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

GRAZIELLE DE FÁTIMA PINTO RODRIGUES

**Farmacocinética e análise da distribuição placentária da
betametasona em gestações gemelares**

**Ribeirão Preto
2020**

GRAZIELLE DE FÁTIMA PINTO RODRIGUES

**Farmacocinética e análise da distribuição placentária da
betametasona em gestações gemelares**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto/USP para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Área de Concentração: Ginecologia
e Obstetrícia
Opção: Biologia da Reprodução

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra
Cristina Marcolin

Ribeirão Preto

2020

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.

Rodrigues, Grazielle de Fátima Pinto

Farmacocinética e análise da distribuição placentária da betametasona em gestações gemelares. Ribeirão Preto, 2020.

92 p. : il. ; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia - Opção: Biologia da Reprodução

Orientadora: Marcolin, Alessandra Cristina.

1. Gemelaridade.
2. Corticoterapia antenatal.
3. Betametasona.
4. Farmacocinética.
5. Transferência placentária.

FOLHA DE APROVAÇÃO

RODRIGUES, Grazielle de Fátima Pinto

Farmacocinética e análise da distribuição placentária da betametasona em gestações gemelares.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia
Opção: Biologia da Reprodução.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

À minha família, pelo carinho, dedicação e
paciência. Por todo o apoio e por não me
deixar desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em sua infinita bondade, me abençoa, sempre colocando em meu caminho pessoas de bem, a favor da vida e de um mundo melhor.

À minha orientadora Profa. Dra. Alessandra Cristina Marcolin, que me acolheu com carinho, por seus ensinamentos e orientação, por sua dedicação ao ensino, pela confiança em mim depositada e pelas discussões fundamentais para a realização desta pesquisa.

À Profa. Dra. Vera Lucia Lanchote, por me receber em seu laboratório, pela sua orientação e auxílio essencial na realização desta pesquisa.

Ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (DGO-FMRP-USP): docentes, médicos assistentes, médicos residentes, equipe de enfermagem e funcionários do centro obstétrico, ambulatório de medicina fetal e da enfermaria de gestantes do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, pela contribuição inenarrável no desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia pelo apoio e disposição em me auxiliar durante todo o processo do mestrado.

À Dra. Maria Paula Marques Pereira e Dra. Adriana Rocha, especialistas de laboratório do Laboratório de Farmacocinética Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, pela paciência, empenho e suporte constante nos ensinamentos das técnicas analíticas e da farmacocinética.

Aos colegas do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacocinética Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo: Dra. Fernanda de Lima Moreira, Dr. Glauco Henrique Balthazar Nardotto, Me. Jhohann Richard de Lima Benzi, Dra. Juciene Aparecida Caris, Me. Leandro Francisco Pippa e Dra. Roberta Natália Cestari, pela amizade, discussões científicas e constante troca de conhecimentos.

Aos meus amigos que sempre torceram pelos meus sonhos e aos que a pós-graduação me presenteou. Por se fazerem presentes, ouvindo com carinho, trazendo palavras de incentivo e força para enfrentar os desafios da pós-graduação e da vida.

Às pacientes que aceitaram voluntariamente a participar desta pesquisa. São contribuições e histórias que sempre levarei comigo.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) processo número 2017/19256-6 pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela bolsa de estudo por meio do Programa de Excelência Acadêmica (PROEX).

“Quem elegeu a busca, não pode recusar a travessia.”

João Guimarães Rosa

RESUMO

RODRIGUES, G.F.P. **Farmacocinética e análise da distribuição placentária da betametasona em gestações gemelares.** 2020. 92f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

As gestações múltiplas estão associadas a altas taxas de morbimortalidade perinatal relacionadas à prematuridade. Nas gestações únicas, na iminência do parto pré-termo, recomenda-se a administração antenatal de corticosteroides, visando redução das consequências prejudiciais desse nascimento. Porém, nas gestações múltiplas, a prescrição dos mesmos corticosteroides parece não trazer benefícios com similar magnitude. O presente estudo tem como objetivo comparar a farmacocinética e transferência placentária da betametasona em gestantes com fetos únicos e gestantes com fetos gemelares, entre 24-34 semanas, e observar se os parâmetros farmacocinéticos são diferentes entre gemelares dicoriônicos e monocoriônicos. Das pacientes que preencheram os critérios de inclusão, após administração antenatal de 12mg de betametasona intramuscular, foram coletadas amostras seriadas de sangue materno para análise farmacocinética durante 24 horas. Foram investigadas 26 gestantes, sendo 9 do grupo controle (fetos únicos) 9 do grupo gemelar dicoriônico (DC) e 8 do grupo gemelar monocoriônico (MC). A betametasona foi analisada em plasma empregando LC-MS/MS. O teste para análise estatística utilizado foi o *Kruskal-Wallis* para dados não pareados com nível de significância fixado em $p < 0,05$. O método não apresentou efeito residual e efeito matriz. A linearidade do método validado em plasma foi de 2-250 ng/mL e os coeficientes de variação e o erro padrão relativo do estudo de precisão e exatidão foram inferiores a 15%. O C_{max} do grupo gemelar DC foi menor (40,17 vs 43,87 vs 47,87 ng/mL) e o Vd/F foi maior (116 vs 99,74 vs 107,8 L) quando comparado aos grupos gemelar MC e grupo controle, respectivamente. AUC foi significativamente menor e CL/F foi significativamente maior nos grupos de gestações gemelares quando comparados às gestações com fetos únicos. Os resultados dos parâmetros farmacocinéticos e os dados preliminares do compartimento materno-fetal sugerem que a gemelaridade, principalmente a DC, influencia na farmacocinética e transferência placentária da betametasona. Para confirmar o comportamento da betametasona na transferência placentária e a repercussão dessa diferença sobre os fetos são necessários estudos clínicos com número maior de participantes e diferentes esquemas posológicos de betametasona.

Palavras-chave: Gemelaridade; corticoterapia antenatal; betametasona; farmacocinética; transferência placentária.

ABSTRACT

RODRIGUES, G.F.P **Pharmacokinetics and placental transfer studies of betamethasone in twin pregnancies**. 2020. 92f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Multiple pregnancies are associated with high rates of perinatal morbidity and mortality related to prematurity. Under unique conditions, when premature birth is imminent, prenatal administration of corticosteroids is recommended, reducing the noxious consequences of that birth. However, in multiple pregnancies, the prescription of the same corticosteroids does not seem to bring benefits of similar magnitude. The present study aims to compare the pharmacokinetics and placental transfer of betamethasone in twin and singleton pregnancies between 24-34 weeks and to observe whether the pharmacokinetic parameters are different between dichorionic and monochorionic twin pregnancies. Patients who met the inclusion criteria, after intramuscular administration of 12 mg of betamethasone intramuscularly, were collected samples of maternal blood for pharmacokinetic analysis for 24 hours. 26 pregnant women were investigated, 9 from the control group (singleton) 9 from the dichorionic twin group (DC) and 8 from the monochorionic twin group (MC). The betamethasone was analyzed in plasma using LC-MS/MS. The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis test for unpaired data, with a significance at $p < 0.05$. The method does not show residual effect and matrix effect. A linearity method validated in the plasma was 2-250 ng/mL and the coefficients of variation and relative standard error of the accuracy and precision studies were less than 15%. The C_{max} of the DC twin group was lower (40.17 vs 43.87 vs 47.87 ng/mL) and V_d/F was higher (116 vs 99.74 vs 107.8 L) when compared to the MC twin group and control group, respectively. The AUC of betamethasone was significantly higher, and CL/F was significantly lower in singleton pregnancies than in both groups of twin pregnancies. The results of pharmacokinetic parameters and preliminary data from the maternal-fetal compartment suggest that twinning, especially DC, influences the pharmacokinetics and placental transfer of betamethasone. To confirm the behavior of betamethasone on placental transfer and the impact of this difference on the newborns it is necessary clinical trials with a larger number of participants and different betamethasone dosing schedules.

Keywords: Twinning; antenatal corticosteroids; betamethasone; pharmacokinetic; placental transfer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação da gemelaridade segundo a corionicidade e amnionicidade (ZIADIE, 2011).	20
Figura 2 - Vias de biossíntese de esteroides, bem como as enzimas que os sintetizam. Adaptação: Schiffer et al. (2019). DHEA: dihidroepiandrosterona; DHEA-S: Sulfato de dihidroepiandrosterona.	23
Figura 3 - Variação do poder do teste de acordo com o tamanho amostral.	42
Figura 4 - Parâmetros laboratoriais com significância estatística ($p < 0,05$; Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> para dados não pareados com pós teste de Dunn). Os dados estão apresentados como medianas e interquartis. DC: dicoriônico; MC: monocoriônico; HDL: High Density Lipoprotein.	46
Figura 5 - Espectro de massas dos fármacos betametasona, acetato de betametasona e acetato de betametasona- D_3 . (A) Espectro de massas da molécula protonada e (B) do íon produto de betametasona (transição $393 > 373$), (C) molécula protonada e (D) do íon produto de betametasona acetato (transição $435 > 397$) e (E) protonada e (F) do íon produto de betametasona acetato- D_3 (transição $438 > 400$).	47
Figura 6 - Cromatogramas referentes às análises de betametasona e betametasona acetato. (A) Plasma branco; (B) Plasma branco enriquecido com 50 ng de betametasona e betametasona acetato/mL de plasma; (C) Plasma de gestante após 1 hora da administração de dose única de betametasona. Picos: 1) betametasona; 2) betametasona acetato; 3) PI.	48
Figura 7 - Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo de betametasona em gestantes do grupo controle ($n=9$), grupo gemelar dicoriônico ($n=9$) e grupo gemelar monocoriônico ($n=8$), após administração intramuscular de 6mg de acetato de betametasona.	51
Figura 8 - Parâmetros farmacocinéticos da betametasona com diferenças significativas ($p < 0,05$; Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> para dados não pareados com pós teste de Dunn) entre os grupos controle, gemelar dicoriônico e gemelar monocoriônico. Os dados estão apresentados como medianas e interquartis.	52
Figura 9 - Razão das concentrações de betametasona nos compartimentos materno-fetal no momento do parto. Os dados estão reportados em mediana. DC: dicoriônico; MC: monocoriônico; VU: veia umbilical; VM: veia materna; EI: espaço intervilosso.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de Betametasona nos controles de qualidade utilizados na validação do método analítico.	38
Tabela 2 - Dados demográficos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.	44
Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.	45
Tabela 4 - Parâmetros hematológicos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.	46
Tabela 5 - Validação dos parâmetros para determinação de betametasona em plasma. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.	50
Tabela 6 - Parâmetros farmacocinéticos de betametasona nas pacientes estudadas após dose única intramuscular. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.	51
Tabela 7 - Comparação dos métodos de análise de betametasona com o do presente estudo.	57
Tabela 8 - Comparação entre parâmetros farmacocinéticos de estudos encontrados na literatura com o presente estudo.	59
Tabela I – Dados individuais das pacientes do grupo controle (n=9).....	83
Tabela II – Dados individuais das pacientes do grupo gemelar dicoriônico (n=9)	83
Tabela III – Dados individuais das pacientes do grupo gemelar monocoriônico (n=8).....	84
Tabela IV – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo controle (n=9).....	85
Tabela V – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo gemelar dicoriônico (n=9).....	86
Tabela VI – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo gemelar monocoriônico (n=8).....	87
Tabela VII – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo controle (n=9)	88

Tabela VIII – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo gemelar dicoriônico (n=9)	88
Tabela IX – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo gemelar monocoriônico (n=8)	89
Tabela X – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo controle (n=9)	90
Tabela XI – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo dicoriônico (n=9).....	91
Tabela XII – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo monocoriônico (n=8)	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α -1 glicoproteína ácida	Alfa-1 glicoproteína ácida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BA	Acetato de betametasona
BF	Fosfato dissódico de betametasona
CA	Corticoterapia antenatal
Ccr	Clearance de creatinina
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CQ	Controle de qualidade
CQA	Controle de qualidade de alta concentração
CQB	Controle de qualidade de baixa concentração
CQD	Controle de qualidade de diluição
CQM	Controle de qualidade de média concentração
CV	Coeficiente de variação
CYP	Citocromo P450
DA	Diamniótica
DC	Dicoriônica
EI	Espaço intervilo
EPM	Erro padrão da média
EPR	Erro padrão relativo
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
FCFRP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
FMN	Fator de matriz normalizado por padrão interno
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
gama-GT	Gama glutamil transferase
h	horas
HCFMRP/USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IC	Intervalo de confiança
IG	Idade gestacional
IMC	Índice de massa corpórea

kV	Quilovolt
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LIQ	Limite inferior de quantificação
LSQ	Limite superior de quantificação
[M+H] ⁺	Íon molecular protonado
MA	Monoamniótica
MC	Monocoriônica
min	minutos
MRM	<i>Multiple reaction monitoring</i>
MS/MS	Espectrometria de massas
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NV	Nascido vivo
PI	Padrão interno
PPT	Parto pré-termo
RPM	Rotações por minuto
SINASC	Sistema de informações sobre nascidos vivos
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
STROBE	<i>Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGP/ALT	Transaminase glutâmico pirúvica/Alanina aminotransferase
TGO/AST	Transaminase glutâmico oxalacética/Aspartato aminotransferase
UV	Ultravioleta
VM	Veia materna
vs	<i>versus</i>
VU	Veia umbilical
v/v	volume/volume

LISTA DE SÍMBOLOS

AUC	<i>Area under the curve</i>
$AUC^{0-\infty}$	<i>Area under the curve from zero to infinity</i>
CL/F	Clearance total aparente
$C_{\max}$	Concentração plasmática máxima
Ka	Constante da velocidade de absorção
K_{el}	Constante de velocidade de eliminação
r	Coeficiente de correlação linear
r^2	Coeficiente de determinação
$t_{1/2}$	Meia-vida
$t_{1/2a}$	Meia-vida de absorção
$t_{1/2el}$	Meia-vida de eliminação
$t_{\max}$	Tempo para alcançar a concentração máxima
Vd/F	Volume de distribuição aparente

SUMÁRIO

1 Introdução.....	18
1.1 Gemelaridade.....	19
1.2 Intercorrências perinatais	20
1.3 Farmacocinética durante a gestação	21
1.4 Glicocorticoides	23
2 Justificativa.....	26
3 Objetivos	28
3.1 Objetivo Geral	29
3.2 Objetivos Específicos	29
4 Pacientes e Métodos.....	30
4.1 Desenho do estudo	31
4.2 Protocolo clínico	32
4.2.1 Sistema de coleta do sangue	33
4.2.1.1 Coleta de sangue materno	33
4.2.1.2 Coleta de sangue materno durante o parto	33
4.2.1.3 Coleta de sangue do cordão umbilical.....	34
4.2.1.4 Coleta de sangue do espaço intervilo.....	34
4.3 Análise bioquímica no soro materno	34
4.4 Estimativa da função renal	35
4.5 Método laboratorial para determinação da betametasona	35
4.5.1 Soluções padrão e reagentes.....	35
4.5.2 Análise cromatográfica	36
4.5.3 Análise da betametasona em plasma	37
4.5.4 Ensaio de validação do método de análise da betametasona em plasma	37
4.5.5 Análise farmacocinética.....	40
4.6 Análise estatística	41
4.6.1 Testes estatísticos.....	41
4.6.2 Cálculo do n amostral.....	41
5 Resultados.....	43
5.1 Características das pacientes estudadas.....	44

5.2 Análise da betametasona e acetato de betametasona em plasma	47
5.3 Validação do método de análise da betametasona	48
5.4 Farmacocinética da betametasona em gestantes	49
6 Discussão	53
7 Conclusões	63
Referências Bibliográficas	65
Anexos	77
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa	78
Apêndices	79
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	80
Apêndice B – Características individuais das gestantes investigadas	83
Apêndice C – Parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados para avaliação da função hepática e renal, avaliação metabólica e normalidade do sistema hematológico	85
Apêndice D – Parâmetros farmacocinéticos de gestantes que receberam uma dose intramuscular de betametasona	90

1 Introdução

1.1 Gemelaridade

A gestação múltipla ou gemelar, caracterizada pela presença conjunta de dois ou mais conceitos, tem aumentado consideravelmente nos últimos anos (CHAUHAN et al., 2010). Esse aumento está relacionado, principalmente, ao incremento da utilização de fertilização *in vitro*, uso de medicações indutoras de ovulação e porque muitas mulheres têm postergado a gestação para idades mais avançadas (PINBORG, 2005; BLACK; BHATTACHARYA, 2010; ANANTH; CHAUHAN, 2012). As gestações gemelares representam 2 a 4% dos nascimentos. Cerca de 6 em cada 1000 nascidos vivos (NV) na Ásia são gêmeos, na Europa, a prevalência é de 10-20:1000, na África 40:1000 e nos Estados Unidos e América Latina 9-16:1000. As maiores taxas de gestações gemelares são encontradas na Nigéria (1:11) e as menores, no Japão (1:250) (HALL, 2003; SANTANA; SURITA; CECATTI, 2018). No Brasil, de acordo com o SINASC (Sistema de Informações de Nascidos Vivos), em seu relatório parcial de 2018, foram registrados mais de 61 mil NV provenientes de gestações gemelares, representando cerca de 2% da população nascida nesse ano (BRASIL, 2018).

