group (data not shown).

Multivariate analysis of variance of the BMD at distal radius and ultradistal radius up to 6 months postpartum, showed that BMI and also the interaction of time and hormonal or non-hormonal contraceptive use were both significantly correlated with BMD of both sites. Duration of exclusive breastfeeding and amenorrhea were not contributory (Table 4).

Multiple linear regression analysis for the evaluation of variables independently associated with BMD at the distal radius at 6 months postpartum (Model 1), showed significant correlation to baseline BMD, pre-gestational BMI, age, and total breastfeeding duration. The same analysis for ultradistal radius (Model 2) showed significant correlation with baseline BMD, pre-gestational BMI and total breastfeeding duration (Table 5).

4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study to address the influence of DMPA in BMD changes of lactating women. A cohort of 82 breastfeeding women was followed for 6 months postpartum and a comparison between the group of users of non-hormonal contraceptive methods and the progestin-only methods showed a protective effect towards bone loss in the progestin-only methods..

There is still no agreement on whether the use of hormonal contraceptives during the reproductive years has any effect on BMD during current use and later in women's life, if it has any deleterious effect or whether there is any influence on fracture risk after menopause [10]. However, the peak adult bone mass achieved and the subsequent rate of bone loss are the major factors that determine a woman's susceptibility to postmenopausal osteoporosis [11].

The understanding of the postpartum period is even more complex, with alterations in BMD that are not fully clarified. The first study carried out to evaluate contraceptives and BMD changes during the first postpartum year suggested that POPs may protect against bone loss [7]; however, it was a small observational study of 31 women, with a group of 9 women using POPs, followed with lumbar spine densitometry. Another study addressed two progestin-only contraceptives, Norplant implants and progesterone vaginal rings, in comparison to Cu-IUD users. Results suggested no interference with changes in bone mass (lumbar spine and femoral neck assessment) during lactation and after weaning [5]. Our results are in accordance to the available literature and present a protective effect on bone loss, during lactation, mostly due to DMPA use.

DMPA is a highly effective, long-lasting contraceptive. Its safety immediately postpartum in non-breastfeeding women and after the sixth postpartum week in breastfeeding women is well established [12]. DMPA inhibits the cyclic secretion of pituitary gonadotropin, consequently reducing the ovarian production of estrogen [13] which in theory could result in loss of BMD in current users. A study with young women using DMPA observed that the BMD was significantly lower for DMPA users than for controls in all sites [14]. However, there is a disagreement with respect to its influence in BMD [15] and a trend towards evidence of post discontinuation recovery and a reversible effect on BMD [16].

A previous study on forearm BMD in DMPA users as a contraceptive method concluded that women of 35 years old or more presented a lower bone mass only at the ultradistal portion of the forearm after the use of DMPA for over 1 year. However, this decrease was not related to the duration of DMPA use [17]. A randomized controlled trial among 22 pre-menopausal women assigned treatment to either levonorgestrel or DMPA for 6 months and analyzed bone density changes. Findings suggested an increase in BMD with levonorgestrel and stable values with DMPA [18].

The current analysis of our study focuses on follow-up of six months, however even during this relatively short period, there was evidence of a preventive effect of progestin-only contraception on both sites of forearm, especially during the first 3 months postpartum. However, it is important to note that we had a high prevalence of breastfeeding during the considered period; their mean age was around 25 years and that only a transient use of the method was assessed.

Mechanisms involved in bone metabolism and enlightenment on how the physiological hypoestrogenism influences changes are yet to be understood. The last

decade presented a number of publications that addressed the transient bone loss on lactating women and the expected preventive effect of calcium intake was systematically tested and failed to achieve success, and even showed adverse influence [19]. It is known that sexual hormones including progestogens also bind to bone receptors and this can increase the bone density. The higher BMD among users of progestin-only contraceptives observed in this study can be attributed to the protective effect of progestogen on bone mass when compared to that of non-hormonal contraceptive users, thus protecting these women from the hypoestrogenism of lactation.

The use of contraceptive method seems to be another important point of discussion in postpartum women. Although low BMD is a recognized risk factor for fractures in menopausal women, this is not the case for reproductive age women [15]. The association between BMD and baseline BMD, pre-gestational BMI and breastfeeding duration observed in this study has also been reported by others [20]. A previous lower bone mass and lower BMI (under 20 kg/m²) have been recognized as important risk factors for fractures due to osteoporosis [21,22].

We used Forearm Peripheral Dual-energy X-ray Absorptometry (pDXA), even knowing that according to the current standards, axial skeletal sites are considered the gold standard approach for the diagnosis and monitoring of osteoporosis. However, studies have demonstrated that the forearm BMD correlates well with central BMD measurements (such as lumbar and total hip) [23-25] and this evaluation has been used in previous studies of BMD in DMPA users [25-27].

Our study has some limitations such as not taking into account dietary calcium intake, women's previous history of contraceptive use, history of family osteoporosis

and other risk factors for bone loss. The switch in contraceptive methods during the study could not be avoided since women were not asked use the same contraceptive method throughout the study. They were constantly clarified about all methods available and free to decide whichever and whenever to use them. We believe this approach brought the study closer to the reality and helped to diminish withdrawals.

The results presented consistently indicate a preventive effect on bone loss towards the use of progestin-only hormonal contraceptive methods in lactating women. The clinical implications of this finding are still not clear, since the declines in BMD associated with lactation do not appear to have long-term skeletal health consequences; however it does influence family planning and should strengthen data on safety of DMPA use, preventing unwanted pregnancies [10]. The protective effect of progestin-only contraception on bone loss can also represent a possibility for women with known risk factors for low BMD, such as diabetic or epileptic women, chronic users of corticosteroids and others. Nevertheless, future studies should address the topic, considering larger sample sizes, other anatomic sites and techniques for bone density assessment and non-breastfeeding postpartum women, in order to confirm these findings.

Conflict of interests

The authors declare that there are no conflicts of interests.

Acknowledgements

Financial support was received from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) under grant number 2006/04555-3, and also from the FAEPEX/UNICAMP through the grant 421/2010.

References

- [1] WHO - World Health Organization (2000). Prevention and Management of Osteoporosis: report of a WHO Scientific Group. Report series 921. Geneva, WHO, 194p. Available at http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_921.pdf Access on 17/05/2011.
- [2] Lam SY, Baker HWG, Seeman E, Pepperell RJ. Gynaecological disorders and risk factors in premenopausal women predisposing to osteoporosis. A review. *Brit J Obstet Gynecol* 1988; 95:963-72.
- [3] Ensom MH, Liu PY, Stephenson MD. Effect of pregnancy on bone mineral density in healthy women. *Obstet Gynecol Surv* 2002; 57:99-111.
- [4] International Planned Parenthood Federation. International Medical Advisory Panel IMAP. New IPPF statement on breastfeeding, fertility and postpartum contraception. *IPPF Med Bull* 1990; 24:2-4.
- [5] Diaz S, Reyes MV, Zepeda A, et al. Norplant implants and progesterone vaginal rings do not affect maternal bone turnover and density during lactation and after weaning. *Hum Reprod* 1999; 14:2499-505.
- [6] Prior JC. Progesterone as a bone-trophic hormone. *Endocr Rev* 1990; 11:386-98
- [7] Caird LE, Reid-Thomas V, Hannan WJ, Gow S, Glasier AF. Oral progestogen-only contraception may protect against loss of bone mass in breastfeeding women. *Clin Endocrinol* 1994; 41:739-45.
- [8] Holmberg-Marttila D, Sievänen H, Laippala P, Tuimala R. Factors underlying changes in bone mineral during postpartum amenorrhea and lactation. *Osteoporos Int* 2000; 11:570-6.
- [9] Kish L. Survey Sampling, first edition. New York: John Wiley and Sons, 1965.
- [10] d'Arcangues C. World Health Organization. WHO statement on hormonal contraception and bone health. *Contraception* 2006; 73:443-4.
- [11] Mehta S. Bone loss, contraception and lactation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72:148-56.
- [12] World Health Organization. Task Force for Epidemiological Research on Reproductive Health; Special Programme of Research, Development and Research

