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

GABRIELA CAMPOS DE OLIVEIRA FILGUEIRA

**Efeitos da obesidade materna sobre a
farmacocinética do misoprostol durante
a indução do trabalho de parto**

**Ribeirão Preto
2019**

GABRIELA CAMPOS DE OLIVEIRA FILGUEIRA

Efeitos da obesidade materna sobre farmacocinética do misoprostol
durante a indução do trabalho de parto

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na
Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital
de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

Tese de doutorado apresentada ao
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para
obtenção do Título de Doutora em Biologia da
Reprodução.

Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli

Ribeirão Preto

2019

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.

Filgueira, Gabriela Campos de Oliveira

Efeitos da obesidade materna sobre a farmacocinética do misoprostol durante a indução do trabalho de parto.

106p.: il; 30 cm.

Tese para título de Doutora apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Cavalli, Ricardo Carvalho.

Palavras chave: 1. Misoprostol. 2. Obesidade. 3. Indução de parto. 4. Farmacocinética.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Gabriela Campos de Oliveira Filgueira

Efeitos da obesidade materna sobre a farmacocinética do misoprostol durante a indução do trabalho de parto.

Tese de doutorado apresentada ao Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Doutora em Biologia da Reprodução.

Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

*Ao meu marido **Osmany**, que não mediu esforços para que eu fizesse esta pesquisa e terminasse o doutorado. O seu apoio e amor foram fundamentais para que o trabalho fosse realizado com êxito. Obrigada pela paciência e pelo incentivo, sem você esta conquista não seria possível, nem valeria à pena!*

*Aos meus pais **Jacy e Gilza**, por sempre acreditarem em minha capacidade, por estarem sempre fazendo o possível e o impossível para que eu realize meus sonhos. Obrigada por entenderem as muitas vezes que fui ausente e, principalmente, por me ensinarem a fazer sempre o melhor com honestidade, competência e dedicação.*

*Às minhas irmãs **Jaqueline e Cássia** e meus irmãos do coração **Juninho e Alan**, pelo incentivo para que eu terminasse o doutorado, pelo amor, amizade, carinho, cumplicidade e por estarem sempre por perto para me ajudar e me proporcionarem momentos de alegria.*

*Às minhas avós **Gleides e Maria**, que muitas vezes sem entenderem o que eu dizia sobre a minha pesquisa tiveram paciência de escutar as minhas explicações e se sentirem felizes por mim. Obrigada por cuidarem sempre de mim! Ao meu avô **Augusto** que intercede por mim junto a Deus e se alegra com minhas conquistas! Em especial ao meu avô **Geraldo**, que tinha muita paciência pra me ouvir falar das minhas pesquisas e sempre enviava queijo e doces para meus amigos de Ribeirão Preto. O senhor partiu para a casa do Pai enquanto eu fazia uma coleta de uma paciente, mas sei que está sempre presente cuidando de mim.*

Agradecimento especial

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli, que me acolheu com tanto carinho e se tornou um grande amigo. Obrigada por seus ensinamentos, orientação, conselhos, incentivos, por não desistir de mim e principalmente por acreditar em minha capacidade de desenvolver esta pesquisa.

À Prof. Dra. Vera Lucia Lanchote, por me receber em seu laboratório com tanta ternura, por seu auxílio essencial no desenvolvimento desta pesquisa, pelo apoio, orientação, amizade e também pela disponibilidade de me auxiliar em todos os momentos da pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que por sua presença, que sempre me dá sabedoria, ilumina, abençoa e capacita para seguir os caminhos na direção correta.

Ao Prof. Dr. Geraldo Duarte, exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa, pelo carinho, pela disposição em me auxiliar sempre, pelo seu ombro amigo, por sempre saber as palavras adequadas a me dizer e pela valiosa contribuição durante todo o meu trajeto nesta instituição, principalmente em meu exame de qualificação para o Doutorado. Obrigada por se fazer presente, mesmo quando a distância física é grande.

À Prof. Dra. Elaine Christine Dantas Moisés, pelos ensinamentos, carinho, por se tornar uma grande amiga, pelo auxílio constante e pela importante contribuição em meu exame de qualificação para o Doutorado.

À Dra. Maria Paula Marques Pereira, funcionária do Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP, a você Paula, meu agradecimento pelo seu carinho e amizade, por estar sempre disposta a me auxiliar no desenvolvimento desta pesquisa, seus ensinamentos e competência foram fundamentais para o término deste trabalho. Sem seu auxílio não teria conseguido finalizar este trabalho. Obrigada pela companhia nos almoços, pelas longas conversas e por muitas risadas!

À Dra. Adriana Rocha, funcionária do Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP, por sua competência, dedicação, amizade e por todo o auxílio científico durante a realização deste trabalho. Obrigada por não medir esforços para que esta pesquisa fosse desenvolvida e por seu carinho durante, conversas e conselhos!

Ao Sr. Natalino Bocado, funcionário do Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP, que sempre me contagiou com sua alegria constante. Obrigada por fazer com que meus dias no laboratório fossem prazerosos e felizes.

Ao meu amigo Dr. Glauco Nardotto, do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP, por seu auxílio constante durante o desenvolvimento dos resultados, por me atender e auxiliar em todos os momentos em que eu precisei. Obrigada por sua amizade e dedicação para que eu pudesse finalizar este trabalho.

A todos os meus amigos do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP e do grupo de pesquisa do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP-USP: Ana Cláudia Rabelo, Dra. Carolina Pinto, Dr. Daniel Neves, Ma. Daniela Miarelli, Dr. Diego Cusinato, Dr. Gabriel Tavares, Grazielle Rodrigues, Dra. Jackeline Rangel, Dr. João Paulo Ximenez, Dra. Juciene Caris, Me. Leandro Pippa, Dra. Marília Souza, Milena Oliveira, Ma. Michelle Rangel, Dra. Roberta Cestari, Dra.

Tawana Bertagnolli, pela troca de experiências e conhecimentos pessoais e profissionais, pela amizade e precioso apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

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 e equipe de enfermagem do centro obstétrico e da MATER, dos ambulatórios de gestação de alto risco, da enfermaria de gestantes, do banco de leite do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, pela contribuição inenarrável no desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP: Gabriela Sica, Ilza Mazzonato, Michelle Murari, Reinaldo Tavares, Ricardo Perucci, Rosane Casula, Suelen Soares e Suleimy Mazin por torcerem sempre para que eu terminasse este trabalho, por se tornarem grande amigos e companheiros de muitas risadas. Obrigada pela amizade, disposição em me ajudar, por todos os bons momentos e pelo carinho em nosso convívio diário.

Às funcionárias do Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP, Lilian Eslaine e Stella Felipe pela amizade, competência e auxílio constantes durante a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos da família Wizard by Pearson, Luz, pela amizade, companheirismo, carinho e por acreditarem no desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os meus alunos e colegas de trabalho da FASF (Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras do Alto São Francisco), por me acolherem com tanto carinho, por entenderem as vezes que precisava me ausentar para desenvolver a pesquisa e por acreditarem em meu potencial.

A todos os meus tios, primos, afilhados pelo carinho, incentivo, por sempre se orgulharem e acreditarem em minha capacidade.

Às pacientes que participaram desta pesquisa, pela confiança em mim depositada, por se tornarem mais que pacientes, amigas, que lembrarei por toda a vida.

Ao Setor de Obstetrícia do DGO-FMRP-USP e ao Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por tornarem possível a realização desta pesquisa.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência (FAEPA) do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da FMRP-USP, pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo enorme apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço também aqueles que, embora não citados aqui por meu esquecimento, mas que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

“Foi o tempo que dedicastes a tua rosa que a fez tão importante”.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

FILGUEIRA, GCO. **Efeitos da obesidade materna sobre a farmacocinética do misoprostol durante a indução do trabalho de parto.** 2019. 106 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Mulheres com obesidade são mais propensas a complicações médicas, cirúrgicas e obstétricas, tais como maiores índices de indução do trabalho de parto e falha na indução. O misoprostol é um análogo sintético da prostaglandina E1 utilizado para a indução do trabalho de parto. O presente trabalho visa avaliar os efeitos da obesidade materna sobre a farmacocinética do misoprostol em parturientes, bem como a avaliação da influência da obesidade na resposta clínica da indução do trabalho de parto. Foram investigadas 40 parturientes, assim distribuídas, Grupo 1: 10 parturientes não obesas, Grupo 2: 10 com obesidade grau 1, Grupo 3: 10 com obesidade grau 2 e Grupo 4: 10 com obesidade grau 3. Após a internação das pacientes, leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi avaliado o comprimento do colo do útero, o índice de Bishop foi determinado e uma amostra de sangue foi colhida para avaliação dos exames laboratoriais, genótipo e tempo zero da farmacocinética. Após a administração do comprimido de misoprostol 25µg via vaginal, foram colhidas amostras seriadas de sangue nos tempos 15 a 360 minutos. As concentrações plasmáticas do ácido misoprostólico foram analisadas em plasma empregando UPLC-MS/MS. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados com base nas curvas de concentração plasmática total *versus* tempo empregando o programa Winnonlin. Todas as parturientes realizaram o pré-natal satisfatoriamente e nenhuma havia se submetido a cesárea anterior. As parturientes do grupo 1 apresentaram uma taxa de sucesso de indução de 60%, com uma média de 1,10 dias de indução e 2,50 comprimidos de misoprostol. No grupo 2, houve uma taxa de sucesso de 70%, em 1,40 dias de indução, utilizando 2,80 comprimidos. No grupo 3, a taxa de sucesso foi de 60%, em 1,70 dias de indução e também utilizou 2,80 comprimidos. Entretanto no grupo 4, a taxa de sucesso foi de apenas 30%, em 2,40 dias e utilizando quase o dobro de comprimidos (4,80). Houve uma diferença significativa da falha de indução entre os grupos, a taxa de falha de indução no grupo 4 foi de 70%, enquanto nos demais grupos foi de apenas 10%. O método para análise do ácido misoprostólico em plasma seguiu o preconizado pela legislação vigente, com LIQ de 2,0 pg/mL. Não houve diferença significativa entre os parâmetros farmacocinéticos dos grupos. A AUC variou de 56,77 a 83,89 pg.h/mL; o C_{max} de 14,29 a 21,89 pg/mL; o t_{max} de 2,25 a 4,5 h; o $t_{1/2}$ de 0,96 a 1,31 h. Não houve diferença entre o IMC e os parâmetros farmacocinéticos, entretanto houve influência do peso na AUC. Também houve uma relação entre a baixa exposição ao misoprostol (AUC) e maior taxa de falha de indução. Conclui-se que a obesidade influencia a biodisponibilidade (AUC) do fármaco, sugerindo que o regime posológico do misoprostol possa ser alterado. A obesidade também influenciou a taxa de falha de indução, quanto maior o IMC, maior a taxa de falha de indução, maior o tempo de internação, maior o número de comprimidos utilizados.