As gestações múltiplas podem ser classificadas segundo a zigoticidade e a corionicidade, ou seja, de acordo com o número de zigotos que dão origem aos fetos e de placentas que os nutrem (FERRIMAN; STRATTON; STERN, 2018) (Figura 1). Os gêmeos dizigóticos, também conhecidos como fraternos, representam dois terços das gestações gemelares e resultam da fecundação de mais de um óvulo, de modo que os produtos conceptuais apresentam materiais genéticos distintos. Nesse caso, cada zigoto desenvolve seus próprios córion e âmnio tornando as gestações dicoriônicas (DC) (cada feto tem sua própria placenta) e, obviamente, diamnióticas (DA) (cada feto possui uma cavidade amniótica) (PINBORG, 2005; SANTANA; SURITA; CECATTI, 2018).

Por outro lado, os gêmeos monozigóticos ou idênticos representam um terço das gestações múltiplas e resultam da divisão de uma massa embrionária inicial única, possuindo, portanto, carga genética idêntica (NEWMAN; UNAL, 2011). Essas gestações têm apresentação variável a depender do momento em que ocorre a divisão da massa celular. Em cerca de um quarto dos casos, a divisão ocorre em até 72h após a fecundação, resultando em duas placentas e, portanto, duas cavidades amnióticas, fazendo com que elas sejam semelhantes às gestações dizigóticas (HALL, 2003). Na maioria dos casos (74%), a divisão acontece entre o 3º e 9º dia

após a fecundação, ocasião em que já se deu a diferenciação das células que originarão o córion, havendo a formação de apenas uma placenta, mas duas cavidades amnióticas, constituindo as gestações monócóricas (MC) e DA (PINBORG, 2005). Em uma minoria de casos (1%), a divisão ocorre em um período entre o 9º e 12º dia após a fertilização, quando já se formaram a placa coriônica e o saco amniótico, dando origem a uma gestação MC e monoamniótica (MA) (CORDERO; FRANCO; JOY, 2006; NEWMAN; UNAL, 2011).

Figura 1 - Classificação da gemelaridade segundo a corionicidade e amnionidade (ZIADIE, 2011).

1.2 Intercorrências perinatais

Quando comparadas às gestações únicas, a gravidez múltipla é classificada como de alto risco, tanto para mãe como para os fetos, com altas taxas de morbimortalidade materna e perinatal (TAUZIN et al., 2017). Do ponto de vista materno, muitas complicações ocorrem em decorrência das transformações fisiológicas maternas mais intensas provocadas pela gestação, pelo maior volume

de tecido placentário e pelas distocias de parto (CHANG; STREITMAN, 2012). Há prevalência maior de anemia, hiperêmese gravídica, pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, hemorragia anteparto secundária à placenta prévia e/ou descolamento prematuro de placenta, infecção puerperal, hemorragia puerperal, edema pulmonar e óbito (YOUNG; WYLIE, 2012; LAWN et al., 2013; TALBOT; MACLENNAN, 2016). É por isso que a assistência à paciente portadora de gestação gemelar deve ser realizada em serviço terciário e por equipe qualificada.

Alguns trabalhos mostram aumento de várias intercorrências perinatais, tais como aborto, corioamniorrexe prematura, morte fetal, restrição do crescimento fetal, baixo peso ao nascer, anomalias congênitas, parto pré-termo (PPT) e complicações devido a monocorionicidade (PINBORG, 2005; LEE, 2012; SANTANA et al., 2018). Gêmeos MC têm risco 3 a 10 vezes maior de morbimortalidade perinatal. Esse achado é, em grande parte, atribuído à existência de anastomoses existentes entre as circulações dos fetos que compartilham a mesma placenta, podendo resultar em desequilíbrio na perfusão dos gêmeos envolvidos, elevada taxa de crescimento fetal discordante, hipóxia e anomalias congênitas (MOSQUERA; MILLER; SIMPSON, 2012; ALTORJAY et al., 2018; SANTANA; SURITA; CECATTI, 2018).

A prematuridade é a intercorrência perinatal mais prevalente na gemelaridade, independente de sua corionicidade. A duração média da gestação gemelar é de 35 semanas (LEE, 2012; RODE; TABOR, 2014). O PPT ocorre em 30 a 50% dos casos e, devido a essa elevada frequência, a prematuridade é o principal fator determinante das altas taxas de morbimortalidade nessa condição (TAUZIN et al., 2017; MARLEEN et al., 2018). De capital importância são as complicações neonatais relacionadas à prematuridade como hemorragia intracraniana, enterocolite necrosante, broncodisplasia pulmonar, retinopatia, infecções e morte (PINBORG, 2005; LEE, 2012; SANTANA et al., 2018). Apesar disso, a capacidade de prever essa intercorrência ainda é inferior à sua importância clínica, com testes de rastreio apresentando valores preditivos muito aquém dos ideais (BRUBAKER; GYAMFI, 2012; RODE; TABOR, 2014).

1.3 Farmacocinética durante a gestação

A composição corporal, o volume de fluxo sanguíneo e a ligação com proteínas plasmáticas são os principais fatores que afetam a biodisponibilidade de

qualquer medicação em um indivíduo (FEGHALI; VENKATARAMANAN; CARITIS, 2015). Durante a gestação, a fisiologia materna passa por adaptações relevantes que abrangem todos os sistemas, especialmente os cardiovascular e renal, havendo maior retenção hídrica, aumento do volume sanguíneo em 40 a 50% e redistribuição do débito cardíaco (ABDULJALIL et al., 2012; TAN; TAN, 2013; ANSARI et al., 2016). Acredita-se que essas alterações sejam mais significativas nas gestações gemelares e, associadas à diminuição da concentração de proteínas carreadoras circulantes, alteram o volume de distribuição e *clearance* de certas drogas administradas na gestação (CHANG; STREITMAN, 2012; MCCORMACK; BEST, 2014). A queda da resistência vascular periférica, desencadeada pelos vasodilatadores produzidos na gravidez, é um fator que leva edema generalizado e ampliação do espaço extracelular e, portanto também interfere com a distribuição dos medicamentos (MOSCOVITZ; GORCZYCA; ALEKSUNES, 2017).

Além de mudanças na biodisponibilidade dos fármacos, alteração na transferência placentária, tanto por alterações fisiológicas maternas quanto por fatores placentários, é outro aspecto que deve ser analisado na gestação (TONY GIN; JEROME YANKOWITZ, 2016). Os compartimentos materno, placentário e fetal, mesmo sendo sistemas independentes, são interagentes e passam por consideráveis mudanças durante o curso da gravidez (ATKINSON; BOYD; SIBLEY, 2006; AL-ENAZY et al., 2017). Portanto, o uso de medicamentos pode ter efeitos diretos no feto, com sua transferência placentária ou efeitos indiretos ao provocar mudanças no fluxo uterino e placentário.

A placenta é um órgão por meio do qual ocorre transmissão materna de nutrientes, trocas gasosas, ações endócrinas e excretoras, desde o 16º dia da fertilização. O sangue fetal, que chega na placenta por meio de duas artérias umbilicais, é distribuído para os capilares das vilosidades e retorna ao feto através de uma única veia umbilical. Concomitantemente, o sangue materno proveniente das artérias uterinas perfunde os grandes sinusóides maternos que envolvem as vilosidades e em seguida, retorna para as veias uterinas da mãe (DONNELLY; CAMPLING, 2016). Vários mecanismos podem promover variações no fluxo sanguíneo uteroplacentário e, por conseguinte na transferência placentária de drogas, sendo eles a pressão de perfusão, resistência vascular intrínseca e extrínseca (MYLLYNEN; VÄHÄKANGAS, 2013).

Permeabilidade placentária é outro fator que interfere com a transferência de drogas e varia de acordo com a idade gestacional. No início, como a placenta ainda está em desenvolvimento, a permeabilidade é menor devido à maior espessura da membrana de trocas. No decorrer da gravidez, a placenta expande sua superfície e com o afinamento da “barreira placentária” há aumento de difusão através da membrana (ATKINSON; BOYD; SIBLEY, 2006; JANSSON, 2018). Portanto, vale ressaltar que qualquer substância presente no plasma materno será conduzida até determinado ponto na placenta e o que vai determinar a sua passagem ou não, são características próprias do elemento.

1.4 Glicocorticoides

O cortisol é o principal glicocorticoide endógeno em humanos. Ele é sintetizado pelo córtex adrenal e regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A biossíntese dos corticoides tem o colesterol como o principal precursor do cortisol (glicocorticoide) e da aldosterona (mineralocorticoide) (Figura 2) (MINNEMAN; WECKER, 2005; BUNTE et al., 2018).

Figura 2 - Vias de biossíntese de esteroides, bem como as enzimas que os sintetizam. Adaptação: Schiffer et al. (2019). DHEA: dihidroepiandrosterona; DHEA-S: Sulfato de dihidroepiandrosterona.

Os glicocorticoides têm vários efeitos metabólicos, como síntese e degradação de proteínas, estimulação da lipólise e regulação do crescimento e desenvolvimento, especialmente em tecidos fetais, com potencial de induzir a maturação pulmonar antes do nascimento (WALKER; WELBERG; PLOTSKY, 2002). Essa última função foi percebida e relatada por Graham Liggins (1969) quando investigava o determinismo do trabalho de parto em um modelo de ovelhas. Enquanto testava sua hipótese de que os corticosteroides podem desencadear o parto, ele descobriu que filhotes expostos a essas substâncias *in utero* tinham pulmões estruturalmente mais maduros, eram viáveis em idades gestacionais mais precoces e apresentavam desconforto respiratório pós-natal menos grave. A partir desses achados, Liggins & Howie (1972) realizaram um ensaio clínico randomizado pioneiro, no qual eles avaliaram o efeito da administração materna de betametasona sobre os resultados neonatais, em casos com risco de prematuridade. Os autores demonstraram redução não apenas nas taxas de síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), mas também nas taxas de mortalidade.

Em 1994, o *National Institute of Health* (NIH), dos Estados Unidos, promoveu uma conferência, para a realização de um consenso, na qual se revisou toda a literatura sobre corticoterapia antenatal (CA) e resultados neonatais desde a publicação de Liggins & Howie (1972). Os especialistas concluíram que os benefícios do uso de CA superavam os riscos potenciais para a mãe e para o feto e recomendaram a administração de corticoide para mulheres com risco de prematuridade entre 24^a e 34^a semana de gestação (ACOG COMMITTEE OPINION, 1995; GILSTRAP LC et al., 1995).

O corticoide eleito para indução da maturidade fetal foi a betametasona, dividido em duas doses de 12mg, com intervalo de 24 horas ou a dexametasona, dividida em quatro doses de 6mg, administradas a cada 12 horas, ambos por via intramuscular (BROWNFOOT et al., 2014; ROMEJKO-WOLNIEWICZ; TELIGA-CZAJKOWSKA; CZAJKOWSKI, 2014). A gestante deve ser comunicada que o uso de um único ciclo de CA não está ligado a efeitos adversos maternos ou fetais significativos, salvo em situações de infecção sistêmica da mãe, quando é contraindicado. O uso de CA em gestação múltipla também é recomendado, porém os estudos falham em demonstrar redução nas taxas de SDRA na magnitude com que faz em NV de gestações únicas (BALLABH et al., 2002; MAGANN et al., 2017). Isso nos leva a sugerir que talvez as doses de corticoide administradas e/ou os

esquemas realizados, na gemelaridade, necessitem ser diferentes, porém essas hipóteses ainda não foram testadas de modo a permitir a adoção de condutas diferentes e específicas para a gestação múltipla.

A escolha da betametasona (ou dexametasona) baseia-se em suas características estruturais, ou seja, maior facilidade em atravessar a barreira placentária na forma ativa, ausência de atividade mineralocorticoide significativa, ação prolongada quando comparadas ao cortisol, baixa atividade imunossupressora quando utilizada por curto período de tempo e capacidade de estimular produção do surfactante pulmonar e induzir enzimas gliconeogênicas hepáticas (GILSTRAP LC et al., 1995; CROWTHER et al., 2013).

Estudos clínicos mostram diferenças na farmacocinética das duas formas de apresentação da betametasona, sendo elas éster acetato e éster fosfato. A forma fosfato é caracterizada como de ação rápida e a forma acetato possui uma ação mais prolongada (SALEM; NAJIB, 2012). Com base nesses tempos de ação, a CA se faz com a formulação da betametasona associada (acetato + fosfato) na seguinte posologia: administração de 12mg de betametasona (6mg de acetato e 6mg de fosfato), por dois dias consecutivos, com intervalo de 24 horas, totalizando 2 doses de betametasona (GILSTRAP LC et al., 1995; ROBERTS et al., 2017). Há outras opções de administração, mas essa opção é a mais comumente utilizada pela comodidade da posologia, fazendo com que a gestante necessite de menor número de aplicações.

Além de alterações na farmacocinética da betametasona durante a gestação e em sua transferência placentária, alguns trabalhos demonstram *clearance* alterado da droga a depender do tipo de gestação. Estudos clínicos compararam a farmacocinética da betametasona em gestações gemelares e únicas, calculando parâmetros como o volume de distribuição, meia-vida e *clearance* do fármaco. Os resultados encontrados mostraram que a meia-vida da betametasona foi significativamente menor nas gestantes gemelares quando comparadas às gestantes de fetos únicos (BALLABH et al., 2002; KUK et al., 2013). Esse achado sugere que, em gestações gemelares, o nível de betametasona pode ser subterapêutico para redução das complicações neonatais associadas à prematuridade (BALLABH et al., 2002; BONANNO; WAPNER, 2012).

As gestações múltiplas são de alto risco, devido suas altas taxas de morbimortalidade, tanto maternas quanto perinatais. Dentre suas complicações, destaca-se a prematuridade, pois pode levar à SDRA e a morte neonatal, entre outras. Nas gestações únicas, quando há risco de PPT, recomenda-se a administração de CA, visando maturação pulmonar e proteção vascular fetal e, por conseguinte redução das complicações do nascimento pré-termo. Ao se considerar gestações múltiplas, a prescrição dos mesmos corticosteroides, seguindo indicações e posologias semelhantes, parece não trazer os benefícios alcançados nas gestações únicas com similar magnitude. Há indícios de que a farmacocinética e a transferência placentária dos corticosteroides seja diferente em gestações gemelares, secundariamente às adaptações maternas e fatores placentários, mas há poucos estudos clínicos que as tenham avaliado, especialmente se considerarmos as diversas formas de corionicidade dos gêmeos. Portanto, para que haja melhor entendimento sobre a farmacocinética dos corticosteroides na gemelaridade e, assim proporcionar assistência mais adequada na iminência da prematuridade nessa condição existe a necessidade de maior número de estudos, levando em consideração que a administração de CA é uma estratégia benéfica na redução das complicações já comprovada em gestações únicas.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da gemelaridade na farmacocinética da betametasona em mulheres com gestações únicas e gemelares e investigar a transferência placentária e concentrações do fármaco no espaço intervilo e veia umbilical.

3.2 Objetivos Específicos

- Validar o método de análise da betametasona em plasma, para utilização em estudos farmacocinéticos;
- Validar o método de análise da betametasona em plasma, para utilização em estudos de transferência placentária e avaliação do compartimento materno-fetal;
- Avaliar a farmacocinética da betametasona em plasma de gestantes com gestações únicas e com gestações gemelares DC e MC;
- Avaliar as concentrações da betametasona em plasma na veia umbilical e espaço intervilo de gestantes com fetos únicos e gemelares DC e MC.

4 Pacientes e Métodos

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal, no qual foram incluídas 26 gestantes admitidas ao Centro Obstétrico e Enfermaria de Gestação de Alto Risco do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP) – USP para inibição do trabalho de parto, de agosto de 2018 a setembro de 2019, distribuídas em três grupos: gestação única (n=9), gestação gemelar DC (n=9) e gestação gemelar MC (n=8). O HCFMRP-USP tem um serviço de Obstetrícia com capacidade para 34 leitos, que recebe cerca de 1800 gestantes para resolução da gestação anualmente.

O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP–USP) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (HC) da FMRP–USP, de acordo com o processo HCRP nº 8676/2017 e procedimentos em vigor na época (Anexo A). O estudo seguiu todos os preceitos estabelecidos pela iniciativa STROBE e está de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. As inclusões das mulheres foram realizadas após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). Cuidado foi tomado para que as gestantes abordadas tivessem liberdade de recusar a participação ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma.