- Training in Human Reproduction. Progestogen-only contraceptives during lactation: I. Infant growth. *Contraception* 1994; 50:35–53.
- [13] Fraser IS, Weinberg E. A comprehensive review of injectable contraception with special emphasis on depot medroxyprogesterone acetate. *Med J Aust* 1981; 1:2-19.
 - [14] Costa-Paiva L, Pinto-Neto AM, Faundes A. Bone density among long-terms users of medroxyprogesterone acetate as a contraceptive. *Contraception* 1998; 58: 351-5.
 - [15] Kaunitz AM, Arias R, McClung M. Bone density recovery after depot medroxyprogesterone acetate injectable contraception use. *Contraception* 2008; 77:67-76.
 - [16] Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Barlow WE, Ott SM. Injectable hormone contraception and bone density: results from a prospective study. *Epidemiol* 2002; 13:581-7.
 - [17] Bahamondes L, Perotti M, Castro S, Faundes D, Petta C, Bedone A. Forearm bone density in users of Depo-Provera as a contraceptive method. *Fertil Steril* 1998; 71:849-52.
 - [18] Naessen T, Olsson SE, Gudmundson J. Differential effects on bone density of progestogen-only methods for contraception in premenopausal women. *Contraception* 1995; 52:35-9.
 - [19] Jarjou LM, Laskey MA, Sawo Y, Goldberg GR, Cole TJ, Prentice A. Effect of calcium supplementation in pregnancy on maternal bone outcomes in women with low calcium intake. *Am J Clin Nutr* 2010; 92:450-7.
 - [20] Karlsson MK, Ahlborg HG, Karlsson C. Maternity and bone mineral density. *Acta Orthopaedica* 2005; 76:2-13.
 - [21] Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008; 19:385-97.
 - [22] De Laet C, Kanis JA, Odén A, et al. Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2005; 16:1330-8.
 - [23] Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312:1254–9.

- [24] Picard D, Brown JP, Rosenthal L, et al. Ability of peripheral DXA measurement to diagnose osteoporosis as assessed by central DXA measurement. *J Clin Densitom* 2004; 7:111-8.
- [25] Jones T, Davie MW. Bone mineral density at distal forearm can identify patients with osteoporosis at spine or femoral neck. *Br J Rheumatol* 1998; 37:539-43.
- [26] Beksinska ME, Kleinschmidt I, Smit JA, Farley TM. Bone mineral density in a cohort of adolescents during use of norethisterone enanthate, depot-medroxyprogesterone acetate or combined oral contraceptives and after discontinuation of norethisterone enanthate. *Contraception* 2009; 79:345-9.
- [27] Perrotti M, Bahamondes L, Petta C, Castro S. Forearm bone density in long-term users of oral combined contraceptives and depot medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 2001; 76:469-73.

Table 1. Characteristics of subjects enrolled up to 6 months postpartum, according to contraceptive method used: non-hormonal or progestin-only

Characteristics	Contraceptive method		p-value
	Non-hormonal (54)	Progestin-only (28)	
Age (years)	26.5 [± 6.35]	25.3 [± 6.44]	0.303 •
Ethnicity			0.888 *
White	26 (48)	14 (50)	
Black	10 (19)	4 (14)	
Other (pardo)	18 (33)	10 (36)	
Schooling (years)	9.8 [± 2.95]	10.7 [± 2.74]	0.079 •
Smoking habit			>0.999 **
Yes (a)	11 (20)	5 (18)	
No	43 (80)	23 (82)	
BMI at 6 months (kg/m²)	25.8 [± 4.09]	26.5 [± 6.16]	0.648 •
Number of deliveries			0.069 *
1	18 (33)	14 (50)	
2	15 (28)	10 (36)	
≥ 3	21 (39)	4 (14)	
Parity			0.390 *
1	21 (39)	15 (54)	
2	20 (37)	9 (32)	
≥ 3	13 (24)	4 (14)	
Type of Delivery			0.372 **
Vaginal	34 (63)	14 (50)	
Cesarean section	20 (37)	14 (50)	

Mean [$\pm$ SD]; n (%); BMI: body mass index

• Mann-Whitney non-parametric test.

* Pearson's chi-square test; ** Fisher's exact test.

(a) Includes "did not smoke during pregnancy".

Table 2. Median of duration of breastfeeding and days of postpartum amenorrhea according to contraceptive method used

Time @	Contraceptive method		p-value +
	Non-hormonal (54)	Progestin-only (28)	
Duration of exclusive breastfeeding (days)	137	113	0.143
Total duration of breastfeeding (days)	183	183	0.383
Postpartum amenorrhea (days)	122	85	0.327

@ Analysis through life table method.

+ Wilcoxon-Gehan test.

Table 3. Mean BMD values (g/cm²) at distal radius and ultradistal radius in women using non-hormonal contraceptive method and progestin-only method according to postpartum period (up to 6 months)

Postpartum period	Distal Radius		Ultradistal radius	
	Non-hormonal (n=54)	Progestin-only (n=28)	Non-hormonal (n=54)	Progestin-only (n=28)
1st. evaluation (7-10 days)	0.481 [0.0067]	0.458 [0.0104]	0.413 [0.0072]	0.390 [0.0124]
p-value (1 st vs 2 nd evaluation) °	<0.001	0.445	0.002	0.882
2nd. evaluation (3 months)	0.461 [0.0057]	0.464 [0.0124]	0.395 [0.0072]	0.392 [0.0143]
p-value (2 nd vs 3 rd evaluation) °	0.718	0.275	0.854	0.763
3rd. evaluation (6 months)	0.462 [0.0060]	0.455 [0.0116]	0.394 [0.0072]	0.394 [0.0137]
p-value *	<0.001	0.426	<0.001	0.910
p-value **		0.420		0.497

Mean [SE].

° Student's t test for related samples.

* Multivariate analysis of variance (with repeated measurements and separate comparison along time).

** Comparison between groups of contraceptive methods.

Table 4. Multivariate analysis of variance with repeated measurements until 6 months postpartum, of the bone mineral density at distal radius and ultradistal radius (g/cm²)

BMD/ Source of variation	SS	df	F	p
BMD distal radius				
Time	<0.01	2	0,6	0.551
Group	<0.02	1	2,1	0.156
Interaction group vs time	<0.02	2	6,1	0.003
Regression *	<0.01	3	2,7	0.047
BMD ultradistal radius				
Time	<0.01	2	2,2	0.111
Group	<0.02	1	1,3	0.256
Interaction group vs time	<0.01	2	3,6	0.030
Regression **	<0.02	3	4,6	0.004

SS: Sums of squares; df: degree of freedom; F: Snedecor F Statistic.

* Duration of exclusive breastfeeding (p=0.313); Amenorrhea duration (p=0.844); BMI (p<0.001).

** Duration of exclusive breastfeeding (p=0.209); Amenorrhea duration (p=0.591); BMI (p<0.001).

Table 5. Variables associated to BMD at distal radius and ultradistal radius (g/cm²) at 6 months postpartum [Models 1 and 2]

Model/ Variable	Coef.	SE coef.	p
Model 1: BMD distal radius at 6 months postpartum			
BMD distal radius at 7-10 days postpartum (g/cm ²)	0.640	0.044	<0.001
Pre-gestational BMI (kg/m ²)	0.004	0.001	<0.001
Total breastfeeding duration (days)	<0.001	<0.001	0.014
Age (years)	<0.002	<0.001	0.014
Model 2: BMD ultradistal radius at 6 months postpartum			
BMD ultradistal radius at 7-10 days postpartum	0.648	0.059	<0.001
Pre-gestational BMI (kg/m ²)	0.004	0.001	<0.001
Total breastfeeding duration (days)	<0.001	<0.001	0.026
Predictors: age; race/skin color; number of pregnancies; parity; schooling; smoking; length of exclusive breastfeeding; length of total breastfeeding; duration of postpartum amenorrhea; type of contraceptive method up to 6 months; pre-gestational BMI; change of BMI; Distal radius BMD (only for Model 1); ultradistal BMD (only for Model 2).			

