

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA FARMACOCINÉTICA DA METFORMINA EM  
GESTANTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS E COM  
DIABETES *MELLITUS* TIPO 2**

**Cláudia de Oliveira Baraldi**

**RIBEIRÃO PRETO**

**2010**

**CLÁUDIA DE OLIVEIRA BARALDI**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA FARMACOCINÉTICA DA METFORMINA EM  
GESTANTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS E COM  
DIABETES *MELLITUS* TIPO 2**

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli

**RIBEIRÃO PRETO**

**2010**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Baraldi, Cláudia de Oliveira

Avaliação comparativa da farmacocinética da metformina em gestantes com Síndrome dos Ovários Policístico e com Diabetes *Mellitus* Tipo 2. Ribeirão Preto, 2010.

90p. : il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Cavalli, Ricardo de Carvalho

1.Síndrome dos Ovários Policísticos – 2.Diabetes *Mellitus* Tipo 2 –  
3.Gestação – 4.Metformina – 5.Farmacocinética

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Cláudia de Oliveira Baraldi

Avaliação comparativa da farmacocinética da metformina em gestantes com Síndrome dos  
Ovários Policístico e com Diabetes *Mellitus* Tipo 2

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de  
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de  
São Paulo para obtenção do título de Doutora  
em Ciências Médicas.

Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Aprovado em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### **Banca Examinadora**

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## Agradecimento Especial

*A Deus*

*“Você se fez presente em todos os momentos firmes ou trêmulos.  
E, passo a passo, pude sentir a Sua mão na minha, transmitindo-me  
a  
segurança necessária para enfrentar o meu caminho e seguir ...  
A Sua presença é qualquer coisa como a luz e a vida, e eu sinto que,  
em  
meu gesto, existe o Seu gesto e em minha voz, a Sua voz.”*

*Vinícius de Moraes*

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli, meu orientador, pela amizade, compreensão, incentivo e pela confiança em mim depositada. Obrigada por me acolher e me apoiar nos momentos difíceis. Exemplo de determinação, disciplina e dedicação ao ensino e à pesquisa.

A Prof.<sup>a</sup> Teresa Maria Carvalho, por me apresentar um mundo novo, o laboratório de farmacocinética.

A Prof. Dra. Vera Lanchote, e a Prof. Dra. Elaine C. Moisés, pela contribuição no desenvolvimento deste projeto, pelo apoio e orientação, pela valiosa contribuição em meu exame de qualificação para o doutorado, e também pela disponibilidade de participação na banca examinadora.

A Prof. Dra. Rosana Reis e a Prof. Dra. Rossana Pulcineli Vieira Francisco, pelas valiosas sugestões realizadas e pela disponibilidade de participação na banca examinadora.

As minhas queridas amigas Maria Rita, Milena, Luciana, Daniela e Janaína, que compartilharam comigo essa jornada da pós-graduação.

A Stefânia, minha irmã do coração, que me ensinou que existe vida fora dos portões do HC, e que aqui fora, na vida real, podemos fazer a grande diferença para nossas pacientes.

A todas as pacientes do Espaço da Mulher da Santa Casa de Pontal, pela confiança e respeito.

Às queridas pacientes e seus filhos, que tanto me auxiliaram, e sem os quais este trabalho não seria possível.

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, por minha formação científica e profissional.

Aos meus pais, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e, finalmente, pelo apoio incondicional nos últimos anos.

*Resumo*

---

**BARALDI, C.O.** Avaliação comparativa da farmacocinética da metformina em gestantes com Síndrome dos Ovários Policístico e com Diabetes *Mellitus* Tipo 2. 2010. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

**Introdução:** Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é a endocrinopatia ginecológica mais freqüente no menacne, com prevalência variando entre 3 e 17%, caracterizada por hiperandrogenismo, irregularidade menstrual e ovários policísticos.

Diabetes *mellitus* (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, freqüentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial.

A metformina pertence ao grupo das biguanidas, uma classe de drogas antidiabéticas orais. Tem sido utilizada com freqüência no tratamento de pacientes com SOP ou com diabetes *mellitus* tipo 2, com o objetivo de diminuir a resistência insulínica. Em pacientes com DM, promove melhora da hiperglicemia crônica e as complicações decorrentes da mesma. Sua utilização nesses grupos de pacientes durante toda a gestação por gestantes com SOP e com diabetes *mellitus* tipo 2, reduz significativamente o número de abortos espontâneos de primeiro trimestre, a taxa de ocorrência de diabetes gestacional e de síndromes hipertensivas.

**Objetivos:** comparar a farmacocinética da metformina em gestantes com SOP *versus* pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2.

**Pacientes e Métodos:** foram avaliadas oito gestantes com SOP e nove gestantes com diabetes *mellitus* tipo 2, em uso de metformina 850 mg via oral de 12/12 horas e mesmas foram submetidas à avaliação da concentração plasmática da metformina por um período de 12 horas no terceiro trimestre da gestação.

Foram coletadas amostras sanguíneas maternas nos tempos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 horas para determinação das concentrações de metformina por cromatografia. Determinadas as concentrações, foram traçadas as curvas de concentração em função do tempo e análise farmacocinética monocompartimental, determinando-se  $t^{1/2}$ ,  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $AUC^{0-12}$ ,  $C_{média}$ , Flutuação,  $Cl/f$  e  $Vd/f$ .

Os resultados farmacocinéticos dos grupos estudados foram apresentados em mediana e percentis 25 e 75 e comparados utilizando-se o teste estatístico de Mann-Whitney considerando-se nível de significância  $p < 0,05$ .

**Resultados:** As medianas dos parâmetros farmacocinéticos encontrados para pacientes com SOP *versus* DM2 foram respectivamente:  $t^{1/2}$  de 3,75 h *versus* 4,00 h,  $t_{max}$  de 2,00 h *versus* 3,00 h,  $C_{max}$  de 1,42  $\mu\text{g/mL}$  *versus* 1,21  $\mu\text{g/mL}$ ,  $C_{média}$  de 0,53  $\mu\text{g/mL}$  *versus* 0,56  $\mu\text{g/mL}$ ,  $AUC^{0-12}$  de 6,42  $\mu\text{g.h/mL}$  *versus* 6,73  $\mu\text{g.h/mL}$ ,  $Cl/f$  de 105,39 L/h *versus* 98,38 L/h,  $Vd/f$  de 550,51 L *versus* 490,98 L, flutuação de 179,56 % *versus* 181,73%.

**Conclusões:** O estudo demonstrou diminuição da  $C_{max}$ , aumento do volume de distribuição e do clearance aparente da metformina em ambos os grupos em relação a dados da literatura para as pacientes não gestantes, provavelmente em função do aumento do volume plasmático e aumento da excreção renal em função da gestação. Estes dados nos levam a alertar para possibilidade de aumento de dose durante a gestação.

Os parâmetros farmacocinéticos estudados não apresentaram diferenças entre os grupos (SOP *versus* DM2), indicando que o diabetes *mellitus* tipo 2, em uso de insulina na gestação, não influenciou na farmacocinética da metformina administrada na dose de 850 mg via oral de 12 em 12 horas.

**Palavras-chaves:** Síndrome dos ovários policísticos – Diabetes *Mellitus* Tipo 2 - Gestação – Metformina – Farmacocinética

*Abstract*

---

**BARALDI, C.O.** Comparison of pharmacokinetics of metformin in women with Polycystic Ovary Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus. **2010. Tese (Doutorado)** – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

**Background:** Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is the most common gynecologic endocrinopathy in menacne, with prevalence ranging from 3 to 17%. Metformin belongs to the biguanide, a class of oral antidiabetic drugs and has been frequently used in treating PCOS patients with obtaining relevant benefits.

Diabetes mellitus (DM) is a syndrome of multiple etiologies, resulting from lack of insulin and / or the inability of insulin to properly exercise its effects. It is characterized by chronic hyperglycemia, often accompanied by dyslipidemia, hypertension and endothelial dysfunction. Metformin is indicated for treatment of type 2 Diabetes Mellitus, decreasing insulin resistance and improving chronic hyperglycemia and complications thereof. The use of metformin throughout pregnancy for women with PCOS and Type 2 Diabetes Mellitus, significantly reduces the number of miscarriages in the first quarter, the rate of occurrence of gestational diabetes and hypertensive disorders.

**Objectives:** To compare the pharmacokinetics of metformin in women with Polycystic Ovary Syndrome vs. Patients with type 2 diabetes mellitus.

**Patients and Methods:** We evaluated eight women with PCOS and nine women with type 2 diabetes, taking metformin 850mg orally 12/12horas of which were evaluated for plasma concentrations for a period of eight hours in the third trimester of pregnancy.

Maternal blood samples were collected at 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 hours for determining concentrations of metformin by chromatography. The concentrations were plotted the curves of concentration versus time and pharmacokinetic analysis monocompartment model, determining  $t_{1/2}$ ,  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $AUC^{0-12}$ ,  $C_{med}$ , Fluctuation,  $Cl / f$  and  $Vd / f$ .

Pharmacokinetic results of both groups expressed as median and 25th and 75th percentiles were compared using statistical test, Mann-Whitney considering the level of significance  $p < 0.05$ .

**Results:** The pharmacokinetic parameters found for PCOS patients versus Type 2 DM were: Median  $t_{1/2}$  were 3.75 h vs. 4.00 h and  $t_{max}$  were 2.00 h vs. 3.00 h. The median  $C_{max}$  were 1.42 g / mL versus 1.21 g / mL and  $C_{med}$  of 0.53 g / mL versus 0.56 g / mL. The median  $AUC^{0-12}$  were 6.42  $\mu\text{g.h} / \text{mL}$  versus 6.73  $\mu\text{g.h} / \text{mL}$ ,  $Cl / F$  were 105.39 L / h versus 98.38 L / h,  $Vd / f$  were 550.51L L versus 490.98L and the fluctuation of 181.73% versus 179.56%.

**Conclusions:** The study showed decrease in  $C_{max}$  of metformin, increased volume of distribution and apparent clearance in both groups compared to non pregnant women, probably due to the increase in plasma volume and increased excretion of renal function in pregnancy. These data lead us to warn of the possibility of increased dose during pregnancy. Pharmacokinetic studies showed no statistically significant difference between groups (PCOS vs. DM2), indicating that type 2 diabetes mellitus using insulin during pregnancy influences the pharmacokinetics of metformin administered at a dose of 850mg orally 12 to 12 hours.

**Keywords:** Polycystic ovary syndrome - Diabetes Mellitus Type 2 - Pregnancy-Metformin - Pharmacokinetics

*Sumário*

---

<b>1. Introdução.....</b>	<b>13</b>
1.1. Síndrome dos Ovários Policísticos.....	14
1.2. Síndrome dos ovários policísticos e ciclo gravídico puerperal .....	17
1.3. Diabetes <i>mellitus</i> .....	19
1.4. Farmacocinética das drogas utilizadas na gestação.....	22
1.5. Farmacocinética de drogas no Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2.....	22
1.6. Metformina.....	23
1.7. Metformina e gestação .....	25
1.8. Farmacocinética da metformina .....	25
1.9. Justificativa.....	27
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>28</b>
<b>3. Casuística e Métodos .....</b>	<b>30</b>
3.1. Casuística .....	31
3.1.1. Aspectos éticos do projeto.....	31
3.1.2. Seleção de pacientes.....	31
3.2. Métodos.....	33
3.2.1. Identificação .....	33
3.2.2. Diagnóstico de SOP .....	33
3.2.3. Diagnóstico de Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2 .....	34
3.2.4. Exames para rastreamento de desordens metabólicas em pacientes com SOP e com Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2.....	34
3.2.5. Coleta de amostras sanguíneas.....	35
3.2.6. Análise bioquímica no plasma materno .....	36
3.2.7. Estimativa da função renal .....	37
3.2.8. Metodologia laboratorial para determinação de metformina .....	37
3.2.8.1. Análise da metformina em plasma.....	37
3.2.8.2. Análise farmacocinética da metformina.....	41
3.3. Análise estatística.....	43
<b>4. Resultados .....</b>	<b>44</b>
4.1. Características da amostra materna .....	45
4.2. Características dos recém-nascidos.....	49
4.3. Avaliação bioquímica materna.....	50

4.4. Análise das concentrações da metformina em plasma .....	52
4.5. Farmacocinética da metformina .....	58
<b>5. Discussão .....</b>	<b>62</b>
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>77</b>
<b>7. Referências .....</b>	<b>79</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>87</b>
Anexo A: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.....	88
Anexo B: Termo de consentimento livre e esclarecido.....	89

## *1. Introdução*

---

## 1.1. Síndrome dos Ovários Policísticos

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é a endocrinopatia ginecológica mais freqüente no menacne, com prevalência variando entre 3 e 17%, dependendo dos critérios diagnósticos utilizados e da população estudada (FRANKS, 1995). Essa doença caracteriza-se por ovários policísticos, oligomenorréia e hiperandrogenismo, sendo descrita inicialmente por Stein & Leventhal. Em 1935, esses pesquisadores reconheceram e descreveram pela primeira vez a associação entre ovários aumentados e policísticos bilaterais e o conjunto de sintomas constituído por amenorréia, hirsutismo e obesidade como uma entidade clínica única e a denominaram, na época, de Síndrome de Stein-Leventhal (STEIN & LEVENTHAL, 1935). Atualmente é conhecida como Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP), também denominada Anovulação por Retrocontrole Impróprio ou Anovulação Hiperandrogênica.

Trata-se de uma doença complexa com grande heterogeneidade de manifestações clínicas e controvérsias acerca de seu mecanismo fisiopatológico, tornando-se, dessa maneira, difícil estabelecer critérios precisos para seu diagnóstico. A base da fisiopatologia é o hiperandrogenismo, que pode ser de origem ovariana, adrenal ou periférica. Os androgênios em excesso são convertidos em estrona nos tecidos periféricos. A estrona inibe a dopamina hipotalâmica e, conseqüentemente, há aumento dos pulsos de GnRH, elevando a produção de LH e estimulando as células da teca do ovário a produzirem androgênios. A redução da dopamina hipotalâmica pode levar, em alguns casos, ao aumento de prolactina que, por sua vez, estimula a adrenal a produzir mais androgênio. A resistência à insulina leva à hiperinsulinemia, que também estimula as células da teca do ovário a produzirem androgênios. Esse ciclo repetitivo quebra completamente o ritmo fisiológico dos mecanismos de retrocontrole, levando à anovulação crônica, que causa distúrbio menstrual e infertilidade (REIS *et al.*, 2004).

Os critérios diagnósticos de SOP foram recentemente revisados pela *European Society of Human Reproduction and Embryology* e pela *American Society for Reproductive Medicine (The Rotterdam ESHRE/ ASRM – sponsored PCOS consensus workshop group, 2004)* e consistem em presença de pelo menos dois dos três itens seguintes:

- Oligomenorréia e/ou anovulação, caracterizada por irregularidade menstrual ou amenorréia;
- Ovários policísticos ao exame ultrassonográfico, caracterizado por presença de 12 ou mais folículos de dois a nove milímetros de diâmetro médio ou volume ovariano superior a 10 cm<sup>3</sup>;
- Hiperandrogenismo caracterizado clinicamente por presença de acne, alopecia androgênica ou hirsutismo ou laboratorialmente por dosagens aumentadas de androgênios. A intensidade e extensão dessas manifestações clínicas dependem de vários fatores e não existe correlação estrita entre a intensidade do quadro clínico e as alterações bioquímicas.

Para o diagnóstico de SOP, devem-se excluir outras etiologias de hiperandrogenismo (hiperplasia congênita de adrenal, tumores secretores de androgênios, síndrome de Cushing), hiperprolactinemia e alterações tireoidianas.

A SOP possui inúmeras conseqüências clínicas das quais podemos citar: infertilidade, hirsutismo, acne e alterações menstruais, que podem variar de amenorréia a sangramento uterino disfuncional.

Em 1921, Archard e Thiers relataram pela primeira vez a associação entre intolerância à glicose e hiperandrogenismo. Posteriormente, a SOP foi associada à hiperinsulinemia, tornando-se evidente sua morbidade metabólica e reprodutiva, sendo a seguir observado que o defeito se situava no receptor de insulina e que a hiperinsulinemia

estava presente em mulheres obesas e não obesas. A partir de então, a associação entre hiperandrogenismo, resistência insulínica e alteração dos lipídios séricos foi bem estabelecida e obteve especial atenção por ser capaz de alterar o prognóstico da SOP. (SPEROFF *et al.*, 1995).

Em 1980, foi reconhecida a associação do hiperandrogenismo, resistência a insulina e acantose *nigricans*, sendo denominada síndrome de Hairan (BURGHEN; GIVENS; KITABCHI, 1980). Hiperandrogenismo e resistência à insulina são freqüentemente associados à *acantosis nigricans*, sendo essa uma alteração de coloração da pele para um marrom aveludado, às vezes verrucosa, geralmente no pescoço, virilha e axila. A hiperqueratose e a papilomatose são os achados histológicos característicos da *acantosis nigricans*. Trata-se de um marcador para resistência à insulina. Em mulheres hiperandrogênicas a presença de *acantosis nigricans* depende da existência e da severidade da hiperinsulinemia (BARBIERI *et al.*, 1983; SANTANA *et al.*, 2004).