Palavras-chave: Misoprostol. Obesidade. Indução de parto. Farmacocinética.

ABSTRACT

FILGUEIRA, GCO. **Effects of maternal obesity on the pharmacokinetics of misoprostol during labor induction.** 2019. 106 p. Thesis (Doctoral) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Women with obesity are more prone to medical, surgical and obstetric complications, such as higher rates of labor induction and failure to induce. Misoprostol is a synthetic analogue of prostaglandin E1 used to induce labor. The present study aims to evaluate the effects of maternal obesity on the pharmacokinetics of misoprostol in parturients, as well as the evaluation of the influence of obesity on the clinical response of labor induction. Group 1: 10 non-obese parturients, Group 2: 10 with obesity grade 1, Group 3: 10 with obesity grade 2 and Group 4: 10 with obesity grade 2. After the patients' hospitalization, reading and signing of the Informed Consent Term, the length of the cervix was evaluated, the Bishop's index was determined and a sample was collected to evaluate the laboratory tests, genotype and time of pharmacokinetics. Following administration of the 25µg misoprostol vaginal tablet, serial blood samples were collected at times of 15 to 360 minutes. Plasma concentrations of misoprostolic acid were analyzed in plasma using UPLC-MS / MS. Pharmacokinetic parameters were calculated based on the total plasma concentration versus time curves using the Winnonlin program. All the parturients performed prenatal satisfactorily and none had undergone previous caesarean section. The parturients of group 1 had an induction success rate of 60%, with a mean of 1.10 days of induction and 2.50 tablets of misoprostol. In group 2, there was a success rate of 70%, at 1.40 days of induction, using 2.80 tablets. In group 3, the success rate was 60% at 1.70 days of induction and also used 2.80 tablets. However, in group 4, the success rate was only 30%, in 2.40 days and using almost twice as many tablets (4.80). There was a significant difference in induction failure between groups, the rate of induction failure in group 4 was 70%, while in the other groups it was only 10%. The method for the analysis of misoprostolic acid in plasma followed the prevailing legislation, with LIQ of 2.0 pg / mL. There was no significant difference between the pharmacokinetic parameters of the groups. AUC ranged from 56.77 to 83.89 pg.h / mL; C max from 14.29 to 21.89 pg / mL; or tmax of 2.25 to 4.5 h; or t1 / 2 from 0.96 to 1.31 h. There was no difference between BMI and pharmacokinetic parameters, however, there was weight influence in AUC. There was also a relationship between low misoprostol exposure (AUC) and higher rate of induction failure. It is concluded that obesity influences the bioavailability (AUC) of the drug, suggesting that the dosage regimen of misoprostol can be altered. Obesity also influenced the rate of induction failure, the higher the BMI, the higher the rate of induction failure, the longer the hospital stay, the greater the number of tablets used.

Keywords: Misoprostol. Obesity. Labor induction. Pharmacokinetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Prevalência da obesidade em adultos, maiores de 18 anos (WHO, 2016)	22
Figura 2:	Estrutura do misoprostol e da prostaglandina natural (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).....	26
Figura 3:	Estrutura do misoprostol, metabólito ativo ácido misoprostólico, metabólitos inativos ácido dinor e ácido tetranor. Modificado de Karim, 1987.....	26
Figura 4:	Gráfico do tamanho da amostra em função do poder do teste.....	35
Figura 5:	Espectro de massas do íon protonado (A) e do íon produto (B) do ácido misoprostólico.....	56
Figura 6:	Espectro de massas do íon protonado (A) e do íon produto (B) da varfarina (PI).....	57
Figura 7:	Plasma Branco.....	58
Figura 8:	Plasma branco zero (apenas com PI).....	59
Figura 9:	Plasma enriquecido com concentração do Limite Inferior de Quantificação (LIQ) – 2,0 pg/mL.....	60
Figura 10:	Plasma enriquecido com padrão de ácido misoprostólico 40 pg/mL e PI.....	61
Figura 11:	Amostra do plasma de uma parturiente colhido 90 minutos após a administração do misoprostol.....	62

Figura 12: Curvas de concentração plasmática versus tempo do ácido misoprostólico (ng/mL) obtidas na investigação de parturientes do grupo 1 – não obesas (n=10), grupo 2 – obesidade grau I (n=10), grupo 3 – obesidade grau II (n=10) e do grupo 4 – obesidade grau III (n=10), tratadas com dose única de misoprostol vaginal, 25 µg/6h. Dados expressos como média e erro padrão da média.....	65
Figura 13: Boxplot referente aos valores de área sob a curva dos quatro grupos avaliados.....	65
Figura 14: Influência do peso sobre a AUC.....	66
Figura 15: Relação entre AUC e falha de indução.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Parâmetros para a formação dos grupos da casuística.....	34
Tabela 2:	Parâmetros avaliados no Índice de Bishop Modificado e suas pontuações atribuídas.....	39
Tabela 3:	Gradiente dos componentes da fase móvel do método de determinação do ácido misoprostólico em plasma.....	45
Tabela 4:	Dados demográficos e desfechos do parto das parturientes incluídas no estudo. Os dados estão descritos como média e desvio padrão.	51
Tabela 5:	Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes. Os dados estão representados como mediana e percentis 25-75%.....	53
Tabela 6:	Características dos recém-nascidos das parturientes. Os dados estão representados como mediana e percentis 25-75% e como frequência (%).....	54
Tabela 7:	Genótipos dos polimorfismos do ABCB1 das parturientes investigadas. Dados descritos como frequência (%).....	55
Tabela 8:	Resultado da análise da expressão da glicoproteína-P (P-gp) das parturientes avaliadas. Dados expressos como média e desvio padrão.....	55
Tabela 9:	Limites de confiança do método de análise do ácido misoprostólico em plasma.....	63

Tabela 10:	Parâmetros farmacocinéticos do ácido misoprostólico dos grupos de parturientes avaliados. Os dados estão expressos como mediana e percentis 25-75%.....	64
Tabela 11:	Transferência placentária do ácido misoprostólico nos compartimentos materno-fetais. Dados individuais.....	67
Tabela 12:	Comparação de métodos de análises do ácido misoprostólico entre trabalhos descritos na literatura e o presente estudo.....	73
Tabela 13:	Comparação de parâmetros farmacocinéticos de trabalhos da literatura comparados com o presente estudo.....	75
Tabela i:	Dados individuais das parturientes do grupo 1 (n=10).....	VII
Tabela ii:	Dados individuais das parturientes do grupo 2 (n=10).....	VIII
Tabela iii:	Dados individuais das parturientes do grupo 3 (n=10).....	IX
Tabela iv:	Dados individuais das parturientes do grupo 4 (n=10).....	X
Tabela v:	Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 1.....	XI
Tabela vi:	Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 2.....	XII
Tabela vii:	Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 3.....	XIII
Tabela viii:	Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 4.....	XIV

Tabela ix:	Características individuais dos recém-nascidos das parturientes do grupo 1.....	xv
Tabela x:	Características individuais dos recém-nascidos das parturientes do grupo 2.....	xv
Tabela xi:	Características individuais dos recém-nascidos das parturientes do grupo 3.....	xv
Tabela xii:	Características individuais dos recém-nascidos das parturientes do grupo 4.....	xv

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT: Alanina aminotransferase

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST: Aspartato aminotransferase

CEP: Comitê de ética em pesquisa

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

EPR: Erro padrão relativo

FCFRP-USP: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

FMN: Fator de matriz normalizado por padrão interno

HCFMRP-USP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

HDL: Lipoproteína de alta densidade

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência

IG: Idade gestacional

IMC: Índice de massa corporal

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

LC: Cromatografia líquida

LC-MS/MS: Cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas

LIQ: Limite inferior de quantificação

[M+H]⁺: Íon molecular protonado

M-0: Metabólito piridina

MRM: Monitoramento de reações múltiplas

MS/MS: Espectrometria de massas

PA: Pressão arterial

P-gp: Glicoproteína-P

PI: Padrão interno

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

UGT: Uridina-difosfato-glicuronosil-transferases

UPLC: Cromatografia líquida de ultra eficiência

UPLC-MS/MS: Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada ao espectrômetro de massas

v/v: volume/volume

γ -GT: Gama glutamil transferase

LISTA DE SÍMBOLOS

AUC: Área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo

Cl creatinina: *Clearance* de creatinina

C_{max}: Concentração plasmática máxima

t_{1/2}: Meia-vida de eliminação

t_{max}: Tempo para alcançar C_{max}

Vd/F: Volume de distribuição aparente

®: Marca registrada

SUMÁRIO

1 Introdução.....	21
2 Justificativa.....	29
3 Objetivos.....	31
3.1 Objetivo geral.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4 Casuística e métodos.....	33
4.1 Casuística.....	34
4.1.1 Aspectos éticos.....	34
4.1.2 Cálculo amostral e seleção de pacientes.....	32
4.1.3 Tipo de estudo.....	36
4.1.4 Protocolo clínico.....	36
4.2 Métodos.....	37
4.2.1 Dados epidemiológicos.....	37
4.2.2 Medida do comprimento do colo uterino e Índice de Bishop.....	38
4.2.3 Coletas seriadas de amostras sanguíneas.....	39
4.2.4 Sistema de coleta do sangue materno, vasos umbilicais, espaço intervilo- so e líquido amniótico para avaliação de transferência placentária e distribuição em líquido amniótico.....	39
4.2.5 Coleta de tecido placentário.....	40
4.2.6 Análises bioquímicas e hematológicas.....	40
4.2.7 Análise do genótipo materno e fetal.....	41
4.2.8 Análise da expressão do gene ABCB1.....	43
4.2.9 Análise da concentração do ácido misoprostólico em plasma.....	44
4.2.9.1 Soluções padrão e reagentes.....	44
4.2.9.2 Análise cromatográfica.....	44
4.2.9.3 Preparo das amostras.....	45
4.2.9.4 Validação do método.....	46
4.2.9.4.1 Seletividade.....	46
4.2.9.4.2 Efeito residual.....	46
4.2.9.4.3 Efeito matriz.....	46
4.2.9.4.4 Limite inferior de quantificação e Linearidade.....	47