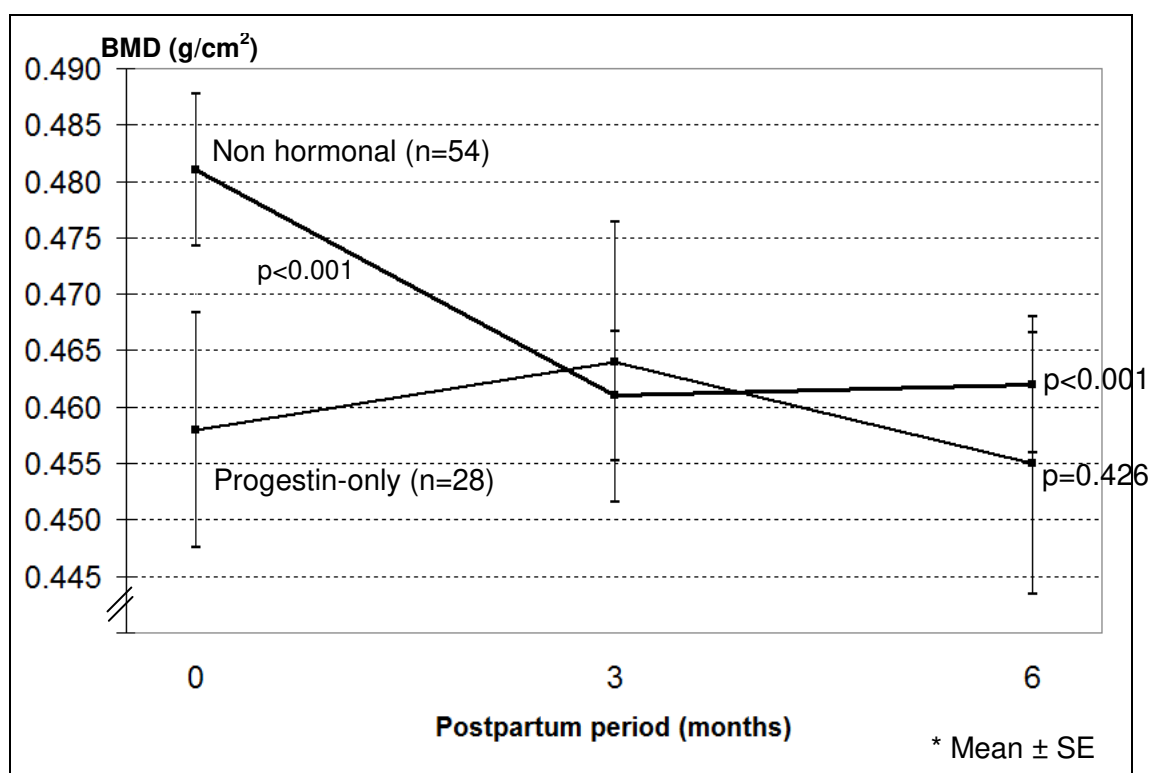


Fig. 1. Mean values of BMD (g/cm^2) measured by peripheral densitometry of the distal radius among women in different times of postpartum period ($n=82$) and use of non-hormonal or progestin-only contraceptive method.

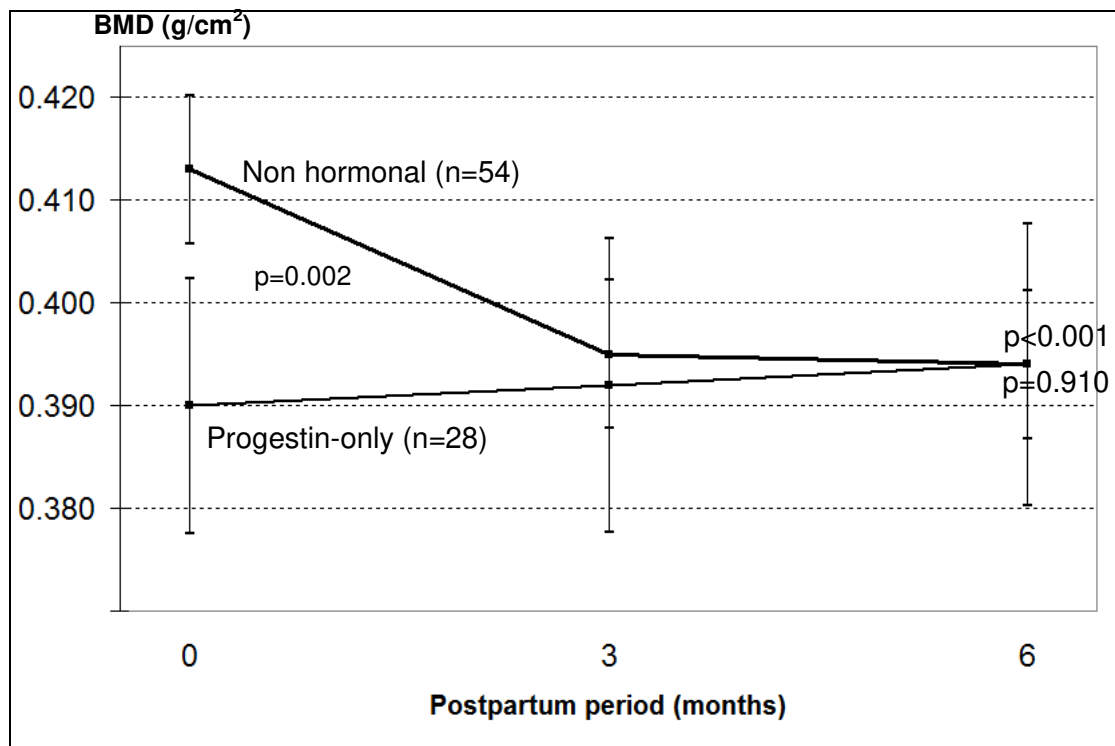


Fig. 2 Mean values of BMD (g/cm^2) measured by peripheral densitometry of the ultradistal radius among women in different times of postpartum period and use of non-hormonal or progestin-only contraceptive method.

5. Discussão Geral

É importante registrar um pouco da história deste projeto, agora finalizado. O estudo foi idealizado há cerca de 10 anos, no auge da investigação internacional sobre a possível perda óssea devida à amamentação. Como todo projeto, sua realização ficou na dependência de financiamento, da definição da disponibilidade de aparelho de densitometria e logística para o atendimento de puérperas, sendo postergada inúmeras vezes.

Em 2006, o estudo finalmente obteve financiamento e sua implementação iniciou-se em 2007. Neste momento, havia disponibilidade para o uso de densitômetro periférico, com avaliação de antebraço. O aparelho estava funcionando e acessível no mesmo ambiente físico do atendimento ambulatorial das puérperas, facilitando muito o processo de coleta de dados.

A dificuldade de realizar acompanhamento prospectivo no pós-parto já era prevista, e a grande limitação enfrentada, durante todos os anos deste estudo, diz respeito ao ritmo de inclusão das mulheres ao estudo e taxas de perda de seguimento, apesar da ajuda financeira para transporte e alimentação que o financiamento do estudo proporcionou.

Inicialmente deu-se preferência para a participação para mulheres residentes em Campinas e nas proximidades do complexo hospitalar. Foi ainda disponibilizado berço e uma profissional da enfermagem para acompanhar as

consultas médicas e densitometrias dessa mulher, considerando que quase sempre elas vêm acompanhadas de seus filhos. Além disso, utilizamos o recurso de lembrete sobre a consulta por telefone, fazendo um telefonema um a dois dias antes da data marcada para o retorno, recordando a mulher sobre o agendamento, e eventualmente remarcando para outro dia ou horário, caso ela tivesse alguma dificuldade prática.

A maior parte das mulheres que abandonou o estudo, entretanto, relatou como motivo para isso a dificuldade em sair com o filho ou encontrar alguém que tomasse conta da criança durante o período de sua ausência para o controle. Atestaram ainda dificuldades com transporte, impossibilidade de liberação do emprego e mudanças de endereço.

Na verdade, o primeiro grande obstáculo constatado foi a dificuldade na realização da primeira consulta, programada para 7 a 10 dias pós-parto. Por questões diversas, tivemos 55,5% de perda entre casos agendados e mulheres que efetivamente compareceram à primeira avaliação, sendo assim incluídas no estudo.