Acredita-se que a hiperinsulinemia seja a alteração bioquímica, central e, provavelmente, hereditária da SOP. A insulina pode atuar por meio dos receptores de insulina, que estão amplamente distribuídos nos ovários, pelos receptores do IGF-I ou ainda por receptores híbridos, que contem combinação das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  dos receptores de insulina e IGF-I (PORETSKY *et al.*, 1999).

A resistência à insulina pode ocorrer em consequência de vários mecanismos dos quais podemos citar: resistência no tecido-alvo periférico, depuração hepática reduzida, aumento da sensibilidade pancreática ou defeitos nos receptores de insulina. Fatores que podem levar a uma resposta biológica inadequada, resultando em elevadas concentrações de insulina circulante, o que levaria a ações deletérias em diversos segmentos do organismo, incluindo alteração da função ovariana (PORETSKY, 1991). O quadro clínico de pacientes com resistência à insulina depende da habilidade do pâncreas em compensar a resistência à

insulina nos tecidos periféricos. Essa resposta compensatória pode levar a várias conseqüências, como hipertensão arterial, aumento dos níveis de triglicérides e diminuição dos níveis de HDL-colesterol e conseqüente aumento de risco cardiovascular (HAFFNER *et al.*, 1992).

O tratamento ideal para SOP seria aquele que tivesse ação sobre a gênese dessa síndrome; assim, drogas que atuam sobre a hiperinsulinemia parecem ser, até o momento, o melhor tratamento oferecido, uma vez que a normalização da insulina deveria levar senão ao desaparecimento, pelo menos à diminuição dos efeitos deletérios da insulina sobre os ovários e o metabolismo dessas mulheres.

## **1.2. Síndrome dos ovários policísticos e ciclo gravídico puerperal**

As desordens associadas à SOP, como hiperandrogenismo, resistência insulínica e obesidade, podem acarretar implicações significativas na vida reprodutiva e na saúde a longo prazo, dessas mulheres. Quanto à função reprodutiva, pacientes com SOP apresentam reduzida fertilidade e maiores complicações durante a gravidez. A taxa de abortamento de primeiro trimestre é consideravelmente maior que na população geral (HOMBURG *et al.*, 1988; REGAN *et al.*, 1990; BALEN *et al.*, 1993; TULPPALA *et al.*, 1993; CLIFFORD *et al.*, 1994; JAKUBOWICZ *et al.*, 2002). A incidência de complicações durante segundo e terceiro trimestres de gestação em pacientes com SOP é pouco estudada; porém, *diabetes mellitus* gestacional, pré eclâmpsia e parto pré-termo têm sido associados com SOP (DIAMANTE *et al.*, 1982; RADON *et al.*, 1999; MIKOLA *et al.*, 2001; BJERCKE *et al.*, 2002). Em meta-análise realizada em 2006, foram avaliados os riscos gestacionais e complicações neonatais em pacientes com SOP. Concluiu-se que mulheres com SOP apresentam risco significativamente maior de desenvolver *diabetes mellitus* gestacional, pré-eclâmpsia,

hipertensão gestacional e parto pré-termo. Seus recém-nascidos têm risco maior de admissão em unidade de tratamento intensivo neonatal e maior mortalidade perinatal (BOOMSMA *et al.*, 2006).

A gravidez é potencialmente diabetogênica, pois aumenta a resistência tecidual à insulina (redução da captação periférica de glicose), por mecanismos não totalmente compreendidos, para assegurar um suprimento contínuo de glicose disponível para transferência para o feto. O nível basal de insulina plasmática na gravidez normal também é aumentado. Embora não se compreendam completamente os mecanismos exatos responsáveis pela hipertrofia, hiperplasia e hipersecreção das células  $\beta$  pancreáticas, observadas na gravidez, o estrogênio, a progesterona e o lactogênio placentário humano provavelmente estão envolvidos (WILLIAMS, 2000).

Cerca de 46% das mulheres com SOP desenvolvem *diabetes mellitus* gestacional (LANZONE *et al.*, 1996). Essas pacientes já iniciam a gestação com resistência insulínica maior do que mulheres normais (LANZONE *et al.*, 1996; PARADISE *et al.*, 1998; LEWI *et al.*, 2001; MIKOLA *et al.*, 2001; VRBIKOVA *et al.*, 2002; SCHACHTER *et al.*, 2003). Gestantes com SOP provavelmente desenvolvem diabetes gestacional quando suas células  $\beta$  pancreáticas não conseguem vencer a somatória da resistência insulínica fisiológica da gestação à sua já elevada resistência insulínica pré-existente.

O uso da metformina no tratamento de mulheres com SOP não grávidas está bem estabelecido na literatura, com comprovação de benefícios no tratamento (WORTSMAN *et al.*, 1991; VELAZQUEZ *et al.*, 1994, 1997; NESTLER E JAKUBOWICZ, 1997; MORIN-PAPUNEN *et al.*, 1998; MOGUETTI *et al.*, 2000; PASQUALI *et al.*, 2000; FLEMING *et al.*, 2002). Porém, o efeito da metformina em gestantes e seus fetos ainda não foram bem estudados.

### 1.3. Diabetes *mellitus*

O Diabetes *mellitus* (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, caracterizada por hiperglicemia conseqüente à deficiência insulínica. Esta deficiência pode ser decorrente de produção pancreática reduzida, de inadequada liberação em resposta ao aumento de glicídeos ou por resistência periférica à insulina. Manifesta-se por hiperglicemia crônica, freqüentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial. É um importante problema de saúde pública uma vez que é freqüente, está associado a complicações que comprometem a produtividade, qualidade de vida e sobrevida dos pacientes, além de envolver altos custos para seu controle metabólico e tratamento de suas complicações (ADA, 2002; DAKERS *et al*, 1997)

Segundo dados da World Health Organization (2000) aproximadamente 176 milhões de pessoas foram diagnosticadas com DM em 2000 (4,5 milhões no Brasil) e estima-se que em 2030 serão 370 milhões de pessoas com DM no mundo. Para o Brasil a estimativa da OMS é de 11 milhões de pessoas com DM em 2030. A disglícemia é a alteração metabólica mais comum na gestação. A prevalência de disglícemia durante a gravidez pode ser de até 13%, correspondendo a 0,1% de diabetes tipo 1 (DM1), 2 a 3% de diabetes tipo 2 (DM2) e 11 a 12% de diabetes gestacional (DMG), dependendo dos critérios diagnósticos utilizados e da população estudada. A *American Diabetes Association*, estima que 4 a 6% das gestações são complicadas por DM pré-gestacional (ADA, 2000).

A primeira classificação para o Diabetes *mellitus* foi publicada por Priscilla White em 1949, categorizando essa patologia nas classes A, B, C, D, E, F, R, H e T, de acordo com a severidade da doença, idade de início, duração, necessidade de uso de insulina e presença ou ausência de doenças vasculares decorrentes do Diabetes. Esta classificação ainda é

extensamente utilizada para prever complicações durante a gravidez e é considerada como um sistema etiológico e prognóstico (CALDERON *et al.*, 2007).

O *National Diabetes Data Group* (1979) sugeriu a classificação clínica baseada no tipo de Diabetes, considerando três grupos: Diabetes *mellitus* insulina-dependente ou Tipo I; Diabetes *mellitus* não insulina-dependente ou Tipo II; e Diabetes *mellitus* gestacional, que é diagnosticado durante a gestação. Essa classificação foi, em 1980, recomendada pelo *World Health Organization Expert Committee on Diabetes Mellitus*, sendo incluído na mesma o grupo de intolerância a glicose. Essa classificação pretendeu estabelecer uma estrutura uniforme para a pesquisa clínica e epidemiológica (BENNETT, 1985).

A *American Diabetes Association* (ADA), em 1999, reestruturou a classificação e os critérios diagnósticos para o Diabetes, enfatizando a etiologia do mesmo. Posteriormente, a ADA (2005) ratificou essa classificação e reconheceu dois estágios intermediários da doença, sendo chamados de pré-diabetes, caracterizados pela intolerância à glicose e intolerância em jejum à glicose.

As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos. As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte (52%) em pacientes diabéticos do tipo 2 e estes pacientes constituem cerca de 30% das admissões em Centros de Tratamento Intensivo (NATHAN *et al.*, 1997). O aumento da mortalidade cardiovascular dos pacientes diabéticos está relacionado ao estado diabético *per se* e à agregação de vários fatores de risco cardiovasculares, como obesidade, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, entre outros (ADA, 2002; DAKERS *et al.*, 1997). A incidência de hipertensão em pacientes com diabetes é aproximadamente duas vezes maior do que em não diabéticos da mesma idade. Em contrapartida, os pacientes hipertensos tem risco aumentado de desenvolvimento de diabetes, se comparados aos normotensos. Cerca de 75% dos casos de doenças cardiovasculares em pacientes diabéticos podem ser atribuídos à

hipertensão (DAKERS *et al*, 1997; SOWERS, 2003). O DM é a principal causa de insuficiência renal, perfazendo um total de 43% dentre os novos casos anualmente (ADA, 2002). Aproximadamente 26% dos pacientes que ingressam em programas de diálise são diabéticos. O DM ainda constitui a principal causa de amputação de membros inferiores não traumáticas (SPICHLER *et al*, 1998) e de cegueira adquirida (ADA, 2002).

Várias são as conseqüências e complicações maternas e perinatais decorrentes do Diabetes *mellitus*, que, quando descompensado com hiperglicemia, principalmente na dosagem de jejum, está associado com aumento do risco de óbito fetal. Essa patologia eleva o risco de aborto espontâneo, malformações fetais e prematuridade. O Diabetes *mellitus*, em qualquer nível de compensação está associado ao aumento do risco de macrosomia fetal. A hiperglicemia materna determina a hiperglicemia e a hiperinsulinemia fetais, resultando no crescimento anormal do feto.

Hipoglicemia, icterícia, desconforto respiratório, policitemia e hipocalcemia são possíveis complicações neonatais associadas ao Diabetes. A hiperinsulinemia fetal atrasa a maturidade pulmonar fetal, pois inibe a produção de fosfolípidos, favorecendo a síndrome de angústia respiratória do recém-nascido. A hiperglicemia materna aumenta os níveis de hemoglobina glicosilada, que tem uma alta afinidade ao oxigênio, diminuindo a oferta do mesmo ao feto, com conseqüente hipóxia intra-útero. A presença de anormalidades placentárias também contribui para a instalação de hipóxia. As respostas fetais à hipóxia incluem, entre outras, a eritropoiese aumentada, resultando na poliglobulia.

As principais complicações clínicas maternas do Diabetes são: hipoglicemia, piora de retinopatia pré-existente, nefropatia, cetoacidose diabética, infecção urinária recorrente, trabalho de parto pré-termo e polidrâmnio. O Diabetes está relacionado ao aumento do risco de síndromes hipertensivas, tocotraumatismos e necessidade de resolução da gestação por cesárea (CALDERON *et al*, 2007).

#### 1.4. Farmacocinética das drogas utilizadas na gestação

Com referência à farmacocinética das drogas utilizadas na gestação, os resultados dos estudos realizados são freqüentemente conflitantes. Em ampla revisão da literatura, LITTLE (1999) observou que, na gestação, a área sob a curva da concentração plasmática de drogas em função do tempo diminuiu em 41% das avaliações, o volume de distribuição estava aumentado em 30%, o pico de concentração plasmática estava diminuído em 34% e o *clearance* estava aumentado em 55% dos estudos. Estas mudanças na farmacocinética causam queda da concentração plasmática das drogas. A maioria dos parâmetros farmacocinéticos varia de acordo com o estágio da gestação, devido às mudanças fisiológicas ocorridas.

#### 1.5. Farmacocinética de drogas no Diabetes *Mellitus* tipo 2

Em decorrência de seus efeitos adversos sobre órgãos e sistemas, o DM pode alterar a disposição cinética e o metabolismo dos fármacos em uso na clínica dependendo do tipo e do tempo de evolução da doença, assim como da droga investigada e de suas vias metabólicas de excreção. Ressalta-se também que a concentração plasmática de lipoproteínas e proteínas pode estar alterada em pacientes diabéticos. As elevadas concentrações de ácidos graxos livres e proteínas glicosiladas podem alterar a extensão da ligação dos fármacos às proteínas plasmáticas (ERMANI *et al*, 1998).

A influência do DM2 na disposição cinética e no metabolismo de fármacos utilizados na prática clínica ainda é assunto sem avaliação aprofundada na literatura. Não se encontram relatos completos na literatura sobre a influência dessa doença na farmacocinética e dos hipoglicemiantes orais, sobretudo da metformina, sendo esse o foco do presente estudo.

## 1.6. Metformina

A metformina pertence ao grupo das biguanidas, uma classe de drogas antidiabéticas orais e tem sido utilizada com frequência no tratamento de pacientes com *diabetes mellitus* não insulino-dependente. Sua fórmula estrutural encontra-se demonstrada na figura 1.

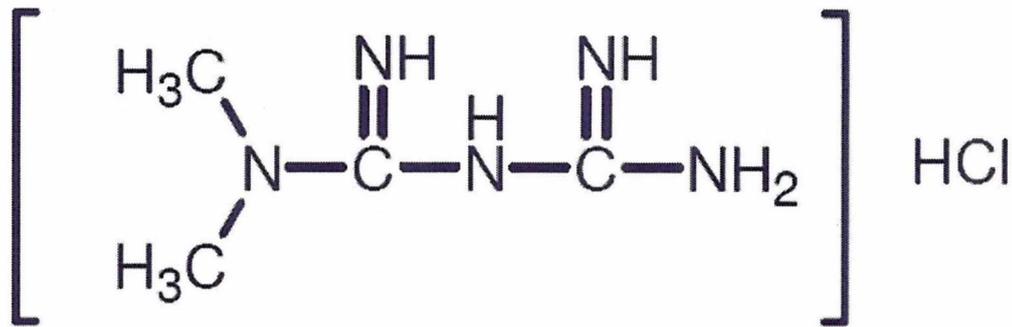
A metformina foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1995 para o uso em pacientes com *diabetes mellitus* não insulino-dependente em conjunto com orientações dietéticas ou associada a sulfoniluréias.

Está contra-indicada em pacientes com insuficiência renal, doença hepática, doença pulmonar, insuficiência cardíaca, doença isquêmica cardíaca, doença vascular periférica e proteinúria, principalmente devido ao risco de acidose láctica (SULKIN *et al.*, 1997). Estima-se que a incidência da acidose láctica associada à utilização da metformina seja de 0,03 casos/1.000 pacientes por ano, sendo que 91% dos pacientes que desenvolveram acidose láctica apresentam algum fator predisponente (BAILEY & TURNER, 1996).

São múltiplos os seus mecanismos de ação, incluindo inibição da neoglicogênese no fígado e estimulação da recaptção periférica de glicose (BAILEY 1992; BAILEY & TURNER, 1996).

Não são totalmente elucidados os mecanismos pelos quais a metformina melhora a hiperinsulinemia em mulheres com SOP. Por outro lado, está estabelecido que os efeitos anti-hiperglicemiantes da metformina são principalmente devidos à redução da produção hepática de glicose, à melhora da sensibilidade dos receptores teciduais à insulina, melhorando a utilização de glicose no músculo esquelético e no adipócito, e à diminuição da absorção intestinal de glicose (BAILEY & TURNER, 1996; WIERNSPERGER & BAILEY, 1999;

UNLUHIZARCI *et al.*, 1999; MOGHETTI *et al.*, 2000; MORIN-PAPUNEN *et al.*, 2000; PASQUALI *et al.*, 2000).



**Figura 1:** Estrutura química do cloridrato de metformina

Embora o exato mecanismo de ação pelo qual a metformina diminui a produção hepática de glicose não seja totalmente esclarecido, tem sido demonstrado que essa droga diminui a neoglicogênese hepática interferindo com o processo respiratório oxidativo na mitocôndria. Suprimindo, dessa forma, a neoglicogênese de vários substratos, incluindo lactato, piruvato, glicerol e aminoácidos. Além disso, a metformina aumenta o nível de cálcio intramitocondrial, que é um modulador da respiração mitocondrial (DAVIDOFF *et al.*, 1978; DOMINGUEZ *et al.*, 1996; KIRPICHNIKOV *et al.*, 2002). Ao melhorar a sensibilidade tecidual à insulina, a metformina facilita o transporte de glicose, com aumento da atividade tirosina quinase nos receptores de insulina, facilitando o transporte de glicose (DOMINGUEZ *et al.*, 1996). Foi demonstrado que a metformina não tem efeito direto na secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas (DEFRONZO & GOODMAN, 1995).

### 1.7. Metformina e gestação

O uso de metformina durante a gestação, por pacientes com SOP, reduz significativamente o número de abortos espontâneos de primeiro trimestre. Quando esse tratamento é mantido durante toda a gestação, observa-se redução no desenvolvimento de diabetes gestacional (GLUECK *et al.*, 2001).