Inicialmente, foram convidadas a participar 35 mulheres, com gestações únicas ou gemelares, que apresentavam os seguintes critérios de inclusão: idade > 18 anos; gestação única ou múltipla de fetos morfologicamente normais, com idade entre 24 – 34 semanas, calculada a partir da data da última menstruação da paciente e confirmada pela medida do comprimento crânio-nádegas dos fetos em ultrassonografia obstétrica realizada antes de 14 semanas ou pela medida da circunferência craniana fetal quando o primeiro exame fosse realizado após essa idade gestacional; risco de prematuridade iminente e portanto, com indicação de administração antenatal de betametasona para estímulo da maturidade fetal. Para análise final dos dados, restaram 26 pacientes após aplicação dos critérios de exclusão, sendo eles: tabagismo, etilismo e/ou uso de substâncias ilícitas; doenças maternas que cursem com vasculopatia e influenciem no fluxo uteroplacentário, tais como hipertensão, diabetes descontrolado, cardiopatias, nefropatias ou trombofilias; uso de medicamentos que interajam com a betametasona; gestações que não foram

resolvidas no HC da FMRP-USP ou NV com anomalia congênita. Os critérios de descontinuação da participação da paciente foram: identificação de lesão em órgãos-alvo por exame laboratorial; parto antes do término da coleta das amostras maternas ou desejo da mãe de interromper a coleta.

Após administração antenatal de corticosteroides, se deu início a coleta de amostras seriadas de sangue materno para análise farmacocinética e/ou transferência placentária da betametasona (em sangue do espaço intervilo e veia umbilical) nos casos que evoluíram para resolução da gestação. Dados de interesse relacionados à mãe, seguimento pré-natal e recém-nascido foram obtidos na inclusão da paciente e, após o parto, nos prontuários médicos.

4.2 Protocolo clínico

Após inclusão da paciente no estudo, uma amostra de 5mL de sangue foi coletada por punção de veia periférica, para avaliação hematológica, metabólica, de função renal e hepática. Em seguida, foram administradas 12mg intramusculares de betametasona (02 ampolas de Celestone Soluspan[®], Lote B17F1416, Mantecorp, Goiás, Brasil). Cada ampola possui associação de 3 mg de fosfato de betametasona e 3 mg de acetato de betametasona, o que resulta em 6 mg de betametasona. Uma amostra de sangue materno de 5mL foi coletada em seringa não heparinizada e transferida para tubo heparinizado (BD Vacutainer[®]), protegido da luz e com solução estabilizante de arsenato de sódio dibásico heptahidratado (concentração total de 2 mol/L por mililitro de sangue), imediatamente antes da administração para avaliação da betametasona no tempo zero. O acesso venoso foi mantido para coleta das amostras seriadas de 5mL de sangue materno para avaliação da concentração da betametasona no tempos 5, 10, 15, 20, 35 minutos e 1, 3, 6, 8, 10, 16 e 24 horas após sua administração.

Após coleta da amostra sanguínea, dentro de um prazo máximo de 15 minutos, o plasma foi separado por centrifugação a 2500 rotações por minuto (RPM), por 5 minutos, à 5°C e transferido para tubo criogênico, protegido da luz, contendo 10µl de 50% de solução fluoreto de potássio por mililitro de (PETERSEN; NATION; ASHLEY, 1980; SALEM; ALKHATIB; NAJIB, 2011). As soluções estabilizantes de arsenato de sódio dibásico heptahidratado e fluoreto de potássio foram utilizadas para inibir a conversão do pró-fármaco fosfato dissódico de betametasona em betametasona, pois devido a sua natureza iônica, o fosfato é mais hidrofílico, podendo causar uma superestimação das

concentrações de betametasona no plasma na primeira hora das coletas seriadas. Portanto, neste trabalho, toda menção a betametasona se refere aos resultados provenientes da conversão do acetato de betametasona em betametasona (SAMTANI et al., 2004; PETERSEN; NATION; ASHLEY, 1980).

No momento do parto (aproximadamente 2h e 30min após a administração de betametasona) foram coletadas amostras de sangue venoso materno, sangue venoso do cordão umbilical e sangue do espaço intervilosos, para avaliação da transferência placentária e da distribuição da betametasona nos compartimentos materno e fetal. Após os procedimentos, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas até o Laboratório de Farmacocinética Clínica da FCFRP-USP, onde foram armazenadas a -70°C até suas análises.

4.2.1 Sistema de coleta do sangue

4.2.1.1 Coleta de sangue materno

Antes da administração da betametasona, foi obtido acesso venoso periférico com Abocath[®] nº 20, mantido por solução fisiológica a 0,9% infundida em volume suficiente (aproximadamente 2mL) até desaparecer o sangue do conduto deste acesso. Durante cada coleta, nos tempos pré-determinados pelo protocolo, foram retirados aproximadamente 2mL de sangue em seringa não heparinizada, sendo este volume desprezado para evitar interferência nas dosagens a serem realizadas. Em seguida, foram coletados 5mL de sangue em seringa não heparinizada e armazenado em tubo heparinizado (BD Vacutainer[®]) com a solução estabilizante de arsenato de sódio dibásico heptahidratado. Após cada coleta o cateter intravenoso foi novamente salinizado. As amostras foram centrifugadas e transferidas para tubo criogênico com solução estabilizante de fluoreto de potássio e armazenadas.

4.2.1.2 Coleta de sangue materno durante o parto

No momento da extração fetal, foram retirados aproximadamente 2mL de sangue em seringa não heparinizada, sendo este volume desprezado para evitar interferência nas análises realizadas. Posteriormente, foram coletados 5mL de sangue venoso materno em seringa não heparinizada e transferidos para um tubo

heparinizado (BD Vacutainer®) com a solução estabilizante de arsenato de sódio dibásico heptahidratado. O cateter intravenoso foi novamente salinizado na sequência. A amostra também foi centrifugada e transferida para tubo criogênico com solução estabilizante de fluoreto de potássio e armazenada até sua análise.

4.2.1.3 Coleta de sangue do cordão umbilical

Após dequitação placentária, a placenta foi transferida para uma mesa de procedimento, onde foi colocada com o lado fetal para cima a fim de permitir lavagem do cordão umbilical com solução fisiológica 0,9%. A seguir, a veia umbilical foi localizada e uma amostra de 5mL de sangue foi coletada com uma seringa não heparinizada. Essa amostra foi transferida para um tubo heparinizado (BD Vacutainer®) com solução estabilizante de arsenato de sódio dibásico heptahidratado, centrifugada e, posteriormente, transferida para tubo criogênico com solução estabilizante de fluoreto de potássio, onde permaneceu armazenada até sua análise.

4.2.1.4 Coleta de sangue do espaço intervilo

A coleta de sangue do espaço intervilo foi realizada através de uma adaptação da técnica descrita por Camelo Jr. et al. (1995). O lado fetal foi lavado com solução fisiológica 0,9% e a membrana amniótica destacada do córion. Utilizando uma agulha, foram feitas incisões na placenta entre os vasos sanguíneos e por gotejamento, foi coletado o sangue utilizando um tubo heparinizado (BD Vacutainer®) com solução estabilizante de arsenato de sódio dibásico heptahidratado. O protocolo foi conduzido dessa forma em toda a circunferência da placenta até que se completasse um volume aproximado de 5mL de sangue. A amostra foi centrifugada, transferida para um tubo criogênico com solução estabilizante de fluoreto de potássio e armazenada até sua análise.

4.3 Análise bioquímica no soro materno

Amostras de 5mL de sangue materno foram encaminhadas ao Laboratório Central de Análises Clínicas do HCFMRP – USP para avaliação da função hepática

[transaminase glutâmico-oxalacética (TGO)/aspartato aminotransferase (AST); transaminase glutâmico-pirúvica (TGP)/alanino aminotransferase (ALT), bilirrubinas (total, direta e indireta), fosfatase alcalina, gama-GT, α 1 glicoproteína], função renal (ureia e creatinina), avaliação metabólica [colesterol, triglicérides, High Density Lipoprotein (HDL), Low Density Lipoprotein (LDL) e glicemia] e hemograma. Esses exames foram efetuados para se atestar a normalidade funcional da mulher incluída no estudo.

4.4 Estimativa da função renal

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

$$C_{cr} = \frac{(140 - \text{idade}) (\text{peso})}{72 \times \text{creatinina}}$$

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

4.5 Método laboratorial para determinação da betametasona

4.5.1 Soluções padrão e reagentes

As soluções estoque de betametasona e betametasona acetato (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), foram preparadas em metanol, grau HPCL, na concentração de 50 μ g/mL. A partir dessas soluções, foram realizadas sucessivas diluições em metanol para obtenção das soluções de uso nas concentrações 20, 50, 100, 200, 500, 1000 e 5000ng/mL. A solução de betametasona 21-acetato-D₃ (Toronto Research Chemicals, North York, ON, Canadá) foi utilizada como padrão interno (PI) na concentração de 1000ng/mL em metanol.

Os solventes metanol grau HPLC (J.T. Baker, Fairfield, EUA) e éter diisopropílico (Merck, Darmstad, Germany) foram empregados na preparação da fase móvel e procedimento de extração em plasma, respectivamente. O formiato de

amônio $\geq 99\%$ foi obtido da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Toda água utilizada durante o experimento foi obtida em sistema de purificação Milli-Q® Plus (Millipore, Belford, MA, EUA).

4.5.2 Análise cromatográfica

A análise da betametasona e betametasona acetato foi realizada por LC-MS/MS. O módulo de separação foi constituído por um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) modelo Alliance e2695 equipado com bomba quaternária, forno de coluna e injetor automático mantido a 12°C (Waters, Milford, EUA).

A separação foi realizada em coluna de fase reversa LiChrospher® 100 RP-8 (Merck, Darmstadt, Alemanha), com partículas de 5µm (125x4mm), protegida por pré-coluna LiChrospher® 100 RP-8, 5µm, 4x4mm (Merck, Darmstadt, Alemanha) e mantidas à 28°C. A fase móvel foi constituída por uma mistura de metanol: solução de formiato de amônio 0,05mmol/L (90:10 v/v), na vazão de 0,3mL/min.

O sistema de detecção MS/MS utilizado foi o Quattro Micro LC triplo quadrupolo (Micromass, Manchester, Reino Unido) equipado com interface de ionização por eletronebulização (ESI) operando no modo íon positivo. A voltagem do capilar no ESI foi de 03 kV. As temperaturas da fonte e de dessolvatação foram mantidas a 120 e 300°C, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização na vazão de 900 L/h para dessolvatação e 40L/h para o cone. O gás argônio foi utilizado como gás de colisão na pressão de aproximadamente $1.70.10^{-3}$ mbar. A voltagem do cone foi mantida em 30 V para a betametasona, betametasona acetato e betametasona acetato-D3 (PI). A energia de colisão foi de 09 eV para a betametasona e 10 eV para betametasona acetato e PI. As condições de otimização do MS/MS foram obtidas por infusão direta das soluções padrão na concentração de 35µg/mL de fase móvel, na vazão de 20µL/min.

As análises foram executadas no modo MRM (*Multiple Reaction Monitoring*). As moléculas protonadas $[M + H]^+$ e seus respectivos íons produtos foram monitorados nas transições $393 > 373$ para betametasona, $435 > 397$ para betametasona acetato e $438 > 418$ para PI. A aquisição e a quantificação de dados foram realizadas utilizando o programa MassLynx versão 3.5 (Waters, Milford, EUA).

4.5.3 Análise da betametasona em plasma

As amostras de plasma branco foram obtidas através de doação de voluntários sadios não tratados com betametasona. Alíquotas de 500µL de plasma foram enriquecidas com 25µL da solução de padrão interno (Betametasona 21-acetate-D₃, 1000ng/mL em metanol) e acrescidas de 6mL de éter diisopropílico. Os tubos foram vedados, agitados em *vórtex* durante 1 minuto e centrifugados a 2000 rpm (Centrífuga de Bancada Excelsa[®] II, modelo 206 BL, Fanem, Brasil) por 10 minutos.

Após a separação, as fases orgânicas foram transferidas para tubos cônicos e evaporadas a vácuo usando concentrador rotacional (Christ[®], modelo RVC 2-25 CD plus, Funkenstörungsgrad, Alemanha). Os resíduos foram reconstituídos com 125µL da fase móvel, agitados por 30 segundos e transferidos para os frascos de injeção, dos quais 60µL foram injetados no sistema cromatográfico para a análise.

4.5.4 Ensaios de validação do método de análise da betametasona em plasma

Os ensaios de validação do método de análise da betametasona em plasma foram realizados de acordo com a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), RDC nº 27, de 17 de maio de 2012 para métodos bioanalíticos.

A linearidade do método foi avaliada através da análise de três curvas de calibração, construídas através de 500µL de plasma branco enriquecidas com 25µL de solução padrão de betametasona e acetato de betametasona nas concentrações de 2.0, 2.5, 5.0, 10.0, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 125.0 e 250ng/mL de plasma e incluindo análise da amostra branco (sem analito e padrão interno) e da amostra zero (contendo apenas padrão interno). As equações de regressão linear e os coeficientes de correlação foram obtidos das áreas dos picos plotadas em função das respectivas concentrações utilizando a ponderação $1/x^2$. Para aprovação das curvas analíticas, os padrões de calibração devem apresentar um desvio de até 15% e o limite inferior de quantificação, desvio de até 20%. O coeficiente de correlação linear deve ser $\geq 0,98$.

As amostras de controle de qualidade (CQ) foram preparadas em plasma branco, de acordo com as concentrações especificadas na Tabela 1, para o limite inferior de quantificação (LIQ), baixo CQ (CQB), médio CQ (CQM), alto CQ (CQA) e de diluição (CQD), sendo todas armazenadas a -70°C.

Tabela 1 - Concentrações de Betametasona nos controles de qualidade utilizados na validação do método analítico.

Amostra	Concentrações de Betametasona
LIQ	2ng/mL
CQB	5ng/mL
CQM	125ng/mL
CQA	200ng/mL
CQD*	50ng/mL

LIQ: limite inferior de quantificação; CQB: baixo controle de qualidade; CQM: médio controle de qualidade; CQA: alto controle de qualidade; CQD: controle de qualidade de diluição.

* As replicatas de CQD foram diluídas em plasma branco na proporção de 1:10 imediatamente antes do procedimento de preparo da amostra.

A seletividade foi avaliada usando 500µL da amostra branco obtida de oito diferentes indivíduos, incluindo quatro amostras normais, duas lipêmicas e duas hemolisadas. As análises foram comparadas com as amostras LIQ.

O efeito residual foi realizado a partir de 3 injeções da mesma amostra branco, sendo uma injetada antes e duas logo após uma injeção de uma amostra processada do limite superior de quantificação (LSQ). As respostas de picos interferentes devem ser inferiores a 20% da resposta do analito nas amostras processadas do LIQ. Em relação ao PI, as respostas de picos interferentes devem ser inferiores a 5% da resposta do PI.

O efeito matriz foi avaliado utilizando-se 8 amostras de plasma de fontes distintas, sendo 4 amostras normais, 2 lipêmicas e 2 hemolisadas. As amostras foram enriquecidas com o PI, a betametasona e acetato de betametasona nas mesmas concentrações das amostras de CQB e CQA. Para cada amostra foi calculado o fator de matriz normalizado (FMN) por PI, conforme equação abaixo. O coeficiente de variação (CV) dos FMNs relativo às amostras CQB e CQA deve ser inferior a 15%.

$$FMN = \frac{(\text{Resposta do analito em matriz} / \text{Resposta do PI em matriz})}{(\text{Resposta do analito em solução} / \text{Resposta do PI em solução})}$$

A precisão e exatidão foram avaliados usando seis replicatas de LIQ, CQB, CQM, CQA e CQD analisados em uma única corrida analítica (intracorrída) e em três corridas analíticas em diferentes momentos (intercorridas).

A exatidão intracorrida e intercorrida é expressa pelo erro padrão relativo (EPR) obtido pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e o valor nominal (concentração teórica correspondente), sendo representada pela equação abaixo:

$$\text{EPR} = \frac{\text{Concentração média} - \text{Valor nominal}}{\text{Valor nominal}} \times 100$$

O método foi considerado exato para valores de EPR dentro da faixa de $\pm 20\%$ para as amostras de LIQ e $\pm 15\%$ para os demais CQ. Os resultados da precisão intracorrida e intercorrida foram apresentados como CV, calculado segundo a equação a seguir:

$$\text{CV} = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Concentração média experimental}} \times 100$$

O método foi considerado preciso para os valores de CV dentro da faixa de $\pm 20\%$ para as amostras de LIQ e $\pm 15\%$ para os demais CQ.