Nos agendamentos seguintes, aos 3, 6 e 12 meses pós-parto, as faltas e atrasos também foram freqüentes. Foi um trabalho diário e desgastante, realizar a verificação destas demoras e contato telefônico com as pacientes, para reagendamentos. Mesmo assim, foram 22 perdas de seguimento ao longo de todo o estudo.

Foi interessante observar que a maior parte das mulheres criou forte vínculo com o Serviço e pesquisador, passando a ligar e agendar “encaixes” diante de qualquer intercorrência ginecológica, como dor pélvica, irregularidade menstrual, desejo de troca de método anticoncepcional, etc. Por isso, a média de consultas de cada paciente com coleta finalizada, foi ao redor de sete, três consultas a mais do que o previsto para a realização de densitometrias.

Durante o seguimento, foi oferecido atendimento ginecológico completo, com revisão puerperal, orientação anticoncepcional (incluindo inserção de DIU, aplicação de injetável e fornecimento de anticoncepcional oral), realização de citologia oncológica, além de exames laboratoriais e de imagem, sempre que necessário. Essa abordagem favoreceu a adesão dos sujeitos ao estudo, mas também gerou aumento nos custos e tempo de trabalho dos pesquisadores.

Com todas as dificuldades superadas, o estudo foi finalizado com sucesso, apresentando resultados inéditos para a população brasileira e significativa interação entre massa óssea e uso de métodos contraceptivos hormonais com progestágenos.

A nossa realidade impossibilitou a avaliação clara do efeito da amamentação sobre a perda de massa óssea no período pós-parto. O CAISM é um hospital universitário de referência, com papel importante no estímulo irrestrito à amamentação exclusiva por 6 meses e total por 2 anos. Temos uma equipe multi-profissional treinada para o apoio às mães e orientação puerperal de aleitamento, confirmados com a chancela de “Hospital Amigo da Criança”. A efetividade deste estímulo pode ser observada através dos nossos resultados, pelas altíssimas taxas de tempo de amamentação exclusiva e total. Nesse contexto, não seria possível, ou ético, propor a avaliação de puérperas não lactantes (como fazem inúmeros estudos internacionais publicados).

Outro ponto importante que merece discussão é a utilização de densitometria periférica, com avaliação seriada de antebraço (distal e ultradistal). Medidas periféricas além do rádio 33% (um terço) medido por DXA não podem ser utilizadas para diagnóstico da osteoporose, de acordo com os padrões atuais. No entanto, diversas técnicas de medidas no esqueleto periférico vêm sendo estudadas desde os anos 60 e as evidências científicas disponíveis apóiam o emprego clínico dessas técnicas para avaliação prognóstica do risco de fraturas (Marshall et al., 1996; Jones & Davie, 1998; Eis & Lewiecki, 2006).

Medidas de DMO periférica podem, teoricamente, ser utilizadas no rastreio de pacientes, selecionando aqueles com indicação de exame definitivo (densitometria central), embora seja necessário definir critérios de corte específicos para cada equipamento. Em locais sem disponibilidade para DXA central, avaliações de DMO do esqueleto periférico podem ser consideradas na identificação de indivíduos que poderão se beneficiar de intervenções farmacológicas (Eis & Lewiecki, 2006).

O primeiro artigo apresentado, com os dados gerais do estudo, mostrou resultados de acordo com a literatura, com tendência à perda óssea, nos primeiros 6 meses pós-parto (mais significativa até 3 meses) e posterior recuperação. Evidentemente, devido a longa duração de amamentação nesse estudo e o período de seguimento (12 meses), não pudemos analisar a evolução de massa óssea após o desmame e tampouco avaliar recuperação completa da massa óssea aos valores iniciais de densidade mineral óssea.

A análise comparativa entre os casos de mulheres com uso de método contraceptivo não hormonal (n=39) e o total (n=78), mostrou maior perda óssea no grupo não exposto à contracepção hormonal, sugerindo haver proteção da perda óssea no grupo exposto à utilização de métodos hormonais. Este resultado motivou a busca ativa de referências que mostrassem o efeito dos diversos métodos contraceptivos sobre a massa óssea de lactantes (Caird et al., 1994; Diaz et al., 1999), levando-nos à realização das análises apresentadas no segundo artigo.

O segundo artigo apresentou aspectos inéditos, com análises muito pouco exploradas na literatura até o momento. Devido à longa duração de amamentação, foi possível avaliar 82 mulheres amamentando até o sexto mês pós-parto e comparar a contracepção não hormonal, com métodos utilizando apenas progestágenos (predominantemente o acetato de medroxiprogesterona e minipílula), mostrando sua proteção sobre perda óssea.

Evidentemente, nosso estudo possui limitações. Infelizmente, não foi avaliada a ingestão diária de cálcio das mulheres incluídas, não coletamos informações sobre antecedente de uso de diferentes métodos contraceptivos ou antecedente familiar de osteoporose e fraturas ou qualquer marcador laboratorial. Todas estas avaliações seriam interessantes, mas não fizeram parte dos objetivos principais do nosso projeto e talvez tornassem o questionário longo demais, impactando na adesão das mulheres.

Nosso estudo representa apenas uma contribuição para a compreensão do metabolismo ósseo no puerpério e sua interação com métodos contraceptivos. O real significado clínico dos nossos achados ainda precisa ser melhor explorado, pois a diminuição de DMO observada em mulheres no pós-parto parece ser reversível, sem influência na vida futura destas mulheres e, por isso, a avaliação da prevenção desta perda óssea merece cautela. De qualquer forma, é muito importante salientar que nosso estudo confirma a segurança do uso de métodos contraceptivos progestágenos no período puerperal, em especial a DMPA, por muitos anos marcada pelo possível risco de diminuição de DMO em mulheres jovens.

6. Conclusões

1. A avaliação seriada de densitometria óssea de antebraço em puérperas revelou significativa perda de massa óssea nos primeiros 6 meses pós-parto, com tendência à recuperação posterior. Devido à extensa duração da amamentação na amostra estudada, o tempo determinado para seguimento (12 meses) foi insuficiente para permitir avaliação pós-lactação e possível recuperação completa de massa óssea.
2. A utilização de métodos contraceptivos apenas com progestágenos (em especial o acetato de medroxiprogesterona de depósito) conferem proteção contra a perda fisiológica de massa óssea em mulheres lactantes, nos primeiros 6 meses pós-parto.

7. Referências Bibliográficas

- Abrams SA. Normal acquisition and loss of bone mass. *Horm Res* 2003; 60 (Suppl. 3): 71-6.
- Affinito P, Tommaselli GA, di Carlo C, Guida F, Nappi C. Changes in bone mineral density and calcium metabolism in breastfeeding women: a one year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(6):2314-8.
- Akesson A, Vahter M, Berglund M, Eklöf T, Bremme K, Bjellerup P. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 1049-55.
- Bahamondes L, Perotti M, Castro S, Faundes D, Petta C, Bedone A. Forearm bone density in users of Depo-Provera as a contraceptive method. *Fertil Steril* 1998;71(5):849-52.
- Beksinska ME, Kleinschmidt I, Smit JA, Farley TM. Bone mineral density in a cohort of adolescents during use of norethisterone enanthate, depot-medroxyprogesterone acetate or combined oral contraceptives and after discontinuation of norethisterone enanthate. *Contraception* 2009;79:345-9.
- Bezerra FF, Mendonça LM, Lobato CE, O'Brien KO, Donangelo CM. Bone mass is recovered from lactation to postweaning in adolescent mothers with low calcium intakes. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(5): 1322-6.
- Brandão CMA, Camargos BM, Zerbini CA, Plapler PG, Mendonça LMC, Albergaria B, Pinheiro MM, Prado M, Eis SR. Posições oficiais 2008 da Sociedade Brasileira de Densitometria Clínica (SBDens). *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53(1):107-12.
- Caird LE, Reid-Thomas V, Hannan WJ, Gow S, Glasier AF. Oral progestogen-only contraception may protect against loss of bone mass in breastfeeding women. *Clin Endocrinol* 1994; 41(6):739-45.