Portanto, o uso de metformina antes e durante toda a gestação reduz o desenvolvimento de diabetes gestacional e previne a transferência de excesso de androgênios para o feto, pois reduz o peso materno pré-concepção. Além disso, reduz a resistência insulínica, a secreção de insulina e de testosterona, e mantém esses efeitos durante toda a gestação (GLUECK *et al.*, 2004a).

Foi acompanhado o desenvolvimento de crianças expostas à metformina intra-útero. Foram avaliadas crianças nascidas de mães com SOP, que usaram metformina durante a gestação e, quando comparado com grupo controle de crianças de gestações de baixo risco, não houve diferença de peso e estatura ao nascimento e aos 18 meses de vida; a avaliação de desenvolvimento motor e social não apresentou diferença entre os grupos. Não houve casos de teratogenicidade (GLUECK *et al.*, 2004b).

### 1.8. Farmacocinética da metformina

O cloridrato de metformina é lenta e incompletamente absorvido do trato gastrointestinal. A biodisponibilidade absoluta de uma dose única de 500mg é reportada em torno de 50 a 60%, embora ainda possa estar reduzida na presença de alimentos. Após absorção, sua ligação a proteínas plasmáticas é mínima, e é excretada inalterada na urina. Sua meia-vida é em torno de 2 a 6 horas após a administração oral.

Através do estudo do leite e plasma de mulheres com amamentação exclusiva, Hale *et al.* (2002) avaliaram a concentração de metformina no plasma e leite materno. Foram avaliadas sete mulheres com diabetes tipo II, em uso de 1500 mg de metformina por dia, e a razão leite/plasma encontrada foi de 0,35, considerada concentração baixa no leite materno. Neste estudo, a concentração de metformina plasmática foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HLPC), no intervalo de concentrações de 0,1 a 5µg/mL. (HALE *et al.*, 2002)

Para a padronização da metodologia de determinação da concentração de metformina em plasma, Wang *et al.*, (2004) analisaram a concentração da droga por HPLC, no intervalo de 0,001 a 2,0 µg/mL e com 8,6 % de variação intra e interensaios. O estudo clínico para validação do método neste trabalho avaliou a farmacocinética da droga com administração via oral, de dose única de 500mg a voluntários saudáveis, obtendo concentração plasmática máxima (C<sub>max</sub>) de 0,79µg/mL, no tempo de 2,4h. A meia-vida de eliminação foi de 5,6h e a área sob a curva concentração plasmática versus tempo (AUC) foi de 5,87µg.h/mL (WANG *et al.*, 2004).

Avaliando o plasma de voluntários saudáveis com administração via oral de metformina, ABURUZ *et al.*, (2005) descreveram o desenvolvimento e a validação do método de determinação de metformina em plasma por HLPC. O intervalo de quantificação da metformina neste estudo foi de 5 a 25ng/mL, com baixa porcentagem de variação intra e interensaios.

Os estudos da metformina em gestantes são escassos e a farmacocinética e transferência placentária da metformina, pouco conhecidos.

## 1.9. Justificativa

Há evidências científicas de benefícios do uso da metformina durante a gravidez, com trabalhos demonstrando que esta droga tem sido utilizada com segurança materna e fetal em gestantes. Porém, as evidências apontam a necessidade de estudos referentes à farmacocinética da metformina em mulheres grávidas com SOP e com Diabetes *Mellitus* tipo 2. Assim como, análise da influência dessas doenças na farmacocinética deste fármaco.

Sendo a SOP e o Diabetes *mellitus* tipo 2 doenças com elevadas prevalências, é de grande relevância a investigação das mudanças na farmacocinética desta droga decorrente das alterações determinadas por estas doenças.

## *2. Objetivos*

---

Descrever e comparar a farmacocinética da metformina administrada por via oral com dose e intervalo de dose fixos em gestantes com síndrome dos ovários policísticos e gestantes com Diabetes *Mellitus* tipo 2, em uso deste fármaco durante a gestação.

Analisar a influência das alterações fisiopatológicas do Diabetes *Mellitus* tipo 2 sobre os parâmetros farmacocinéticos desta droga.

### *3. Casuística e Métodos*

---

### 3.1. Casuística

#### 3.1.1. Aspectos éticos do projeto

O trabalho intitulado originalmente como “**Farmacocinética e análise da distribuição transplacentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos e com *Diabetes Mellitus* tipo 2**”, foi submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRPUSP, bem como Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE e aprovado sob o número 4564/2008 na 266ª reunião em 12 de maio de 2008.

Ressalta-se que a pesquisa não interferiu na conduta clínica a ser adotada no caso, sendo que a evolução obstétrica da paciente seguiu o protocolo do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP. Todas as pacientes foram informadas, de forma clara e objetiva, sobre o protocolo de pesquisa a ser executado, com adesão espontânea ao projeto e foi obtido o consentimento livre e esclarecido de todas as pacientes que participaram do projeto.

#### 3.1.2. Seleção de pacientes

A casuística foi composta por oito gestantes com SOP e resistência insulínica e nove gestantes com *Diabetes Mellitus* Tipo 2, diagnosticados previamente à gestação. As pacientes de ambos os grupos fizeram uso regular de metformina, na dose de 850mg de 8/8h, durante toda a gestação e foram acompanhadas durante o pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do HC-FMRPUSP. As pacientes portadoras de DM2 utilizavam insulina subcutânea diariamente, além da metformina. As pacientes foram submetidas à coleta de amostras sanguíneas para análise da farmacocinética no terceiro trimestre, entre 28 e 38 semanas de gestação.

Tipo de estudo: estudo analítico, tipo experimental controlado, não randomizado. O número de pacientes determinado contempla a necessidade para os estudos farmacocinéticos.

- **Critérios de inclusão:**

- Gestantes com SOP e com feto único, em uso de metformina, na dose de 850mg de 8/8h, tendo iniciado a medicação previamente à gestação e em acompanhamento pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco.

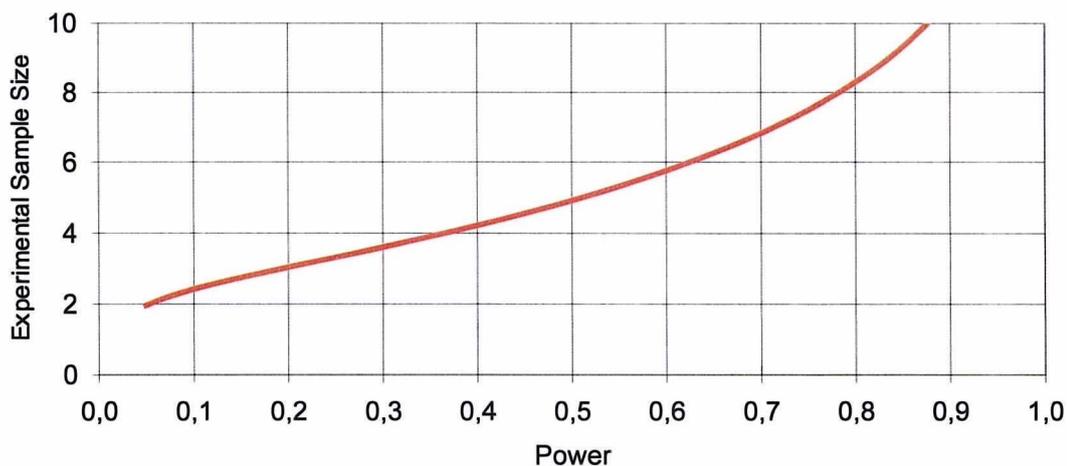
- Gestantes com Diabetes *Mellitus* tipo 2 e feto único, em uso de metformina, na dose de 850mg de 12/12h, tendo iniciado a medicação previamente à gestação e em acompanhamento pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco.

- **Critérios de exclusão:** pacientes com nefropatias e hepatopatias crônicas, interrupção da gestação antes da 34<sup>a</sup> semana de gestação e pacientes com SOP que desenvolverem diabetes gestacional durante o período do estudo.

- **Critério de descontinuidade:** abandono do uso da medicação, abandono do pré-natal, não aceitação em participar do estudo.

- **Cálculo do amostral**

O cálculo do número de pacientes foi realizado utilizando o programa *Power and Sample Size* versão 2.1.31 (Vanderbilt, EUA), considerando a variabilidade na farmacocinética da metformina em voluntários sadios tratados com dose única oral do fármaco (Tucker *et al.*, 1981). Considerando poder do teste de 80%, erro padrão tipo I de 5%, média dos valores de AUC de 6,71  $\mu\text{g.h/mL}$ , desvio padrão de 1,82  $\mu\text{g.h/mL}$  e uma diferença de pelo menos 40% entre os valores de AUC dos grupos investigados, deverão ser incluídas no estudo oito gestantes (Figura 2).



**Figura 2:** Gráfico do tamanho amostral em relação ao poder do teste.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Identificação

Todas as pacientes foram identificadas com coleta de dados relativos à idade, paridade, idade gestacional de inclusão no estudo, momento do diagnóstico de SOP e da resistência insulínica, momento do diagnóstico da Diabetes *Mellitus* tipo 2, tempo de uso de metformina e dose utilizada.

Foram coletados dados relativos à via de parto e idade gestacional de resolução da gestação. Foram coletados os dados perinatais relativos ao sexo, peso, estatura e Apgar dos recém-nascidos.

### 3.2.2. Diagnóstico de SOP

Os critérios diagnósticos de SOP adotados foram os seguintes (*The Rotterdam ESHRE/ ASRM – sponsored PCOS consensus workshop group, 2004*), considerando-se a presença de pelo menos dois dos três itens seguintes:

- Oligomenorréia e/ou anovulação
- Sinais clínicos e/ou bioquímicos de hiperandrogenismo
- Ovários policísticos ao ultra-som

Sendo excluídas outras etiologias de hiperandrogenismo (hiperplasia congênita adrenal, tumores secretores de androgênios, síndrome de Cushing), hiperprolactinemia e alterações tireoidianas.

### **3.2.3. Diagnóstico de Diabetes *Mellitus* tipo 2**

O diagnóstico do Diabetes *Mellitus* tipo 2 foi realizado de acordo com os critérios da ADA (American Diabetes Association, 2002), ou seja, presença de duas medidas de glicemia em jejum com valores maiores ou iguais a 126 mg/dl ou Teste oral de tolerância a glicose apresentando glicemia após duas horas de sobrecarga de 75 g de glicose anidra com resultado acima de 200 mg/dl. O diagnóstico deverá ter sido realizado na idade adulta e estabelecido como Diabetes *Mellitus* do tipo 2.

### **3.2.4. Exames para rastreamento de desordens metabólicas em pacientes com SOP e com Diabetes *Mellitus* tipo 2**

Em todas as pacientes com diagnóstico de SOP foi realizado, previamente ao uso de metformina, o rastreamento das desordens metabólicas, incluindo a identificação de resistência insulínica, conforme a avaliação a seguir:

- Glicemia e insulina de jejum, bem como o cálculo do QUICKI (*Quantitative Insulin-Sensitivity Check Index*) e dos índices I/G (insulina/ glicose) e G/I (glicose/ insulina)

- Teste oral de tolerância à glicose com sobrecarga de 75g de glicose
- Lipidograma completo

Em todas as pacientes com diagnóstico de Diabetes *Mellitus* tipo 2 foi realizado, o rastreamento das desordens metabólicas, conforme a avaliação a seguir:

- Lipidograma completo
- Função renal
- Função Hepática
- Hemoglobina glicada

### **3.2.5. Coleta de amostras sanguíneas**

No terceiro trimestre, entre a 28 e 38 semanas de gestação, as pacientes foram encaminhadas para o estudo farmacocinético. Foi coletada uma amostra de sangue materno (5 mL) por punção única de veia periférica, para avaliação de função renal e hepática, justificada, pela influência da função renal na farmacocinética da metformina e da contra-indicação do uso da droga em paciente hepatopata. Além disso, mais 5 mL de sangue materno foram coletados para avaliação da concentração de metformina no tempo zero. O acesso venoso foi mantido com escalpe salinizado para coleta de amostras seriadas de duas meias-vidas da metformina (total de 12 horas) para determinação das concentrações sanguíneas de metformina e posterior realização de curva de concentração plasmática em função do tempo. Amostras seriadas de 5 mL de sangue materno foram coletadas para avaliação da concentração de metformina nos tempos de 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 horas, para posterior realização de curva de concentração plasmática em função do tempo e determinação das curvas de absorção e eliminação do fármaco.

- **Sistema de coleta do sangue materno:**

Foi obtido acesso venoso periférico com escalpe nº 21 e coletado 5mL de sangue em tubo seco para exames bioquímicos hepáticos, renais e eletroforese de proteínas (Uréia, Creatinina, aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), Bilirrubinas, Proteína Total, Albumina. Após a coleta, o escalpe foi salinizado com 10mL de solução fisiológica a 0,9% até desaparecer sangue do conduto do mesmo. O protocolo foi conduzido desta forma em todas as coletas, determinando sempre a hora da coleta.

Após todo material coletado, o sangue foi centrifugado a 2000 rotações por minuto (rpm) por 10 a 15 minutos e coletado o plasma que foi armazenado em tubo seco congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$ , sendo posteriormente encaminhado ao Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, onde foi realizada a dosagem da concentração plasmática de metformina.

Em todos os períodos pré-determinados de coleta de sangue, antes da execução do procedimento, foram obtidos os parâmetros cardiovasculares relacionados à pressão arterial e frequência cardíaca materna.

### **3.2.6. Análise bioquímica no plasma materno**

Para todas as gestantes do estudo foram coletadas amostras de 5 mL de sangue, centrifugado a 2000 rpm por 15 minutos e separado o plasma materno. O plasma materno foi encaminhado para o Laboratório Central de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para análise da Uréia, Creatinina, AST, ALT, Bilirrubinas Totais, Bilirrubina Direta, Proteínas Totais e Albumina, cujos valores foram obtidos com uso dos *KITS DADE BEHRING* para dosagem plasmática destes elementos em equipamento *RXL Dimension DADE BEHRING*.

### 3.2.7. Estimativa da função renal

A função de filtração glomerular foi avaliada pelo cálculo do *clearance* de creatinina, estimado pela fórmula proposta por Cockcroft e Gault (1976):

$$CCr = \frac{(140 - \text{idade})(\text{peso})}{72 \times \text{Creatinina}}$$

A idade deve ser calculada em anos, o peso em quilogramas e a creatinina em miligramas por decilitro. Para pacientes do gênero feminino, o valor calculado do *clearance* de creatinina deve ser reduzido em 15%.

### 3.2.8. Metodologia laboratorial para determinação de metformina

Foi desenvolvida a metodologia para a quantificação da metformina no plasma, empregando HPLC.

#### 3.2.8.1. Análise da metformina em plasma

- **Soluções-padrão e reagentes:**

Os solventes acetonitrila, metanol (*J.T.Baker*, México) e diclorometano (*EM Science, Gibbstown*) foram utilizados como fase móvel do sistema HLPC ou como solvente extrator. A água utilizada durante o experimento para o preparo dos reagentes foi obtida em sistema de purificação *Milli Q (Waters)*.

A solução de fosfato di-hidrogênio potássio 0,01M foi ajustada para pH 8 com solução de dietilamina 0,01M.

A solução estoque de metformina (cloridrato de 1,1-dimetilbiguanida 97% - *Aldrich*) foi preparada em metanol-água (1:1) na concentração de 1mg/mL e diluída em

metanol: água (1:1) para obtenção da solução de trabalho na concentração de 100 µg/mL. A solução de trabalho foi diluída para a obtenção de soluções nas concentrações de 0,2; 0,6; 1; 5; 10; 20; 45µg/mL. As soluções de metformina foram armazenadas a -20° C.