4.2.9.4.5 Precisão e exatidão.....	47
4.2.9.4.6 Estabilidade.....	48
4.2.10 Análise farmacocinética.....	48
4.2.11 Análise estatística.....	49
5 Resultados.....	50
5.1 Características das pacientes investigadas.....	51
5.2 Característica dos recém-nascidos.....	54
5.3 Análise do genótipo materno e fetal.....	55
5.4 Análise da expressão do gene ABCB1.....	55
5.5 Análise de ácido misoprostólico em plasma.....	56
5.6 Farmacocinética do ácido misoprostólico em parturientes durante a indução do trabalho de parto.....	64
5.7 Distribuição transplacentária do ácido misoprostólico.....	67
6 Discussão.....	69
7 Conclusões.....	78
8 Referências bibliográficas.....	80
Anexos.....	I
Apêndices.....	III

De acordo com a *World Health Organization*, a obesidade atingiu proporções epidêmicas no mundo, com mais de 1,9 bilhão de adultos apresentando excesso de peso e, destes, 650 milhões clinicamente obesos (Figura 1) (WHO, 2016). No Brasil, em 10 anos, a prevalência de pessoas obesas passou de 11,8% (2006) para 18,9% (2016), atingindo um em cada cinco brasileiros (MS, 2016). A obesidade é uma condição complexa, que gera graves problemas orgânicos, sociais e psicológicos, afetando praticamente todas as idades e grupos socioeconômicos. Um dos principais contribuintes para o aumento global de doenças crônicas e incapacidades físicas é a obesidade (HRUBY; HU, 2016).

Figura 1: Prevalência da obesidade em adultos, maiores de 18 anos (WHO, 2016).

Na maioria dos países desenvolvidos, a taxa de obesidade é maior em mulheres que em homens (RYAN, 2007; OGDEN, 2014). Desde 1991, ocorreu um aumento da taxa de obesidade em adultos com idade reprodutiva, de 50 a 70% (WEISS et al., 2004). Um estudo realizado nos Estados Unidos da América entre 2003 e 2006 reportou que 32% das mulheres com idade entre 20 e 44 anos estavam obesas (WHO, 2009). Devido a esse aumento da prevalência de mulheres com obesidade em idade reprodutiva, faz-se necessário o estudo dos efeitos da obesidade na gestação.

Os principais fatores que contribuem para a obesidade, provavelmente, são os fatores comportamentais, genéticos e socioeconômicos. Entretanto, o recente aumento da taxa de obesidade pode estar relacionado com o desequilíbrio entre a

ingestão de alimentos e o gasto de energia. Esse desequilíbrio resulta em um armazenamento de energia na forma de gordura, principalmente no tecido adiposo (DAHLMAN; ARNER, 2007; GUNATILAKE; PERLOW, 2011; ENGIN, 2017).

Estudos em pacientes obesos demonstraram que a infiltração de gordura no fígado pode provocar disfunção hepática, consequentemente os níveis de algumas enzimas do citocromo P450 podem sofrer alterações algumas vezes graves. Observaram, também, que o volume de distribuição aumenta devido ao aumento da massa corporal magra e do aumento do tecido adiposo, que pode levar a redução da concentração plasmática esperada para alguns medicamentos. Em pessoas obesas também há um aumento do *clearance* renal de alguns antibióticos, devido ao aumento da massa renal e da filtração glomerular. Dessa maneira há alterações na farmacocinética e farmacodinâmica nestes pacientes (JANSON; THURSKY, 2012; UDY; ROBERTS; LIPMAN, 2013; CLAUS et al., 2013).

A gravidez é caracterizada por diversas alterações fisiológicas nos sistemas cardiovascular, renal, gastrointestinal e endócrino, que podem influenciar direta ou indiretamente a farmacocinética e, consequentemente, a transferência placentária de fármacos (ANDERSON, 2005; DELLA TORRE et al., 2010; FRISHMAN; ELKAYAM; ARONOW, 2012). Essas alterações fisiológicas ocorrem para acomodar as exigências do crescimento e desenvolvimento da unidade fetoplacentária (CHANG; STREITMAN, 2012).

O aumento dos níveis séricos de progesterona reduz a motilidade intestinal, resultando em um aumento de 30 a 50% no tempo de esvaziamento gástrico e intestinal. As secreções de muco e ácido gástrico diminuem, levando ao aumento do pH gástrico. O aumento do débito cardíaco aumenta a absorção pulmonar de drogas. O volume plasmático aumenta 50%, consequentemente o volume de distribuição de alguns fármacos é alterado. A média de água total do organismo aumenta para 8L, dos quais 40% é tecido materno (o restante é placenta, feto e líquido amniótico). O número de locais disponíveis para ligação em proteínas plasmáticas é reduzido, porque são ocupados por esteroides e hormônios placentários. Há uma redução da concentração de albumina, ou seja, da proteína de ligação. Mudanças nas concentrações de substâncias endógenas podem resultar em aumento ou redução na eliminação hepática das drogas. A atividade da CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 e uridina difosfato glucoronosiltransferase (UGT) é aumentada, enquanto a atividade da CYP1A2 e CYP2C19 é reduzida. Aumento de 25 a 50% no fluxo plasmático renal

e um aumento de 50% na taxa de filtração glomerular podem resultar em aumento na eliminação renal de drogas (ANDERSON, 2005; FRISHMAN; ELKAYAM; ARONOW, 2012).

Mais de 40% das mulheres grávidas que estão iniciando a gravidez, atualmente, são obesas ou estão com sobrepeso (KIM et al., 2003). Mulheres com obesidade são mais propensas a complicações médicas, cirúrgicas e obstétricas, tais como maiores índices de indução do trabalho de parto, bem como trabalho de parto disfuncional e maiores taxas de parto cesárea (GUELINCKX et al., 2008; VAHRATIAN et al., 2004). O mecanismo exato do trabalho de parto disfuncional em mulheres com obesidade não é completamente conhecido (WOLFE et al., 2011).

Estudo realizado por Pevzner et al. (2009) com 1273 mulheres com indicação de indução de trabalho de parto utilizando prostaglandinas encontrou maior tempo de indução do trabalho de parto, maior necessidade de administrar ocitocina e maiores taxas de parto cesárea em mulheres com obesidade comparadas a mulheres não obesas ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$).

O aumento de parto cesárea tanto para nulíparas quanto para múltiparas com e sem cesárea prévia ocorre com o aumento do IMC (Índice de Massa Corporal) das gestantes (KOMINIAREK et al., 2010). Foi descrito por Barau e colaboradores (2006) uma associação linear entre o IMC materno pré-gestacional e a taxa de parto cesárea.

De acordo com a revisão de Wuntakal e Hollingworth (2009) mulheres com obesidade são mais propensas a ter uma gestação com mais de 40 semanas, quando comparadas às mulheres com peso dentro da curva de normalidade, portanto há um aumento da taxa de indução do trabalho de parto em gestantes obesas. Os autores encontraram taxas de indução do trabalho de parto variando de 17,4% a 47% em mulheres com obesidade para 8,3% a 31% em mulheres com peso normal. A falha na indução pode resultar em trabalho de parto prolongado e parto cesárea, com isso há um prolongamento da internação e consequente aumento do custo hospitalar (TAN et al., 2010).

Várias preparações de prostaglandinas são usadas para a indução do trabalho de parto, incluindo o misoprostol comprimido vaginal, a dinoprostona gel vaginal e insert vaginal (GARRY et al., 2003).

Uma revisão realizada pela Cochrane (2003) reportou que o misoprostol vaginal é mais efetivo que a dinoprostona e ocitocina ou apenas ocitocina para indução do trabalho de parto. Taxas de hiperestimulação uterina e a presença de mecônio no

líquido amniótico foram encontradas quando doses superiores a 25µg foram administradas por via vaginal. Ainda não se sabe o motivo da presença do mecônio, pode ser secundária à hiperestimulação do útero ou um efeito direto do misoprostol no feto.

O princípio geral para o uso do misoprostol em baixas doses (25µg) deve-se a evidências descritas em três revisões sistemáticas, em que há uma crescente sensibilidade ao misoprostol pelos receptores uterinos com o aumento da idade gestacional. Com base nos resultados desses estudos, para indução do trabalho de parto a termo, o misoprostol 25 µg deve ser administrado via vaginal a cada seis horas ou via oral a cada duas horas (MUZONZINI; HOFMEYR, 2004; ALFIREVIC & WEEKS, 2006; HOFMEYR et al., 2010; WHO, 2011).

O misoprostol (15-desoxi-16-hidroxi-16-metil PGE1) é um análogo sintético da prostaglandina E1 (WATKINSON; HOPKINS; AKBAR, 1988). Ele estimula contrações do miométrio em úteros gravídicos devido a sua ligação aos receptores de prostaglandina EP2/EP3 (SENIOR et al., 1993). Foi originalmente desenvolvido para a administração oral, na prevenção e tratamento de úlcera gástrica induzida por antiinflamatórios não esteroidais. Entretanto, devido à sua ação uterutônica e no esvaecimento cervical, o misoprostol também é usado na ginecologia e obstetrícia em interrupções eletivas da gravidez precoce, tratamento de aborto incompleto ou não, tratamento de hemorragia pós-parto e indução do trabalho de parto a termo. O misoprostol é a primeira escolha, pois é um medicamento de baixo custo, com uma longa vida de prateleira, não necessita refrigeração, possui poucos efeitos colaterais e possui uma ampla disponibilidade mundial (GOLDBERG; GREENBERG; DARNEY, 2001; TANG; HO, 2006, TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

A prostaglandina natural possui três desvantagens que dificultam sua aplicação clínica: rápida metabolização, que resulta em uma curta duração de ação, numerosos efeitos colaterais e instabilidade química que leva a uma curta vida útil. O misoprostol difere estruturalmente da prostaglandina E (Figura 2), pela presença de um éster metílico em C-1, um grupo metil em C-16 e uma hidroxila em C-16 ao invés de uma hidroxila no C-15. O éster metílico em C-1 aumenta a duração de ação do misoprostol, enquanto que o movimento do grupo hidroxila a partir de C-15 a C16 e a adição de um grupo metil em C-16 melhoram a atividade oral, aumenta a duração de ação e melhora o perfil de segurança do fármaco (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Figura 2: Estrutura do misoprostol e da prostaglandina endógena (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

O misoprostol é metabolizado principalmente no fígado e menos de 1% é excretado na urina (FOOTE et al., 1995). Ele é um pró-fármaco lipofílico, rapidamente metabolizado (desesterificado) em ácido misoprostólico, seu metabólito ativo. Outros metabólitos inativos polares também são formados, conforme Figura 3 (KARIM, 1987, TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007). Cinco minutos após a administração oral, o misoprostol já não é encontrado no plasma em sua forma inalterada (SCHOENHARD et al., 1985; KARIM et al., 1989). A sua ligação às proteínas plasmáticas são de 81 a 89%. A meia-vida de eliminação do ácido misoprostólico varia entre 20 a 30 minutos, entretanto a dos metabólitos inativos pode chegar a 1,5 hora (TANG et al., 2002; AUBERT; BEJAN-ANGOULVANT; JONVILLE-BERA, 2014).