- Chantry CJ, Auinger P, Byrd RS. Lactation among adolescent mothers and subsequent bone mineral density. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004; 158(7): 650-6.
- Costa-Paiva L, Pinto-Neto AM, Faundes A. Bone density among long-terms users of medroxyprogesterone acetate as a contraceptive. *Contraception* 1998; 58(6):351-55.
- Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Vieira NE. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation, and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:514-523.
- D'Arcangues C. World Health Organization. WHO statement on hormonal contraception and bone health. *Contraception* 2006; 73(5):443-4.
- De Laet C, Kanis JA, Odén A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ 3rd, Meunier PJ, Pols HA, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A. Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2005; 16(11):1330-8.
- Diaz S, Reyes MV, Zepeda A, et al. Norplant implants and progesterone vaginal rings do not affect maternal bone turnover and density during lactation and after weaning. *Hum Reprod* 1999; 14(10):2499-2505.
- Draper NR, Smith H. *Applied regression analysis*. New York: John Wiley and Sons, 1981. 709p.
- Drinkwater B, Chesnut CH 3rd. Bone density changes during pregnancy and lactation in active women: a longitudinal study. *Bone Miner* 1991; 14(2):153-60.
- Dursun N, Akin S, Dursun E, Sade I, Korkusuz F. Influence of duration of total breastfeeding on bone mineral density in a Turkish population: does the priority of risk factors differ from society to society? *Osteoporos Int* 2006; 17(5):651-5.
- Eis SR, Lewiecki EM. *Peripheral Bone Densitometry- Clinical Applications*. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50(4):596-602.
- Ensom MH, Liu PY, Stephenson MD. Effect of pregnancy on bone mineral density in healthy women. *Obstet Gynecol Surv* 2002; 57(2):99-111.
- Fraser IS, Weinberg E. A comprehensive review of injectable contraception with special emphasis on depot medroxyprogesterone acetate. *Med J Aust* 1981; 1:2-19.
- Glearan M, Plantalech L. Osteoporosis en embarazo y lactancia. *Medicina (B Aires)* 2000; 60(6):973-981.
- Hayslip CC, Klein TA, Wray HL, Duncan WE. The effects of lactation on bone mineral content in healthy postpartum women. *Obstet Gynecol* 1989; 73:588-592.

- Henderson III PH, Sowers MF, Kutzko KE, Jannausch ML. Bone mineral density in grand multiparous women with extended lactation. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(6):1371-7.
- Holmberg-Marttila D, Sievänen H, Laippala P, Tuimala R. Factors underlying changes in bone mineral during postpartum amenorrhea and lactation. *Osteoporos Int* 2000; 11:570-7.
- Honda A, Turabayashi T, Yahata T, Tomita M, Takakwa K, Tanaka K. Lumbar bone mineral density changes during pregnancy and lactation. *Int J Gynecol Obstet* 1988; 63:253-258.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Study on family budgets 2008-2009. Antropometrical and nutritional status of children, adolescents and adults in Brazil]. Rio de Janeiro: IBGE, 2010, 130p. Available at http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_encaa/pof_20082009_encaa.pdf Access on 12/05/2011.
- International Planned Parenthood Federation. International Medical Advisory Panel IMAP. New IPPF statement on breastfeeding, fertility and postpartum contraception. *IPPF Med Bull* 1990; 24(2):2-4.
- ISCD - The International Society for Clinical Densitometry (2007). 2007 ISCD Official Positions. Available at <http://www.iscd.org/visitors/positions/OfficialPositionsText.cfm> Access on 12/05/2011.
- Jarjou LMA, Prentice A, Sawo Y, Goldberg GR, Cole TJ, Prentice A. Effect of calcium supplementation in pregnancy on maternal bone outcomes in women with low calcium intake. *Am J Clin Nutr* 2010; 92(2):450-7.
- Jones T, Davie MW. Bone mineral density at distal forearm can identify patients with osteoporosis at spine or femoral neck. *Br J Rheumatol* 1998; 37:539-43.
- Kalkwarf HJ, Specker BL. Bone mineral loss during lactation and recovery after weaning. *Obstet Gynecol* 1995; 86:26-32.
- Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008; 19(4):385-97.
- Karlsson C, Obrant KJ, Karlsson M. Pregnancy and lactation confer reversible bone loss in humans. *Osteoporos Int* 2001; 12:828-34.

- Karlsson MK, Ahlborg HG, Karlsson C. Female reproductive history and the skeleton- a review. *BJOG* 2005; 112 (7):851-6.
- Karlsson MK, Ahlborg HG, Karlsson C. Maternity and bone mineral density. *Acta Orthopaedica* 2005; 76(1):2-13.
- Karlsson MK, Ahlborg HG, Karlsson C. Pregnancy and lactation are not risk factors for osteoporosis or fractures. *Lakartidningen* 2005; 102(5):290-3.
- Kaunitz AM, Arias R, McClung M. Bone density recovery after depot medroxyprogesterone acetate injectable contraception use. *Contraception* 2008; 77(2):67-76.
- Kish L. Survey Sampling. New York: John Wiley and Sons, 1965; 1st ed.
- Lam SY, Baker HWG, Seeman E, Pepperell RJ. Gynaecological disorders and risk factors in premenopausal women predisposing to osteoporosis. A review. *Brit J Obstet Gynecol* 1988; 95:963-972.
- Laskey MA, Prentice A. Bone mineral changes during and after lactation. *Obstet Gynecol* 1999; 94:608-615.
- Laskey MA, Prentice A. Effect of pregnancy on recovery of lactational bone loss. *Lancet* 1997; 349(9064):1518-9.
- Lenora J, Lekamwasam S, Karlsson MK. Effects of multiparity and prolonged breast-feeding on maternal bone mineral density: a community-based cross-sectional study. *BMC Womens Health* 2009; 1:9-19
- Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312:1254-9.
- Marx SJ. Doenças do osso e metabolismo ósseo. In: Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC, ed. *Tratado de Medicina Interna*. 19 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993 p. 1427-1443.
- Mehta S. Bone loss, contraception and lactation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72(3):148-56.
- More C, Bettembuk P, Bhattoa HP, Balogh A. The effects of pregnancy and lactation on bone mineral density. *Osteoporos Int* 2001; 12:732-7.
- Naessen T, Olsson SE, Gudmundson J. Differential effects on Bone Density of progestogen-only methods for contraception in premenopausal women. *Contraception* 1995; 52:35-39.
- Njeh CF, Fuerst T, Hans D, Blake GM, Genant HK. Radiation exposure in bone mineral density assessment. *Appl Radiat Isot* 1999; 50(1):215-36.

- Paton LM, Alexander JL, Nowson CA, Margerison C; Frame MG, Kaymakci B, Wark JD. Pregnancy and lactation have no long-term deleterious effect on measures of bone mineral in healthy women: a twin study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(3):707-14.
- Perrotti M, Bahamondes L, Petta C, Castro S. Forearm bone density in long-term users of oral combined contraceptives and depot medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 2001; 76:469-73.
- Picard D, Brown JP, Rosenthal L, et al. Ability of peripheral DXA measurement to diagnose osteoporosis as assessed by central DXA measurement. *J Clin Densitom* 2004; 7:111-8.
- Pitkin RM. Calcium metabolism in pregnancy and the perinatal period: a review. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 151:99-109.
- Pocock SJ. *Clinical trials: a practical approach*. Chichester: John Wiley and Sons, 1987. 266p.
- Polatti F, Capuzzo E, Viazzo F, Colleoni R, Klersy C. Bone mineral changes during and after lactation. *Obstet Gynecol* 1999; 94:52-56.
- Prentice A, Jarjou LM, Cole TJ, Stirling DM, Dibba B, Fairweather-Tait S. Calcium requirements of lactating Gambian mothers: effects of a calcium supplement on breast-milk calcium concentration, maternal bone mineral content, and urinary calcium excretion. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:58-67.
- Prentice A, Jarjou LM, Stirling DM, Buffenstein R, Fairweather-Tait S. Biochemical markers of calcium and bone metabolism during 18 months of lactation in Gambian women accustomed to a low calcium intake and in those consuming a calcium supplement. *J Clin Endocrin Metabol* 1998; 83:1059-1066.
- Prior JC. Progesterone as a bone-trophic hormone. *Endocr Rev* 1990; 11(2):386-98
- Ritchie LD, Fung EB, Halloran BP, Turnlund JR, Loan MDV, Cann CE, King JC. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:693-701.
- Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Barlow WE, Ott SM. Injectable hormone contraception and bone density: results from a prospective study. *Epidemiol* 2002; 13:581-7.
- Sena MCF, Silva EF, Pereira MG. Trends of breastfeeding in Brazil during the last quarter of XXth century. *Rev Bras Epidemiol* 2007;10(4):499-505.
- Sowers M, Corton G, Shapiro B, Jannausch ML, Crutchfield M, Smith ML, Randolph JF, Hollis B. Changes in bone density with lactation. *JAMA* 1993; 269(24):3130-5.