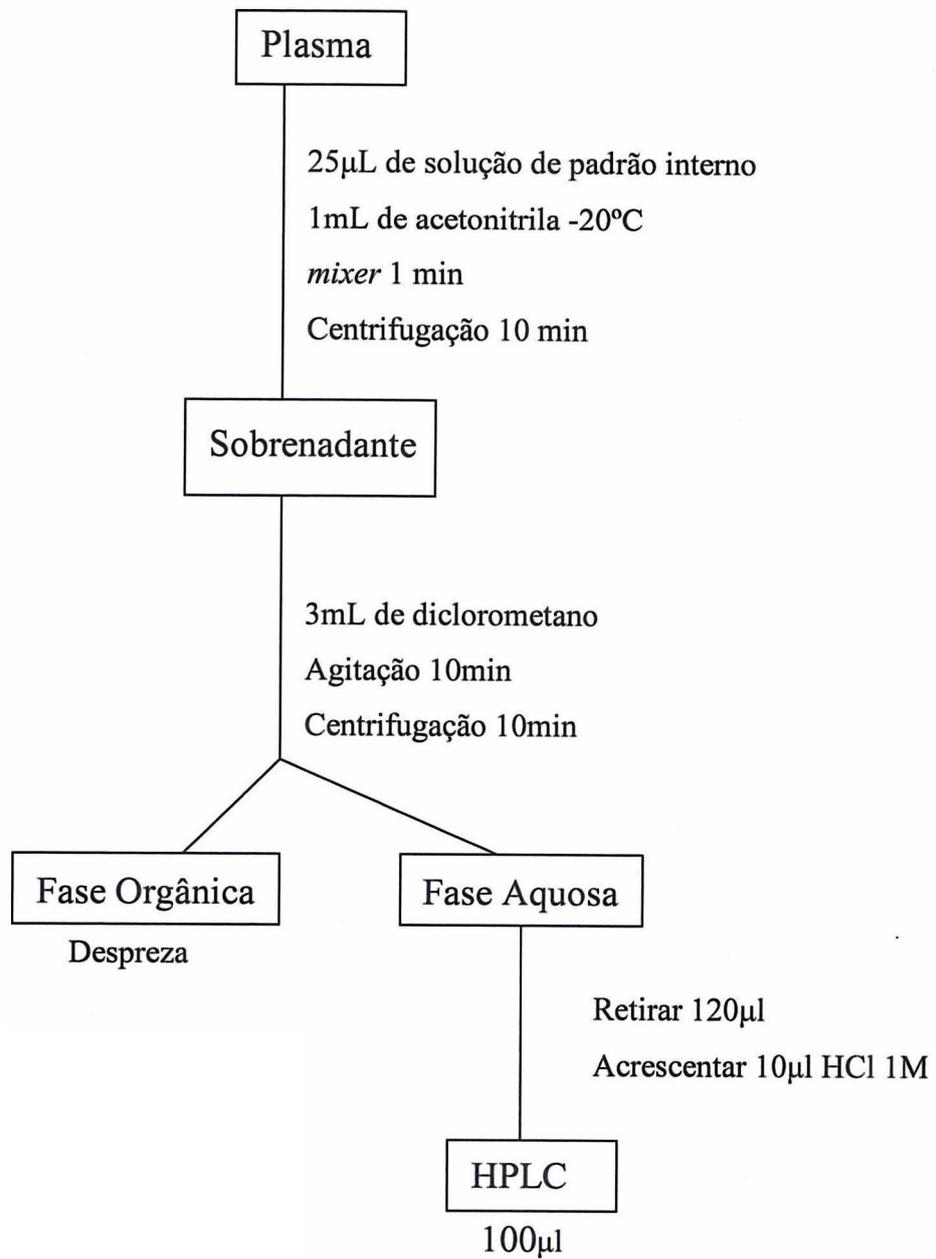
A solução de atenolol utilizada como padrão interno foi preparada na concentração de 1mg por mL de metanol e posteriormente diluída para a obtenção de solução 0,1mg/mL.

- **Equipamentos:**

O sistema HPLC foi constituído por cromatógrafo *Shimadzu* (Kyoto, Japão) composto por bomba modelo LC-10 AD e detector UV modelo SPD-10A, operando em 354nm. Para registrar e integrar os picos foi empregado um integrador modelo CR6A. A separação cromatográfica foi obtida em coluna *LiChrospher RP Select B* (5µm, 250x4,6mm; E. Merck, Damsdart, Alemanha). A fase móvel que eluiu pelo sistema na vazão de 1,2 mL/min foi constituída por 72% de acetonitrila em solução de fosfato di-hidrogênio potássio 0,01M pH 8 (HALE *et al*, 2002).

- **Extração Líquido-Líquido**

Alíquotas de 0,5mL de plasma foram adicionadas de 25µl de solução de atenolol 0,1mg/mL (padrão interno) e de 1mL de acetonitrila a -20°C. Os tubos foram agitados vigorosamente em *mixer* por 1 minuto e em seguida centrifugados durante 10 minutos a 2000 rpm. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos e adicionados de 3mL de diclorometano. Os tubos foram agitados por 10 minutos em agitador tipo *mixer* (Vibrax) e centrifugados durante 10 minutos a 2000rpm. Alíquotas de 120µL da camada aquosa foram acrescentadas de 10µL de solução de HCl 1M e submetidas (100µL) à análise cromatográfica (HALE *et al*, 2002). O fluxograma da extração da metformina em plasma está ilustrado na figura 3.



**Figura 3:** Fluxograma para extração da metformina em plasma

- **Curva de Calibração:**

Para a construção da curva de calibração, alíquotas de 0,5mL de plasma branco humano (voluntárias não tratadas com metformina) foram enriquecidas com 50µl de cada uma das soluções padrão de metformina e 25µL da solução de padrão interno e foram, posteriormente, submetidas ao processo de extração líquido-líquido e análise cromatográfica especificados anteriormente. A curva de calibração foi construída no intervalo de 0,02 a 4,50µg por mL de plasma.

- **Validação:**

O método desenvolvido foi validado de acordo com as recomendações da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução de numero 899 de 29 de maio de 2003) para métodos bioanalíticos.

### **Limite de quantificação**

O limite de quantificação foi definido como a menor concentração quantificada com precisão e exatidão igual ou inferior a 15%. Foram avaliadas amostras de plasma humano enriquecidas com metformina em concentrações tão baixas quanto 0,02µg/mL de plasma. As amostras foram analisadas em quintuplicata.

### **Linearidade**

A linearidade foi avaliada em concentrações crescentes àquelas empregadas nas curvas de calibração. A linearidade foi avaliada até a concentração de 4,50µg/mL de plasma. Foram determinadas as equações de regressão linear e os coeficientes de correlação.

### **Seletividade**

A interferência dos componentes endógenos do plasma foi avaliada através da análise de alíquotas de seis diferentes plasmas obtidos de voluntárias não tratadas com metformina.

### **Precisão e exatidão**

A precisão e a exatidão foram avaliadas nas concentrações de 0,06, 1,00 e 3,50µg/mL de plasma. As soluções foram separadas em alíquotas e armazenadas a -20°C.

Para a avaliação da precisão intra-ensaio foram analisadas 05 alíquotas de cada amostra em um mesmo dia, ou seja, através de uma única curva de calibração. Para que o método possa ser referido de alta precisão, o Coeficiente de Variação (CV) dos resultados obtidos na análise deve ser igual ou inferior a 15%.

Na avaliação da precisão interensaios foram analisadas alíquotas, em quintuplicata, das amostras em cinco dias consecutivos. A precisão interensaios foi avaliada também através do cálculo do Coeficiente de Variação dos resultados obtidos nos cinco dias.

A exatidão intra e interensaios também foram avaliadas utilizando os resultados experimentais obtidos na precisão. A exatidão foi expressa como porcentagem do erro sistemático da inexatidão (HALE *et al*, 2002).

$$\text{Inexatidão} = [ \text{valor obtido} - \text{valor adicionado} / \text{valor adicionado} ] \times 100$$

#### **3.2.8.2. Análise farmacocinética da metformina**

Para cada gestante em que for realizada a dosagem de metformina no plasma, foi construída uma curva do log da concentração plasmática em função do tempo. A disposição cinética da metformina foi avaliada através do modelo monocompartimental e cinética de primeira ordem, utilizando o *Software WinNonlin (Pharsight Corporations, Mountain View, EUA)*, versão 4.0.

A área sob a curva da concentração plasmática versus tempo no intervalo de dose de 12 horas ( $AUC^{0-12}$ ), foi determinada pelo método linear trapezoidal do tempo zero até a última amostra coletada (12h).

O *clearance* total aparente foi calculado de acordo com a equação

$$Cl/f = \text{dose} / AUC^{0-12} \text{ e o volume aparente de distribuição como } Vd/f = Cl/f / K_{el}.$$

Os parâmetros  $C_{max}$  e  $T_{max}$  serão calculados utilizando as equações padrão do *Software* (Tabela 1).

**Tabela 1:** Parâmetros empregados na farmacocinética da metformina.

Parâmetros	Unidade	Descrição	Equação
$t_{1/2}$	H	meia-vida de eliminação	gráfico log c vs t
$t_{max}$	h	tempo para atingir a $C_{max}$	dados obtidos
$C_{max}$	$\mu\text{g/mL}$	concentração plasmática máxima	dados obtidos
$AUC^{0-12}$	$\mu\text{g.h/mL}$	área sob curva concentração plasmática versus tempo	trapézios
$C_{média}$	$\mu\text{g/mL}$	concentração plasmática média	dados obtidos
Flutuação	%	variação concentração máxima mínima	$(1 - e^{-k_{el} \cdot \tau}) \cdot 100$
$Cl/f$	L/h	<i>clearance</i> aparente	$\text{dose} / AUC^{0-12}$
$Vd/f$	L	volume de distribuição aparente	$Cl/f / K_{el}$

c vs t: concentração *versus* tempo

tau: intervalo de dose

$K_{el}$  (constante de velocidade de eliminação):  $0,693/t_{1/2}$

### 3.3. Análise estatística

Os cálculos das medidas de posição e dispersão [expressos em mediana, percentil 25 (P25) e percentil 75 (P75)] de cada variável analisada foram realizados utilizando-se o *Software* GraphPad Prism 3 ®.

Utilizando-se o software GraphPad Prism 3 ®, através do teste de Mann-Whitney (teste não pareado e não paramétrico), foi realizada avaliação estatística, entre os grupos de gestantes com SOP e *diabetes mellitus*, dos dados clínicos maternos e dos recém-nascidos, das concentrações plasmáticas de metformina, dos parâmetros farmacocinéticos e a relação entre os mesmos com nível de significância de 5%

## *4. Resultados*

---

#### 4.1. Características da amostra materna

Foram avaliadas oito gestantes com SOP e nove com Diabetes *Mellitus* tipo 2, internadas no Centro Obstétrico do HC-FMRP-USP, onde foram submetidas a coletas de amostras sanguíneas para determinação da concentração plasmática no terceiro trimestre da gestação.

No grupo de gestantes com SOP a mediana de idade materna foi de 26 anos, com percentil 25 (P25) de 22 anos e percentil 75 (P75) de 33 anos. Sendo que seis pacientes eram primigestas e duas pacientes eram multigestas. A mediana da idade gestacional mediana do estudo farmacocinético foi com 245 dias, variando de 232 a 256 dias. Na resolução da gestação, oito pacientes possuíam gestação a termo na resolução da gestação (acima de 259 dias), sendo a mediana de idade gestacional de 278 dias (P25: 274 dias, P75: 283 dias). A mediana de peso das pacientes pré-gravídico foi de 89kg e do Índice de Massa Corporal (IMC) de 34,04kg/m<sup>2</sup>. As pacientes apresentaram mediana de ganho de peso de 6,6Kg com mediana de peso na resolução da gestação de 94,8Kg e do Índice de Massa Corporal de 36,38kg/m<sup>2</sup> (Tabela 2).

No grupo com DM2 a mediana de idade materna foi de 36 anos, com percentil 25 (P25) de 32 anos e percentil 75 (P75) de 38 anos. Sendo que cinco pacientes eram secundigestas e quatro pacientes eram multigestas. A mediana da idade gestacional do estudo farmacocinético foi com 241 dias, variando de 236 a 252dias. Na resolução da gestação, todas as pacientes possuíam gestação a termo (acima de 259 dias), sendo a mediana de idade gestacional de 268 dias (P25: 266 dias, P75: 272 dias). A mediana de peso das pacientes pré-gravídico foi de 91kg e do IMC de 36,20kg/m<sup>2</sup>. As pacientes apresentaram mediana de ganho de peso de 9,7Kg com mediana de peso na resolução da gestação de 100,7Kg e do Índice de Massa Corporal de 42,07kg/m<sup>2</sup> (Tabela 2).

A seguir apresentamos os dados demográficos dos dois grupos de gestantes, mostrando homogeneidade dos grupos.

**Tabela 2:** Dados demográficos das gestantes com DM2 e SOP. Dados expressos em mediana, percentil 25 e 75.

Parâmetros	Unidade	SOP	DM2
		Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)
<b>Idade</b>	anos	26 (22,0-33,0)	36 (32,0-38,0)
<b>Idade gestacional</b>	dias	278 (274-183)	268 (266-272)
<b>Peso pré-gravidico</b>	Kg	89 (76,00-97,00)	91 (76,3-105,0)
<b>IMC pré-gestacional</b>	kg/m <sup>2</sup>	34,04 (29,59-37,45)	36,29 (31,48-41,01)
<b>Peso na resolução</b>	Kg	94,8 (86,90-101,60)	100,7 (83,80-109,4)
<b>IMC no parto</b>	kg/m <sup>2</sup>	36,38 (33,95-39,19)	42,07 (34,84-45,32)
<b>Estatura</b>	m	1,59 (1,57-1,61)	1,60 (1,55-1,61)

P25: percentil 25

P75: percentil 75

Idade gestacional = idade gestacional no parto

IMC: Índice de Massa Corporal

Tete de Mann-Whitney (p<0.05)

Os dados laboratoriais estão apresentados na tabela 3 para as pacientes com SOP e para pacientes com DM2.

A mediana de hemoglobina foi de 12,5g/dL, do hematócrito de 39%, e da glicemia de jejum de 84mg/dL para as pacientes com SOP. Todas as pacientes realizaram teste oral de tolerância a glicose com resultados normais.

As pacientes com DM2, já apresentavam diagnóstico de Diabetes *mellitus* prévio a gestação, sendo que nestas pacientes a mediana de hemoglobina de 12,1g/dL, do hematócrito foi de 36%, e da glicemia de jejum foi de 96mg/dL.

Na avaliação estatística houve diferença significativa na glicemia de jejum das pacientes com SOP em relação a DM2 (Tabela 3).

**Tabela 3:** Valores da hemoglobina, hematócrito e glicemia de jejum das pacientes com DM2 e SOP. Dados expressos em mediana e percentis 25-75.

Parâmetros	Unidade	SOP	DM2
		Mediana	Mediana
		(P25-P75)	(P25-P75)
<b>Hemoglobina</b>	g/dL	12,15 (11,5-13,1)	12,10 (10,9-12,5)
<b>Hematócrito</b>	%	36,50 (33,7-41)	36,00 (33,0-38,0)
<b>Glicemia de jejum</b>	mg/dL	85,00 (81,0-88,0)	96,00* (90,0-103,0)

\*Teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ )

P25: percentil 25

P75: percentil 75

Todas apresentaram sorologias negativas para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), vírus da Hepatite B (HbsAg), Sífilis (VDRL), vírus da Hepatite C (HCV). Todas as pacientes eram imunes para rubéola. Em relação à sorologia para toxoplasmose, dez eram susceptíveis e sete pacientes eram imunizadas.

As parturientes foram submetidas à resolução da gestação por indicação obstétrica. Em relação à via de parto, nas pacientes com SOP, seis (75,0%) pacientes foram submetidas à resolução da gestação por via alta, com indicações variáveis e duas (25,0%) pacientes submetidas a parto vaginal.

Nas pacientes com DM2, sete (77,7%) pacientes foram submetidas à resolução da gestação por via alta, com indicações variáveis e duas (23,3%) pacientes submetidas a parto vaginal.

## 4.2. Características dos recém-nascidos

Nenhum recém-nascido apresentou doença diagnosticada ao nascer. Quatro recém-nascidos foram do sexo masculino e quatro do sexo feminino nas pacientes com SOP, sendo a mediana de peso ao nascer foi de 3235g e a de estatura foi de 49cm e no grupo de recém-nascidos de mães com DM2 mediana de peso ao nascer foi de 3590 e a de estatura foi de 50cm (Tabela 4)

Dois recém-nascidos do grupo DM2 apresentaram Índice de Apgar menor que 7 no 1º minuto, porém todos (grupo SOP e DM2) apresentaram Apgar 9 ou 10 na avaliação do 5º minuto. Todos os recém-nascidos apresentaram evolução favorável no período pós-natal e receberam alta hospitalar em conjunto com a mãe.

**Tabela 4:** Características dos recém-nascidos das gestantes com DM2 e SOP, em uso de metformina. Dados expressos em mediana, percentis 25-75.

Parâmetros	Unidade	SOP	DM2	P
		Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)	
<b>Peso</b>	g	3235,0 (3025-3480)	3590,0 (3470-4010)	>0,05
<b>Estatura</b>	cm	49,0 (49-49)	50,0 (48-51)	>0,05

Teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ )

P25: percentil 25

P75: percentil 75

### 4.3. Avaliação bioquímica materna

Foram realizados exames laboratoriais para avaliação materna. No grupo SOP os valores das medianas dos referidos exames foram: uréia 13mg/dL; creatinina 0,6mg/dL; *clearance* de creatinina 200,0mL/min; alanina transaminase (TGP) 14,0U/L; aspartato transaminase 12,0U/L; bilirrubina total 0,45mg/dL; bilirrubina direta 0,09mg/dL; albumina 3,8g/dL; glicemia 89mg/dL; colesterol total 194mg/dL; HDL colesterol 48mg/dL; LDL colesterol 108mg/dL; triglicérides 209mg/dL. O teste oral de tolerância a glicose com sobrecarga de 75g (GTT 75g) apresentou mediana de glicemia no tempo 0 do teste de 89mg/dL e no tempo de 2h de 102mg/dL (Tabela 5).