Os estudos de estabilidade (curta duração, pós processamento e ciclos de descongelamento) foram avaliados utilizando amostras de CQ nas concentrações de CQB e CQA e analisadas em quatro replicatas. Para a avaliação da estabilidade de curta duração as amostras de plasma foram mantidas em temperatura de 25°C por 4h e, posteriormente, processadas e analisadas. Para a estabilidade pós-processamento, as amostras foram mantidas no autoinjeter a 12°C durante 24h antes de serem injetadas. Para a estabilidade de ciclos de descongelamento, as amostras foram congeladas a -70°C por 24h e, posteriormente, foram descongeladas a 25°C e novamente congeladas por 24h. Esse ciclo foi repetido por mais duas vezes antes do procedimento de preparo e análise.

As concentrações obtidas após os ensaios de estabilidade foram comparadas com as obtidas das mesmas amostras recém preparadas e os resultados foram apresentados como CV e EPR. As amostras foram consideradas estáveis para valores de CV e EPR dentro da faixa de $\pm 15\%$.

4.5.5 Análise farmacocinética

Os parâmetros farmacocinéticos da betametasona foram calculados a partir das concentrações plasmáticas ao longo do tempo de coleta das amostras (24h). Os dados de concentração plasmática *versus* tempo após a administração intramuscular de betametasona foram avaliados através do modelo monocompartimental sem *lag time* (modelo 3), empregando o software Phoenix[®] WinNonLin[®] versão 6.4 (Pharsight Corp, Mountain View, Calif, EUA). Foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Concentração plasmática máxima (C_{max}): representa a maior concentração sanguínea alcançada pelo fármaco após dose administrada, sendo, por isso, diretamente proporcional à absorção. Depende diretamente da extensão e velocidade de absorção, porém, também da velocidade de eliminação;
- Tempo para alcançar C_{max} (t_{max}): relacionado com a velocidade de absorção do fármaco;
- Área sob a curva da concentração plasmática *versus* tempo ($AUC^{0-\infty}$): representa a quantidade total de fármaco absorvido, sendo este o parâmetro mais importante na avaliação da sua biodisponibilidade;
- Meia-vida de absorção ($t_{1/2a}$): tempo gasto necessário para absorção de metade da quantidade do fármaco. Este parâmetro é afetado pelas características físico-químicas da droga, veículo utilizado na formulação, perfusão sanguínea no local de absorção, área de absorção à qual o fármaco é exposto, via de administração, forma farmacêutica, entre outros.
- Constante de velocidade de absorção (k_a): fração de fármaco absorvida por unidade de tempo;
- Meia-vida de eliminação ($t_{1/2el}$): é o tempo gasto necessário para que a quantidade do fármaco se reduza à metade. Este parâmetro é afetado pelas características físico-químicas da droga, perfusão sanguínea no local de eliminação, via de eliminação, entre outros.
- Constante de velocidade de eliminação (K_{el}): fração de fármaco eliminada por unidade de tempo;
- *Clearance* total aparente (CL/F): volume de plasma do qual o fármaco é completamente removido por unidade de tempo. Representa a taxa de

eliminação do fármaco do organismo. Parâmetro mais importante para o planejamento posológico racional;

- Volume de distribuição aparente (V_d/F): volume hipotético necessário para a droga estar distribuída homogeneamente entre o sangue e os tecidos.

4.6 Análise estatística

4.6.1 Testes estatísticos

O teste *Kruskal-Wallis* foi utilizado para análise de dados não pareados, com teste de comparações múltiplas de *Dunn*, com objetivo de comparar os dados das gestantes do grupo controle (com fetos únicos), do grupo de gestação gemelar DC e do grupo de gestação gemelar MC. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do *software* GraphPad Prism® (GraphPad Software, CA, EUA), onde foram calculados a mediana, média, erro padrão da média (EPM) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Em todos os testes estatísticos o nível de significância foi fixado em 5%.

4.6.2 Cálculo do n amostral

O cálculo do tamanho amostral foi obtido através do programa *Power and Sample Calculation*, versão 3.0.43 (DUPONT; PLUMMER, 1990, 1998), utilizando os parâmetros farmacocinéticos da betametasona em gestantes gemelares. Para o cálculo do tamanho amostral fixou-se o nível de significância em $p < 0,05$, poder do teste de 80%, diferença entre as médias de *area under curve* (AUC) da betametasona em 25% (AUC 542,17 ng.h/mL e desvio padrão de 90,08 ng.h/mL) (SALEM; NAJIB, 2012). A Figura 3 mostra a variação do poder do teste de acordo com o tamanho amostral. Na mesma figura, observa-se que a inclusão de 8 voluntárias em cada grupo (gestantes com fetos únicos, gemelares DC e gemelares MC) promoverá um poder de teste superior a 80%.

Figura 3 - Variação do poder do teste de acordo com o tamanho amostral.

5 Resultados

5.1 Características das pacientes estudadas

As 26 gestantes incluídas foram assim distribuídas: grupo controle (n=9), composto por gestantes com fetos únicos; grupo gemelar DC (n=9), composto por gestantes com gestações gemelares DC e grupo gemelar MC (n=8), composto por gestantes com gestações gemelares MC. Os dados demográficos das gestantes estão apresentados na Tabela 2 e no Apêndice B (Tabelas I, II e III), como valores individuais. Não houve diferenças significativas entre os grupos com relação às variáveis analisadas.

Tabela 2 - Dados demográficos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.

Parâmetros	Grupo Controle (n=9)	Grupo Gemelar DC (n=9)	Grupo Gemelar MC (n=8)	p valor
Idade (anos)	25 (21 – 35)	26 (21 – 32)	29 (25 – 34)	0,495
Peso (Kg)	70,85 (54,9 – 85,5)	71 (61,8 – 86,4)	70,05 (65,33 – 77,04)	0,847
Estatura (m)	1,60 (1,55 – 1,70)	1,64 (1,60 – 1,69)	1,59 (1,52 – 1,64)	0,214
IMC (Kg/m²)	26,64 (22,82 – 29,95)	28,08 (23,17 – 31,33)	29,52 (24,99 – 31,2)	0,579
IG (dias)	201 (193 – 234)	207 (174 – 221)	215 (210 – 220)	0,400
Fármacos associados	1-3, 9, 10	1-14	1, 2, 4-7, 9, 15, 16	

Dados expressos em mediana (Percentil 25 – Percentil 75). DC: dicoriônico; MC: monocoriônico; n: número de sujeitos; Kg: quilogramas; m: metros; IMC: índice de massa corporal; IG: idade gestacional. Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados.

Fármacos: 1-Ácido fólico; 2-Sulfato ferroso; 3-Terbutalina; 4-Atosibana; 5-Ácido acetilsalicílico; 6-Carbonato de cálcio; 7-Polivitamínico; 8-Sulfato de magnésio; 9-Penicilina cristalina; 10-Progesterona; 11-Diclofenaco; 12-Nifedipino; 13-Metildopa; 14-Insulina NPH; 15-Ondasetrona; 16-Hidróxido de magnésio.

Os testes laboratoriais estão apresentados na Tabela 3 e 4 e no Apêndice C (Tabelas IV a IX), como valores individuais. Na tabela 3, se observa que houve diferenças significativas dos valores de albumina, gama-GT e HDL entre os grupos de gestantes. Na Figura 4, com maior detalhamento, se nota que a dosagem sérica de albumina é maior em gestações gemelares MC, gama-GT tem valores maiores nas gestações gemelares, tanto DC quanto MC e o HDL é mais alto nas gestações únicas. Na Tabela 4 não se observam diferenças entre os parâmetros do hemograma.

Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.

Parâmetros (Valor de referência)	Controle (n=9)	Gemelar DC (n=9)	Gemelar MC (n=8)	p valor
α1 glicoproteína ácida (mg/dL) (VN: 50 – 120)	62,61 (56,27 – 65,76)	54,12 (49,15 – 71,24)	62,79 (53,2 – 71,28)	0,574
Albumina (g/dL)* (VN: 3,5 – 4,8)	3,55 (3,51 – 3,55)	3,37 (3,32 – 3,49)	3,72 (3,63 – 3,87)	0,022
Bilirrubina direta (mg/dL) (VN: até 0,3)	0,09 (0,07 – 0,15)	0,09 (0,07 – 0,13)	0,08 (0,06 – 0,18)	0,981
Bilirrubina indireta (mg/dL) (VN: até 0,9)	0,27 (0,14 – 0,45)	0,25 (0,17 – 0,53)	0,21 (0,14 – 0,29)	0,614
Bilirrubina total (mg/dL) (VN: 0,2 – 1,2)	0,39 (0,21 – 0,58)	0,35 (0,25 – 0,67)	0,32 (0,20 – 0,46)	0,694
Clearance de creatinina (VN: 75-129 mL/min/1,73)	172 (162,7 – 245,6)	188,3 (208,7 – 213,6)	190,3 (182,2 – 234,1)	0,763
Colesterol (mg/dL)* (VN: < 200)	217,1 (182,5 – 244)	226,9 (192,1 – 284,3)	266,9 (200,5 – 293)	0,150
Creatinina (mg/dL)* (VN: 0,7 – 1,5)	0,55 (0,49 – 0,66)	0,54 (0,51 – 0,65)	0,58 (0,50 – 0,63)	0,959
Fosfatase alcalina (U/L)* (VN: 65 – 300)	225,1 (162,3 – 323)	227,9 (195,2 – 415,9)	344,5 (283,2 – 431)	0,089
Gama-GT (U/L)* (VN: 11 – 50)	10,16 (6,62 – 11,44)	17,55 (9,17 – 27,48)	14,4 (13,48 – 27,02)	0,011
Glicemia (mg/dL) (VN: 70 – 100)	76,66 (59,62 – 100,4)	75,9 (66,62 – 108,2)	72,82 (67,47 – 97,5)	0,866
HDL (mg/dL)* (VN: > 35)	58,9 (53,41 – 72,74)	55,65 (45,54 – 62,27)	47,71 (41,44 – 56,93)	0,043
LDL (mg/dL)* (VN: < 130)	117 (104,5 – 131)	145 (101,8 – 167,3)	167 (117 – 193,8)	0,135
Proteínas totais (g/dL)* (VN: 6 – 8,5)	6,16 (6,03 – 6,44)	5,75 (5,41 – 6,07)	6,25 (5,6 – 6,46)	0,101
TGO/AST (U/L) (VN: até 32)	17,09 (11,39 – 18,91)	17,91 (16,46 – 20,81)	16,09 (10,59 – 33,26)	0,570
TGP/ALT (U/L)* (VN: até 31)	10,87 (9,46 – 14,50)	13,77 (8,02 – 30,02)	9,38 (6,06 – 28,27)	0,566
Triglicérides (mg/dL)* (VN: < 150)	140 (91,98 – 213,1)	222,8 (104 – 294)	228,9 (175,6 – 286,7)	0,166
Ureia (mg/dL) (VN: 10 – 50)	12,4 (9,43 – 18,22)	17,79 (12,88 – 20,47)	12,49 (7,11 – 13,88)	0,076

Dados expressos em mediana (Percentil 25 – Percentil 75). DC: dicoriónico; MC: monocoriónico; n: número de sujeitos; VN: valor normal; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; TGO/ALT: transaminase glutâmico-oxalacética/aspartato aminotransferase; TGP/ALT: transaminase glutâmico-pirúvica/alanino aminotransferase.*Exame não realizado em todas as gestantes participantes. Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados.

Figura 4 - Parâmetros laboratoriais com significância estatística ($p < 0,05$; Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados com pós teste de Dunn). Os dados estão apresentados como medianas e interquartis. DC: dicoriônico; MC: monócoriônico; HDL: High Density Lipoprotein.

Tabela 4 - Parâmetros hematológicos das gestantes incluídas no estudo. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.

Parâmetros (Valor de referência)	Controle (n=9)	Gemelar DC (n=9)	Gemelar MC (n=8)	p valor
Hemoglobina (g/dL) (VN: 11,0 – 15,5)	12,1 (11,25 – 12,95)	11,6 (11,1 – 12,65)	11,5 (10,5 – 12,2)	0,620
Hematócrito (%) (VN: 35 – 45)	35 (34,5 – 38)	35 (32,5 – 37,5)	34,5 (32,25 – 35,75)	0,573
Glóbulos brancos (VN: 3,5 – 10,5 x 10 ³ /μL)	11,9 (10,6 – 13,4)	11,9 (8,9 – 13)	10,85 (8,77 – 12,5)	0,277
Plaquetas (VN: 150 – 450 x10 ³ /μL)	206 (160 – 289)	251 (178 – 264,5)	272 (224,3 – 340,5)	0,336

Dados expressos em mediana (Percentil 25, Percentil 75). DC: dicoriônico; MC: monócoriônico; n: número de sujeitos; VN: valor normal. Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados.

5.2 Análise da betametasona e acetato de betametasona em plasma

A análise da betametasona em plasma foi realizada por LC-MS/MS, baseando-se no trabalho de Salem; Alkhatib; Najib (2011). A Figura 5 apresenta os íons protonados $[M + H]^+$ e seus respectivos íons produtos monitorados para betametasona, acetato de betametasona e acetato de betametasona-D₃ (PI).

Figura 5 - Espectro de massas dos fármacos betametasona, acetato de betametasona e acetato de betametasona-D₃. (A) Espectro de massas da molécula protonada e (B) do íon produto de betametasona (transição 393>373), (C) molécula protonada e (D) do íon produto de betametasona acetato (transição 435>397) e (E) protonada e (F) do íon produto de betametasona acetato-D₃ (transição 438>400).

Na Figura 6 estão os cromatogramas referentes à análise da betametasona em plasma, separada por coluna de fase reversa LiChrospher® 100 RP-8, com fase móvel constituída por uma mistura de metanol : solução de formiato de amônio 0,05mmol/L (90:10 v/v), na vazão de 0,3mL/min e tempo de corrida de aproximadamente 6 minutos. Similarmente ao estudo de Salem; Alkhatib; Najib (2011), não foi possível detectar acetato de betametasona em nenhuma amostra, portanto, as concentrações encontradas se referem a betametasona resultante da quebra da molécula de acetato de betametasona.

Figura 6 - Cromatogramas referentes às análises de betametasona e betametasona acetato. (A) Plasma branco; (B) Plasma branco enriquecido com 50 ng de betametasona e betametasona acetato/mL de plasma; (C) Plasma de gestante após 1 hora da administração de dose única de betametasona. Picos: 1) betametasona; 2) betametasona acetato; 3) PI.

5.3 Validação do método de análise da betametasona

Dados relacionados à validação do método para determinação de betametasona nas amostras coletadas estão demonstrados na Tabela 5. A análise de diferentes amostras de plasma branco não demonstrou interferência de compostos com a betametasona, indicando seletividade. O CV obtido para o FMN foi inferior a 15%, demonstrando a ausência de efeito matriz. As amostras de plasma branco analisadas imediatamente após amostras de LSQ não contêm picos de

interferência, mostrando a ausência de efeito residual das injeções. As curvas de calibração mostram que o método possui linearidade, obtendo um coeficiente de correlação linear $> 0,99$. Os testes de precisão e exatidão e estabilidade também estão dentro dos parâmetros aceitáveis, tendo o CV e EPR $< 13\%$ para todas as amostras de CQ.

O método utilizado para aplicação de estudo de farmacocinética e transferência placentária da betametasona apresentam limites de confiança adequados, assegurando a reprodutibilidade e repetibilidade dos resultados.

5.4 Farmacocinética da betametasona em gestantes

A farmacocinética da betametasona foi avaliada nas gestantes incluídas no estudo. As curvas de concentração plasmática média *versus* tempo estão apresentadas na Figura 7. Os parâmetros farmacocinéticos expressos pela mediana estão apresentados na Tabela 6. Os parâmetros farmacocinéticos individuais estão apresentados no Apêndice D (Tabelas X, XI e XII). Dois parâmetros foram significativamente diferentes: AUC ($p=0,011$) e CL/F ($p=0,011$), que podem ser observados com mais detalhes na Figura 8. AUC é significativamente maior e o CL/F é significativamente menor em gestantes com fetos únicos comparadas às gestantes de ambos os grupos de fetos gemelares.

Tabela 5 - Validação dos parâmetros para determinação de betametasona em plasma. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.