- Sowers MF, Clark MK, Jannausch ML, Wallace RB. A prospective study of bone mineral content and fracture in communities with differential fluoride exposure. *Am J Epidemiol* 1991; 133(7):649-60.
- Sowers MF, Hollis BW, Shapiro B, Randolph J, Janney CA, Zhang D, Schork A, Crutchfield M, Stanczyk F, Russell-Aulet M. Elevated parathyroid hormone-related peptide associated with lactation and bone density loss. *JAMA* 1996; 276:549-554.
- Sowers MF, Randolph J, Shapiro B, Jannausch M. A prospective study of bone density and pregnancy after an extend period of lactation with bone loss. *Obstet Gynecol* 1995; 85:285-289.
- Ward KA, Adams JE, Mughal MZ. Bone status during adolescence, pregnancy and lactation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005; 17(4):435-9.
- WHO - World Health Organization. Physical Status. The use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report series, Geneva 1995; 854:1-452.
- WHO - World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis: report of a WHO Scientific Group. Report series 921. Geneva, 2003, WHO, 194p. Available at http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_921.pdf Access on 12/05/2011.
- World Health Organization. Task Force for Epidemiological Research on Reproductive Health; Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. Progestogen only contraceptives during lactation: I. Infant growth. *Contraception* 1994; 50:35–53.
- Wysolmerski JJ. Interactions between breast, bone, and brain regulate mineral and skeletal metabolism during lactation. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1192:161-169.
- Yasumizu T, Nakamura Y, Hoshi K, Iijima S, Asaka A. Bone metabolism after human parturition and effect of lactation: longitudinal analysis of serum bone-related proteins and bone mineral content of the lumbar spine. *Endocr J* 1998; 45:679-686.

8. Anexos

Anexo 1. Check list

Associação da Lactação com a Densidade Mineral Óssea no puerpério.

Para inclusão das puerpéras nesta coorte, todas as respostas abaixo devem ser **SIM**.

1. A mulher tem idade entre 18 e 40 anos? ☐ sim ☐ não
2. Foi excluída a presença de diabetes, hipertensão, colagenoses, endocrinopatias, pneumopatias, nefropatias. ☐ sim ☐ não
3. Foi excluída a utilização pela mulher de drogas como corticoesteróides, hormônios, anticonvulsivantes, anticoagulantes, heparina e diuréticos do grupo de tiazídicos ☐ sim ☐ não
4. A puerpéra deu a luz a RN de termo único e vivo? ☐ sim ☐ não
5. A mulher deu luz a RN com Capurro maior ou igual a 37 semanas? ☐ sim ☐ não
6. A mulher habita em local que lhe permita manter o acompanhamento na instituição? ☐ sim ☐ não
7. A mulher deseja anticoncepção por pelo menos um ano ou foi submetida a laqueadura? ☐ sim ☐ não

Anexo 2. Consentimento livre e esclarecido

Associação da Lactação com a Densidade Mineral Óssea no puerpério.

Pesquisador principal: Maria Laura Costa do Nascimento

Telefone para contato: (019) 35219304

Está sendo realizado um estudo neste Hospital/CAISM para saber se a amamentação, os métodos para evitar a gravidez e o peso da mulher no período do pós-parto causam alterações nos ossos.

A Senhora está sendo convidada a participar desse estudo e abaixo explicaremos como ele será realizado:

1) Se aceitar participar, a senhora responderá algumas perguntas para o pesquisador e realizará quatro vezes um exame chamado Densitometria Óssea (este exame é parecido com um Raio X, mas mostra a quantidade de cálcio nos ossos; é o exame que as mulheres fazem para saber se têm osteoporose quando param de ter menstruações.

3) A Densitometria óssea será marcada pelo pesquisador. A primeira será feita do sexto ao décimo dia após o parto no Ambulatório de Planejamento Familiar /CEMICAMP. No momento da alta hospitalar, a Senhora saberá das datas de retorno para os próximos exames, que também serão feitos neste Ambulatório.

4) Como já foi explicado, o primeiro exame (Densitometria) será realizado até dez dias depois do parto, o segundo será realizado quando seu Bebê estiver com três meses de idade, o terceiro quando estiver com seis meses de idade e o quarto quando ele estiver com um ano de idade.

5) Se a Senhora aceitar participar, terá que voltar ao CAISM mais cinco vezes, nessas datas marcadas, quando será entrevistada pelo pesquisador, e realizará as densitometrias no próprio Ambulatório.

6) As entrevistas não serão consultas médicas, portanto não substituem a sua revisão de parto e o seguimento médico.

7) O exame de densitometria é indolor, e até o momento não se encontrou nenhum efeito prejudicial da sua realização.

8) Se a Senhora aceitar participar, receberá o dinheiro do transporte de vinda e ida de sua casa a ser entregue pelo pesquisador nos dias de entrevista e do exame, mas não receberá nenhuma recompensa financeira por sua participação.

9) Caso não possa comparecer ao serviço no dia agendado a Senhora pode comparecer na semana seguinte no mesmo dia da semana e no mesmo horário.

10) Embora convidada para o estudo, a Senhora tem o direito de não participar, e/ou desistir da participação a qualquer momento, sem prejuízo de qualquer cuidado médico a receber.

11) Todos os dados pessoais da pesquisa permanecerão em sigilo, não permitindo a sua identificação.

Se a Senhora aceitou participar da pesquisa, por favor, preencha abaixo:

Eu, _____ RG _____

Abaixo assinada, aceito participar como voluntária da pesquisa “Densidade Mineral Óssea no puerpério” que está sendo realizada.

Nome: _____ data: _____

Assinatura _____

Nome do
Pesquisador: _____ data: _____

Assinatura do Pesquisador: _____

Anexo 3. Ficha de coleta de dados

Avaliação da Densidade Mineral Óssea no Puerpério

Caso número:

H.C.

Data da admissão na pesquisa:

Seção 1. Identificação e Entrevista:

1.1 – Quantos anos a senhora têm?

1.2 – Qual é a sua cor? (1) Branca (2) Preta (3) Parda (4) Amarela

1.3 – Quantas vezes a senhora engravidou?

1.4 – Quantos partos a senhora teve?

1.5 – Quantos abortos a senhora teve?

1.6 – Quantos anos a senhora freqüentou a escola?

1.7 – A senhora fuma? (1) sim (2) não (3) não durante a gravidez

1.8 – Se a senhora fuma ou fumava, qual o número de cigarros dia?

1.9 - Por quantos anos foi fumante?

1.10- Parou de fumar há quantos anos?