No grupo com DM2 os valores das medianas dos referidos exames foram: uréia 11mg/dL; creatinina 0,6mg/dL; *clearance* de creatinina 193,0mL/min; alanina transaminase 11,0U/L; aspartato transaminase 14,0U/L; bilirrubina total 0,30mg/dL; bilirrubina direta 0,16mg/dL; albumina 3,7g/dL; glicemia 96mg/dL; colesterol total 183mg/dL; HDL colesterol 57mg/dL; LDL colesterol 91mg/dL; triglicérides 164mg/dL.(Tabela 5).

**Tabela 5:** Avaliação laboratorial dos sistemas / órgãos hematológico, renal, hepático e endócrino maternos. Dados expressos em mediana, percentis 25-75

<b>Parâmetros</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valores de referência</b>	<b>SOP Mediana (P25-P75)</b>	<b>DM2 Mediana (P25-P75)</b>
<b>Uréia</b>	mg/dL	10 - 50	13,00 (12,0-15,0)	11,00 (10,0-14,0)
<b>Creatinina</b>	mg/dL	0,5 – 1,2	0,55 (0,5-0,6)	0,60 (0,6-0,6)
<b>Clearance de creatinina</b>	mL/min	75 - 115	200,50 (176,0-217,0)	193,76 (180,0-237,0)
<b>Transaminase Glutâmica Pirúvica</b>	U/L	7 – 45	12,00 (13,0-16,0)	11,00 (08,0-13,0)
<b>Transaminase Glutâmica Oxalacética</b>	U/L	7 - 39	14,00 (11,0-14,0)	14,00 (12,0-19,0)
<b>Bilirrubina Total</b>	mg/dL	<1,2	0,43 (0,36-0,76)	0,33 (0,27-0,46)
<b>Bilirrubina Direta</b>	mg/dL	< 0,4	0,09 (0,07-0,12)	0,13 (0,10-0,16)
<b>Albumina</b>	g/dL	3,5 – 5,0	3,80 (3,7-4,0)	3,70 (3,6-3,8)
<b>Colesterol total</b>	mg/dL	< 200	194,00 (155,0-211,0)	183,00 (165,0-228,0)
<b>HDL-Colesterol</b>	mg/dL	>40	49,00 (40,0-55,0)	57,00 (43,0-64,0)
<b>LDL-Colesterol</b>	mg/dL	<100	109,50 (82,0-114,0)	91,00 (74,0-112,0)
<b>Triglicérides</b>	mg/dL	<150	210,50 (168,0-250,0)	164,00 (156,0-181,0)
<b>Glicemia tempo 0h TOTG</b>	mg/dL	70 - 110	85,00 (80,0-95,0)	96,00* (90,0-103,0)

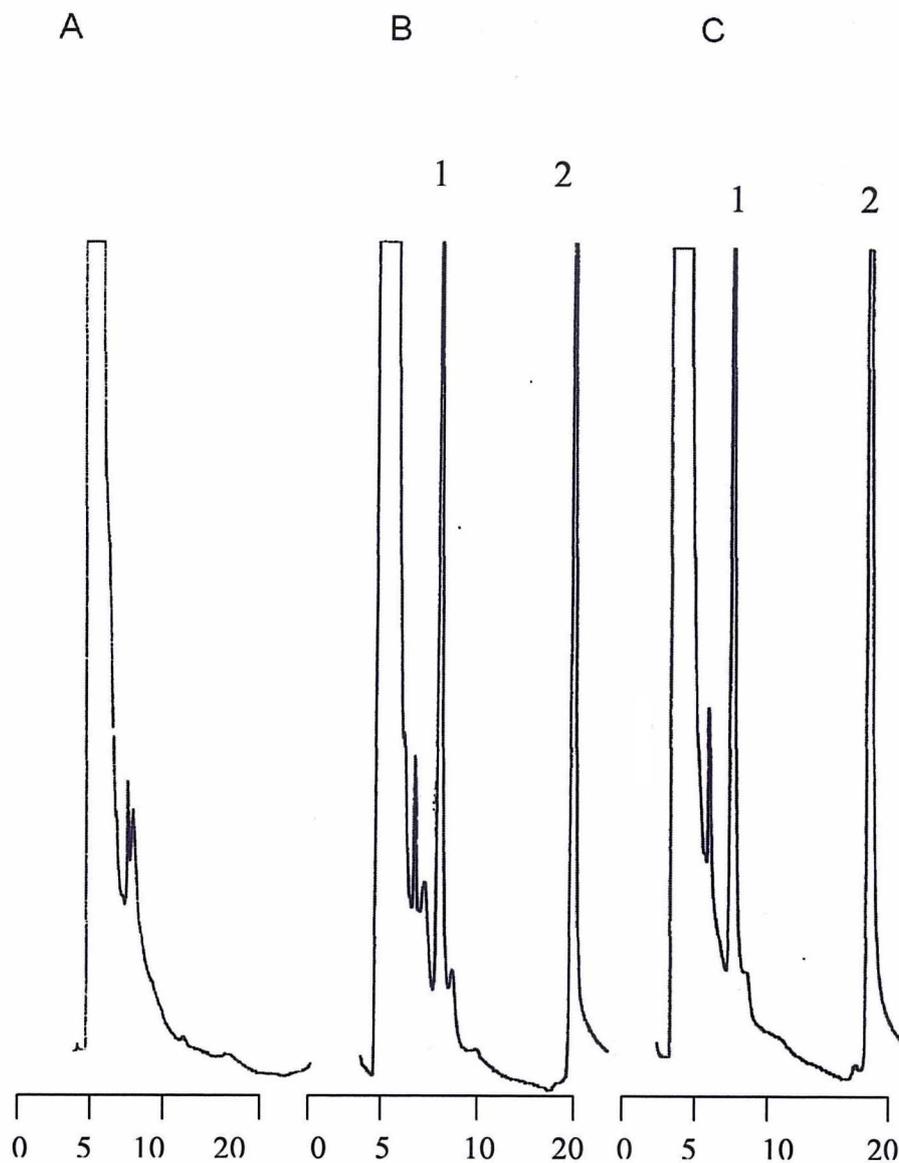
Teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ )

P25: percentil 25

P75: percentil 75

#### 4.4. Análise das concentrações da metformina em plasma

A figura 4 mostra a análise cromatográfica de um plasma branco, plasma enriquecido com o padrão interno e metformina e plasma de paciente tratada com metformina.

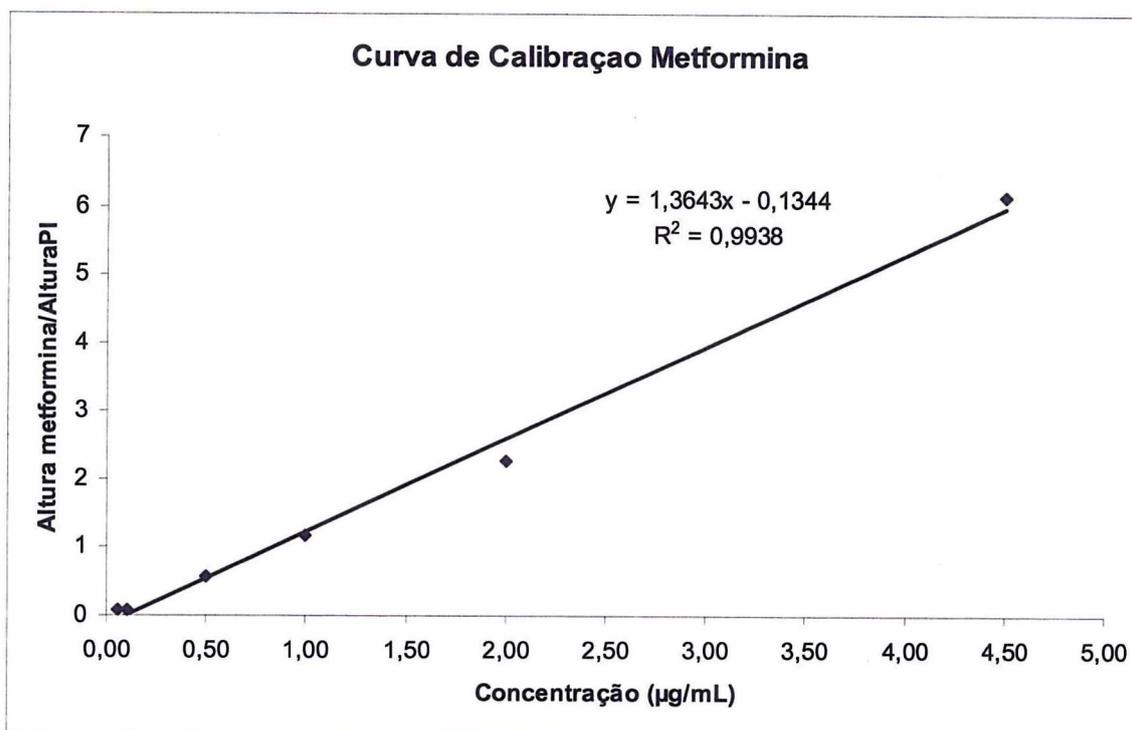


**Figura 4: Análise da metformina em plasma**

A-Plasma Branco B-Plasma Enriquecido C-Plasma de Paciente  
1- Padrão Interno 2- Metformina

- **Curva de Calibração:**

A figura 5 mostra a curva de calibração da metformina no intervalo de 0,02 - 4,50µg/mL. O coeficiente de correlação foi maior que 0,99.



**Figura 5:** Curva de Calibração da Metformina em plasma (0,02- 4,50µg/mL)

- **Validação do método**

As tabelas 6 e 7 mostram os resultados obtidos na validação do método de análise da metformina em plasma humano. O alto coeficiente de correlação ( $r$ ) obtido indica a existência de relação linear entre a área do pico e a concentração da metformina. O método apresentou limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão compatíveis com a aplicação em estudos de disposição cinética.

**Tabela 6:** Limites de confiança para o método de análise da metformina em plasma humano

<b>Metformina</b>	
<b>Linearidade</b> ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,02 – 4,50
Equação da reta	$y = 0,0014x - 0,1344$
$r^2$	0,9938
<b>Limite de Quantificação</b> ( $\text{ng/mL}$ )	20
Precisão (CV%, n=5)	9,0
Exatidão (Inexatidão %)	-7,5
<b>Precisão interensaios (CV%) n=5</b>	
0,06 $\mu\text{g/mL}$	4,6
1,00 $\mu\text{g/mL}$	8,0
3,50 $\mu\text{g/mL}$	-7,5
<b>Precisão intra-ensaio (CV%) n=5</b>	
0,06 $\mu\text{g/mL}$	5,2
1,00 $\mu\text{g/mL}$	4,8
3,50 $\mu\text{g/mL}$	3,1
<b>Exatidão interensaios</b> (Inexatidão %)	
0,06 $\mu\text{g/mL}$	-9,5
1,00 $\mu\text{g/mL}$	-7,9
3,50 $\mu\text{g/mL}$	10,3
<b>Exatidão intra-ensaio</b> (Inexatidão %)	
0,06 $\mu\text{g/mL}$	-8,9
1,00 $\mu\text{g/mL}$	2,5
3,50 $\mu\text{g/mL}$	9,1

CV = coeficiente de variação [(SD/média)x 100];

r=coeficiente de correlação linear.

% Inexatidão= [(Observada-Cadicionada)/Cadicionada]x100

**Tabela 7:** Estudo de estabilidade do método de análise da metformina em plasma humano

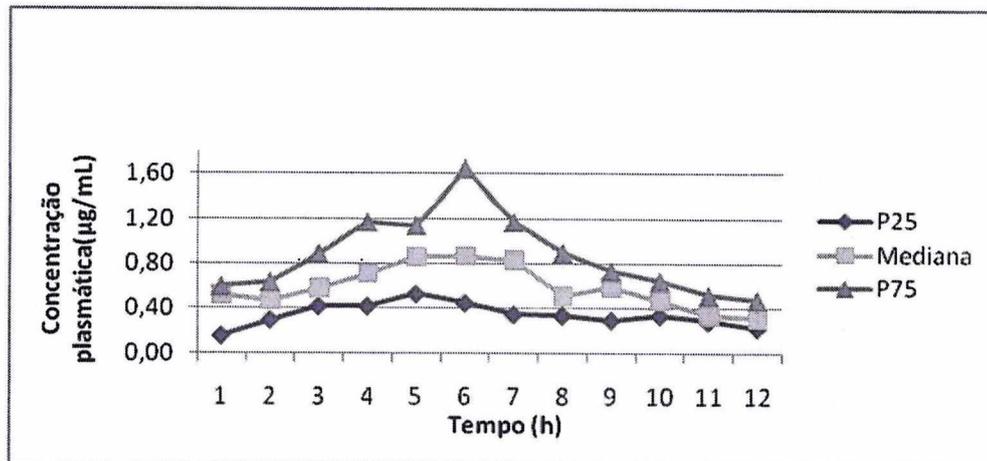
Concentração	Curta duração		Longa duração	
	( 3 ciclos de congelamento)		(30 dias)	
	Precisão (CV%)	Exatidão (%Inexatidão)	Precisão (CV%)	Exatidão (%Inexatidão)
0,06µg/mL	7,2	-4,1	11,6	0,16
3,50µg/mL	5,9	8,6	8,2	-10,6

- **Análise das concentrações de metformina em plasma:**

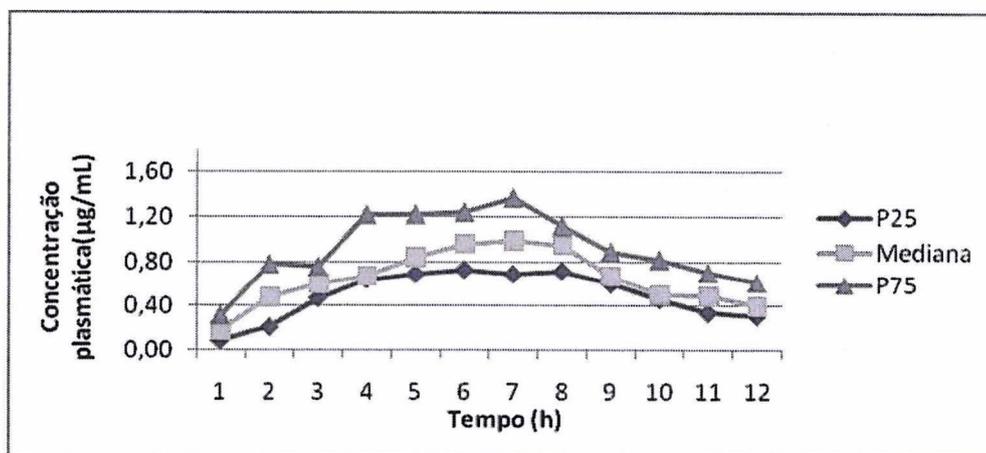
As concentrações plasmáticas medianas e percentis 25 e 75 da metformina das oito pacientes com SOP e das nove pacientes com DM2 analisadas em cada momento da coleta, nos tempos pré-estabelecidos, estão demonstradas na figura 6 e 7 e na tabela 8.

**Tabela 8:** Mediana e percentis 25 e 75 das concentrações de metformina ( $\mu\text{g/mL}$ ) no plasma materno em tempos (minutos) determinados (n:8) em gestantes com SOP em uso de metformina 1700mg/dia.

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>SOP Mediana (P25-P75) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>DM2 Mediana (P25-P75) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>
<b>0</b>	<b>0,52</b> (0,16-0,60)	<b>0,18</b> (0,09-0,31)
<b>30</b>	<b>0,47</b> (0,30-0,64)	<b>0,48</b> (0,21-0,78)
<b>60</b>	<b>0,58</b> (0,43-0,90)	<b>0,60</b> (0,47-0,76)
<b>90</b>	<b>0,71</b> (0,41-1,17)	<b>0,67</b> (0,64-1,22)
<b>120</b>	<b>0,86</b> (0,53-1,14)	<b>0,84</b> (0,69-1,22)
<b>150</b>	<b>0,87</b> (0,45-1,65)	<b>0,96</b> (0,73-1,24)
<b>180</b>	<b>0,83</b> (0,35-1,17)	<b>0,99</b> (0,69-1,37)
<b>240</b>	<b>0,51</b> (0,34-0,90)	<b>0,95</b> (0,72-1,12)
<b>300</b>	<b>0,59</b> (0,30-0,74)	<b>0,67</b> (0,60-0,89)
<b>360</b>	<b>0,47</b> (0,34-0,65)	<b>0,50</b> (0,46-0,82)
<b>420</b>	<b>0,35</b> (0,29-0,52)	<b>0,49</b> (0,34-0,70)
<b>480</b>	<b>0,32</b> (0,23-0,48)	<b>0,40</b> (0,31-0,61)



**Figura 6:** Gráfico das medianas e dos percentis 25 e 75 (P25 e P75) das concentrações plasmáticas de metformina ( $\mu\text{g/mL}$ ) em função do tempo (minutos) nas pacientes com SOP.