Teste	Parâmetros	
Efeito Matriz		
FMN médio (CV%)	9,77	
Recuperação	Média	CV
CQB	1,00	9,26
CQA	0,97	12,38
Linearidade(ng/mL)	2-250	
Equação da reta	0,0164492·x + 0,0215473	
<i>r</i>	0,9938	
<i>r</i> ²	0,9876	
Precisão (CV) e Exatidão (EPR)		
Intracorrida (n=6)	Precisão (% CV)	Exatidão (% EPR)
LIQ (2 ng/mL)	10,42	3,69
CQB (5 ng/mL)	7,58	6,90
CQM (125 ng/mL)	5,92	-5,92
CQA (200 ng/mL)	9,56	-5,82
CQD (500 ng/mL)	3,72	-9,11
Intercorridas (n=3)	Precisão (% CV)	Exatidão (% EPR)
LIQ (2 ng/mL)	11,39	3,67
CQB (5 ng/mL)	5,52	8,90
CQM (125 ng/mL)	7,61	-0,26
CQA (200 ng/mL)	9,72	-0,98
CQD (500 ng/mL)	3,73	-11,08
Estabilidades (n=5)		
<i>Curta duração</i> (25°C, 4 h)	Precisão (% CV)	Exatidão (% EPR)
CQB (5 ng/mL)	2,66	9,49
CQA (200 ng/mL)	9,26	4,26
<i>Pós processamento</i> (15°C, 12 h)	Precisão (% CV)	Exatidão (% EPR)
CQB (5 ng/mL)	7,58	6,90
CQA (200 ng/mL)	9,56	-5,82
<i>3 Ciclos de descongelamento</i> (-70°C, 25°C)	Precisão (% CV)	Exatidão (% EPR)
CQB (5 ng/mL)	5,23	10,38
CQA (200 ng/mL)	8,62	-0,68

FMN: efeito matriz normalizado por padrão interno; r : coeficiente de correlação linear; r^2 : coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; EPR: erro padrão relativo; LIQ: Limite Inferior de Quantificação; CQB: controle de qualidade de baixa concentração; CQM: controle de qualidade de média concentração; CQA: controle de qualidade de alta concentração; CQD: controle de qualidade de diluição.

Figura 7 - Curvas de concentração plasmática *versus* tempo de betametasona em gestantes do grupo controle (n=9), grupo gemelar dicoriônico (n=9) e grupo gemelar monocoriônico (n=8), após administração intramuscular de 6mg de acetato de betametasona.

Tabela 6 - Parâmetros farmacocinéticos de betametasona nas pacientes estudadas após dose única intramuscular. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2018 – 2019.

Parâmetro	Controle (n=9)	Gemelar DC (n=9)	Gemelar MC (n=8)	p valor
C_{max} (ng/mL)	47,87 (44,17 – 77,08)	40,17 (29,67 – 52,8)	43,87 (41,61 – 62,42)	0,305
t_{max} (h)	1,96 (1,38 – 2,29)	1,85 (1,58 – 2,17)	1,70 (1,22 – 2,08)	0,456
$AUC^{0-\infty}$ (ng.h/mL)	570,6 (529,7 – 784,6)	338 (317,6 – 464,1)	354,3 (314 – 576,8)	0,011
$t_{1/2a}$ (h)	0,46 (0,29 – 0,65)	0,52 (0,38 – 0,68)	0,52 (0,28 – 0,61)	0,730
K_a (h^{-1})	1,50 (1,07 – 2,42)	1,32 (1,03 – 1,85)	1,34 (1,14 – 2,51)	0,730
$t_{1/2el}$ (h)	6,89 (4,74 – 9,72)	5,24 (3,33 – 5,88)	4,71 (3,73 – 5,03)	0,124
K_{el} (h^{-1})	0,101 (0,076 – 0,147)	0,132 (0,118 – 0,213)	0,147 (0,138 – 0,186)	0,124
CL/F (L/h)	10,52 (7,65 – 11,34)	17,75 (12,99 – 18,89)	16,93 (10,88 – 19,18)	0,011
Vd/F (L)	107,8 (65,35 – 115)	116 (82,16 – 158,2)	99,74 (71,66 – 121,6)	0,479

Os valores são expressos com mediana (IQ 25-75%). C_{max} : concentração plasmática máxima; t_{max} : tempo para alcançar C_{max} ; $AUC^{0-\infty}$: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo; $t_{1/2a}$: meia-vida de absorção; K_a : constante de velocidade de absorção; $t_{1/2el}$: meia-vida de eliminação; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; CL/F: *clearance* total aparente; Vd/F: volume de distribuição aparente. Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados.

Figura 8 - Parâmetros farmacocinéticos da betametasona com diferenças significativas ($p < 0,05$; Teste de *Kruskal-Wallis* para dados não pareados com pós teste de Dunn) entre os grupos controle, gemelar dicoriônico e gemelar monocoriônico. Os dados estão apresentados como medianas e interquartis.

Na Figura 9 estão evidenciados os dados da transferência placentária e distribuição da betametasona nos compartimentos materno-fetal expressos pela razão da concentração de betametasona da veia umbilical pela veia materna, do espaço intervilo pelo espaço intervilo.

Figura 9 - Razão das concentrações de betametasona nos compartimentos materno-fetal no momento do parto. Os dados estão reportados em mediana. DC: dicoriônico; MC: monocoriônico; VU: veia umbilical; VM: veia materna; EI: espaço intervilo.

6 *Discussão*

O presente estudo descreve pela primeira vez a determinação da betametasona em plasma e nos compartimentos materno-fetais de mulheres com gestações gemelares usando um padrão interno (PI) deuterado de betametasona e o método por LC-MS. Além disso, o estudo demonstra a influência da gemelaridade na farmacocinética e transferência placentária da betametasona quando comparada à gestação única. Todas as gestantes participantes do estudo receberam 12mg intramusculares de betametasona (02 ampolas de Celestone Soluspan[®]), que é a prescrição mais utilizada para corticoindução da maturidade fetal em todo o mundo.

Os grupos de gestantes foram comparados quanto a idade, peso, altura e IMC materno. Os resultados indicaram não haver diferenças significativas entre esses parâmetros, caracterizando os grupos como homogêneos. Estudos realizados por Pinborg (2005) e Chauhan et al. (2010) mostraram incidência maior de gemelaridade em mulheres com idade materna avançada, principalmente devido a disfunção ovariana e uso de tecnologias de reprodução assistida. Idade materna avançada, definida por idade superior a 35 anos também é associada a diversas complicações obstétricas, entre elas trabalho de PPT (TEAL; SHEEDER, 2018; ZHU et al., 2018; PINHEIRO et al., 2019). No presente trabalho, não se observou maior idade no grupo de gestações gemelares. Ainda, das 26 gestantes investigadas, 15 (57,69%) deram entrada no serviço em trabalho de PPT e apenas 3 (20%) com idade avançada. Mas, qualquer interpretação relativa à idade, no presente trabalho, pode ser equivocada devido a pequena casuística incluída. Por outro lado, Kathiresan et al. (2011) estudaram a influência da idade de gestantes gemelares nulíparas sobre o PPT e demonstraram que a maior taxa de prematuridade foi encontrada no grupo de gestantes com idade em torno de 20 anos (32,7%). O presente estudo mostrou resultado similar, pois 40% das mulheres investigadas, que estavam em trabalho de PPT tinham idade entre 18-24 anos.

A obesidade materna é conhecida como um dos maiores fatores de risco obstétrico e perinatal, incluindo PPT (AL-OBAIDLY et al., 2014). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2006), a obesidade é caracterizada pelo índice de massa corporal $\geq 30\%$. Cerca de 30% das gestantes investigadas se enquadravam como obesas. A mediana encontrada entre os grupos foi de 26,64% para o grupo controle, 28,08% para as gestantes com gemelares DC e 29,52% para as gestantes com gêmeos MC.

Todas as gestantes investigadas foram submetidas a exames laboratoriais para avaliação hepática, renal, metabólica e hematológica, além de dosagem das proteínas séricas totais, albumina e α -1 glicoproteína ácida. Em sua maioria, os resultados obtidos foram considerados dentro dos valores de normalidade. Apenas foi evidenciada redução dos níveis séricos de α -1 glicoproteína ácida, creatinina e proteínas totais nos três grupos. Estas alterações podem estar relacionadas às modificações fisiológicas da própria gestação, especialmente a hemodiluição, e podem interferir em processos farmacocinéticos de drogas administradas neste período (MACGILLIVRAY; TOVEY, 1957; UELAND, 1976; ANDERSON, 2005; LARSSON et al., 2008; KLAJNBARD et al., 2010; KOREN; PARIENTE, 2018; HAREL et al., 2019; VAN BALEN et al., 2019). Por um outro lado, observou-se aumento da fosfatase alcalina nos três grupos investigados. Normalmente, essa enzima é produzida pelo fígado e ossos, mas durante a gestação, é sintetizada também pelo sinciciotrofoblasto, o que poderia explicar seus níveis elevados, na ausência de doença materna (OKAMOTO et al., 1990; JAMJUTE et al., 2009; THAN; NEUBERGER, 2013).

Os níveis de albumina, gama-GT e HDL foram significativamente diferentes entre os grupos de gestantes avaliados. As concentrações de gama-GT foram maiores nos grupos de gestações gemelares ($p=0,01$) em relação ao controle, fato este que pode estar relacionado à hipomotilidade da vesícula e ductos biliares mediada pela ação da progesterona placentária, uma alteração fisiológica que ocorre durante a gestação, que parece ser mais intensa na gestação gemelar (GOLDBERG, 1980; BARDIN et al., 2009; PATAIA; DIXON; WILLIAMSON, 2017). Outra alteração fisiológica que ocorre durante a gestação é a adaptação do metabolismo materno às demandas gestacionais e do desenvolvimento fetal, sendo comum a hiperlipidemia (ZELJKOVIC et al., 2013; WANG et al., 2018). No presente estudo, houve diferença significativa entre os grupos, com maiores níveis de HDL no grupo controle em relação às gestações gemelares, especialmente à gemelaridade MC, que pode ser explicado pelas maiores demandas nutricionais nestes casos.

A albumina é um proteína que, durante a gestação, diminui sua concentração devido ao aumento do volume plasmático promovido por mudanças hormonais de origem placentária (HONGER, 1968; KRAUER; DAYER; ANNER, 1984; ABBASSI-GHANAVALI; GREER; CUNNINGHAM, 2009). No presente estudo, houve uma diminuição na concentração sérica desta proteína significativamente no grupo de

gestações gemelares DC, o que é compreensível se considerarmos este o grupo com maior quantidade de placenta e, por conseguinte, mais propenso à hemodiluição mais intensa.

Na literatura, se encontram trabalhos de determinação de fosfato dissódico de betametasona + acetato de betametasona em plasma empregando as técnicas de radioimunoensaio (BALLARD et al., 1975a; BALLARD et al., 1975b). Já a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência foi descrita por Petersen; Nation; Ashley (1980) utilizando detecção por ultravioleta e por Salem; Alkhatib; Najib (2011), Foissac et al. (2020) e Jobe et al. (2020), que empregaram a detecção por espectrometria de massas. Há outros trabalhos relacionados à determinação da betametasona descritos na literatura, mas com a molécula já hidrolisada ou ligada a outro éster, como o dipropionato, bem como utilizando outras matrizes e técnicas (RODCHENKOV et al., 1988; PEREIRA et al., 2005; QU et al., 2008; ZOU et al., 2008; LI et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2011; CHEN et al., 2016; KNYCH et al., 2017; ROMANTSIK et al., 2020). A Tabela 7 é apresentada a fim de comparar esses métodos de análise da betametasona com o do presente estudo. Ressalta-se que os trabalhos citados são aqueles que utilizaram em sua análise a apresentação fosfato de betametasona + acetato de betametasona.

O presente estudo usou uma fase móvel (FM) isocrática com um tempo de preparo de amostra de 1 hora aproximadamente, tornando-se mais vantajoso em relação ao realizado por Knych et al. (2017), que utilizou uma FM composta por uma solução gradiente e com tempo de preparo de amostra de, no mínimo, 1h e 30min. Nos estudos de Petersen e cols. (1980), o PI utilizado foi a hidrocortisona 21-acetato e a prednisolona no de Salem; Alkhatib; Najib (2011), enquanto o presente estudo utilizou a betametasona 21-acetato-D₃ como PI. Ainda que o método validado neste estudo tenha apresentado menor detectabilidade ao ser confrontado com outros estudos (Salem; Alkhatib; Najib, 2011; Knych et al. 2017; Foissac et al., 2020), o limite de quantificação foi compatível com a determinação da betametasona plasmática até 24h após a administração de uma única dose de 12mg, assim como nos compartimentos materno e fetal.

Tabela 7 - Comparação dos métodos de análise de betametasona com o do presente estudo.

Referência	Matriz (Plasma)	Método	Coluna	Padrão Interno	LIQ (ng/mL)	Tempo de corrida
Presente estudo	0,5mL	LC-MS/MS	LiChrospher® 100 RP-8 (125x4mm)	Betametasona 21-acetato-D ₃	2ng/mL	5,8 min
Petersen; Nation (1980)	1mL	HPLC/UV-VIS	RP-8 (250x4,6 mm)	Hidrocortisona 21-acetato	10ng/mL	9 min
Salem; Alkhatib; Najib (2011)	0,5mL	LC-MS/MS	XTera MS C8 (100x2,1mm)	Prednisolona	1ng/mL	4 min
Knych et al. (2017)*	1mL	LC-MS/MS	ACE 3 C18 (100x2,1mm)	Betametasona D ₅	0,025ng/mL	7.42 min
Foissac et al. (2020)	2mL	LC-MS/MS	Kinetex® (1.7 x 2.1mm)	-	1ng/mL	-
Jobe et al. (2020)	-	LC-MS/MS	-	Cortisol deuterado	0,1ng/mL	-

LIQ: limite inferior de quantificação; LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; HPLC-UV: high performance liquid chromatographic with ultravioleta / visible detector.

- Dado não disponível.

*Estudo veterinário. Não foi realizado o processo de estabilização do fosfato de betametasona.

A farmacocinética da betametasona vem sendo utilizada em estudos veterinários (Knych et al., 2017; Kemp et al., 2016; Samtani et al., 2005; Moss et al., 2003), voluntários adultos sadios (Jobe et al., 2020; Salem; Najib, 2012; Petersen et al., 1983) e gestantes (Ballabh et al., 2002; Petersen et al., 1984; Foissac et al., 2020). No entanto, na avaliação em gestantes, não foram considerados grupos específicos para gemelares de acordo com a sua corionicidade e também, não há avaliação do compartimento materno-fetal.

O estudo de Jobe et al. (2020), um dos mais recentes relacionado à betametasona, apresenta parâmetros farmacocinéticos após administração intramuscular de 6mg do fármaco (3mg fosfato dissódico de betametasona + 3mg acetato de betametasona) administrados em 12 voluntárias sadias não gestantes. Os seus achados foram: C_{max} 35,4ng/mL, T_{max} 3h, AUC^{0-24} 473ng.h/mL, $T_{1/2}$ 59h, Cl/F 7404 mL/h e Vd/F 582,583 mL em um período de 24 horas de coletas seriadas. No estudo de Salem; Najib (2012), foram avaliados 24 voluntários sadios, homens, após administração intramuscular de 6mg de betametasona (3mg fosfato dissódico de betametasona + 3mg acetato de betametasona), com coletas seriadas no período de 48 horas. Como resultado, os parâmetros encontrados foram C_{max} 25,86ng/mL, t_{max} 2,52 h, $AUC^{0-\infty}$ 542,17 ng.h/mL, $t_{1/2}$ 12,92 h, Cl/F 11,49 L/h e Vd/F 221 L. É possível observar que os parâmetros farmacocinéticos são semelhantes nesses dois estudos, caracterizando a farmacocinética da betametasona em adultos saudáveis.

Para Petersen et al. (1983), que avaliaram 8 indivíduos saudáveis (6 mulheres e 2 homens) após administração intramuscular de 10.6mg de fosfato dissódico de betametasona, com coletas seriadas dentro de um período de 8 horas, encontraram os seguintes valores dos parâmetros farmacocinéticos: C_{max} 101ng/mL, t_{max} 19 min, $AUC^{0-\infty}$ 46,3 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2}$ 335 min, Cl/F 178 mL/min e Vd/F 84 L. Este estudo mostrou a diferença da farmacocinética quando administrado somente o éster fosfato dissódico de betametasona, havendo t_{max} e $t_{1/2}$ menores, mas com C_{max} maior quando comparados a administração de fosfato dissódico de betametasona + acetato de betametasona. Os parâmetros farmacocinéticos dos estudos realizados com gestantes, bem como as comparações entre esses e o presente estudo estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 - Comparação entre parâmetros farmacocinéticos de estudos encontrados na literatura com o presente estudo.