Figura 3: Estrutura do misoprostol, metabólito ativo ácido misoprostólico, metabólitos inativos ácido dinor e ácido tetranor. Modificado de Karim (1987).

As vias de administração do misoprostol podem ser as vias oral, vaginal, sublingual ou retal. Estudos farmacocinéticos comparando a administração oral e vaginal demonstraram que o misoprostol vaginal está associado a uma absorção mais lenta, concentração plasmática máxima menor e eliminação mais lenta, semelhante a uma preparação farmacêutica de liberação prolongada. O misoprostol vaginal também é associado a um maior efeito no útero e no colo do útero devido a uma maior exposição total da droga, ou seja, maior área sob a curva (AUC) (ZIEMAN et al., 1997; DANIELSSON et al., 1999; KHAN et al., 2004; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Em um estudo realizado por Tang e colaboradores (2002) os valores de C_{max} , AUC_{0-360} e T_{max} encontrados após a administração vaginal de um comprimido de 400µg, dose única, em parturientes foram $125,2 \pm 53,8$ pg/mL, $433,7 \pm 182,6$ pg.h/mL, $72,0 \pm 34,5$ minutos. Não há diferença clinicamente significativa entre o misoprostol vaginal administrado seco ou umedecido com água, salina ou ácido acético (SINGH et al., 1999; CREININ et al., 1999; TANG et al., 2002).

Há poucos estudos que demonstram a farmacocinética do misoprostol administrado via oral no leite materno. A concentração de ácido misoprostólico no leite é apenas um terço da concentração plasmática. A presença do misoprostol, no colostro, em sua forma inalterada é muito improvável. Os níveis mais elevados de ácido misoprostólico no colostro foram detectados após uma hora da administração oral (VOGEL et al., 2004, ABDEL-ALEEM et al., 2003). Não existem dados sobre a farmacocinética do misoprostol por outras vias. No entanto, espera-se que a concentração seja menor e dure por mais tempo após uma administração vaginal, que após a administração oral (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Não há estudos da distribuição do misoprostol no líquido amniótico, no entanto como o feto engole entre 210 a 760 mL/dia de líquido amniótico, se o líquido apresenta altas concentrações do fármaco, isto poderá representar uma exposição fetal contínua ao fármaco administrado à gestante (LOUGHHEAD et al., 2006).

A placenta é um órgão complexo que forma uma interface entre a circulação materna e fetal durante a gestação. A transferência placentária depende das propriedades físico-químicas dos fármacos e das características fisiológicas da unidade mãe-placenta-feto (SYME; PAXTON; KEELAN, 2004).

Muitos mecanismos estão envolvidos na transferência de moléculas endógenas e fármacos pela membrana do sincitiotrofoblasto e pelos capilares

endoteliais fetais, sendo a difusão passiva a mais comum. A placenta apresenta transportadores de membrana, entre eles, a Glicoproteína-P (P-gp), um transportador de efluxo ATP-dependente, membro da família ABC (*ATP-binding cassette*) e codificado em humanos por dois genes, MDR1(*ABCB1*) e MDR3. (ST-PIERRE et al., 2000; YOUNG; ALLEN; AUDUS, 2003). As mutações no gene *ABCB1/MDR1* e os polimorfismos G2677T e C3435T estão associados com a modulação da expressão da P-gp placentária (TANABE et al., 2001; HILZT et al., 2004; MARZOLINI et al., 2004).

Na placenta humana, a P-gp está localizada na face maternal da membrana apical do sincitiotrofoblasto placentário, atuando como efeito protetor ao desenvolvimento fetal, uma vez que limita a transferência de fármacos presentes na circulação materna para o feto (USHIGOME et al., 2000; YOUNG; ALLEN; AUDUS, 2003; BALAYSSAC et al., 2005; CECKOVA-NOVOTNA; PAVEK; STAUD, 2006; WANG et al., 2007; VÄHÄKANGAS; MYLLYNEN, 2009).

De acordo com Chang et al. (2006), o misoprostol é um possível substrato da P-gp. A expressão desta proteína de efluxo pode ser modulada por inúmeros indutores e inibidores. Os níveis da P-gp expressos na placenta podem ser alterados de acordo com o estágio da gravidez (LIN, 2003).

Estudos anteriores mostraram que a obesidade pode influenciar a farmacocinética de alguns medicamentos. Considerando que pacientes obesas têm grande indicação de indução do trabalho de parto, porém há uma alta taxa de falha na indução. Como o misoprostol é um fármaco amplamente utilizado para indução do trabalho de parto e não há dados farmacocinéticos quando utilizado para esta finalidade, o presente estudo visa avaliar a influência da obesidade na farmacocinética do misoprostol em parturientes obesas.

Ao analisar os trabalhos descritos anteriormente, foi observado que há um aumento da prevalência de mulheres com obesidade na atualidade, inclusive um aumento de gestantes obesas.

O misoprostol é um pró-fármaco que sofre uma desesterificação para formar o ácido misoprostólico, que é seu metabólito ativo. A infiltração gordurosa no fígado pode causar uma diminuição do fluxo sanguíneo hepático, que poderá resultar em uma diminuição no metabolismo do misoprostol e consequentemente uma diminuição da concentração de seu metabólito ativo na corrente sanguínea, com possível redução de seu efeito. O volume de distribuição aumenta devido ao aumento da massa corporal magra e do aumento do tecido adiposo, que pode levar a uma diminuição da concentração plasmática esperada para alguns fármacos.

Considerando que o misoprostol é um medicamento amplamente utilizado para indução do trabalho de parto e o índice de falha na indução do trabalho de parto em parturientes obesas é duas vezes maior que em parturientes com peso normal, torna-se necessário o estudo dos possíveis efeitos da obesidade na farmacocinética do misoprostol.

Há, também, uma lacuna na literatura sobre a farmacocinética do misoprostol utilizado para indução do trabalho de parto, portanto o presente estudo preencherá este vácuo do conhecimento.

Frente às postulações descritas e a falta de estudos visando responder as questões pertinentes, verifica-se que a realização do presente estudo está firmemente justificada, podendo trazer importante subsídio para o entendimento do elevado índice de falha na indução do trabalho de parto em gestantes obesas utilizando o misoprostol.

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da obesidade na farmacocinética do misoprostol em parturientes durante a indução do parto via vaginal.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver e validar o método de análise do ácido misoprostólico em plasma e líquido amniótico para utilização em estudos farmacocinéticos.
- Descrever a farmacocinética do ácido misoprostólico em parturientes obesas e não obesas.
- Avaliar os efeitos da obesidade na farmacocinética do ácido misoprostólico em parturientes durante a indução do trabalho de parto.
- Avaliar os efeitos da obesidade na transferência placentária e distribuição para o líquido amniótico do ácido misoprostólico em parturientes obesas.
- Avaliar a expressão do gene ABCB1 e da P-gp, bem como o genótipo materno e fetal.
- Avaliar a influência da obesidade na resposta clínica da indução do trabalho de parto.

4.1 Casuística

4.1.1 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), de acordo com o Processo nº 6645/2014 (ANEXO I). O arrolamento das gestantes ocorreu somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO II). Foi garantida a liberdade das gestantes em recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma.

4.1.2 Cálculo amostral e seleção de pacientes

As gestantes foram recrutadas no Centro de Referência da Saúde da Mulher (MATER) e no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). As gestantes estavam em seguimento nos ambulatórios da MATER e nos ambulatórios de Gestação de Alto Risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do HCFMRP-USP. A seleção foi controlada e não randomizada.

A casuística foi composta por 40 parturientes com indicação de indução de trabalho de parto, distribuídas em quatro grupos de acordo com o IMC (Índice de Massa Corporal): 10 parturientes não obesas; 10 parturientes com obesidade grau 1; 10 parturientes com obesidade grau 2 e 10 parturientes com obesidade mórbida (Tabela 1).

Foram avaliados o comprimento do colo do útero, Índice de Bishop (1964), o polimorfismo e a expressão da P-gp, a farmacocinética e transferência placentária do misoprostol.

Tabela 1: Parâmetros para a formação dos grupos da casuística.

Grupos		IMC (Índice de Massa Corporal) Kg/m ²
1	Não Obesa	< 29,9
2	Obesa Grau 1	30,0 – 34,9
3	Obesa Grau 2	35,0 – 39,9
4	Obesa Mórbida	> 40,0

Fonte: HRUBY; HU, 2015.

O cálculo do tamanho amostral foi obtido pelo programa *PS Power and Sample Size Calculation*® versão 3.0.34 (DUPONT; PLUMMER, 1990), empregando os parâmetros farmacocinéticos do misoprostol utilizado em 10 gestantes tratados com dose única de 400µg, dois comprimidos via vaginal (TANG et al., 2002). A hipótese desse trabalho é a redução de ao menos 50% da concentração plasmática do ácido misoprostólico em parturientes obesas. Para o cálculo do tamanho amostral, o nível de significância foi fixado em 5%, o poder do teste em 80%, a diferença entre as médias de área sob a curva de concentração plasmática versus tempo (AUC^{0-360}) do ácido misoprostólico em 50% de 433,7ng.h/mL (216,85ng.h/mL) e o desvio padrão dentro do grupo em 180 ng.h/mL. Como pode ser observado na Figura 4, a inclusão de oito parturientes em cada grupo resulta em poder do teste de 80%.

De acordo com o resultado do teste, são necessárias 8 parturientes por grupo, porém foram incluídas no estudo 10 parturientes em cada grupo, resultando em um poder de teste maior que 80%, além do cuidado em prevenir possíveis exclusões.

Figura 4: Gráfico do tamanho da amostra em função do poder do teste.