**Figura 7:** Gráfico das medianas e dos percentis 25 e 75 (P25 e P75) das concentrações plasmáticas de metformina ( $\mu\text{g/mL}$ ) em função do tempo (minutos) nas pacientes com DM2.

#### 4.5. Farmacocinética da metformina

As concentrações de metformina em plasma materno ( $\mu\text{g/mL}$ ) *versus* o tempo (minutos) foram avaliadas no intervalo de dose de 12 horas empregando o modelo monocompartimental.

Os parâmetros farmacocinéticos analisados foram:  $t^{1/2}$ ,  $t_{\text{max}}$ ,  $C_{\text{max}}$ ,  $\text{AUC}^{0-12}$ ,  $C_{\text{média}}$ , Flutuação,  $\text{Cl/f}$  e  $\text{Vd/f}$  e estão apresentados na tabela 09 para pacientes com SOP e na tabela 10 para as pacientes com DM2.

Nas pacientes com SOP a mediana da  $t^{1/2}$  foi de 3,75h e da  $t_{\text{max}}$  foi de 2,00h. A mediana da  $C_{\text{max}}$  foi de  $1,42\mu\text{g/mL}$  e da  $C_{\text{média}}$  de  $0,53\mu\text{g/mL}$ . A mediana da  $\text{AUC}^{0-12}$  foi de  $6,42\mu\text{g.h/mL}$ , do  $\text{Cl/f}$  foi de  $105,39\text{ L/h}$ , do  $\text{Vd/f}$  foi de  $550,51\text{L}$  e da flutuação de  $179,56\%$ .

Nas pacientes com DM2 a mediana da  $t^{1/2}$  foi de 4,00h e da  $t_{\text{max}}$  foi de 3,00h. A mediana da  $C_{\text{max}}$  foi de  $1,21\mu\text{g/mL}$  e da  $C_{\text{média}}$  de  $0,56\mu\text{g/mL}$ . A mediana da  $\text{AUC}^{0-12}$  foi de  $6,73\mu\text{g.h/mL}$ , do  $\text{Cl/f}$  foi de  $98,38\text{ L/h}$ , do  $\text{Vd/f}$  foi de  $490,98\text{L}$  e da flutuação de  $181,73\%$ .

Na tabela 11 estão apresentados os dados farmacocinéticos para ambos e grupos para análise comparativa, sendo que não houve diferença estatística entre os parâmetros analisados para as pacientes com SOP e DM2.

**Tabela 9:** Disposição cinética da metformina em plasma (cloridrato de metformina via oral 850mg) em pacientes com SOP (n=8).

Pacientes	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (h)	$AUC^{0-12}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$C_{m\acute{e}dia}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Flutuação (%)	Vd/f (L)	Cl/f (L/h)
1	1,75	1,50	11,09	4,70	0,92	151,09	406,39	59,74
2	1,18	0,50	5,50	3,60	0,46	226,84	634,00	120,44
3	0,79	2,00	4,99	5,30	0,42	166,57	1013,13	132,72
4	1,67	1,00	11,08	5,40	0,92	137,66	467,03	59,78
5	1,71	3,00	9,21	3,70	0,77	183,47	384,54	71,91
6	0,54	2,00	3,10	3,80	0,26	175,66	1172,75	213,44
7	2,05	3,00	7,33	3,10	0,61	314,61	405,11	90,34
8	0,59	2,50	2,41	2,80	0,20	272,91	1108,93	274,46

**Tabela 10:** Disposição cinética da metformina em plasma (cloridrato de metformina via oral 850 mg) em pacientes com DM 2 (n=9).

Pacientes	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{\max}$ (h)	$AUC^{0-12}$ ( $\mu\text{g.h/mL}$ )	$t_{1/2}$ (h)	$C_{\text{média}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Flutuação (%)	Vd/f (L)	Cl/f (L/h)
1	1,11	3,00	6,73	3,40	0,56	165,75	482,24	98,38
2	1,21	4,00	9,89	6,90	0,82	105,98	667,25	66,99
3	1,75	3,00	8,00	3,20	0,67	242,25	383,37	82,81
4	0,81	2,00	4,80	4,00	0,40	194,18	798,23	138,09
5	0,38	3,00	2,76	4,90	0,23	122,69	1699,17	239,58
6	0,66	3,00	4,09	4,60	0,34	181,73	1073,20	162,05
7	1,38	3,00	9,59	4,20	0,80	134,31	418,56	69,06
8	1,38	1,50	6,61	3,40	0,55	222,13	490,98	100,16
9	1,85	2,00	9,52	3,40	0,79	208,36	342,82	69,59

**Tabela 11:** Mediana e percentis 25 e 75 dos parâmetros farmacocinéticos calculados da metformina no plasma das oito gestantes com SOP e das nove gestantes com DM2.

Parâmetros	SOP	DM2
	(n= 8)	(n=9)
	Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)
$t_{1/2}$ (h)	3,75 (3,50-4,80)	4,00 (3,40-4,60)
$t_{max}$ (h)	2,00 (1,37-2,62)	3,00 (2,00-3,00)
$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,42 (0,74-1,72)	1,21 (0,81-1,38)
$AUC^{0-12}$ ( $\mu\text{g.h/mL}$ )	6,42 (4,52-9,68)	6,73 (4,80-9,52)
$C_{m\acute{e}dia}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,53 (0,38-0,81)	0,56 (0,40-0,79)
Flutuação (%)	179,56 (162,70-238,36)	181,73 (134,31-208,36)
Cl/f (L/h)	105,39 (68,88-152,90)	98,38 (69,59-138,09)
Vd/f (L)	550,51 (406,07-1037,08)	490,98(418,56-798,23 )

Teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ )

P25: Percentil 25

P75: Percentil 75

## *5. Discussão*

---

- **Característica da amostra**

Os grupos de pacientes incluídos no presente estudo, representados por gestantes com SOP e resistência insulínica e com DM 2, foram homogêneos em relação aos dados demográficos, antropométricos e clínicos analisados, como: idade materna, idade gestacional, realização de exames de pré-natal, peso, estatura e IMC, estes dados atestam que as variáveis antropométricas não influenciaram a farmacocinética da droga aqui analisada.

As pacientes com SOP e com DM2 apresentam peso e IMC acima dos valores preconizados, condições que muitas vezes estão associadas à ocorrência desta comorbidade. (PASQUALI *et al.*, 2000; BJERCKE *et al.*, 2002).

Os dados antropométricos podem influenciar a farmacocinética de drogas (HODGKISSON; HUSAIN, 1980). Contudo, nos grupos avaliados, apesar do aumento de peso e do IMC, essas características foram encontradas de maneira homogênea entre as pacientes, reduzindo a probabilidade de dúvidas em relação aos dados apresentados.

A mediana do Índice de QUICKI foi de 0,30 no grupo com SOP, lembrando que o critério de inclusão foi de paciente com SOP e resistência insulínica e todas as pacientes apresentaram Índice de QUICKI  $< 0,34$ . No grupo com DM2 a mediana de glicemia foi superior ao grupo com SOP, porém como a mediana da hemoglobina glicada foi menor que 6%, pode-se inferir que este grupo apresentava bom controle glicêmico pela utilização regular de metformina e insulina. Os parâmetros relativos a hemoglobina glicada e uso de insulina se referem-se ao momento mais próximo prévio a coleta. (TERTTI *et al.*, 2008).

O fato de ter sido encontrado proporção maior de primigestas no grupo SOP, deve-se a dificuldade que as mulheres apresentam para engravidar devido ao quadro de anovulação crônica. As pacientes com SOP, foram oriundas pacientes do ambulatório de endocrinologia ginecológica e estavam em uso de metformina, em busca de melhora da resistência insulínica e do retorno da ovulação, com melhora das taxas de fertilidade. Sabe-se que pacientes com

anovulação crônica e infertilidade, em uso de metformina no desejo de gestação, obtém retorno da ovulação e sucesso na fertilidade (SANTANA *et al.*, 2004). O grupo de gestantes com DM2, apresentou mediana de idade materna superior ao grupo com SOP, assim como maior prevalência de pacientes múltiparas. Estas características podem ser consideradas como próprias do grupo, já que não se tratavam de pacientes com alterações da fertilidade (BALANI *et al.*, 2009).

A metformina utilizada em pacientes com SOP durante a gestação tem se mostrado benéfica na redução das taxas de perdas gestacionais, ocorrência de diabetes gestacional e síndromes hipertensivas (GLUECK *et al.*, 2007 a, b). De acordo com os relatos da literatura, o tratamento com metformina reduz as altas taxas de perdas gestacionais e de desenvolvimento de diabetes gestacional nestas pacientes. Em nosso estudo não foram observados casos de aborto nem de diabetes gestacional. Por outro lado, foi observado incidência de 60% de casos de Síndromes Hipertensivas, que pode estar associado à SOP e ao sobrepeso das pacientes (DIAMANT *et al.*, 1982; VELAZQUEZ *et al.*, 1994; MIKOLA *et al.*, 2001; GLUECK *et al.*, 2002). Estes dados estes estão de acordo com o encontrado em recente metanálise sobre gestação em pacientes com SOP (BOOMSMA *et al.*, 2006). No grupo com DM2 o uso da metformina demonstrou auxílio para controle adequado da glicemia durante o pré-natal, demonstrado através da mediana da hemoglobina glicada de 5,8mg% e mediana de uso da insulina de 0,3U/kg/dia (CARLES *et al.*, 2010).

O aumento do *clearance* de creatinina pode ser atribuído ao sobrepeso apresentado pelas pacientes. O peso interfere na fórmula do cálculo do *clearance*, aumentando seu valor. Entretanto, o aumento do *clearance* estimado não prejudica a análise farmacocinética, visto que todas as pacientes apresentavam função renal normal. Estudos de farmacocinética durante a gestação evidenciam aumento do *clearance* de creatinina em função do aumento do volume

plasmático e conseqüentemente aumento do fluxo plasmático renal levando a aumento de *clearance* de creatinina (LITTLE *et al.*, 1999).

Em todas as pacientes do estudo foi analisada a concentração plasmática de albumina, e encontrado valor considerado normal. Ressalta-se, no entanto, que a metformina praticamente não se liga às proteínas plasmáticas.

Na avaliação do lipidograma, apesar de estarem em uso da metformina, apresentam quadro de dislipidemia. O quadro clínico de pacientes com resistência à insulina depende da habilidade do pâncreas para compensar a resistência à insulina dos tecidos periféricos. Essa resposta compensatória pode levar a várias conseqüências, por exemplo, hipertensão arterial, aumento dos níveis de triglicérides e diminuição dos níveis de HDL-colesterol e conseqüente aumento de risco cardiovascular. Este quadro pode apresentar melhora com uso de metformina, pois a mesma atua diminuindo a resistência periférica dos tecidos à insulina. No grupo DM2 o perfil lipêmico apresentou valores com melhor controle em virtude do uso crônico da metformina (HAFFNER *et al.*, 1992; DEFRONZO *et al.*, 1995).

Não foram observados casos de hipoglicemia neonatal e/ou outras intercorrências perinatais em nosso estudo, assim como nos demais relatados na literatura, o grupo DM2 apresentou mediana de peso ao nascer superior ao grupo com SOP, porém não evidenciando macrossomia fetal, reflexo do bom controle glicêmico durante o pré-natal. (GLUECK *et al.*, 2004; GLUECK *et al.*, 2007a; BALANI *et al.*, 2009).

- Análise Farmacocinética

Para a avaliação da farmacocinética da metformina, é necessário método analítico com capacidade de discriminação do fármaco nas amostras de plasma, com elevados graus de sensibilidade, precisão e exatidão. Esses requisitos necessários foram cumpridos nos ensaios realizados.

Existem muitos relatos na literatura sobre a farmacocinética da metformina, quando administrada via oral. Porém, os trabalhos são escassos quando os dados referentes a esse assunto tratam de populações de gestantes.

A recuperação da metformina plasmática foi avaliada por meio da comparação das áreas dos picos, obtidas após a extração do plasma, com as áreas dos picos, obtidas após a injeção direta da solução-padrão, com um valor médio de 76,9 %, sendo precisa e independente das concentrações. Os coeficientes de variação obtidos no estudo de precisão intra e interensaios para concentrações baixas e altas de metformina (0,02 e 4,5µg/mL) foram inferiores a 15%, assegurando a precisão dos resultados e preenchendo os rígidos critérios de aplicação do método em estudos clínicos de farmacocinética. As mesmas concentrações plasmáticas obtidas com desvios inferiores a 15% dos valores reais permitem inferir que o método foi exato.

Marques *et al.*, (2007), reportam a análise da metformina plasmática empregando LC- MS/MS (Cromatografia Líquida – Massa /Massa). Os autores relatam desproteinização com acetonila e empregam metoprolol como padrão interno. O limite de quantificação de 20µg/mL é similar ao encontrado no método desenvolvido e validado no presente trabalho (Tabela 6).

Com relação à análise da farmacocinética da metformina, vale ressaltar que se trata de uma biguanida hidrofílica eliminada por excreção renal (BAILEY, 1992; DUNN, 1995; SIRTORI, 1994). Estudos da farmacocinética da metformina têm sido realizados em indivíduos saudáveis e com diabetes, com via de administração oral e doses variadas (SCHEEN, 1996; SAMBOL *et al.*, 1996).

Os estudos com administração de dose única por via oral, em indivíduos saudáveis, foram realizados com doses de 500, 850, 1000 e 1500mg. Houve relação da concentração máxima com a dose de metformina administrada, sendo que na dose única de

850mg o Cmax foi de 1,5µg/mL (ARAFAT *et al*, 1994; SCHEEN, 1996). Em nosso estudo, com administração de 850mg de metformina, com intervalo de 12 horas, foi observado Cmax de 1,42µg/mL no grupo com SOP e 1,21µg/mL no grupo com DM2. Ao considerarmos que nosso estudo foi realizado em pacientes no terceiro trimestre de gestação, o Cmax encontrado, inferior ao observados em indivíduos saudáveis, se explica pelo aumento do volume de distribuição durante a gestação, com conseqüente diminuição da concentração máxima. Outro estudo realizado com administração de 850mg de metformina via oral, em dose única, em não gestantes, observou Cmax de 1,53µg/mL, valor superior ao observado durante a gestação (QAISI *et al.*, 2006). Os dados encontrados na literatura, para não gestantes, estão comparados com os nossos dados, em gestantes, na tabela 12. Não houve diferença no Cmax do grupo SOP versus DM2, demonstrando não influência da doença e do uso da insulina na farmacocinética da metformina na gestação.

O presente estudo revela resultado exclusivo do Cmax durante a gestação em grupo de gestantes com SOP e com DM2, com 850mg de metformina, via oral de 12/12h, e nos mostra ser abaixo dos valores descritos na literatura, para não gestantes. Avaliando farmacocinética durante o primeiro, segundo e terceiro trimestres da gestação na dose de 500mg via oral de 12/12h em gestantes com SOP, DM2 e diabetes gestacional, Eyal *et al*, (2010) encontraram Cmax de 1,13 µg/mL, semelhantes aos valores encontrados neste estudos para gestantes no terceiro trimestre como apresentado na tabela 13. Os dados apresentados neste estudo e os apresentados por Eyal *et al* (2010), trazem questionamentos da necessidade de aumento da dose terapêutica de metformina, durante a gestação, se a análise for baseada nos parâmetros farmacocinéticos. Porém, avaliando-se parâmetros clínicos, observou-se que as pacientes com SOP não desenvolveram diabetes gestacional e as pacientes com DM2 apresentaram bom controle glicêmico durante a gestação (EYAL *et al*, 2010).

**Tabela 12:** Parâmetros farmacocinéticos de trabalhos da literatura em pacientes não gestantes comparados com o presente estudo, em uso de metformina 850mg via oral de 12/12h.

<b>Parâmetro</b>	<b>Arafat <i>et al.</i>, 1994</b>	<b>Qaisi <i>et al.</i>, 2006</b>	<b>Gestantes com SOP</b>	<b>Gestantes com DM2</b>
<b>Dose (mg)</b>	850	850	<b>850</b>	<b>850</b>
<b>Via</b>	Oral	Oral	<b>Oral</b>	<b>Oral</b>
<b>Quantidade</b>	Única	Única	<b>12/12h</b>	<b>12/12h</b>
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	2,39	5,06	<b>3,75</b>	<b>4,00</b>
<b>t<sub>max</sub>(h)</b>	3,30	2,77	<b>2,00</b>	<b>3,00</b>
<b>C<sub>max</sub>(µg/mL)</b>	1,50	1,53	<b>1,42</b>	<b>1,21</b>
<b>AUC<sup>0-12</sup>(µg.h/mL)</b>	-	9,44 (AUC <sup>0-∞</sup> )	<b>6,42</b>	<b>6,73</b>
<b>C<sub>média</sub>(µg/mL)</b>	-	-	<b>0,53</b>	<b>0,56</b>
<b>Flutuação(%)</b>	-	-	<b>179,56</b>	<b>181,73</b>
<b>Cl/f(L/h)</b>	111,0	-	<b>105,39</b>	<b>98,38</b>
<b>Vd/f (L)</b>	380,00	-	<b>550,51</b>	<b>490,98</b>

**Tabela 13:** Parâmetros farmacocinéticos de trabalhos da literatura em pacientes gestantes terceiro trimestre em uso 500mg via oral de 12/12h comparados com o presente estudo em uso de metformina 850mg via oral de 12/12h.