Parâmetro	Presente estudo			Ballabh et al., 2002		Petersen et al., 1984		Foissac et al., 2020
	Grupo controle	Gemelar DC	Gemelar MC	Grupo controle	Gemelar	Gestação única		Gestação única
Dose (BF + BA)	12mg	12mg	12mg	12mg	12mg	6mg	12mg	24mg
C _{max} (ng/mL)	56,19	48,19	49,83	-	-	24	53	63,8
t _{max} (h)	1,90	1,86	1,65	-	-	1,08	1,54	-
AUC (ng.h/mL)	644,4	405,2	423,3	-	-	135	302,1	1430
t _{1/2} (h)	7,68	4,64	4,47	9	7,2	4,57	5,64	5,5
Cl/F (L/h)	9,89	16,81	15,68	5,7	8,4	-	-	12
Vd/F (L)	105,3	115,3	98,83	67,5	70,9	-	-	-

Dados expressos em média. BF: fosfato dissódico de betametasona; BA: acetato de betametasona; C_{max}: concentração plasmática máxima; t_{max}: tempo para alcançar C_{max}; AUC: area under the curve; concentração plasmática *versus* tempo; t_{1/2}: meia-vida de eliminação; Cl/F: *clearance* total aparente; Vd/F: volume de distribuição aparente.

- Dados não disponíveis.

Como pode ser observado, a betametasona foi avaliada com base nos parâmetros farmacocinéticos $C_{\max}$ (ng/mL), $t_{\max}$ (h), AUC (ng.h/mL), $t_{1/2a}$ (h), K_a (h^{-1}), $t_{1/2el}$ (h), K_{el} (h^{-1}), Cl/F (L/h) e Vd/F (L). No presente estudo, ao se comparar os grupos de gestações gemelares (DC e MC) com o grupo controle, foi notada diminuição do $C_{\max}$ e $t_{1/2el}$. Essa diminuição pode estar correlacionada ao aumento do volume de distribuição (Vd/F) e do *clearance*, que são mais evidenciados na gestação gemelar (Ballabh et al., 2002), especialmente no grupo gemelar dicoriônico, mais propenso a modificações fisiológicas mais acentuadas.

Nos estudos com voluntários saudáveis, nos quais se administrou fosfato dissódico de betametasona + acetato de betametasona, o $t_{\max}$ foi maior quando comparado aos dos estudos com gestantes, assim como com o $t_{\max}$ do presente estudo. O $t_{\max}$ entre os três grupos foram semelhantes, provavelmente devido ao efeito prolongado que o éster acetato de betametasona apresenta. No estudo de Petersen et al. (1984), foi avaliada a disposição da betametasona em parturientes com gestações únicas, após administração intramuscular de betametasona. Como resultado, o $C_{\max}$ foi semelhante, mas o $t_{1/2}$ foi 15,2% menor ao ser comparado com o grupo controle do presente estudo. Essa diferença pode ser devido a metodologia utilizada, como intervalo entre as coletas seriadas e metodologia analítica.

A AUC é considerada uma medida de exposição do fármaco e está diretamente ligada ao Cl/F (L/h) e Vd/F (L). O *clearance* mede a eficiência de eliminação de um fármaco no organismo e, através dele, pode-se estabelecer qual deve ser a dose do fármaco para atingir a concentração terapêutica no estado de equilíbrio, sendo que, através deste parâmetros, pode-se avaliar a disponibilidade de um fármaco (FEGHALI; VENKATARAMANAN; CARITIS, 2015). Os parâmetros AUC e Cl/F apresentaram diferença estatística entre os grupos controle e gemelar DC (70%) e controle e gemelar MC (58,6%). Estes resultados corroboram com os estudos de Ballabh et al. (2002) e Foissac et al. (2020), nos quais o grupo gemelar apresenta uma $t_{1/2}$ menor e uma eliminação mais rápida quando comparada as gestantes com fetos únicos. O aumento do volume de distribuição implica no aumento do *clearance* e conseqüentemente, na diminuição da AUC, podendo interferir na farmacocinética da betametasona em gestantes gemelares, diminuindo a concentração livre da betametasona na circulação materna, refletindo também, na quantidade do fármaco recebida pelos fetos (TAN; TAN, 2013; WHITELEY; HARDMAN, 2017; KOREN; PARIENTE, 2018).

A farmacocinética dos corticosteroides pode variar de acordo com a sua afinidade pelo receptor celular. Ao entrar na célula, eles se ligam e são transportados para o núcleo da célula, onde interagem com diferentes genes, estimulando ou inibindo suas expressões. A betametasona é um corticoide sintético que tem afinidade pelos receptor glicocorticoide (GR) e receptor mineralocorticoide (MR) e é metabolizada pela subfamília CYP3A do citocromo P450 no fígado (MATSUNAGA et al., 2012; COLE; SHORT; HOOPER, 2019). Durante a gestação, há aumento do fluxo sanguíneo hepático, o que pode promover aumento do *clearance* e diminuição da AUC da betametasona, justificando então os parâmetros encontrados entre os grupos deste estudo (FEGHALI; VENKATARAMANAN; CARITIS, 2015; MOSCOVITZ; GORCZYCA; ALEKSUNES, 2017). Além disso, há aumento do fluxo plasmático renal com incremento da eliminação do fármaco.

Em complementação ao estudo da farmacocinética da betametasona durante a gestação, o presente estudo traz dados preliminares da avaliação da transferência placentária e do espaço intervilo de dessas gestantes. Por apresentar característica lipofílica, a betametasona atravessa a barreira placentária, fato este conhecido desde o estudo de Liggins; Howie (1972) e corroborado por outros trabalhos ao longo do tempo (BALLARD; GRANBERG; BALLARD, 1975; PETERSEN et al., 1980; DANCIS; JANSEN; LEVITZ, 1980; GILSTRAP LC et al., 1995; BALLABH et al., 2002; COLE; SHORT; HOOPER, 2019; WARD; VARNER, 2019). No grupo controle, a razão entre veia umbilical e veia materna foi 22% menor que no estudo de Foissac et al. (2020) e do grupo de gestações únicas do estudo de Ballabh et al. (2002). A razão entre veia umbilical e veia materna foi 180% e 110% menor para o grupo gemelar DC e gemelar MC, respectivamente, comparado ao grupo gemelar do estudo de Ballabh et al. (2002).

De acordo com os estudos de Filgueira et al. (2017) e Moises et al. (2015), o espaço intervilo se comporta como uma continuação da veia materna, considerando então esse espaço como um único compartimento. No presente estudo, a concentração de betametasona encontrada no espaço intervilo foi menor ao ser comparado com a concentração encontrada na veia materna, no momento do parto, e maior quando comparada as concentrações da veia umbilical. Esse achado pode indicar que o espaço intervilo se comporta como um depósito do fármaco, podendo apresentar concentrações mais altas quando comparadas a outros compartimentos e permitindo um efeito prolongado do fármaco administrado.

Há estudos (Ballabh et al., 2002; Pacheco et al., 2007; Anger; Piquette-Miller, 2017) que correlacionam o aumento do *clearance* materno ao metabolismo placentário por haver enzimas na placenta que participam do metabolismo dos corticosteroides. Portanto, diferentemente do que está estabelecido, a betametasona poderia ser metabolizada na placenta e atingiria o feto em menores concentrações. Mas, para um melhor entendimento deste processo, são necessários mais estudos avaliando transferência placentária e metabolismo da betametasona no compartimento materno-fetal.

Por fim, cumpre destacar a importância de interações medicamentosas que possam interferir com a farmacocinética e transferência placentária da betametasona. Durante a gestação, há uma redução e/ou restrição do uso de medicações, principalmente por causa dos riscos fetais e/ou neonatais. No entanto, é comum haver necessidade do uso de alguns fármacos, seja para suplementação vitamínica, mineral ou até mesmo para tratar alguma condição patológica mais específica. Durante o processo de recrutamento, foram levantados dados sobre o uso de medicamentos que as gestantes estavam fazendo concomitante a administração da betametasona e foi avaliada a existência de interação medicamentosa entre eles. A avaliação foi realizada através de duas plataformas online: *Medscape* (<https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>) e *Drugs.com* (https://www.drugs.com/drug_interactions.html) e não foram encontradas possibilidades de interações relevantes (sinergismo ou inibição, por exemplo) entre as medicações que as gestantes utilizavam e a betametasona que pudessem afetar as suas concentrações.

7 Conclusões

1. O método de determinação da betametasona em plasma empregando LC-MS/MS apresentou parâmetros de validação compatíveis para aplicação em estudos de farmacocinética e transferência placentária utilizando uma dose de 12mg de betametasona.
2. A gemelaridade influencia na farmacocinética da betametasona quando comparada a gestação única, mas para que haja ajustes em esquemas posológicos são necessários mais estudos clínicos que avaliem a repercussão dessas diferenças.
3. Os dados sugerem que a gemelaridade DC apresenta maiores diferenças nos parâmetros farmacocinéticos quando comparada aos grupos controle e gemelar MC, que podem ser relacionadas a presença de maior quantidade de tecido placentário e produção de substâncias que promovem adaptações maternas.
4. Nos resultados preliminares, a avaliação da transferência placentária de betametasona também pareceu ser afetada pela gemelaridade, principalmente em gestações DC. Para confirmar o comportamento da betametasona na transferência placentária e a repercussão dessa diferença sobre os fetos são necessários estudos clínicos com número maior de participantes e diferentes esquemas posológicos de betametasona.

Referências Bibliográficas

ABBASSI-GHANAVALI, M.; GREER, L. G.; CUNNINGHAM, F. G. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. **Obstetrics and Gynecology**, v. 114, n. 6, p. 1326–1331, dez. 2009.

ABDULJALIL, K. et al. Anatomical, physiological and metabolic changes with gestational age during normal pregnancy: a database for parameters required in physiologically based pharmacokinetic modelling. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 51, n. 6, p. 365–396, 1 jun. 2012.

ACOG COMMITTEE OPINION. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 48, n. 3, p. 340–342, 1 mar. 1995.

AL-ENAZY, S. et al. Placental control of drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 116, p. 63–72, 01 2017.

AL-OBAIDLY, S. et al. Maternal pre-gravid body mass index and obstetric outcomes in twin gestations. **Journal of Perinatology: Official Journal of the California Perinatal Association**, v. 34, n. 6, p. 425–428, jun. 2014.

ALTORJAY, Á. T. et al. Evaluation of placental vascularization indices in monochorionic diamniotic and dichorionic diamniotic twin pregnancies. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 228, p. 225–231, 1 set. 2018.

ANANTH, C. V.; CHAUHAN, S. P. Epidemiology of Twinning in Developed Countries. **Seminars in Perinatology**, Multiple Gestations. v. 36, n. 3, p. 156–161, 1 jun. 2012.

ANDERSON, G. D. Pregnancy-induced changes in pharmacokinetics: a mechanistic-based approach. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 10, p. 989–1008, 2005.

ANGER, G. J.; PIQUETTE-MILLER, M. Chapter 3 - Pharmacokinetics in Pregnancy. In: GUPTA, R. C. (Ed.). **Reproductive and Developmental Toxicology (Second Edition)**. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 39–49.

ANSARI, J. et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Drugs Commonly Used in Pregnancy and Parturition. **Anesthesia and Analgesia**, v. 122, n. 3, p. 786–804, mar. 2016.

ATKINSON, D. E.; BOYD, R. D. H.; SIBLEY, C. P. Placental Transfer. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, Third Edition**, n. 10, p. 2787–2846, 2006.

BALLABH, P. et al. Pharmacokinetics of betamethasone in twin and singleton pregnancy. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 71, n. 1, p. 39–45, jan. 2002.

BALLARDa, P. L. et al. A radioreceptor assay for evaluation of the plasma glucocorticoid activity of natural and synthetic steroids in man. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 41, n. 2, p. 290–304, ago. 1975.

BALLARDb, P. L.; GRANBERG, P.; BALLARD, R. A. Glucocorticoid levels in maternal and cord serum after prenatal betamethasone therapy to prevent respiratory distress syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 56, n. 6, p. 1548–1554, dez. 1975.

BARDIN, R. et al. Reference values for gamma-glutamyl-transferase in amniotic fluid in normal pregnancies. **Prenatal Diagnosis**, v. 29, n. 7, p. 703–706, jul. 2009.

BLACK, M.; BHATTACHARYA, S. Epidemiology of multiple pregnancy and the effect of assisted conception. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine**, v. 15, n. 6, p. 306–312, dez. 2010.

BONANNO, C.; WAPNER, R. J. Antenatal corticosteroids in the management of preterm birth: are we back where we started? **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 39, n. 1, p. 47–63, mar. 2012.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 17 de maio de 2012. Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 de maio de 2012, seção 1, p.93.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos - SINASC - Dados preliminares de 2017**. DATASUS: [s.n.]. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinasc/cnv/pnvuf.def>>. Acesso em: 8 dez. 2018.

BROWNFOOT, F. C. et al. Different corticosteroids and regimens for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, p. 28, 2014.

BRUBAKER, S. G.; GYAMFI, C. Prediction and Prevention of Spontaneous Preterm Birth in Twin Gestations. **Seminars in Perinatology**, Multiple Gestations. v. 36, n. 3, p. 190–194, 1 jun. 2012.

BUNTE, K. et al. Learning pharmacokinetic models for in vivo glucocorticoid activation. **Journal of Theoretical Biology**, v. 455, p. 222–231, 14 out. 2018.

CAMELO JÚNIOR, J. S. et al. A new method for sampling maternal blood in the placental intervillous space. **Fetal Diagnosis and Therapy**, v. 10, n. 5, p. 322–325, out. 1995.

CHANG, J.; STREITMAN, D. Physiologic Adaptations to Pregnancy. **Neurologic Clinics**, v. 30, n. 3, p. 781–789, 2012.

CHAUHAN, S. P. et al. Twins: prevalence, problems, and preterm births. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 203, n. 4, p. 305–315, out. 2010.

CHEN, M.-Y. et al. Quantitative determination of betamethasone sodium phosphate and betamethasone dipropionate in human plasma by UPLC-MS/MS and a bioequivalence study. **Analytical methods : advancing methods and applications**, v. 8, n. 17, p. 3550–3563, 7 maio 2016.

COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v. 16, n. 1, p. 31–41, 1976.

COLE, T. J.; SHORT, K. L.; HOOPER, S. B. The science of steroids. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 170–175, 1 jun. 2019.

CORDERO, L.; FRANCO, A.; JOY, S. D. Monochorionic monoamniotic twins: neonatal outcome. **Journal of Perinatology**, v. 26, n. 3, p. 170–175, mar. 2006.

CROWTHER, C. A. et al. Australasian randomised trial to evaluate the role of maternal intramuscular dexamethasone versus betamethasone prior to preterm birth to increase survival free of childhood neurosensory disability (A*STEROID): study protocol. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 13, p. 104, 3 maio 2013.

DANCIS, J.; JANSEN, V.; LEVITZ, M. Placental transfer of steroids: effect of binding to serum albumin and to placenta. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 238, n. 3, p. E208–E213, 1 mar. 1980.

DONNELLY, L.; CAMPLING, G. Functions of the placenta. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 17, n. 7, p. 349–353, 1 jul. 2016.

DUPONT, W. D.; PLUMMER, W. D. Power and sample size calculations. A review and computer program. **Controlled clinical trials**, v. 11, n. 2, p. 116–28, abr. 1990.

DUPONT, W. D.; PLUMMER, W. D. Power and sample size calculations for studies involving linear regression. **Controlled clinical trials**, v. 19, n. 6, p. 589–601, dez. 1998.

FEGHALI, M.; VENKATARAMANAN, R.; CARITIS, S. Pharmacokinetics of drugs in pregnancy. **Seminars in Perinatology**, Medications in Pregnancy and Lactation. v. 39, n. 7, p. 512–519, 1 nov. 2015.

FERRIMAN, E.; STRATTON, S.; STERN, V. Twin pregnancy. **Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine**, v. 28, n. 8, p. 221–228, 1 ago. 2018.

FILGUEIRA, G. C. DE O. et al. Effect of type 2 diabetes mellitus on the pharmacokinetics and transplacental transfer of nifedipine in hypertensive pregnant women. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 7, p. 1571–1579, 2017.

FOISSAC, F. et al. Maternal betamethasone for prevention of Respiratory Distress Syndrome in neonates: population pharmacokinetic and pharmacodynamic approach. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. n/a, n. n/a, 2020.

GILSTRAP LC et al. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes: Nih consensus development panel on the effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. **JAMA**, v. 273, n. 5, p. 413–418, 1 fev. 1995.

GOLDBERG, D. M. Structural, functional, and clinical aspects of gamma-glutamyltransferase. **CRC critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 12, n. 1, p. 1–58, 1980.

HALL, JUDITH. G. Twinning. **The Lancet**, v. 362, n. 9385, p. 735–743, 2003.

HAREL, Z. et al. Serum Creatinine Levels Before, During, and After Pregnancy. **JAMA**, v. 321, n. 2, p. 205–207, 15 2019.

HONGER, P. E. Albumin metabolism in normal pregnancy. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 21, n. 1, p. 3–9, 1968.

JAMJUTE, P. et al. Liver function test and pregnancy. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine: The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians**, v. 22, n. 3, p. 274–283, mar. 2009.

JANSSON, T. Placental Transfer. In: SKINNER, M. K. (Ed.). **Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)**. Oxford: Academic Press, 2018. p. 530–536.