Critérios de inclusão: parturientes de cada grupo com o IMC descrito na Tabela 1, gestação única, idade superior a 18 anos, sem intercorrências fetais, internadas para indução do trabalho de parto com misoprostol (Prostokos®) 25µg, por 6 horas.

Critérios de exclusão: pacientes portadoras de insuficiência renal e hepatopatias crônicas (identificadas por exames laboratoriais) portadoras de insuficiência cardíaca congestiva, pacientes que sofreram infarto ou acidente vascular

cerebral há menos de seis meses, pacientes com história de doença pulmonar obstrutiva crônica grave, parturientes que utilizaram indutores ou inibidores do CYP, ou com cesárea anterior.

Critérios de descontinuidade: resolução da gestação antes do término das 6 horas de coleta de amostras seriadas e desejo da paciente para sair do estudo.

4.1.3 Tipo de estudo

Estudo analítico, tipo experimental controlado.

4.1.4 Protocolo clínico

As parturientes foram internadas para a indução do trabalho de parto no Centro Obstétrico do HCFMRP – USP ou MATER.

No dia da internação, a paciente foi admitida ao pré-parto de acordo com a rotina estabelecida pelos protocolos dos serviços em questão. Após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido a mesma foi submetida ao exame ultrassonográfico transvaginal para medida do comprimento do colo uterino. A paciente também foi submetida ao toque vaginal para avaliação das características do colo uterino e determinação do índice de Bishop.

Ao término da avaliação ultrassonográfica e do índice de Bishop, foi coletada uma amostra de sangue venoso materno, para avaliação da hemoglobina, hematócrito, plaquetas, glicemia, ureia, creatinina, alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), bilirrubinas (Bb total, Bb direta, Bb indireta), fosfatase alcalina, gama-GT, hemoglobina glicada, proteínas séricas totais, albumina, $\alpha 1$ glicoproteína ácida e lipidograma. Justifica-se a realização desses exames frente à possibilidade de que alterações nos respectivos órgãos/sistemas possam influenciar na farmacocinética do misoprostol. Outra amostra de 5 mL de sangue foi coletada e transferida para um tubo de tampa roxa contendo EDTA para realização do genótipo materno. Uma alíquota de 200 μ L de sangue foi armazenada a -20°C para posterior extração do DNA e identificação dos polimorfismos do gene ABCB1. O restante foi separado em 2 replicatas e armazenadas a -70°C como *back-up*.

Foi coletada uma amostra de 5 mL de sangue materno, para a avaliação da concentração do ácido misoprostólico no tempo zero, e transferida para um tubo de tampa verde contendo heparina. O acesso venoso foi mantido para coleta do restante das amostras seriadas. A farmacocinética foi avaliada em 6 horas, pois de acordo com

Zieman et al. (1997), em seu estudo foi realizada coleta em 4h, entretanto foi necessário colher um novo grupo em 6 horas para uma melhor avaliação da farmacocinética.

Após a administração do comprimido de misoprostol 25µg via vaginal (Prostokos®), foram coletadas as amostras seriadas de sangue materno (5 mL) via cateter intravenoso, em seringas não heparinizada e transferidas para tubos de tampa verde contendo heparina nos tempos 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240, 300, 360 minutos. Os plasmas foram separados por centrifugação a 2500 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos, à 4°C. Os plasmas foram posteriormente armazenados a -70°C até a análise, determinação da curva de concentração plasmática em função do tempo e realização das curvas de absorção, distribuição e eliminação do fármaco.

No momento da resolução do parto foram coletadas amostras de sangue materno (5 mL), sangue venoso e arterial do cordão umbilical, sangue do espaço intervilloso e uma alíquota de 10 ml de líquido amniótico para avaliar a transferência placentária e a distribuição do ácido misoprostólico nestes compartimentos.

Uma alíquota de 5 mL do sangue venoso do cordão umbilical foi transferida para tubo de tampa roxa contendo EDTA para a realização do genótipo fetal. Uma alíquota de 200 µL de sangue foi armazenada a -20°C para posterior extração do DNA e identificação dos polimorfismos do gene ABCB1. O restante foi separado em 2 replicatas e armazenadas a -70°C como *back-up*.

4.2. Métodos

4.2.1 Dados epidemiológicos

Os dados epidemiológicos das parturientes foram coletados em protocolo-padrão, avaliando os parâmetros: idade, hábitos de vida, uso de medicamentos, dados antropométricos, paridade, idade gestacional, resultados laboratoriais dos exames pré-natais e informações ultrassonográficas sobre alterações fetais e/ou placentárias.

Para a avaliação antropométrica foram obtidos os seguintes parâmetros:

- Peso corporal (quilogramas-kg);
- Estatura (metros-m);
- Índice de massa corporal (Kg/m²).

O peso corporal foi obtido utilizando-se balança eletrônica, do tipo plataforma, com precisão de 100 gramas, tarada previamente à medição. As parturientes foram pesadas, sem sapatos e utilizando roupas leves.

A altura foi determinada com auxílio de uma haste vertical, graduada a cada 0,5 centímetros, fixada à balança supracitada.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (kg)} / \text{Estatura}^2 (\text{m}^2)$$

Foram coletados os dados da resolução da gravidez via vaginal, se houver sucesso na indução do trabalho. Em caso de falha na indução do trabalho de parto, foram coletados os dados da indicação de resolução da gravidez por parto cesárea. Os dados de alterações macroscópicas placentárias e os dados de sexo, peso, estatura e Índice de Apgar referentes aos recém-nascidos também foram avaliados.

4.2.2 Medida do comprimento do colo uterino e Índice de Bishop

Para medida do colo do útero, foi seguida a técnica descrita por Pandis et al. (2001). Para o exame foi utilizado um transdutor recoberto por um preservativo estéril, que foi introduzido no fórnice vaginal posterior até a obtenção de um corte sagital do colo uterino, com cuidado para não o pressionar excessivamente. Com a imagem ajustada para o colo ocupar a maior parte da tela e identificar os orifícios interno (OI) e externo (OE) do colo e o canal endocervical (CE), o comprimento do colo correspondeu à distância medida em linha reta entre os OI e OE, passando pelo CE. Em todos os exames a bexiga vesical estava vazia.

Após o ultrassom transvaginal, a paciente foi submetida ao toque vaginal para avaliação das características do colo uterino e determinação do índice de Bishop (Tabela 2).

Ao término dessa avaliação, as pacientes retornaram ao pré-parto e iniciaram a indução do trabalho de parto com a aplicação de um comprimido de 25 µg de Misoprostol, intravaginal.

Tabela 2: Parâmetros avaliados no Índice de Bishop e suas pontuações atribuídas.

Índice de Bishop				
Parâmetro	Pontuação			
	0	1	2	3
Posição do colo	Posterior	Centralizado	Anterior	-
Consistência do colo	Firme	Média	Amolecida	-
Esvaecimento do colo	0 - 30%	40 - 50%	60 - 70%	>80%
Dilatação do colo	Fechado	1 - 2 cm	3 - 4 cm	5 cm ou mais
Altura da apresentação fetal	-3	-2	-1 a 0	+1 a +2

Fonte: (BISHOP, 1964).

4.2.3 Coletas seriadas de amostras sanguíneas

Foi obtido um acesso venoso periférico com escalpe, que foi mantido por solução fisiológica a 0,9%. Durante cada coleta de sangue, nos tempos pré-determinados pelo protocolo clínico, foram retirados aproximadamente 3 mL de sangue em seringa, sendo este volume desprezado para evitar interferência nas dosagens a serem realizadas. Posteriormente, foram coletados 5 mL de sangue em seringa e armazenados em tubo de tampa verde contendo heparina para a avaliação da concentração do ácido misoprostólico. Após cada coleta sanguínea, foi infundido 3 mL de solução fisiológica.

4.2.4 Sistema de coleta do sangue materno, vasos umbilicais, espaço intervilo e líquido amniótico para avaliação de transferência placentária e distribuição em líquido amniótico

A coleta do líquido amniótico, no parto cesárea, foi realizada após a abertura da parede uterina, a bolsa amniótica foi identificada de forma a permitir a punção para a coleta do líquido, evitando a contaminação do mesmo com material de origem materna. No parto vaginal, a punção foi realizada após a identificação da bolsa amniótica se exteriorizando pelo orifício externo do colo do útero, com agulha de peridural com ponta romba, aspirando-se 10 ml de líquido amniótico. Todos estes procedimentos foram realizados pela equipe médica treinada com segurança para não atingir partes fetais e ou placentária. Após o procedimento, as amostras do líquido

amniótico foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas até o laboratório de Ginecologia e Obstetrícia, no Anexo C da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), onde foram centrifugadas a 2500 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos, à 4°C, o sobrenadante foi coletado e armazenado a -70°C até a análise.

Após o clampeamento do cordão umbilical foi colhida uma amostra de sangue materno (5 mL) e transferida para um tubo de tampa verde contendo heparina. Foram coletadas amostras de sangue da artéria umbilical, veia umbilical e do espaço intervilo, segundo técnica descrita por Camelo Junior et al. (1995), para determinar as concentrações do ácido misoprostólico e analisar a taxa de transferência placentária do fármaco.

As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 2500 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos, a 4°C. Os plasmas de cada amostra foram coletados, armazenados em tubos criogênicos e congelados à temperatura de -70°C, para posterior análise da concentração plasmática do ácido misoprostólico no laboratório de Farmacocinética Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

4.2.5 Coleta de tecido placentário

Sobre uma superfície estéril, dentro da sala de parto, a placenta foi lavada com solução fisiológica 0,9% e cortes do sincitiotrofoblasto foram feitos no lado materno. Foram feitos cinco cortes de aproximadamente 0,5 cm², para avaliação da expressão do mRNA do gene ABCB1. Os fragmentos foram imersos em tubos eppendorf com reagente de estabilização de RNA de tecidos biológicos (RNAlater®, QIAGEN). As amostras foram mantidas em geladeira por 16 horas, e após esse período as amostras foram armazenadas a -70°C no laboratório de Ginecologia e Obstetrícia, no Anexo C da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) para posterior realização dos experimentos por reação em cadeia da polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR). Para realização dos cortes, as regiões da placenta foram escolhidas aleatoriamente, onde não havia calcificação.

4.2.6 Análises bioquímicas e hematológicas

Foram coletadas amostras de 3 mL de sangue de todas as parturientes do estudo e transferidas para um tubo de tampa amarela com gel separador. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central de Análises Clínicas do HCFMRP-USP

para dosagem de ureia, creatinina, alaninoaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), bilirrubinas (Bb total, Bb direta, Bb indireta), fosfatase alcalina, gama-GT, glicemia, proteínas séricas totais, albumina, α 1 glicoproteína ácida e lipidograma.