Seção 2. Diagnóstico Obstétrico e antropométrico (dados do prontuário):

2.1 Tipo de parto: (1) normal (2) cesárea (3) Fórceps (4) Vácuo

2.2 – Data e hora do parto: h min

2.3 – Altura da mulher: ,

Peso pré-gestacional

Ultimo peso gestacional anotado

Seção 3. Seguimento: primeira densitometria óssea no puerpério

3.1 Data da primeira densitometria:

3.2. Dias de puerpério:

3.3. Resultado da densitometria do punho em g/cm³:

3.4. Peso:

3.5 IMC: ,

Seção 4 Seguimento: Segunda densitometria óssea (aos 3 meses de puerpério)

4.1. Data de segunda densitometria

4.2. Resultado da densitometria do punho em g/cm³:

4.3 A senhora está amamentando seu bebê exclusivamente no peito? ☐ (1) sim
(2) não

4.4. Quanto tempo a senhora amamentou exclusivamente? dias

4.5. A senhora parou de amamentar há quanto tempo? dias

4.6. Hábito quanto tabagismo mantido? ☐ (1) sim (2) não

4.6. A senhora já menstruou após o parto? ☐ (1) sim, antes de três meses (2) não

Quando? __/__/____

Dias em amenorréia após o parto__

4.7. A senhora está usando algum método anticoncepcional? ☐ (1) sim (2) não

4.8. Qual o método anticoncepcional a senhora está usando?

(1) LAM

(2) minipílula de progesterona

(3) injetável combinado mensal

(4) injetável de progesterona trimestral

(5) DIU T de cobre

- (6) DIU de progesterona
- (7) Implante de progesterona
- (8) Coito interrompido
- (9) Tabela
- (10) Anticoncepcional oral combinado
- (11) Laqueadura
- (12) Condom
- (13) Outro

Seção 5 Seguimento: Terceira densitometria óssea (aos 6 meses de puerpério)

4.1. Data da terceira densitometria

4.2. Resultado da densitometria do punho em g/cm³:

4.3 A senhora está amamentando seu bebê exclusivamente no peito? ☐ (1) sim
(2) não

4.4. Quanto tempo a senhora amamentou exclusivamente? dias

4.5. A senhora parou de amamentar há quanto tempo? dias

4.6. Hábito quanto tabagismo mantido? ☐ (1) sim (2) não

4.6. A senhora já menstruou após o parto? ☐ (1) sim, entre três e seis meses
(2) não

Quando? __/__/____

Dias em amenorréia após o parto__

4.7. A senhora está usando algum método anticoncepcional? ☐ (1) sim (2) não

4.8. Qual o método anticoncepcional a senhora está usando?

- (1) LAM
- (2) minipílula de progesterona
- (3) injetável combinado mensal
- (4) injetável de progesterona trimestral
- (5) DIU T de cobre
- (6) DIU de progesterona

- (7) Implante de progesterona
- (8) Coito interrompido
- (9) Tabela
- (10) Anticoncepcional oral combinado
- (11) Laqueadura
- (12) Condom
- (13) Outro

Seção 6 Seguimento: Quarta densitometria óssea (aos 12 meses de puerpério)

- 4.1. Data da quarta densitometria
- 4.2. Resultado da densitometria do punho em g/cm³:
- 4.3 A senhora está amamentando seu bebê exclusivamente no peito? ☐ (1) sim
(2) não
- 4.4. Quanto tempo a senhora amamentou exclusivamente? dias
- 4.5. A senhora parou de amamentar há quanto tempo? dias
- 4.6. Hábito quanto tabagismo mantido? ☐ (1) sim (2) não
- 4.6. A senhora já menstruou após o parto? ☐ (1) sim, antes de 12 meses (2) não
Quando? __/__/____
Dias em amenorréia após o parto__
- 4.7. A senhora está usando algum método anticoncepcional? ☐ (1) sim (2) não
- 4.8. Qual o método anticoncepcional a senhora está usando?
- (1) LAM
 - (2) minipílula de progesterona
 - (3) injetável combinado mensal
 - (4) injetável de progesterona trimestral
 - (5) DIU T de cobre
 - (6) DIU de progesterona
 - (7) Implante de progesterona
 - (8) Coito interrompido
 - (9) Tabela
 - (10) Anticoncepcional oral combinado
 - (11) Laqueadura
 - (12) Condom
 - (13) Outro

Anexo 4. Cálculo de precisão para densitometria óssea

ISCD - Cálculo de Precisão para Densitometria Óssea – Versão 2.1

Instruções: Entre os três valores de BMD com 3 casas decimais para 15 pacientes. A planilha calculará automaticamente.

15 Pacientes						Região do Esqueleto / ROI: Rádio ultradistal
Pac.	Result. 1	Result. 2	Result. 3	SD	SD sq	
1	0,367	0,337	0,371	0,019	0,00035	Para 15 pacientes - 3 vezes cada: Soma 0,00253 n = 15 Soma / n 0,00017 SqRT 0,01298 EP = 0,013 g/cm² (RMS SD) MVS* = 0,036g/cm² intervalo confiança 95% <i>*MVS = mínima variação significativa (LSC)</i>
2	0,383	0,394	0,394	0,006	0,00004	
3	0,340	0,351	0,345	0,006	0,00003	
4	0,295	0,309	0,289	0,010	0,00011	
5	0,408	0,382	0,391	0,013	0,00017	
6	0,579	0,583	0,571	0,006	0,00004	
7	0,396	0,386	0,391	0,005	0,00003	
8	0,345	0,384	0,367	0,020	0,00038	
9	0,361	0,352	0,366	0,007	0,00005	
10	0,403	0,402	0,420	0,010	0,00010	
11	0,389	0,365	0,361	0,015	0,00023	
12	0,284	0,306	0,317	0,017	0,00028	
13	0,332	0,336	0,342	0,005	0,00003	
14	0,409	0,454	0,412	0,025	0,00063	
15	0,285	0,294	0,301	0,008	0,00006	

ISCD - Cálculo de Precisão para Densitometria Óssea – Versão 2.1

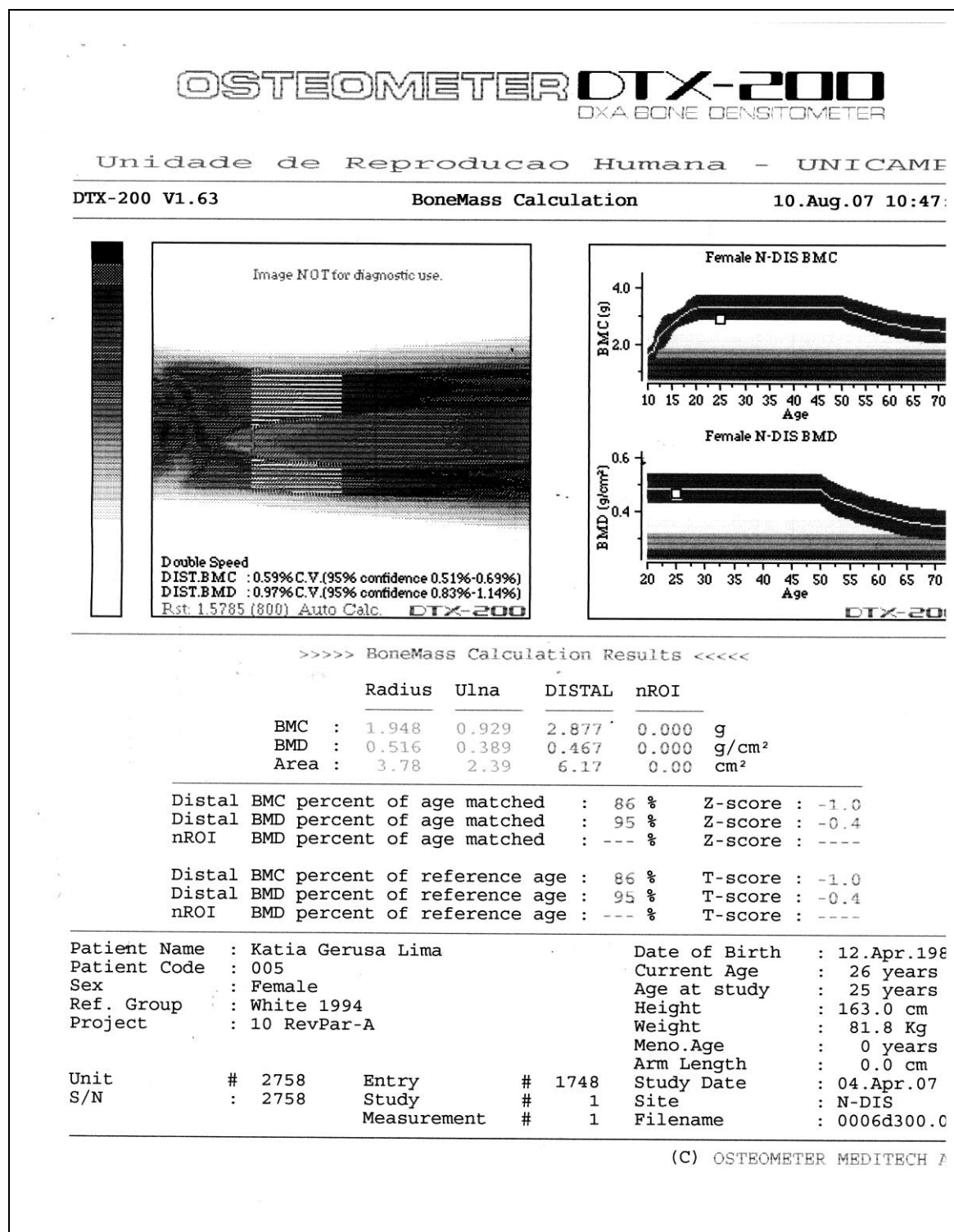
Instruções: Entre os três valores de BMD com 3 casas decimais para 15 pacientes. A planilha calculará automaticamente.