JOBE, A. H. et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intramuscular and Oral Betamethasone and Dexamethasone in Reproductive Age Women in India. **Clinical and Translational Science**, v. 13, n. 2, p. 391–399, mar. 2020.

KATHIRESAN, A. S. Q. et al. The influence of maternal age on pregnancy outcome in nulliparous women with twin gestation. **American Journal of Perinatology**, v. 28, n. 5, p. 355–360, maio 2011.

KEMP, M. W. et al. Maternofetal pharmacokinetics and fetal lung responses in chronically catheterized sheep receiving constant, low-dose infusions of betamethasone phosphate. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 215, n. 6, p. 775.e1-775.e12, dez. 2016.

KLAJNBARD, A. et al. Laboratory reference intervals during pregnancy, delivery and the early postpartum period. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 48, n. 2, p. 237–248, fev. 2010.

KNYCH, H. K. et al. Pharmacokinetics of betamethasone in plasma, urine, and synovial fluid following intra-articular administration to exercised thoroughbred horses. **Drug Testing and Analysis**, v. 9, n. 9, p. 1385–1391, set. 2017.

KOREN, G.; PARIENTE, G. Pregnancy- Associated Changes in Pharmacokinetics and their Clinical Implications. **Pharmaceutical Research**, v. 35, n. 3, p. 61, 12 fev. 2018.

KRAUER, B.; DAYER, P.; ANNER, R. Changes in serum albumin and alpha 1-acid glycoprotein concentrations during pregnancy: an analysis of fetal-maternal pairs. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 91, n. 9, p. 875–881, set. 1984.

KUK, J.-Y. et al. Optimal time interval between a single course of antenatal corticosteroids and delivery for reduction of respiratory distress syndrome in preterm twins. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 209, n. 3, p. 256.e1–7, set. 2013.

LARSSON, A. et al. Reference values for clinical chemistry tests during normal pregnancy. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 115, n. 7, p. 874–881, 2008.

LAWN, J. E. et al. Born Too Soon: Accelerating actions for prevention and care of 15 million newborns born too soon. **Reproductive health**, v. 10, n. Suppl 1, p. 20, 2013.

LEE, Y. M. Delivery of Twins. **Seminars in Perinatology, Multiple Gestations**. v. 36, n. 3, p. 195–200, 1 jun. 2012.

LI, C. et al. Rapid simultaneous determination of dexamethasone and betamethasone in milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry with isotope dilution. **Journal of Chromatography. A**, v. 1217, n. 3, p. 411–414, 15 jan. 2010.

LIGGINS, G. C. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. **J Endocrinol.**, v. 45, n. 4, p. 515–523, dez. 1969.

LIGGINS, G. C.; HOWIE, R. N. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. **Pediatrics**, v. 50, n. 4, p. 515–525, out. 1972.

MACGILLIVRAY, I.; TOVEY, J. E. A study of the serum protein changes in pregnancy and toxæmia, using paper strip electrophoresis. **The Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Empire**, v. 64, n. 3, p. 361–364, jun. 1957.

MAGANN, EVERETT. F. et al. Use of antenatal corticosteroids in special circumstances: a comprehensive review. **Acta Obstet Gynecol Scand.**, v. 96, n. 4, p. 395–409, abr. 2017.

MARLEEN, S. et al. Maternal clinical predictors of preterm birth in twin pregnancies: A systematic review involving 2,930,958 twin pregnancies. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 230, p. 159–171, 1 nov. 2018.

MATSUNAGA, T. et al. Mechanisms of CYP3A induction by glucocorticoids in human fetal liver cells. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 27, n. 6, p. 653–657, 2012.

MCCORMACK, S. A; BEST, B. M. Obstetric Pharmacokinetic Dosing Studies are Urgently Needed. **Frontiers in pediatrics**, v. 2, n. February, p. 9, 2014.

MINNEMAN, KENNETH. P.; WECKER, L. **Brody's Human Pharmacology - Molecular to Clinical**. 4. ed. Philadelphia: Mosby, 2005.

MOISES, E. C. D. et al. Transplacental Distribution of Lidocaine and Its Metabolite in Peridural Anesthesia Administered to Patients With Gestational Diabetes Mellitus. **Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)**, v. 22, n. 7, p. 791–797, jul. 2015.

MOSCOVITZ, J. E.; GORCZYCA, L.; ALEKSUNES, L. M. Chapter 9 - Drug Metabolism in Pregnancy. In: XIE, W. (Ed.). **Drug Metabolism in Diseases**. Boston: Academic Press, 2017. p. 207–240.

MOSQUERA, C.; MILLER, R. S.; SIMPSON, L. L. Twin–Twin Transfusion Syndrome. **Seminars in Perinatology**, Multiple Gestations. v. 36, n. 3, p. 182–189, 1 jun. 2012.

MOSS, T. J. M. et al. Pharmacokinetics of betamethasone after maternal or fetal intramuscular administration. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 6, p. 1751–1757, 1 dez. 2003.

MYLLYNEN, P.; VÄHÄKANGAS, K. Placental transfer and metabolism: An overview of the experimental models utilizing human placental tissue. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 1, p. 507–512, 1 fev. 2013.

NEWMAN, R. B.; UNAL, E. R. Multiple Gestations: Timing of Indicated Late Preterm and Early-Term Births in Uncomplicated Dichorionic, Monochorionic, and Monoamniotic Twins. **Seminars in Perinatology**, Indicated Late Preterm and Early-Term Births. v. 35, n. 5, p. 277–285, 1 out. 2011.

OKAMOTO, T. et al. Expression of human placenta alkaline phosphatase in placenta during pregnancy. **Placenta**, v. 11, n. 4, p. 319–327, ago. 1990.

PACHECO, L. D. et al. Pharmacokinetics of corticosteroids during pregnancy. **American Journal of Perinatology**, v. 24, n. 2, p. 79–82, fev. 2007.

PATAIA, V.; DIXON, P. H.; WILLIAMSON, C. Pregnancy and bile acid disorders. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 313, n. 1, p. G1–G6, 1 jul. 2017.

PEREIRA, A. DOS S. et al. Quantification of betamethasone in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using atmospheric pressure photoionization in negative mode. **Journal of Chromatography B**, v. 828, n. 1, p. 27–32, 15 dez. 2005.

PETERSEN, M. C. et al. The placental transfer of betamethasone. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 3, p. 245–247, out. 1980.

PETERSEN, M. C. et al. Pharmacokinetics of betamethasone in healthy adults after intravenous administration. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 25, n. 5, p. 643–50, 1983.

PETERSEN, M. C. et al. Disposition of betamethasone in parturient women after intramuscular administration. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 18, n. 3, p. 383–392, set. 1984.

PETERSEN, M. C.; NATION, R. L.; ASHLEY, J. J. Simultaneous determination of betamethasone, betamethasone acetate and hydrocortisone in biological fluids using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 183, n. 2, p. 131–139, 8 ago. 1980.

PINBORG, A. IVF/ICSI twin pregnancies: Risks and prevention. **Human Reproduction Update**, v. 11, n. 6, p. 575–593, 2005.

PINHEIRO, R. L. et al. Advanced Maternal Age: Adverse Outcomes of Pregnancy, A Meta-Analysis. **Acta Medica Portuguesa**, v. 32, n. 3, p. 219–226, 29 mar. 2019.

QU, T.-T. et al. Determination of betamethasone in human plasma by liquid chromatography with tandem mass. **Yao Xue Xue Bao = Acta Pharmaceutica Sinica**, v. 43, n. 4, p. 402–407, abr. 2008.

ROBERTS, D. et al. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 3, p. CD004454, 21 2017.

RODCHENKOV, G. M. et al. Gas chromatographic and mass spectral study of betamethasone synthetic corticosteroid metabolism. **Journal of Chromatography**, v. 432, p. 283–289, 18 nov. 1988.

RODE, L.; TABOR, A. Prevention of preterm delivery in twin pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, Multiple Pregnancy. v. 28, n. 2, p. 273–283, 1 fev. 2014.

ROMANTSİK, O. et al. A LC-MS/MS method for the quantification of caffeine, betamethasone, clonidine and furosemide in cerebrospinal fluid of preterm infants. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 179, p. 112996, 5 fev. 2020.

ROMEJKO-WOLNIEWICZ, E.; TELIGA-CZAJKOWSKA, J.; CZAJKOWSKI, K. Antenatal steroids: can we optimize the dose? **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 26, n. 2, p. 77–82, 2014.

SALEM, I. I.; ALKHATIB, M.; NAJIB, N. LC–MS/MS determination of betamethasone and its phosphate and acetate esters in human plasma after sample stabilization. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 1, p. 983–991, 2011.

SALEM, I. I.; NAJIB, N. M. Pharmacokinetics of Betamethasone After Single-Dose Intramuscular Administration of Betamethasone Phosphate and Betamethasone Acetate to Healthy Subjects. **Clinical Therapeutics**, v. 34, n. 1, p. 214–220, 2012.

SAMTANI, M. N. et al. Stabilization and HPLC analysis of betamethasone sodium phosphate in plasma. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 3, p. 726–732, 1 mar. 2004.

SAMTANI, M. N. et al. Betamethasone pharmacokinetics after two prodrug formulations in sheep: implications for antenatal corticosteroid use. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals**, v. 33, n. 8, p. 1124–1130, ago. 2005.

SANTANA, D. S. et al. Perinatal outcomes in twin pregnancies complicated by maternal morbidity: evidence from the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 18, n. 1, p. 449, 20 nov. 2018.

SANTANA, D. S.; SURITA, F. G.; CECATTI, J. G. Multiple Pregnancy: Epidemiology and Association with Maternal and Perinatal Morbidity. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 40, n. 9, p. 554–562, set. 2018.

SCHIFFER, L. et al. Human steroid biosynthesis, metabolism and excretion are differentially reflected by serum and urine steroid metabolomes: A comprehensive review. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 194, p. 105439, 1 nov. 2019.

TALBOT, L.; MACLENNAN, K. Physiology of pregnancy. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, Obstetric Anaesthesia. v. 17, n. 7, p. 341–345, 1 jul. 2016.

TAN, E. K.; TAN, E. L. Alterations in physiology and anatomy during pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, Critical Illness in Obstetrics. v. 27, n. 6, p. 791–802, 1 dez. 2013.

TAUZIN, M. et al. Le monde des jumeaux : aspects épidémiologiques et génétiques, enjeux obstétricaux, risques spécifiques et devenir. **Archives de Pédiatrie**, v. 24, n. 12, p. 1299–1311, dez. 2017.

TEAL, S. B.; SHEEDER, J. Balancing the Risks and Desires for Pregnancy in Older Mothers: Increasing Morbidity, Declining Fertility. **JAMA internal medicine**, v. 178, n. 12, p. 1671–1672, 01 2018.

TEIXEIRA, L. S. et al. An LC-MS/MS-ESI method for the quantification of betamethasone in bioequivalence studies. **Acta Chromatographica**, v. Vol. 23, n. 3, 2011.

THAN, N. N.; NEUBERGER, J. Liver abnormalities in pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, The Liver in Systemic Disease. v. 27, n. 4, p. 565–575, 1 ago. 2013.

TONY GIN, MBC.; JEROME YANKOWITZ, M. Farmacologia e Drogas Não Anestésicas durante a Gestação e Lactação. In: **Chestnut Anestesia Obstétrica Princípios e Prática**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Inc, 2016. p. 303–325.

UELAND, K. Maternal cardiovascular dynamics. VII. Intrapartum blood volume changes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 126, n. 6, p. 671–677, 15 nov. 1976.

VAN BALEN, V. A. L. et al. Maternal Kidney Function During Pregnancy: Systematic Review and Meta-Analysis. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 54, n. 3, p. 297–307, set. 2019.

WALKER, C.-D.; WELBERG, L. A. M.; PLOTSKY, P. M. 72 - Glucocorticoids, Stress, and Development. In: PFAFF, D. W. et al. (Eds.). **Hormones, Brain and Behavior**. San Diego: Academic Press, 2002. p. 487–534.

WANG, C. et al. Recommended reference values for serum lipids during early and middle pregnancy: a retrospective study from China. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 246, 31 out. 2018.

WARD, R. M.; VARNER, M. W. Principles of Pharmacokinetics in the Pregnant Woman and Fetus. **Clinics in Perinatology**, v. 46, n. 2, p. 383–398, jun. 2019.

WHITELEY, W. J. D.; HARDMAN, J. G. Pharmacokinetic analysis. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 18, n. 9, p. 455–457, 1 set. 2017.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **BMI Classification. Global Database on Body Mass Index**. Disponível em: <<https://apps.who.int/bmi/index.jsp>>. Acesso em: 10 abr. 2020.

YOUNG, B. C.; WYLIE, B. J. Effects of Twin Gestation on Maternal Morbidity. **Seminars in Perinatology**, Multiple Gestations. v. 36, n. 3, p. 162–168, 1 jun. 2012.

ZELJKOVIC, A. et al. Changes in LDL and HDL subclasses in normal pregnancy and associations with birth weight, birth length and head circumference. **Maternal and Child Health Journal**, v. 17, n. 3, p. 556–565, abr. 2013.

ZHU, C. et al. Obstetric outcomes of twin pregnancies at advanced maternal age: A retrospective study. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 57, n. 1, p. 64–67, 1 fev. 2018.

ZIADIE, M. S. **Twins**. Disponível em: <<http://www.pathologyoutlines.com/topic/placentatwins.html>>. Acesso em: 5 jun. 2020.

ZOU, J.-J. et al. Determination of betamethasone and betamethasone 17-monopropionate in human plasma by liquid chromatography-positive/negative electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 873, n. 2, p. 159–164, 1 out. 2008.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 26 de julho de 2017

Ofício nº 2211/2017
CEP/MGV

Prezadas Senhoras,

O trabalho intitulado **“FARMACOCINETICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO PLACENTÁRIA DA BETAMETASONA EM GESTAÇÕES GEMELARES” – versão 2, de 11/07/2017**, foi analisado “AD REFERENDUM” pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – versão 2, de 11/07/2017**, de acordo com o Processo HCRP nº 8676/2017.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/12 CNS/MS.

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

Atenciosamente.

DR^a. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras

GRAZIELLE DE FÁTIMA PINTO RODRIGUES
PROF^a. DR^a. ALESSANDRA CRISTINA MARCOLIN (Orientadora)
Depto. de Ginecologia e Obstetria

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/12)

Título do estudo: Farmacocinética e análise da distribuição placentária da betametasona em gestações gemelares

Nome da Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo / Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Participante do estudo: _____

Registro da participante do estudo na instituição: _____

Pesquisadores: Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Marcolin

Pesquisadora: Grazielle de Fátima Pinto Rodrigues

A senhora está sendo convidada a participar do estudo “**Farmacocinética e análise da distribuição placentária da betametasona em gestações gemelares**”. Por favor, leia com atenção as informações descritas neste documento e discuta-as, se desejar, com sua família ou amigos. Pergunte aos pesquisadores do estudo qualquer dúvida que não tenha ficado clara ou que você necessite de mais informações.

A gravidez gemelar é classificada como de alto risco, tanto para mãe como para os bebês quando comparada à gestação de apenas um bebê. É muito comum o nascimento dos bebês antes de completar os 9 meses e uma forma de diminuir os riscos, principalmente de dificuldades respiratórias e perdas de sangue, para essas crianças que nascem antes da hora é administrar corticoide, que é um medicamento, na mãe. Essa medicação, quando administrada entre 24^a e a 34^a semana de gestação, pode acelerar o amadurecimento do(s) bebê(s) e reduzir as complicações.

Há muitos anos, o corticoide é comumente receitado para gestantes, com um ou mais bebês e que possuem maior risco de terem partos antes da hora. O corticoide prescrito é a betametasona que é administrado na forma de injeções, a cada 24 horas, por dois dias seguidos. Porém, parece que o efeito dessa medicação

é menor no caso de gestações gemelares. Por isso, vamos comparar os resultados encontrados em gestações com um e com mais bebês.

Caso concorde em participar desta pesquisa, entre as administrações das doses de corticoide, nós vamos coletar amostras de sangue da senhora para dosar a quantidade da medicação nele. No momento do nascimento de seu(s) bebê(s), amostras de sangue também serão coletadas da placenta, depois que ela for expulsa de seu útero para avaliar o quanto de medicação passa para os seus bebês.