Uma amostra de 6 mL de sangue foi colhida de todas as parturientes do estudo. Uma alíquota de 3 mL foi transferida para um tubo de tampa roxa contendo EDTA e encaminhada para o Laboratório de Hematologia do HCFMRP-USP para análise do hemograma. Outra alíquota de 3 mL foi transferida para um tubo de tampa roxa contendo EDTA e encaminhada para o Laboratório de Endocrinologia para análise da hemoglobina glicada.

4.2.7 Análise do genótipo materno e fetal

No momento da internação, uma alíquota de 5 mL de sangue materno foi coletada e transferida para um tubo de tampa roxa contendo EDTA para realização do genótipo materno. Uma alíquota de 200 μ L de sangue foi armazenada a -20°C para posterior extração do DNA e identificação dos polimorfismos do gene ABCB1. O restante foi separado em 2 replicatas e armazenadas a -70°C como *back-up*. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas até o laboratório de Ginecologia e Obstetrícia, no Anexo C da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), onde foram armazenadas.

No momento do parto, uma alíquota de 5 mL do sangue venoso do cordão umbilical foi transferida para tubo de tampa roxa contendo EDTA para a realização do genótipo fetal. Uma alíquota de 200 μ L de sangue foi armazenada a -20°C para posterior extração do DNA e identificação dos polimorfismos do gene ABCB1. O restante foi separado em 2 replicatas e armazenadas a -70°C como *back-up*. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas até o laboratório de Ginecologia e Obstetrícia, no Anexo C da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), onde foram armazenadas.

O DNA genômico materno e fetal foi extraído do sangue total utilizando-se o kit de extração de DNA QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen Inc.).

Lise das células sanguíneas: em um tubo eppendorf de 1,5 mL foi aliquoteado 200 μ L da amostra, adicionados 20 μ L de proteinase K e 200 μ L de tampão "AL". A amostra foi misturada no vórtex até obtenção de uma solução homogênea e incubada

por 10 minutos, a 56°C em banho-maria. Realizou-se um spin de 30 segundos a 1200 rpm para remover gotas da tampa do tubo.

Remoção de componentes celulares: foram adicionados 200 µL de Etanol 100% (Merck, Darmstadt, Alemanha) e a solução foi homogeneizada no vórtex. Realizou-se um spin de 30 segundos a 1200 rpm para remover gotas da tampa do tubo. O volume total foi aplicado na coluna e centrifugado à 8600 rpm por 1 minuto.

Remoção de interferentes da coluna: o tubo sujo contendo o filtrado foi descartado. A coluna foi transferida para um tubo eppendorf de 2 mL limpo, foram adicionados 500 µL de tampão “AW1” e centrifugada à 8600 rpm por 1 minuto. Após a centrifugação, transferir a coluna para outro tubo eppendorf de 2 mL limpo e descartar o tubo sujo contendo o filtrado. Foram adicionados 500 µL do tampão “AW2” e centrifugada à 13200 rpm por 3 minutos.

Secagem do DNA na coluna: o tubo sujo contendo o filtrado foi descartado, a coluna foi transferida para um tubo eppendorf de 2 mL limpo e centrifugada à 14000 rpm por 5 minutos para secar a coluna. Após a centrifugação a coluna foi transferida para um tubo de 2 mL limpo e o sujo foi descartado.

Eluição do DNA pela coluna: o tampão “AE” foi aquecido a 60°C em banho-maria. Foram adicionados, na coluna, 100 µL do tampão “AE” aquecido. A coluna foi incubada à temperatura ambiente por 5 minutos. Após incubação, a coluna foi centrifugada à 8600 rpm por 5 minutos. A eluição foi repetida, acrescentando 100 µL do tampão “AE” aquecido.

Quantificação: o DNA foi quantificado no aparelho NanoDrop2000c Spectrophotometer (ThermoScientific), que informa a concentração de DNA na amostra e as razões de absorbância $A_{260/280}$ (~1,8) e $A_{260/230}$ (~2,2) que indicam contaminações da amostra com fenol, sal, EDTA, guanidina, proteínas, entre outros. Foi utilizado 2 µL de cada amostra para quantificação e o tampão “AE” foi utilizado como branco.

Armazenamento: o volume total de DNA eluído foi transferido para tubos eppendorf de 1,5 mL identificados e foram estocados a -20°C, após a quantificação.

Os SNPs rs1045642 (3435 C>T), rs1128503 (1236 C>T) e rs2032582 (2677 G>T/A) do gene MDR1, relacionados a alterações de função da P-gp, foram genotipados pela reação da polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR), utilizando os ensaios de discriminação alélica TaqMan® DrugMetabolismGenotypingAssays (AppliedBiosystems; Foster City, CA, USA).

Foram preparadas soluções de cada sonda customizada diluídas em Master Mix(TaqMan® Universal Master Mix II with UNG, Life Technologies). Essas soluções precisam permanecer geladas durante a pipetagem. Após o término, são congeladas a -20°C. Para 100 reações, foram utilizados 15,6 µL de sonda e 312,5 µL de Master Mix.

Dentro da capela de fluxo laminar, foi pipetado 3,28 µL da solução de Master Mix e sonda em cada poço da placa. Um volume de 3,5 µL de cada amostra de DNA foi adicionado às soluções de Master Mix e sondas em cada poço da placa. Acrescentou-se 3,22 µL de água deionizada para completar o volume final de reação de 10µL por poço. A placa foi mantida em gelo durante todo o processo de montagem e foi mantida em suporte para não entrar em contato direto com o gelo, pois sua leitura é inteiramente óptica. Após a montagem, a placa foi selada e centrifugada à 4°C e 1500 rpm por 1 minuto para que todo o volume dos poços permanecesse no fundo da placa e assim obter uma melhor reação.

A amplificação foi realizada utilizando o equipamento Vii A7, Life Technologies, e os resultados analisados com o programa TaqMan Genotyper Software. A termociclagem consistiu de um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos, 40 ciclos de amplificação a 95°C por 10 segundos e 60°C por 1 minuto e, um ciclo de resfriamento a 37°C por 10 segundos. Análises de controles positivos e negativos foram realizadas em cada corrida e a discriminação alélica foi realizada pela medida da fluorescência final (End point Genotyping Analysis) dos fluoróforos VIC® e FAM® (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA).

4.2.8 Análise da expressão do gene ABCB1

A expressão placentária do mRNA do gene ABCB1 e de seu produto, a glicoproteína-P, foram analisadas por técnicas de RT-PCR, como descrito por Hitzl et al., 2004.

Os fragmentos de placenta foram imersos em tubos eppendorf com reagente de estabilização de RNA de tecidos biológicos (RNAlater®, QIAGEN). As amostras foram mantidas em geladeira por 16 horas, e após esse período as amostras foram armazenadas a -70°C no laboratório de Ginecologia e Obstetrícia, no Anexo C da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) para posterior realização dos experimentos por reação da polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR).

4.2.9 Análise da concentração do ácido misoprostólico em plasma

4.2.9.1 Soluções padrão e reagentes

A solução estoque de ácido misoprostólico (ACM, CAS# 112137-89-0, ácido misoprostólico livre, $\geq 90\%$, Honeywell Fluka™, St. Gallen, Suíça), foi preparadas individualmente na concentração de 1000 ng/mL de metanol e posteriormente diluídas nas concentrações de 2000,0; 800,0; 400,0; 200,0; 100,0; 40,0 pg/mL de metanol. A solução de varfarina (WAR, 98%, Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA) foi empregada como padrão interno (PI) na concentração de 0,1 ng/mL de metanol. O metanol (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, EUA) utilizado foi grau cromatografia e o ácido fórmico (J. T. Baker, 90,1%) utilizado foi grau PA. A água utilizada foi obtida do sistema de purificação Milli Q Plus® (Millipore, Bedford, MA, EUA).

4.2.9.2 Análise cromatográfica

O sistema LC-MS/MS foi constituído por bomba quaternária (ACQUITY UPLC® H-Class), injetor automático (ACQUITY UPLC® Sample Manager - FTN), forno de coluna (TCM/CHM®) e espectrômetro de massas triplo quadrupolo XEVO TQ-S® equipado com interface por eletronebulização (ESI) Zspray™, todos os componentes adquiridos da Waters (Milford, CT, EUA). A separação foi realizada na coluna ACQUITY UPLC® BEH C18 (1,7 μm , 2,1 x 50 mm, Waters, Irlanda) mantida na temperatura de 50°C com fase móvel constituída por mistura de ácido fórmico 0,1% em água e em acetonitrila no modo gradiente (Gradiente – Tabela 3) na vazão de 0,3 mL/min. A voltagem do capilar foi de 2,50 kV. As temperaturas da fonte e de dessolvatação foram mantidas a 150 e 550°C, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização na vazão de 900 L/h e o argônio foi utilizado como gás de colisão na vazão de 0,20 mL/min. A energia do cone foi 20 V para o ácido misoprostólico e 40 para o PI, a energia de colisão foi 17 eV para o ácido misoprostólico e 20 eV para o PI. As condições de otimização do espectrômetro de massas foram obtidas por infusão direta das soluções padrão de ácido misoprostólico preparadas na fase móvel e introduzidas com bomba de infusão, na vazão de 0,3 mL/min.

As análises foram executadas no modo no modo MRM (multiple reaction monitoring), íon negativo (ESI-), os íons precursores e os íons produtos foram monitorados nas transições m/z 368.4>249.1 para o ácido misoprostólico e m/z 307.1>160.87 para varfarina (PI). A aquisição de dados e a quantificação das

amostras foram realizadas utilizando o programa MassLynx versão 4.1 (Micromass, Manchester, Reino Unido).

Tabela 3: Gradiente dos componentes da fase móvel do método de determinação do ácido misoprostólico em plasma.