Parâmetro	Eyal <i>et al</i> , 2010	Gestantes com SOP	Gestantes com DM2
Dose (mg)	500	850	850
Via	Oral	Oral	Oral
Quantidade	12/12h	12/12h	12/12h
t1/2 (h)	2,39	3,75	4,00
Tmax(h)	2,0	2,00	3,00
Cmax(µg/mL)	1,13	1,42	1,21
AUC <sup>0-12</sup> (µg.h/mL)	6,93	6,42	6,73
Cmédia(µg/mL)		0,53	0,56
Flutuação(%)		179,56	181,73
Cl/f(L/h)	111,9	105,39	98,38
Vd/f (L)	432,00	550,51	490,98

Os parâmetros farmacocinéticos da metformina, com diferentes doses de administração única por via oral foram descritos por poucos autores. Dentre eles, o estudo de Marques *et al.*, (2007), com administração de 850mg de metformina via oral, encontrou Cmax de 1,67µg/mL e o estudo de Wang *et al.*, (2004) administrando 500mg via oral demonstrou Cmax 0,79µg/mL (WANG *et al.*, 2004; MARQUES *et al.*, 2007). O Cmax encontrado em nosso estudo, com dose de 850mg via oral, está dentro dos parâmetros da literatura e, quando comparado a três estudos com administração via oral de 850mg de metformina, encontramos o Cmax diminuído durante a gestação, provavelmente por aumento do volume de distribuição e aumento do *clearance*, uma vez que a metformina apresenta alta taxa de excreção renal e

encontramos valores semelhantes ao grupo de gestantes estudados por EYAL *et al*, (2010) na dose de 500mg via oral de 12/12h.

A concentração média da metformina em plasma foi de 0,56µg/mL no grupo com SOP e 0,53µg/mL no grupo com DM2, demonstrando que a mesma esteve cerca de 50% da concentração máxima. Os achados da concentração média demonstram resultados exclusivos na literatura e representam estabilidade da concentração da droga quando administrada em intervalo de dose de 12 horas. Provavelmente deve haver queda na concentração média da metformina, em gestantes, em relação a não gestantes, por aumento do volume de distribuição atribuído à gestação.

O tempo (t<sub>max</sub>) para atingir a concentração máxima foi de 2,00h para o grupo com SOP e 3,00h para o grupo com DM2, e estes resultados podem ser comparado ao de Scheen, (1996) com t<sub>max</sub> de 3,30h e Qaisi *et al*, (2006) de 2,77h. Porém, em nosso estudo o t<sub>max</sub> foi calculado com a paciente em regime de múltiplas doses e a avaliação por intervalo de dose. Apesar disto, os valores do t<sub>max</sub> para a dose de 850mg via oral, única ou em múltiplas doses (12/12h) são semelhantes e comparáveis, demonstrando que o mesmo não se altera em regime de dose seqüencial e durante a gestação com apresentado na tabela 12 (SCHEEN, 1996; QAISI, 2006).

No estudo realizado em gestante por Eyal *et al* (2010), observou-se t<sub>max</sub> de 2,00h para o grupo estudado no terceiro trimestre em uso de metformina 500mg via oral de 12/12h. Esses resultados são comparáveis aos apresentados neste estudo para as pacientes com SOP e com DM2 em uso de metformina 850mg via oral de 12/12h, como apresentado na tabela 13.

Estudos que descrevem a metodologia da quantificação da metformina em plasma apresentam os parâmetros farmacocinéticos com diferentes doses de administração única por via oral. Dentre eles, o estudo de Marques *et al.*, (2007) com 850mg via oral encontrou t<sub>max</sub> de 3,89h e o estudo de Wang *et al.*, (2004) administrando 500mg de metformina via oral teve

t<sub>max</sub> de 2,4h. (WANG *et al.*, 2004; MARQUES *et al.*, 2007). O valores de t<sub>max</sub> encontrados em nosso estudo está dentro dos parâmetros esperados para administração de metformina por via oral. Chen *et al.*, (2004) encontraram t<sub>max</sub> de 2,5h para administração de 500mg via oral de metformina, em voluntários sadios (CHEN *et al.*, 2004).

As curvas da mediana, percentil 25 e percentil 75 das concentrações plasmáticas em função do tempo apresentaram-se estáveis no intervalo de dose, atingindo a concentração máxima no tempo 2,5horas após a administração da droga e a concentração máxima atingida foi de 1,65µg/mL no grupo SOP e cerca de 4,00h no grupo DM2 com concentração máxima de 1,37µg/mL. Não houve grandes variações das concentrações plasmáticas em cada momento coletado, observando a pequena variação entre a mediana e o P25 e P75. Os dados apresentados demonstram estabilidade da concentração plasmática, na administração de metformina de 850mg via oral, por intervalo de dose de 12 horas.

A meia-vida de eliminação da metformina no nosso estudo foi de 3,75h no grupo SOP e 4,00h no grupo DM2 sem diferença estatística entre os grupos, enquanto outros estudos da literatura, com administração de 850mg oral em dose única, encontraram 2,39h (ARAFAT *et al.*, 1994) e 5,06h (QAISI *et al.*, 2006), ambos os estudos em voluntários sadios em idade adulta. Nos estudos de validação da metodologia de análise da metformina plasmática, Wang *et al.*, (2004) encontraram meia-vida de 5,6h, com administração de 500mg de metformina por via oral em voluntários sadios. Chen *et al.*, (2004), em condições semelhantes, encontraram 5,2h para a meia-vida de eliminação (ARAFAT *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2004; QAISI *et al.*, 2006).

No estudo em gestantes conduzido por Eyal *et al.*, (2010), os autores encontraram meia vida de 4,3h em gestantes no terceiro trimestre na dose de 500mg via oral de 12/12h semelhante ao encontrados no presente estudo para ambos os grupos, como apresentado na tabela 13.

Na gestação, ocorre diminuição da meia-vida de eliminação para a maioria das drogas, por aumento da distribuição dos fármacos (LITTLE, 1997). No nosso estudo a meia-vida de eliminação foi menor quando comparada à literatura, pois este estudo se diferencia por avaliar a meia-vida por intervalo de dose e os outros por dose única oral e, trata-se do único estudo com avaliação durante a gestação nesta dose e em pacientes com SOP e DM2. Nessas condições, encontramos uma mediana de meia-vida de eliminação de 3,75 e 4,0h, respectivamente, estando esses dados abaixo dos parâmetros da literatura para indivíduos voluntários sadios, com valores aceitáveis e que podem ser aplicados para a avaliação farmacocinética em gestantes como demonstrado no estudo de Eyal *et al*, (2010).

Little (1999), em revisão de literatura a respeito de farmacocinética de drogas na gestação, conclui que há tendência de diminuição do parâmetro nessa circunstância, porém, poucos dados são reportados. Neste estudo, a mediana da  $AUC^{0-12}$  calculada no intervalo de dose de 12h foi de 6,42 $\mu$ g.h/mL para o grupo SOP e de 6,73 $\mu$ g.h/mL para o grupo DM2 sem diferença entre os grupos. Estudo conduzido por Qaisi *et al*, (2006) em voluntários sadios adultos, com administração de 850mg de metformina via oral em dose única, encontraram mediana da  $AUC^{0-\infty}$  de 9,44 $\mu$ g.h/mL. Fato que demonstra que os valores em nosso estudo estão diminuídos, devido à gestação, provavelmente em função do aumento do *clearance* da droga, em consequência do aumento do fluxo plasmático renal e excreção da metformina por via renal. (QAISI *et al*, 2006). Wang *et al*, (2004), com administração de 500mg por via oral, em voluntários sadios, encontraram  $AUC^{0-\infty}$  de 5,87 $\mu$ g.h/mL, valor pouco menor que nosso estudo, porém com dose significativamente menor (WANG *et al*, 2004).

Em estudos realizados durante a gestação no terceiro trimestre e com as mesmas pacientes durante o puerpério, Hughes *et al*, (2006), avaliaram a AUC de 0-4h e de 0-8h para mulheres com diabetes do tipo II apresentando *clearance* de creatinina normal, em uso de 850mg via oral de 12/12horas. Os valores encontrados foram  $AUC^{0-4}$  e  $AUC^{0-8}$  de

3,12 $\mu\text{g.h/mL}$  e 5,06 $\mu\text{g.h/mL}$  durante a gestação e  $\text{AUC}^{0-4}$  e  $\text{AUC}^{0-8}$  de 5,20 $\mu\text{g.h/mL}$  e 8,4 $\mu\text{g.h/mL}$ , no puerpério tardio, demonstrando que há diminuição significativa da AUC durante a gestação. A crítica deste estudo é que apenas uma paciente foi avaliada com este regime de administração da droga. Comparando a  $\text{AUC}^{0-8}$  (5,06 $\mu\text{g.h/mL}$ ) encontrada no estudo de Hughes *et al*, (2006), o valor encontrado em nosso estudo para a mediana da  $\text{AUC}^{0-12}$  (6,42  $\mu\text{g.h/mL}$  e 6,73  $\mu\text{g.h/mL}$ ) em pacientes com SOP e DM2 respectivamente, no terceiro trimestre da gestação, considera-se que os valores são compatíveis, principalmente porque em nosso estudo, a avaliação da AUC foi de 0-12h, com valor discretamente maior. (HUGHES *et al*, 2006).

No estudo de gestante com SOP, DM2 e DMG em uso de 500mg de metformina por via oral de 12/12h no primeiro, segundo e terceiro trimestre da gestação, Eyal *et al* (2010) encontraram  $\text{AUC}^{0-12}$  6,54  $\mu\text{g.h/mL}$ , 6,14  $\mu\text{g.h/mL}$  e 6,93  $\mu\text{g.h/mL}$  nos períodos respectivos da gestação. Esses valores são semelhantes aos encontrados neste estudo para ambos os grupos de pacientes e inferiores aos encontrados para voluntários saudáveis (EYAL *et al*, 2010).

O volume de distribuição (Vd/f) e o *clearance* (Cl/f) são parâmetros farmacocinéticos dependentes da dose administrada do fármaco. A dose administrada que participa da equação para cálculo desses parâmetros, o Vd/f e Cl/f são dependentes da biodisponibilidade da metformina, quando administrada pela via oral. A biodisponibilidade corresponde à fração da dose que atinge a circulação sistêmica de forma inalterada, informação que não é disponível para a metformina aplicada via oral em gestantes.

A mediana do Cl/f foi de 105L/h para o grupo SOP e de 98L/h para o grupo DM2 e do Vd/f foi de 550L para o grupo SOP e de 490L para o grupo DM2, sem diferença entre os grupos para estes parâmetros, com administração de 850mg via oral de 12/12h, em gestantes no terceiro trimestre da gestação. Na literatura, a avaliação destes parâmetros são encontrados

no estudo de Arafat *et al*, (1994), com administração de 850mg via oral de metformina em dose única, em voluntários saudáveis, com Cl/f de 72,00L/h e Vd/f de 380L. Os parâmetros de Cl/f e Vd/f estão aumentados em nosso estudo em relação a voluntários saudáveis, e este fato pode ser explicado pelas modificações fisiológicas da gestação que alteram a farmacocinética, principalmente no terceiro trimestre. Estudo de farmacocinética, em quatro pacientes, avaliando o *clearance* e o volume de distribuição da metformina durante a gestação, na dose de 500mg via oral de 12/12h no terceiro trimestre encontraram valores de *Clearance* de 111,9L/h e de Volume de Distribuição de 432L, sendo esses valores semelhantes e comparáveis aos apresentados neste estudo (EYAL *et al*, 2010). É importante ressaltar que a presente avaliação foi realizada em grupos distintos com SOP e com DM2 e apresentou número de pacientes significativamente maior para cada grupo.

Os parâmetros Vd/f e Cl/f sofrem alteração em função das modificações gravídicas. O Vd/f de algumas drogas pode estar aumentado em até 50% durante a gestação, como resultado da expansão do volume plasmático e pela presença de um novo compartimento representado pelo feto e seus anexos. A perfusão útero-placentária no termo atinge de 36 a 42 L/h, sendo 80% para a placenta e 20% para o miométrio. A média do aumento do volume de líquido corporal é de 8L, sendo 60% destes distribuídos entre placenta, feto e líquido amniótico e 40% para os tecidos maternos (LOEBSTEIN *et al.*, 1997). Na avaliação do Cl/f, a gestação promove indução enzimática, secundária à ação da progesterona. Ocorre também aumento da eliminação renal da droga em função do aumento do fluxo plasmático renal (25 a 50%) e do aumento da taxa de filtração glomerular (50%), principalmente para a metformina, que é uma droga de excreção predominantemente renal.

O parâmetro de farmacocinética de flutuação é exclusivo neste estudo, 179% no grupo SOP e 181% no grupo DM2 e o valor encontrado representa a estabilidade dos níveis plasmáticos da droga no intervalo de tempo estudado. A extensão da flutuação no estado de

equilíbrio depende da meia-vida de eliminação e do intervalo de dose. Quanto mais prolongada a meia-vida e menor o intervalo de dose, menor será a flutuação entre a concentração plasmática máxima e mínima no estado de equilíbrio.

- Influência da DM2 na farmacocinética da metformina

O DM pode alterar a disposição cinética e o metabolismo de fármacos, dependendo do tipo e tempo de evolução da doença, assim como da droga investigada e de suas vias metabólicas e de excreção. O DM pode alterar a absorção gastrointestinal, a distribuição, o metabolismo e a excreção renal dos medicamentos. O trânsito intestinal pode estar lentificado em até 30% dos pacientes diabéticos. A ligação dos fármacos às proteínas plasmáticas pode estar alterada nessa condição, devido à elevada concentração de ácidos graxos livres e proteínas glicosiladas, provocando mudanças na distribuição e eliminação dos substratos (PRESTON et al., 2001). Dependendo do estágio da nefropatia diabética, a velocidade de filtração glomerular pode estar aumentada, normal ou diminuída. Anormalidades na secreção tubular renal podem alterar o *clearance* renal de alguns fármacos (PRESTON; EPSTEIN, 1999).

A influência do DM2 na disposição cinética e no metabolismo de fármacos utilizados na prática clínica ainda é assunto sem avaliação aprofundada na literatura. Não se encontram relatos completos na literatura sobre a influência dessa doença na farmacocinética de hipoglicemiantes orais, sobretudo a metformina.

Deve-se lembrar que durante a gravidez, o metabolismo hepático das drogas pode estar aumentado, diminuído ou permanecer inalterado, dependendo da droga e de sua via de metabolização, alterando assim o *clearance* da droga avaliada. O sistema enzimático do citocromo P450 (CYP), que compreende uma superfamília multi-gênica de enzimas, é subdividido em três famílias principais de isoenzimas (CYP1, CYP2 e CYP3), sendo que o diabetes *mellitus* ativa este sistema alterando o metabolismo dos fármacos de passagem e hepática.

A atividade da CYP3A4 pode ser alterada por fatores endógenos, tais como alterações hepáticas, doenças metabólicas, tais como o DM, ou por fatores exógenos, como a administração de drogas. Sua atividade metabólica é induzida *in vivo* por corticosteróides (dexametasona), anticonvulsivantes (carbamazepina, fenitoína e fenobarbital) e antimicrobianos (rifampicina) e pode ser inibida pela claritromicina, eritromicina, troleandomicina, gestodeno, ritonavir, fluvoxamina (WILDT *et al.*, 1999).

Estudos clínicos e experimentais têm mostrado que o DM pode resultar em alterações na atividade de diversas enzimas, dentre as quais do sistema citocromo P450 (CYP), provocando modificações na expressão de suas isoformas, suprimindo-as ou ativando-as com conseqüentes mudanças no metabolismo de fármacos dependentes da função deste sistema (MARQUES *et al.*, 2002).