Os inconvenientes desta pesquisa são os desconfortos gerados pela coleta de sangue, tais como dor e uma mancha arroxeadada no local da coleta. E como benefícios, este estudo irá adquirir conhecimento sobre a farmacocinética da betametasona, podendo gerar mudanças nos regimes posológicos utilizados na gemelaridade. Os pesquisadores a identificarão através de um código. Seu nome nunca será mencionado em qualquer relatório ou publicação que possam resultar deste estudo, ou seja, sua identidade será mantida em confidencialidade e sigilo pela pesquisadora e sua equipe de acordo com as leis, resoluções e códigos de conduta profissional aplicáveis no Brasil, se comprometendo a manter em segredo os dados individuais, resultados de exames e testes, bem como informações de seu prontuário médico. Não será permitido o acesso a terceiros. A decisão de participar ou não do estudo é inteiramente sua. Mesmo depois de ter concordado em participar, e posteriormente, quiser se retirar do estudo, possui total liberdade e não haverá qualquer prejuízo ou comprometimento do seu acompanhamento ou sofrer quaisquer pressões ou constrangimentos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). O CEP é um órgão criado para defender os seus interesses de participante do estudo e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa de forma ética. Para qualquer informação antes, durante ou após a realização do estudo, poderá entrar em contato com a pesquisadora do estudo ou o CEP nos telefones e endereços descritos em CONTATOS. Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado em duas vias pela senhora e pela pesquisadora do estudo, cada um ficará com uma via. Caso por algum motivo o estudo venha a ser terminado ou interrompido antes do tempo previsto, as razões para esta decisão serão analisadas pelo CEP da instituição onde a senhora estará sendo acompanhada. O estudo poderá ser terminado somente após a apreciação pelo CEP, levando em consideração o seu bem-estar como participante da pesquisa. Em caráter de urgência para garantir a

segurança dos participantes, a interrupção poderá ocorrer antes mesmo da avaliação do CEP. Ainda assim, este será comunicado o mais breve possível a respeito das razões do término do estudo. E caso tenha qualquer comprometimento ou complicações decorrentes da pesquisa será indenizada nos termos da lei vigente no país.

Certificado de Consentimento

Eu, abaixo assinado, declaro que os objetivos e detalhes deste estudo foram explicados a mim. 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 a confidencialidade dos meus registros médicos garantida.

Tendo recebido as informações acima, concordo em participar do estudo e estou ciente da liberdade de me expressar durante o mesmo, favorável ou contrariamente aos procedimentos e de desistir do estudo em qualquer fase do mesmo.

Nome da participante: _____

Assinatura: _____ Data: _____

Nome da pesquisadora: _____

Assinatura: _____ Data: _____

CONTATOS

Pesquisadora: Grazielle de Fátima P. Rodrigues
Telefones: (16) 9 9781-3900
E-mail: graziellerodrigue@hotmail.com

Orientadora: Professora Dra Alessandra Marcolin
Telefone: (16) 3602-2588
E-mail: dralemar@uol.com.br

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP).
Local: Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, 8º andar, Hospital das Clínicas da FMRP-USP.
Endereço: Avenida Bandeirantes, 3900, Bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto – SP, CEP: 14049-900.
Comitê de Ética em Pesquisa
Endereço: Avenida Bandeirantes, 3900, Bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto – SP, CEP: 14049-900.
Telefone: (16) 3602-2228
E-mail: cep@hcrp.usp.br

APÊNDICE B – Características individuais das gestantes investigadas**Tabela I – Dados individuais das pacientes do grupo controle (n=9)**

Gestantes	Idade (anos)	IG (dias)	IMC (Kg/m²)
01	21	195	26,64
02	27	235	22,87
03	36	194	36,68
04	21	235	20,06
05	36	233	27,68
06	25	192	29,07
07	23	219	22,77
08	33	181	24,8
09	18	201	30,82

IMC: Índice de Massa Corporal; IG: Idade Gestacional.

Tabela II – Dados individuais das pacientes do grupo gemelar dicoriônico (n=9)

Gestantes	Idade (anos)	IG (dias)	IMC (Kg/m²)
01	35	221	30,56
02	31	234	28,08
03	28	169	28,41
04	26	187	32,10
05	24	169	21,76
06	21	207	26,17
07	20	178	24,57
08	32	221	36,62
09	21	214	20,47

IMC: Índice de Massa Corporal; IG: Idade Gestacional.

Tabela III – Dados individuais das pacientes do grupo gemelar monocoriônico (n=8)

Gestantes	Idade (anos)	IG (dias)	IMC (Kg/m²)
01	31	221	31,56
02	35	200	37,85
03	27	215	30,13
04	25	214	29,19
05	25	208	27,68
06	33	237	22,42
07	24	214	29,85
08	35	218	24,09

IMC: Índice de Massa Corporal; IG: Idade Gestacional.

APÊNDICE C – Parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados para avaliação da função hepática e renal, avaliação metabólica e normalidade do sistema hematológico

Tabela IV – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo controle (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
α1 glicoproteína ácida (mg/dL)	45,16	61,15	66,29	61,33	66,99	63,42	65,23	62,61	51,39
Albumina (g/dL)	3,58	3,53	3,53	3,55	3,60	3,65	3,62	3,48	3,34
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,08	0,05	0,05	0,19	0,16	0,14	0,12	0,08	0,09
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,19	0,08	0,09	0,58	0,48	0,38	0,27	0,42	0,18
Bilirrubina total (mg/dL)	0,27	0,13	0,15	0,77	0,64	0,51	0,39	0,50	0,28
Clearance de Creatinina	171,98	169,09	318,98	120,70	255,85	235,38	159,55	165,85	226,79
Colesterol (mg/dL)	171,76	217,06	244,50	185,28	230,75	247	179,77	23,42	188,66
Creatinina (mg/dL)	0,74	0,53	0,48	0,66	0,40	0,57	0,55	0,50	0,65
Fosfatase alcalina (U/L)	136,36	189,25	153,26	401,61	207,82	-	330,71	300,03	242,32
Gama-GT (mg/dL)	10,20	9,51	10,16	6,17	14,61	7,06	10,97	5,70	11,90
Glicemia (mg/dL)	50,48	84,60	105,36	74,14	95,45	154	76,66	66,65	52,58
HDL (mg/dL)	62,14	51,06	57,80	54,14	76,00	90,14	52,68	69,48	58,90
LDL (mg/dL)	99	117	121	114	126	136	90	146	110
Proteínas totais (g/dL)	5,89	6,35	6,09	6,77	6,07	6,19	6,16	6,53	5,99
TGO (U/L)	18,30	24,84	10,55	17,94	11,63	11,15	17,09	19,51	11,87
TGP (U/L)	15,53	20,49	9,23	11,14	13,46	9,68	10,87	10,02	8,11
Triglicérides (mg/dL)	52,42	242,51	328,85	86,25	141,80	104,72	183,67	139,99	97,70
Ureia (mg/dL)	19,49	17,95	16,70	11,10	9,35	5,90	9,50	18,48	12,40

Gama-GT: gama glutamil transpeptidase; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoproteins; TGO: transaminase glutâmico oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica. - : dado não disponível.

Tabela V – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo gemelar dicoriônico (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
α 1 glicoproteína ácida (mg/dL)	47,85	-	55,32	128,19	55,29	47,99	52,61	52,94	76,55
Albumina (g/dL)	3,24	-	3,35	3,52	3,31	3,38	3,38	3,35	3,79
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,09	0,08	0,17	0,06	0,08	0,06	0,12	0,14	0,12
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,19	0,25	0,68	4,19	0,15	0,11	0,38	0,26	0,23
Bilirrubina total (mg/dL)	0,27	0,34	0,84	4,25	0,23	0,18	0,50	0,40	0,35
<i>Clearance</i> de creatinina	193,35	213,01	191,56	214,10	208,70	208,94	232,03	184,69	185,05
Colesterol (mg/dL)	362,35	-	238,04	286,57	189,74	277,29	160,80	199,25	215,77
Creatinina (mg/dL)	0,62	0,57	0,54	0,67	0,43	0,53	0,51	0,80	0,51
Fosfatase alcalina (U/L)	350,36	-	137,52	212,35	190,01	243,37	210,71	444,34	437,70
Gama-GT (mg/dL)	20,77	-	14,25	17,29	17,81	7,48	6,38	29,71	33,64
Glicemia (mg/dL)	157,40	75,90	105,38	73,96	111	96,21	59,47	38,76	73,76
HDL (mg/dL)	55,08	-	56,22	62,37	61,96	63,99	47,71	44,81	43,89
LDL (mg/dL)	244	-	162	169	104	153	97	101	137
Proteínas totais (g/dL)	5,71	-	6,14	6,75	5,31	5,84	5,37	5,54	5,78
TGO (U/L)	17,91	17,03	14,64	33,39	17,48	15,89	18,14	21,44	20,17
TGP (U/L)	15,55	-	6,70	31,48	11,98	7,84	36,36	25,63	8,55
Triglicérides (mg/dL)	314,27	-	99,47	273,74	117,52	300,81	79,40	269,02	176,52
Ureia (mg/dL)	22,49	24,60	17,79	11,65	18,44	12,26	16,70	18,35	13,49

Gama-GT: gama glutamil transpeptidase; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoproteins; TGO: transaminase glutâmico oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica. - : dado não disponível.

Tabela VI – Dados individuais dos parâmetros bioquímicos das gestantes do grupo gemelar monocoriônico (n=8)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8
α 1 glicoproteína ácida (mg/dL)	48,86	70,87	71,41	56,91	52,77	68,67	54,50	97,75
Albumina (g/dL)	3,20	3,87	-	3,63	3,72	,381	3,63	3,96
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,22	0,09	0,07	0,05	0,07	0,14	0,05	0,19
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,29	0,29	0,18	0,11	0,14	0,33	0,15	0,24
Bilirrubina total (mg/dL)	0,51	0,39	0,25	0,16	0,21	0,47	0,20	0,43
Clearance de creatinina	182,18	221,53	291,66	189,97	190,29	177,90	234,09	-
Colesterol (mg/dL)	293,46	246,10	287,74	192,62	291,54	188,98	224,22	312,44
Creatinina (mg/dL)	0,59	0,63	0,36	0,66	0,58	0,51	0,50	-
Fosfatase alcalina (U/L)	443,22	268,85	456,30	293,31	279,80	385,99	303	394,38
Gama-GT (mg/dL)	18,81	11,43	14,17	14,06	13,28	60,75	14,62	29,75
Glicemia (mg/dL)	66,91	65,82	69,42	99,88	101,71	76,21	90,36	69,16
HDL (mg/dL)	40,76	57,33	59,56	47,72	55,74	47,69	43,49	31,29
LDL (mg/dL)	175	159	181	111	198	95	135	220
Proteínas totais (g/dL)	5,38	6,36	-	5,60	6,25	6,49	5,76	6,46
TGO (U/L)	38,19	9,73	18,48	13,90	9,24	13,18	18,28	42,31
TGP (U/L)	64,28	6,52	11,03	9,98	5,90	4,89	8,77	34,02
Triglicérides (mg/dL)	387,04	149,61	235,17	171,02	189,38	231,24	226,49	303,93
Ureia (mg/dL)	14,07	13,32	6,3	12,79	16,99	6,14	9,52	12,18

Gama-GT: gama glutamil transpeptidase; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoproteins; TGO: transaminase glutâmico oxalacética; TGP: transaminase glutâmico pirúvica. - : dado não disponível.

Tabela VII – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo controle (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Hemoglobina (g/dL)	12,40	13,20	11,80	11	13,10	12,80	11,50	12,10	9,50
Hematócrito (%)	38	39	35	35	38	37	34	35	29
Glóbulos brancos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	11,30	11,50	13,40	14,90	8,30	11,90	13,40	13,40	9,90
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	234	206	322	161	159	256	126	328	185

Tabela VIII – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo gemelar dicoriônico (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Hemoglobina (g/dL)	11,50	13,20	11,90	12,20	11,20	10,90	11,60	13,10	11
Hematócrito (%)	33	41	34	37	35	32	35	38	32
Glóbulos brancos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	11,10	7,30	13,20	12,20	8,70	12,80	13,30	11,90	9,10
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	173	148	231	309	251	264	260	183	265

Tabela IX – Dados individuais da avaliação da normalidade funcional do sistema hematológico das gestantes do grupo gemelar monocoriônico (n=8)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8
Hemoglobina (g/dL)	15,20	10,40	11,50	10,80	12,20	10,40	11,50	12,20
Hematócrito (%)	43	31	34	33	36	32	35	35
Glóbulos brancos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	12,90	13,40	9,30	11,30	11,10	4,70	8,60	10,60
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	155	377	240	251	312	219	293	350

APÊNDICE D – Parâmetros farmacocinéticos de gestantes que receberam uma dose intramuscular de betametasona

Tabela X – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo controle (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$C_{\max}$ (ng/mL)	45,10	44,88	22,89	97,41	43,46	47,87	95,69	49,97	58,47
$t_{\max}$ (h)	2,24	1,45	2,90	0,94	1,96	1,30	2,34	1,89	2,12
$AUC^{0-\infty}$ (ng.h/mL)	420,51	516,25	654,15	779,85	550,02	543,10	789,38	976,19	570,59
$t_{1/2a}$ (h)	0,70	0,31	0,57	0,19	0,46	0,27	0,85	0,36	0,61
K_a (h^{-1})	0,99	2,24	1,23	3,58	1,50	2,61	0,81	1,92	1,14
$t_{1/2el}$ (h)	4,62	6,89	17,68	4,85	7,28	6,90	3,68	12,16	5,06
K_{el} (h^{-1})	0,15	0,10	0,04	0,14	0,10	0,10	0,19	0,06	0,14
CL/F (L/h)	14,27	11,62	9,17	7,69	10,91	11,05	7,60	6,15	10,52
Vd/F (L)	95,00	115,53	233,93	53,89	114,55	110,00	40,36	107,82	76,81

$C_{\max}$: concentração plasmática máxima; $t_{\max}$: tempo para alcançar $C_{\max}$; $AUC^{0-\infty}$: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo; $t_{1/2a}$: meia-vida de absorção; K_a : constante de velocidade de absorção; $t_{1/2el}$: meia-vida de eliminação; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; CL/F: *clearance* total aparente; Vd/F: volume de distribuição aparente.

Tabela XI – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo dicoriônico (n=9)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C_{max} (ng/mL)	28,69	40,17	43,43	29,75	51,30	31,75	124,73	29,60	54,29
t_{max} (h)	1,74	2,21	1,23	1,85	1,94	2,13	2,47	1,73	1,44
$AUC^{0-\infty}$ (ng.h/mL)	216,67	431,72	363,20	326,67	338,02	319,45	838,40	315,85	496,41
$t_{1/2a}$ (h)	0,52	0,62	0,28	0,45	0,74	0,60	1,70	0,42	0,34
K_a (h^{-1})	1,32	1,13	2,47	1,52	0,94	1,15	0,41	1,66	2,03
$t_{1/2el}$ (h)	3,82	5,69	4,87	6,19	2,85	5,27	1,73	6,07	5,24
K_{el} (h^{-1})	0,18	0,12	0,14	0,11	0,24	0,13	0,40	0,11	0,13
CL/F (L/h)	27,69	13,90	16,52	18,37	17,75	18,78	7,16	19,00	12,09
Vd/F (L)	152,42	114,03	116,01	163,94	72,91	142,84	17,81	166,38	91,40

C_{max} : concentração plasmática máxima; t_{max} : tempo para alcançar C_{max} ; $AUC^{0-\infty}$: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo; $t_{1/2a}$: meia-vida de absorção; K_a : constante de velocidade de absorção; $t_{1/2el}$: meia-vida de eliminação; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; CL/F: *clearance* total aparente; Vd/F: volume de distribuição aparente.

Tabela XII – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos de gestantes do grupo monocoriônico (n=8)

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8
$C_{\max}$ (ng/mL)	41,50	41,96	43,75	43,99	37,90	47,01	74,98	67,56
$t_{\max}$ (h)	1,29	1,03	1,90	1,70	1,20	1,69	2,14	2,22
$AUC^{0-\infty}$ (ng.h/mL)	280,95	353,89	391,22	302,78	347,61	354,77	716,44	638,67
$t_{1/2a}$ (h)	0,34	0,22	0,54	0,54	0,26	0,50	0,63	0,68
K_a (h^{-1})	2,04	3,20	1,29	1,28	2,67	1,39	1,10	1,02
$t_{1/2el}$ (h)	3,68	5,08	4,68	3,36	5,46	3,86	4,89	4,73
K_{el} (h^{-1})	0,19	0,14	0,15	0,21	0,13	0,18	0,14	0,15
CL/F (L/h)	21,36	16,95	15,34	19,82	17,26	16,91	8,37	9,39
Vd/F (L)	113,47	124,25	103,53	95,95	135,98	94,20	59,08	64,15

$C_{\max}$: concentração plasmática máxima; $t_{\max}$: tempo para alcançar $C_{\max}$; $AUC^{0-\infty}$: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo; $t_{1/2a}$: meia-vida de absorção; K_a : constante de velocidade de absorção; $t_{1/2el}$: meia-vida de eliminação; K_{el} : constante de velocidade de eliminação; CL/F: *clearance* total aparente; Vd/F: volume de distribuição aparente.