Tempo (min)	Gradiente dos componentes da fase móvel (%)	
	Ácido fórmico 0,1% em água	Ácido fórmico 0,1% em acetonitrila
0	30	70
1,0	40	60
2,0	60	40
4,8	75	25
5,0	95	5
7,4	95	5
7,41	30	70
10,0	30	70

4.2.9.3 Preparo das amostras

Alíquotas de 500 µL das amostras de plasma foram enriquecidas com 25 µL da solução de PI e 500 µL de acetato de amônio 10 mM (pH = 10,0), foram agitadas por 30 segundos no vórtex e centrifugadas durante 5 minutos a 14000 rpm e 4°C (centrífuga modelo Himac CT 15RE, Hitachi Koki Co. Ltd, Hitachinaka, Ibaraki, Japão). Em seguida, 1 mL do sobrenadante foi transferido para placas contendo colunas de extração em fase sólida (Oasis® MAX Extraction Plate, Waters Corporation, Milford, MA, EUA), previamente condicionadas com 1 mL de metanol e 1 mL de água. Após a transferência do sobrenadante, as colunas foram lavadas com 1 mL de acetato de amônio 10 mM (pH = 10,0), 1 mL de água e 1 mL de metanol. Em seguida, os compostos foram eluídos com 200 µL de uma mistura de ácido fórmico 2% em acetonitrila:metanol (50:50 v/v), diretamente nos poços da placa coletora (Waters® ACQUITY UPLC 700 µL Round 96-Well Sample Plate, Waters Corporation, Milford, MA, EUA). Os eluatos foram acrescidos de 50 µL de ácido fórmico 0,1% água (pH = 3,0) e, após agitação, alíquotas de 10 µL foram submetidas à análise cromatográfica.

4.2.9.4 Validação do método

O método foi validado de acordo com a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC nº 27 de 17 de maio de 2012 para validação de métodos bioanalíticos (ANVISA, 2012). Foram avaliados os seguintes parâmetros: seletividade, efeito residual, efeito matriz, limite de quantificação, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade.

4.2.9.4.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada utilizando-se 08 amostras de plasma branco, sendo 04 normais, 02, hemolisadas e 02 lipêmicas. As áreas de picos interferentes próximos ao tempo de retenção dos fármacos devem ser inferiores a 20% das áreas do LIQ e 5% das áreas do PI.

4.2.9.4.2 Efeito residual

Para avaliação do efeito residual, a mesma amostra de plasma branco foi analisada em triplicata, sendo uma antes e duas logo após a injeção de uma amostra processada do Limite Superior de Quantificação (LSQ) de cada fármaco. Os resultados foram comparados àqueles obtidos de amostras processadas do Limite Inferior de Quantificação (LIQ) do respectivo fármaco.

O efeito residual é considerado ausente quando as amostras de plasma branco processadas analisadas após o LSQ não apresentarem picos interferentes nos mesmos tempos de retenção dos analitos. Caso apresentem picos interferentes próximos ao pico de retenção dos analitos, suas respostas devem ser inferiores a 20% da resposta do analito no LIQ e inferiores a 5% da resposta do PI.

4.2.9.4.3 Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado utilizando-se amostras de de plasma provenientes de 8 voluntários diferentes, sendo 4 normais, 2 lipêmicas e 2 hemolisadas. Os plasmas foram processados de acordo com o procedimento de extração descrito no item 4.2.9.3. O padrão interno (PI) e o ácido misoprostólico foram acrescentados após o processamento, nas mesmas concentrações das amostras de CQB (Controle de Qualidade de baixa concentração – 2,5 pg/mL de plasma) e CQA (Controle de Qualidade de alta concentração - 80 pg/mL de plasma). Para cada amostra foi calculado o fator de matriz normalizado por PI (FMN), conforme a fórmula a seguir:

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

4.2.9.4.4 Limite inferior de quantificação e Linearidade

O limite inferior de quantificação (LIQ) foi definido como a menor concentração quantificada do ácido misoprostólico que resultou em precisão e exatidão com desvios de até 20%.

A linearidade foi avaliada por meio da análise de três curvas analíticas, incluindo a análise da amostra branco (sem analito e padrão interno) e da amostra zero (contendo apenas padrão interno). As curvas foram construídas utilizando alíquotas de 500 µL de plasma branco, enriquecidas com 25 µL de solução padrão de cada solução padrão de uso do ácido misoprostólico. As amostras foram extraídas e analisadas como descrito no item 4.2.9.3.

As curvas analíticas foram construídas nas concentrações 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 e 100 pg/mL de plasma.

As equações de regressão linear ou coeficientes de correlação linear ou de Pearson (r) foram obtidos das razões das áreas dos picos dos analitos divididos pelas áreas dos picos do PI, plotadas em função das respectivas concentrações plasmáticas.

Para aprovação das curvas analíticas, os padrões de calibração devem apresentar um desvio menor ou igual a 15% e o limite inferior de quantificação um desvio de até 20%. O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98.

4.2.9.4.5 Precisão e exatidão

A precisão e a exatidão do método foram avaliadas utilizando cinco replicatas de amostras enriquecidas com ácido misoprostólico nas concentrações 2,0 pg/mL (Limite Inferior de Quantificação-LIQ); 2,5 pg/mL (Controle de Qualidade de Baixa Concentração-CQB); 50,0 pg/mL (Controle de Qualidade de Média Concentração-CQM); 80,0 pg/mL (Controle de Qualidade de Alta Concentração-CQA) e 300 pg/mL (1:10) (Controle de Qualidade de Diluição-CQD) de plasma. Todas as soluções foram separadas em alíquotas e armazenadas a -20°C até a análise.

As análises foram realizadas em uma única corrida analítica (intracorrída) e em três corridas analíticas distintas (intercorridas), em dias consecutivos.

A avaliação da precisão intra e intercorrida foi realizada pelo cálculo do coeficiente de variação dos resultados obtidos. Para que o método possa ser referido como preciso, o coeficiente de variação deve ser igual ou inferior a 15%, exceto para o LIQ, CV de até 20%. A exatidão é expressa pelo Erro Padrão Relativo (EPR), não se admitindo valores fora da faixa de 15% do valor nominal, exceto para o LIQ, para o qual não se admitem valores fora da faixa de 20% do valor nominal, segundo a fórmula a seguir:

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

4.2.9.4.6 Estabilidade

Foram avaliadas as estabilidades após 3 ciclos de congelamento e descongelamento, de curta duração e pós-processamento.

Para a avaliação da estabilidade foram preparadas amostras de plasma branco enriquecidas com ácido misoprostólico nas concentrações 2,5 pg/mL (CQB) e 80 pg/mL (CQA) de plasma humano.

Para verificar a estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento, as amostras enriquecidas foram congeladas a -70°C por 24 h, após esse período, foram descongeladas e congeladas novamente por 24 h, repetindo-se esse processo até o terceiro ciclo de descongelamento quando foram extraídas e analisadas.

Para a avaliação da estabilidade pós-processamento, as amostras extraídas foram mantidas no auto-injetor a 10°C por um período de 12 h, sendo, então, injetadas no sistema cromatográfico.

Para a análise da estabilidade de curta duração as amostras enriquecidas foram mantidas em temperatura ambiente (23°C) por 6 h. Após esse período, as amostras foram extraídas e analisadas.

Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos com as amostras recém-preparadas e expressos em porcentagem de desvio, sendo a estabilidade garantida quando os desvios fossem menores que 15%.

4.2.10 Análise farmacocinética

Os parâmetros farmacocinéticos do ácido misoprostólico foram calculados com base nas curvas de concentração plasmática total *versus* tempo. Foi empregado o

modelo não compartimental, utilizando o programa Phoenix[®] Winnonlin[®], versão 6.4 (PharsightCorp., Mountain View, Califórnia, EUA). A área sob a curva, concentração plasmática *versus* tempo, foi calculada pelo método dos trapezoides com extrapolação para o infinito (GABRIELSSON; WEINER, 2000).

4.2.11 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram reportadas como média e desvio padrão e como mediana e percentis 25-75. Elas foram comparadas utilizando o teste de Kruskal-Wallis e como pós-teste, o teste de Dunn. As variáveis qualitativas foram comparadas utilizando o teste qui-quadrado e descritas como frequência. Para todos os casos, o nível de significância foi fixado em p-valor <0,05. A análise estatística foi realizada pelo software R[®] (R Development Core Team, 2019).

5.1 Características das pacientes investigadas

Os dados epidemiológicos e de avaliação clínica das pacientes participantes foram plotados em um banco de dados para permitir a análise das características da casuística do presente estudo.

Foram avaliadas 40 parturientes internadas no Centro Obstétrico do HCFMRP-USP ou da MATER para indução do trabalho de parto. Os dados demográficos e de desfecho do parto estão descritos como média e desvio padrão na Tabela 4 e no APÊNDICE B (Tabelas i a iv) como valores individuais.

Tabela 4: Dados demográficos e desfechos do parto das parturientes incluídas no estudo. Os dados estão descritos como média e desvio padrão.

	Grupo 1: Não obesas	Grupo 2: Obesidade Grau I	Grupo 3: Obesidade Grau II	Grupo 4: Obesidade Grau III	p-valor*
Idade (anos)	23,4 (2,95)	26,6 (4,30)	24,2 (3,49)	26,8 (5,07)	0,19
IG (semanas)	41,4 (0,76)	41,6 (0,68)	40,6 (1,14)	40,4 (1,08)	0,04*
IMC (kg/m²)	21,04 (1,94)	32,38 (1,63)	36,91 (1,62)	45,15 (3,58)	<0,01*
Tamanho do colo (cm)	2,39 (0,69)	2,60 (0,75)	2,99 (1,02)	2,94 (0,61)	0,18
Dias de indução do TP	1,10 (0,32)	1,40 (0,52)	1,70 (0,67)	2,40 (0,84)	<0,01*
Número de cps de misoprostol	2,50 (1,43)	2,80 (1,62)	2,80 (1,72)	4,80 (1,81)	0,02*

IG: idade gestacional; IMC: índice de massa corporal; TP: trabalho de parto; cps: comprimidos. *p-valor<0,05.

A frequência do índice de Bishop na admissão para o G1 (não obesas) foi: B1 20%, B2 30%, B3 20% e B4 30%. No G2 (obesidade grau I) foi: B1 10%, B2 60%, B3 20% e B4 10%. No G3 (obesidade grau II) foi: B0 30%, B1 30%, B2 20% e B3 10%. No G4 (obesidade grau III) foi: B0 10%, B1 30%, B2 20% e B3 40%.