15 Pacientes								
Pac.	Result. 1	Result. 2	Result. 3	SD	SD sq	Região do Esqueleto / ROI: rádio distal		
1	0,435	0,441	0,433	0,004	0,00002			
2	0,411	0,423	0,415	0,006	0,00004			
3	0,427	0,438	0,436	0,006	0,00003			
4	0,397	0,397	0,388	0,005	0,00003			
5	0,468	0,442	0,459	0,013	0,00017			
6	0,599	0,606	0,602	0,004	0,00001			
7	0,445	0,445	0,433	0,007	0,00005			
8	0,438	0,458	0,433	0,013	0,00018			
9	0,434	0,420	0,430	0,007	0,00005			
10	0,427	0,425	0,427	0,001	0,00000			
11	0,427	0,409	0,414	0,009	0,00009			
12	0,370	0,377	0,395	0,013	0,00017			
13	0,418	0,415	0,418	0,002	0,00000			
14	0,460	0,463	0,461	0,002	0,00000			
15	0,377	0,373	0,384	0,006	0,00003			
						Para 15 pacientes – 3 vezes cada:		
						Soma	0,00087	
						n =	15	
						Soma / n	0,00006	
						SqRT	0,00761	
						EP =	0,008	g/cm ² (RMS SD)
						MVS* = 0,021 g/cm² intervalo confiança 95%		

**MVS = mínima variação significativa (LSC)*

Esse recurso é oferecido como download grátis pela International Society for Clinical Densitometry (ISCD). Use para determinar a mínima variação significativa para um intervalo de confiança de 95% em medidas seriadas de BMD. Veja a guia "Glossário" para explicações sobre os acrônimos e termos. Veja a guia "FAQs" para Dúvidas Frequentes. Se são requeridos recursos especiais para avaliação de precisão, veja Calculador de Precisão Avançado.

Anexo 5. Exemplo de laudo de exame de densitometria



Anexo 6. Carta de aprovação do projeto no CEP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 24/10/06.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 575/2006 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0454.0.146.000-06

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "ASSOCIAÇÃO DA LACTAÇÃO COM A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA (DMO) NO PUERPÉRIO"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: José Guilherme Cecatti

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 06/10/2006

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 24/10/07 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Estudar a massa óssea de mulheres no puerpério.

III - SUMÁRIO

Estudo tipo coorte, com 150 mulheres que serão seguidas por um período de um ano no pós-parto. Será realizada densitometria óssea, avaliação antropométrica e aplicação de questionários seriados com até dez dias de puerpério, três, seis meses e uma no pós-parto.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Projeto bem elaborado. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido adequado, faltando apenas o telefone do CEP para reclamações ou denúncias (35218936). Relação risco/benefício satisfatória. De acordo com as normas éticas.

V - PARECER DO CEP

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

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

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

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
con/etcm.unicamp.br

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

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

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

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

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

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

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na X Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 24 de outubro de 2006.


Prof. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Anexo 7. Carta de recebimento do artigo 1 na *Osteoporosis International*

ScholarOne Manuscripts
Page 1 of 1

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

OSTEOPOROSIS INTERNATIONAL
with other metabolic bone disorders

SCHOLARONE™
 Manuscripts

[Main Menu](#) → Corresponding Author Dashboard
You are logged in as Jose Cecatti

Dashboard

- To submit a new manuscript, click on the "Submit a Manuscript" link below.
- Clicking on the various manuscript status links under "My Manuscripts" will display a list of all the manuscripts in that status at the bottom of the screen.
- To continue a submission already in progress, click the "Continue Submission" link in the "Unsubmitted Manuscripts" list.

My Manuscripts

- [0 Unsubmitted Manuscripts](#)
- [0 Resubmitted Manuscripts in Draft](#)
- [0 Revised Manuscripts in Draft](#)
- [1 Submitted Manuscripts](#)
- [1 Manuscripts with Decisions](#)
- [0 Manuscripts I Have Co-Authored](#)
- [0 Withdrawn Manuscripts](#)
- [0 Invited Manuscripts](#)

Author Resources

This section lists the subjects of the five most recent e-mails that have been sent to you regarding your submission(s). To view an e-mail, click on the link. To delete an e-mail from this list, click the delete link.

- [Osteoporos Int - Manuscript Receipt: OI- 2011-05-0345.R1 \(23-Jun-2011\)](#) [Delete](#)
- [Osteoporos Int - Decision on Manuscript ID OI-2011-05-0345 \(21-Jun-2011\)](#) [Delete](#)
- [Osteoporos Int - Manuscript Receipt: OI- 2011-05-0345 \(17-May-2011\)](#) [Delete](#)
- [Osteoporos Int - OI-2011-05-0345 has been unsubmitted \(16-May-2011\)](#) [Delete](#)
- [Osteoporos Int - Manuscript Receipt: OI- 2011-05-0345 \(13-May-2011\)](#) [Delete](#)

Manuscripts with Decisions

Manuscript ID	Manuscript Title	Date Submitted	Date Decisioned	Status	Actions
OI-2011-05-0345	Forearm bone mineral density changes during postpartum and the effects of breastfeeding, amenorrhea, BMI and contraceptive use [View Submission]	17-May-2011	21-Jun-2011	EO: Tewksbury, Adrienne Major Revision (21-Jun-2011) a revision has been submitted view decision letter	a revision has been submitted (OI-2011-05-0345.R1)

[top](#)

ScholarOne Manuscripts™ v4.6.1 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2011. All Rights Reserved.
 ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

[Follow ScholarOne on Twitter](#)

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

Anexo 8. Carta de recebimento do artigo 2 na *Contraception*

Guilherme Cecatti

De: ees.contraception.0.1211a8.bd4ae3dc@eesmail.elsevier.com em nome de
Contraception <shirleydavenport@ca.rr.com>
Enviado em: sábado, 25 de junho de 2011 17:54
Para: cecatti@unicamp.br
Assunto: Submission Confirmation for CONTRACEPTION-D-11-00164R1

Ms. Ref. No.: CONTRACEPTION-D-11-00164R1

Title: Progestin-only contraception prevents bone loss in postpartum breastfeeding women CONTRACEPTION

Dear Prof. Jose Guilherme Cecatti,

This message is to acknowledge that we have received your revised manuscript for reconsideration for publication in CONTRACEPTION.

You may check the status of your manuscript by logging into the Elsevier Editorial System as an author at <http://ees.elsevier.com/contraception/>.

Thank you for submitting your work to CONTRACEPTION.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
CONTRACEPTION

For any technical queries about using EES, please contact Elsevier Author Support at authorsupport@elsevier.com
Global telephone support is available 24/7:
For The Americas: +1 888 834 7287 (toll-free for US & Canadian customers) For Asia & Pacific: +81 3 5561 5032 For Europe & rest of the world: +353 61 709190