A metformina representa droga lenta e incompletamente absorvida pelo trato gastrointestinal. A biodisponibilidade absoluta de uma dose única de 500mg é reportada em torno de 50 a 60%, embora ainda possa estar reduzida na presença de alimentos. Após absorção, sua ligação a proteínas plasmáticas é mínima, e ela é excretada inalterada na urina. Sua meia-vida é em torno de 2 a 6 horas após a administração oral (Wang *et al.*, 2004). Portanto esta droga não apresenta metabolismo hepático e o uso da insulina, alterando a atividade da CYP3A4, não afeta a farmacocinética da metformina neste grupo de pacientes. Por outro lado, a metformina apresenta predominante excreção renal e o diabetes *mellitus* tipo 2 pode alterar a função renal. Como o grupo de pacientes com a doença neste estudo é formado por pacientes jovens que não apresentam comprometimento da função renal, que pode ser comprovado pelo *clearance* de creatinina com valores medianos de 200mL/min, não houve interferência na farmacocinética da metformina quando comparado ao grupo de pacientes com SOP (Rowan *et al.*, 2010)

## ***6. Conclusões***

---

- Neste estudo, a mediana da concentração máxima ( $C_{max}$ ) da metformina plasmática não diferiu entre os grupos, sendo comparáveis ao grupo de gestantes na literatura e com valor inferior ao encontrado na administração de 850mg por via oral para voluntários sadios.
- O  $t_{max}$  foi de 2,00h no grupo SOP e 3,00h no grupo DM2 sem diferença entre os grupos, sendo comparáveis ao grupo de gestantes na literatura e diminuído em relação aos voluntários saudáveis.
- A meia vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) foi de 3,75h para o grupo SOP e 4,00h para grupo DM2 sem diferença entre os grupos, compatível com os dados farmacocinéticos encontrados na literatura.
- A  $AUC^{0-12}$  foi de 6,42 $\mu$ g.h/mL no grupo com SOP e de 6,73 $\mu$ g.h/mL, sem diferença entre os grupos, comparáveis aos parâmetros de gestantes na literatura e diminuída em relação ao grupo de voluntários sadios, devido ao aumento do *clearance* da droga na gestação, salientado que a metformina é uma droga de excreção essencialmente renal.
- O *clearance* ( $Cl/f$ ) foi de 105L/h para o grupo SOP e 98L/h para o grupo DM2 e o volume de distribuição ( $V_d/f$ ) de 550L para o grupo SOP e 490L para o grupo DM2, sem diferença entre os grupos, comparáveis aos dados da literatura para gestantes e mostraram-se aumentados pelas modificações fisiológicas da gestação.
- A farmacocinética da metformina nas gestantes estudadas demonstrou parâmetros semelhantes aos encontrados na literatura. O diabetes *mellitus* tipo 2 não influenciou a farmacocinética da droga, sendo as mudanças em relação ao voluntários sadios compatíveis com as modificações fisiológicas das gestação.

## 7. Referências<sup>\*</sup>

---

---

<sup>\*</sup> Modelo de referências de acordo com:  
*International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Style) – Grupo Vancouver*

- Aburuz S, Millership J, McElnay J. The development and validation of liquid chromatography method for the simultaneous determination of metformin and glipizide, gliclazide, glibenclamide or glimiperide in plasma. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005; Mar 25; 817(2):277-86.
- Arafat t, Kaddoumi A, Shami M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two oral formulations of metformina hydrochloride. *Adv Ther* 1944; 11: 21-33.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Treatment of hypertension in adults with diabetes. *Diab Care*, v 25, n. 1, p. S71-73, 2002.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Gestacional Diabetes Mellitus. *Diab, Care*, v. 23, n.1, p.577-579, 2000.
- Archard C, Thiers J. Le virilisme pileire et son association a l'insuffisance glycolytique (Diabete des femme a barbe). *Bull Acad Natl Med*, 1921; 86: 51.
- Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care*, 1992; 15: 755-72.
- Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med*, 1996; 334: 574-9.
- Balani J, Hyer SL, Rodin DA, Shehata H. Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes treated with metformin or insulin: a case-control study. *Diabet Med*. 2009 Aug; 26(8): 798-802.
- Balen AH, Tan SL, MacDougall J and Jacobs HS. Miscarriage rates following in vitro fertilization are increased in women with polycystic ovaries and reduced by pituitary desensitization with busserelin. *Hum Reprod*, 1993; 8: 959-964.
- Barbieri RL, Ryan KJ. Hyperandrogenism, insulin resistance, and acanthosis nigricans syndrome: a common endocrinopathy with distinct pathophysiologic features. *Am J Obstet Gynecol*, 1983; 147: 90-101.
- Begum MR, Khanam NN, Quadir E, Ferdous J, Begum MS, Khan F, Begum A. Prevention of gestational diabetes mellitus by continuing metformin therapy throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Res*. 2009 Apr;35(2):282-6.
- Bjercke S, Dale PO, Tanbo T, Storeng R, Ertzeid G and Abyholm T. Impact of insulin resistance on pregnancy complications and outcome in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Invest*, 2002; 54: 94-98.

- Bolton S, Cleary B, Walsh J, Dempsey E, Turner MJ. Continuation of metformin in the first trimester of women with polycystic ovarian syndrome is not associated with increased perinatal morbidity. *Eur J Pediatr*. 2009 Feb;168(2):203-6.
- Boomsma CM, Eijkemans MJC, Hughes EG, Visser GHA, Fauser BCJM and Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update*, 2006; 12 (6): 673-83.
- Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;50:113-6.
- Calderon IMP, Kerche LTRL, Damasceno DC, Rudge MVC. Diabetes and Pregnancy: an Update of the Problem. *ARBS Annu Rev Biomed Sci* 2007;9:1-11.
- Carles G, Germain L, Alassas N, El Guindi W, Dallah F, Daigre JL. Treatment of gestational diabetes with oral hypoglycemic agents. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2010 Apr; 39(2):139-43.
- Chen X, Gu Q, Qiu F, Zhong D. Rapid determination of metformin in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004; Apr 5; 802(2): 377-81.
- Clifford K, Rai R, Watson H and Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod*, 1994; 9: 1328-1332.
- Cox SM, Werner CL, Hoffamn BL, Cunningham FG. *Williams Obstetrics* (2005), 22nd edition, Editors: Hardcover.
- Dakers JM, Boulton W, Fawcett, JP. Sensitive chiral high-performance liquid chromatographic assay for labetalol in biological fluids. *Journal of Chromatography B*, 1997, 704, 215-230.
- DeFronzo RA, Goodman AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med*, 1995; 333: 541-9.
- Dominguez LJ, Davidoff AJ, Srinivas PR, Standley PR, Walsh MF, Sowers JR. Effects of metformin on tyrosine kinase activity, glucose transport, and intracellular calcium in rat vascular smooth muscle. *Endocrinology*, 1996; 137: 113-21.

- Ermani J, Passuto F M, Jamali F. Effect of experimental diabetes mellitus and arthritis on the pharmacokinetics of hydroxychloroquine enantiomers in rats. *Pharma, Re*, 1998, 15, 6: 897-903.
- Eyal S, Easterling TR, Carr D, Umans JG, Miodovnik M, Hankins GD, Clark SM, Risler L, Wang J, Kelly EJ, Shen DD, Hebert MF. Pharmacokinetics of metformin during pregnancy. *Drug Metab Dispos*. 2010 May;38(5):833-40.
- Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM, Greer IA and Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87: 569-574.
- Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*, 1995, 28;333(13):853-61.
- Glueck CJ, Bornovali S, Pranikoff J, Goldenberg N, Dharashivkar S and Wang P. Metformin, pre-eclampsia, and pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetic Medicine*, 2004; 21: 829-836.
- Glueck CJ, Goldenberg N, Pranikoff J, Loftspring M, Sieve L and Wang P. Height, weight, and motor-social development during the first 18 months of life in 126 infants born to 109 mothers with polycystic ovary syndrome who conceived on and continued metformin through pregnancy. *Human Reprod*, 2004a; 19: 1323-1330.
- Glueck CJ, Goldenberg N, Wang P, Loftspring M and Sherman A. Metformin during pregnancy reduces insulin, insulin resistance, insulin secretion, weight, testosterone and development of gestational diabetes: prospective longitudinal assessment of women with polycystic ovary syndrome from preconception throughout pregnancy. *Human Reprod*, 2004b; 19: 510-521.
- Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L and Wang P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertil Steril*, 2001; 75: 46-52.
- Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes*, 1992; 41: 715-22.
- Hale T, Kristensen J, Hackett L, Kohan R, Ilett K. Transfer of metformin into human milk. *Adv Exp Med Biol*, 2004; 554: 435-6.

- Homburg R, Armar NA, Eshel A, Adams J and Jacobs HS. Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *Br Med J*, 1988; 297: 1024-1026.
- Hughes RC, Gardiner SJ, Begg EJ, Zhang M. Effect of pregnancy on the pharmacokinetics of metformin. *Diabet Med*. 2006; Mar; 23(3): 323-6.
- Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA and Nestler JE. Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87: 524-529.
- Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med*, 2002; 137: 25-33.
- Lanzone A, Fulghesu AM, Cucinelli F, Guido M, Pavone V, Caruso A and Mancuso S. Preconceptional and gestational evaluation of insulin secretion in patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 1996; 11: 2382-86.
- Little BB. Pharmacokinetics during pregnancy: Evidence – based maternal dose formulation. *Obstet Gynecol*, 1999; 93: 858-68.
- Loebstein R, Lalkin A, Koren G. Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin Pharmacokinet*. 1997; 33: 328-43.
- Martindale. The complete drug reference. Thirty-third edition, 2002.
- Mikola M, Hiilesman V, Halttunen M, Suhonen L and Tiitnen A. Obstetric outcome in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*, 2001; 16: 226-229.
- Moggetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 139-146.
- Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Ruokonen A and Martikainen HK. Metformin therapy improves the menstrual pattern with minimal endocrine and metabolic effects in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 1998; 69: 691-696.
- Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK, Tapanainen JS. Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone

- acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 3161-8.
- Nathan DM, Meigs J, Singer DE. The epidemiology of cardiovascular disease in type 2 Diabetes Mellitus: how sweet it is or is it? *The Lancet*, 1997, 350, 1: 4-9.
- Nestler JE and Jakubowicz DJ (1997). Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 alpha activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 4075-4079.
- Nicholson W, Bolen S, Witkop CT, Neale D, Wilson L, Bass E. Benefits and risks of oral diabetes agents compared with insulin in women with gestational diabetes: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2009 Jan;113(1):193-205.
- Paglia MJ, Coustan DR. The use of oral antidiabetic medications in gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2009 Aug;9(4):287-90.
- Pasanen M, Pelkonen O. Human placental xenobiotic and steroid biotransformations catalyzed by cytochrome P450, epoxide hidrolase, and glutathione s-transferase activities and their relationships to maternal cigarette smoking. *Drug Metab Ver*, 1990; 21: 427-46.
- Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85: 2767-2774.
- Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr Rev*. 1999; 20:535-82
- Preston RA, Chung M, Gaffney M, Alonso A, Baltodano NM, Epstein M. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine in hypertensive patients with and without type II diabetes mellitus. *J Clin Pharmacol*, 2001 Nov;41(11):1215-24.
- Preston RA, Epstein M. Effects of diabetes on cardiovascular drug metabolism, Emerging clinical implications. *Diabetes Care*, 1999 Jun;22(6):982-8.
- Qaisi AM, Tutunji, MF, Sahouri, CA. Determination of metformina in human plasma using normal phase high performance liquid chromatography. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2006; 14 (2): 108-14.

- Radon PA, McMahon MJ and Meyer WR. Impaired glucose tolerance in pregnant women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 1999; 94: 194-197.
- Ratner RE, Christophi CA, Metzger BE, Dabelea D, Bennett PH, Pi-Sunyer X, Fowler S, Kahn SE; Diabetes Prevention Program Research Group. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Dec;93(12):4774-9.
- Regan L, Owen EJ and Jacobs HS. Hypersecretion of luteinising hormone, infertility, and miscarriage. *Lancet*, 1990; 336: 1141-1144.
- Reis RM, Rosa e Silva ACJS, Navarro PAAS, Sa MFS e Ferriani RA. *Protocolos de Conduta em Infertilidade Conjugal – Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – 1ª edição (2004) Cap. 04: 27-48.*
- Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP; MiG Trial Investigators. Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes. *N Engl J Med*. 2008 May 8;358(19):2003-15. Erratum in: *N Engl J Med*. 2008 Jul 3;359(1):106.
- Rowan JA, Gao W, Hague WM, McIntyre HD. Glycemia and its relationship to outcomes in the metformin in gestational diabetes trial. *Diabetes Care*. 2010 Jan;33(1):9-16.
- Scheen AJ. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*. 1996 May; 30(5): 359-71.
- Santana LF, Silva de Sá MF, Ferriani RA, de Moura MD, Foss MC and dos Reis RM. Effect of metformin on the clinical and metabolic assessment of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2004 Aug; 19 (2): 88-96.
- Schachter M, Raziel A, Friedler S, Strassburger D, Bern O and Ron-El R (2003). Insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome is associated with elevated plasma homocysteine. *Human Reprod*, 2003; 18: 721-727.
- Speroff L, Glass RH, Kase, NG. Anovulação e o ovário policístico. In: SPEROFF L, (editor), *Endocrinologia Ginecológica Clínica e Infertilidade*. São Paulo: Manole Ltda; 1995, p. 477-502.
- Spichler ERS, Spichler D, Martins, CSF. Diabetic lower extremities amputation. *Diabetologia*, 1998, 41, A279: 90-96.

- Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*, 1935; 19: 181.
- Sulkin TV, Bosman D, Krentz AJ. Contraindications to metformin therapy in patients with NIDDM. *Diabetes Care*, 1997; 20: 925-8.
- Terti K, Ekblad U, Vahlberg T, Rönnemaa T. Comparison of metformin and insulin in the treatment of gestational diabetes: a retrospective, case-control study. *Rev Diabet Stud*. 2008 Summer;5(2):95-101.
- Tulppala M, Stenman UH, Cacciatore B and Ylikorkala O (1993). Polycystic ovaries and levels of gonadotrophins and androgens in recurrent miscarriage: prospective study in 50 women. *Br J Obstet Gynecol*, 1993; 100: 348-352.
- Unluhizarci K, Kelestimur F, Bayram F, Sahin Y, Tutus A. The effects of metformin on insulin resistance and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*, 1999; 51: 231-6.
- Velazquez E, Acosta A and Mendoza SG. Menstrual cyclicity after metformin therapy in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 1997; 90: 392-395.
- Wiernsperger NF, Bailey CJ. The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs* 1999;58 Suppl 1: 31-9; discussion 75-82.
- Wang Y, Tang Y, Gu J, Fawcett JP, Bai X. Rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantitation of metformin in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004; Sep 5; 808(2): 215-9.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation, Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 1999.
- Wortsman J, de Angeles S, Futterweit W, Singh KB and Kaufmann RC (1991). Gestational diabetes and neonatal macrosomia in the polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med*, 1991; 36: 659-661.

*Anexos*

---

Anexo A: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto



www.hcrp.fmrp.usp.br



Ribeirão Preto, 14 de maio de 2008

Ofício nº 1662/2008  
CEP/SPC

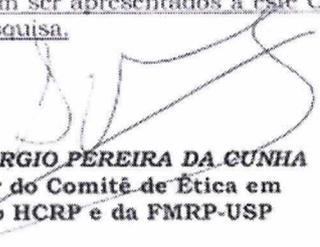
**Prezados Senhores,**

O trabalho intitulado **"FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TRANSPLENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS E COM DIABETES MELLITUS TIPO 2"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 266ª Reunião Ordinária realizada em 12/05/2008, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 4564/2008.

*Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (ICH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.*

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

  
**PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA**  
Coordenador do Comitê de Ética em  
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores  
**PROF. DR. RICARDO DE CARVALHO CAVALLI**  
**CLÁUDIA DE OLIVEIRA BARALDI (Aluna)**  
Depto. de Ginecologia e Obstetria

Anexo B: Termo de consentimento livre e esclarecido

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Projeto: **FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TRANSPLACENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS E COM *DIABETES MELLITUS* TIPO 2**

Nome Pesquisador: Cláudia de Oliveira Baraldi

CRM 104644-Pós-graduanda do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia,

Nome da paciente: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ anos Registro HC-FMRP: \_\_\_\_\_

O estudo implica em que eu me submeto aos procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados, conforme texto a seguir:

“A senhora está sendo acompanhada durante o pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas, e está fazendo uso da metformina, medicação de interesse em nosso estudo, O objetivo deste trabalho é avaliar a quantidade destes medicamentos no seu organismo e se são transferidos para o seu filho (a) através da placenta, Necessitamos obter sangue para realização de exames que avaliam a função de órgãos do seu organismo, relacionados com o metabolismo destes medicamentos, e para dosagem do agente citado,

Necessitamos também coletar uma amostra do sangue do cordão umbilical, após nascimento do seu filho (a) para dosar a quantidade destes medicamentos presente no mesmo, O único

inconveniente desta pesquisa será de a picada da agulha para aplicação de uma via de acesso venosa para a coleta das amostras, “A pesquisa não interferirá na conduta clínica a ser conduzida no caso da senhora,”

Os objetivos e detalhes deste estudo foram explicados, Eu entendo que não sou obrigada a participar do estudo e que posso desistir de continuar nele a qualquer momento, sem que isso prejudique meu atendimento médico, Meu nome não será utilizado nos documentos deste estudo e os meus registros médicos serão confidenciais, Eu concordo em participar do estudo e cooperar com o médico durante o mesmo,

Contatos com os pesquisadores

Cláudia de Oliveira Baraldi

CRM 104644-Pós-graduanda do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia,

Telefone : 3062-2804

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP

Ricardo de Carvalho Cavalli

CRM 91680-Orientador do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia,

Telefone: 3062-2588

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP

Ribeirão Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2008

Nome da paciente: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_ CRM \_\_\_\_\_

Testemunha \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_