Em relação ao desfecho do parto, no G1: 6 parturientes evoluíram para o parto via vaginal, 4 evoluíram para parto cesárea, dessas, 2 devido a sofrimento fetal, 1 por parada da dilatação e 1 por falha de indução. No G2: 7 parturientes evoluíram para o

parto via vaginal e 3 para cesárea, dessas 3, 1 por sofrimento fetal, 1 por parada da dilatação e uma por falha de indução. No G3, 6 parturientes evoluíram para o parto via vaginal e 4 para o parto cesárea, dessas 4, 3 devido a sofrimento fetal e 1 por falha de indução. No G4, 7 parturientes evoluíram para falha de indução com misoprostol (3 tiveram o parto cesárea e 4 evoluíram para parto via vaginal após 3 dias de indução do trabalho de parto e devido ao uso de ocitocina no terceiro dia para indução do trabalho de parto), 3 pacientes evoluíram para o parto via vaginal, 2 com um dia de indução e 1 com 2 dias de indução. Houve uma diferença significativa entre os grupos devido a falha de indução com misoprostol. As parturientes do grupo 4 tiveram uma taxa de falha de indução maior que os outros grupos (p -valor = 0,016).

Todas as pacientes realizaram pré-natal de maneira satisfatória, segundo critérios do Ministério da Saúde, nenhuma paciente apresentava cesárea prévia. Todas apresentaram sorologias negativas para o Vírus da Imunodeficiência Humana (anti-HIV I e II), para o vírus da Hepatite B (HBsAg), vírus da Hepatite C (anti-HCV) e para Sífilis (VDRL).

Foram realizados exames laboratoriais para a avaliação da normalidade funcional dos sistemas/órgãos hematológico, renal, hepático e endócrino, pela influência dos mesmos na farmacocinética do misoprostol. Os dados estão descritos como mediana e percentis na Tabela 5 e no APÊNDICE C (Tabelas v a viii) como valores individuais.

Tabela 5: Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes. Os dados estão representados como mediana e percentis 25-75%.

Parâmetros	Valor Normal Unidade	Grupo 1 Mediana (25-75)	Grupo 2 Mediana (25-75)	Grupo 3 Mediana (25-75)	Grupo 4 Mediana (25-75)
Ureia	10-50 mg/dL	16,00 (11,75-18,00)	19,50 (15,25-22,25)	16,00 (13,25-20,50)	16,00 (12,50-19,50)
Creatinina	0,7-1,5 mg/dL	0,55 (0,53-0,60)	0,71 (0,67-0,74)	0,59 (0,54-0,63)	0,62 (0,57-0,67)
TGO	Até 32 U/L	18,50 (15,30-21,58)	18,50 (17,63-22,03)	15,70 (14,15-17,70)	13,55 (11,48-17,23)
TGP	Até 31 U/L	10,65 (9,25-11,75)	9,50 (7,85-13,08)	12,00 (8,50-15,93)	9,00 (7,00-12,90)
Bb total	0,2-1,2 mg/dL	0,35 (0,28-0,42)	0,31 (0,30-0,43)	0,29 (0,24-0,31)	0,40 (0,26-0,52)
Bb direta	0,0-0,3 mg/dL	0,09 (0,07-0,09)	0,08 (0,07-0,10)	0,08 (0,06-0,11)	0,09 (0,08-0,16)
Proteínas Totais	6,4-8,2 g/dL	6,45 (6,13-6,60)	6,45 (6,40-6,60)	6,10 (6,00-6,18)	6,15 (6,10-6,38)
Albumina	3,5-5,0 g/dL	3,50 (3,50-3,68)	3,35 (3,43-3,60)	3,45 (3,33-3,58)	3,50 (3,50-3,70)
α1 glicopt. Ácida	50-120 mg/dL	68,00 (56,50-81,00)	64,50 (53,50-74,38)	70,70 (59,63-75,38)	75,25 (66,43-79,25)
γ GT	5-85 U/L	14,50 (12,25-23,75)	12,5 (11,78-12,85)	15,00 (14,00-21,25)	11,50 (10,25-16,00)
Fosfatase alcalina	50-136 U/L	364,50 (339,00-426,50)	345,00 (306,75-402,75)	390,50 (340,25-481,75)	313,00 (289,75-357,25)
Hemoglobina	12-16 g/dL	12,35 (11,13-12,75)	12,15 (11,78-12,85)	11,65 (11,13-12,25)	11,45 (10,68-11,98)
Hematócrito	37-47 %	37,00 (33,00-38,00)	37,50 (36,00-38,00)	34,00 (33,00-38,00)	35,00 (34,00-37,00)
Plaquetas	150-450 10 ³ /μL	199,50 (150,25-216,00)	243,50 (171,50-303-50)	267,50 (222,50-285,75)	293,50 (264,25-310,50)
Glicemia	70-100 mg/dL	71,5 (70,00-72,00)	72,00 (70,00-78,00)	77,00 (71,75-78,75)	74,50 (73,25-76,00)
Hb glicada	<6,3 %	5,30 (5,23-5,58)	5,60 (5,25-5,78)	5,35 (5,03-5,58)	5,60 (5,10-5,98)
Colesterol Total	<200 mg/dL	227,00 (215,5-272,5)	228,50 (201,00-268,00)	202,50 (185,00-241,00)	203,00 (174,75-270,00)
LDL	100-129 mg/dL	128,50 (21,75-161,25)	119,50 (100,00-155,25)	122,00 (91,00-148,00)	116,50 (89,25-161,50)
HDL	>50 mg/dL	62,50 (59,50-13)	60,50 (48,50-66,75)	50,30 (46,55-55,60)	53,50 (48,80-60,85)
Triglicérides	<150 mg/dL	192,50 (157,50-225,50)	244,50 (192,25-284,50)	217,50 (167,50-266,50)	192,50 (152,00-218,50)

TGO: Aspartatoaminotransferase; TGP: Alaninoaminotransferase; Bb: bilirrubina; glicopt: glicoproteína; γ GT –gamaglutamiltransferase; Hb: hemoglobina; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

5.2. Características dos recém-nascidos

Nenhum recém-nascido das pacientes investigadas nos dois grupos apresentou doenças diagnosticadas ao nascer, ou efeitos adversos que pudessem ser atribuídos ao uso do misoprostol durante a gestação.

Dois recém-nascidos apresentaram Índice de Apgar menor que 7 no 1º minuto, um do grupo 1 e outro do grupo 2, os demais apresentaram o Índice de Apgar maior ou igual a 7 no 1º minuto e 5º minuto, caracterizando bem-estar ao nascer. Os dados estão descritos como mediana e percentis 25-75% e como frequência na Tabela 6 e os dados individuais estão escritos no APÊNDICE D (Tabelas ix a xii). Todos os recém-nascidos apresentaram evolução favorável no período pós-natal e receberam alta hospitalar no mesmo momento da alta materna. Nenhuma das placentas apresentou alterações macroscópicas relevantes.

Tabela 6: Características dos recém-nascidos das parturientes. Os dados estão representados como mediana e percentis 25-75% e como frequência (%).

Parâmetros	Grupo 1 Mediana (25-75)	Grupo 2 Mediana (25-75)	Grupo 3 Mediana (25-75)	Grupo 4 Mediana (25-75)
Peso (kg)	3,47 (3,05-3,85)	3,41 (3,34-3,75)	3,43 (3,22-3,72)	3,11 (2,91-3,62)
Estatura (cm)	52,00 (48,50-53,00)	51,00 (49,50-51,00)	50,00 (49,25-50,75)	49,5 (48,25-50,00)
Índice de Apgar 1º minuto				
10 (%)	10	-	-	10
9 (%)	40	50	50	60
8 (%)	40	40	40	20
7 (%)	-	10	10	-
6 (%)	10	-	-	-
4 (%)	-	-	-	10
Índice de Apgar 5º minuto				
10 (%)	30	60	50	60
9 (%)	60	40	50	20
8 (%)	-	-	-	10
7 (%)	10	-	-	10

5.3. Análise do genótipo materno e fetal

Os resultados da genotipagem estão descritos como frequência (%) na Tabela 7.

Tabela 7: Genótipos dos polimorfismos do ABCB1 das parturientes investigadas. Dados descritos como frequência (%).

Grupo s	rs1045642 (%)			rs1128503 (%)			rs2032582 (%)					
	T>T	C>C	C>T	T>T	C>C	C>T	G>A	G>T	G>G	T>T	A>A	A>T
G1 – P	51,4	28,6	20,0	60,0	20,0	20,0	9,4	25,0	46,8	9,4	-	9,4
G2 – P	31,4	-	68,6	40,0	-	60,0	-	60,0	40,0	-	-	-
G3 – P	40,0	-	40,0	20,0	11,4	68,6	-	40,0	60,0	-	-	-
G4 – P	31,4	20,0	48,6	40,0	11,4	48,6	-	55,9	32,4	-	-	11,7
G1–RN	31,4	-	68,6	31,4	-	68,6	-	60,0	28,6	-	11,4	-
G2–RN	80,0	-	20,0	68,6	-	31,4	8,6	20,0	71,4	-	-	-
G3–RN	31,4	20,0	48,6	40,0	11,4	48,6	-	60,0	28,6	11,4	-	-
G4–RN	40,0	20,0	40,0	40,0	20,0	40,0	-	31,4	60,0	-	-	8,6

G1 – P: grupo 1 – parturientes; G2 – P: grupo 2 – parturientes; G3 – P: grupo 3 – parturientes; G4 – P: grupo 4 – parturientes; G1 – RN: grupo 1 – recém-nascidos; G2 – RN: grupo 2 – recém-nascidos; G3 – RN: grupo 3 – recém-nascidos; G4 – RN: grupo 4 – recém-nascidos.

5.4 Análise da expressão do gene ABCB1

Os resultados da expressão da P-gp estão descritos em porcentagem na Tabela 8.

Tabela 8: Resultado da análise da expressão da glicoproteína-P (P-gp) das parturientes avaliadas. Dados expressos como média e desvio padrão.

	G1	G2	G3	G4
Expressão P-gp	0,98 (0,58)	0,91 (0,42)	1,17 (0,94)	1,23 (1,13)
Média (DP)				

5.5 Análise de ácido misoprostólico em plasma

As Figuras 5 e 6 apresentam os íons protonados $[M + H]^+$ e seus respectivos íons produto monitorados nas transições 368.4>249.1 para o ácido misoprostólico e 307.1>160.87 para varfarina (PI).

Figura 5: Espectro de massas do íon protonado (A) e do íon produto (B) do ácido misoprostólico.

Figura 6: Espectro de massas do íon protonado (A) e do íon produto (B) da varfarina (PI).

As Figuras 7, 8, 9, 10 e 11 apresentam os cromatogramas referentes as análises de amostras de plasma branco, plasma zero (apenas o PI), plasma enriquecido com LIQ (2,0 pg/mL), plasma enriquecido com padrão ácido misoprostólico (40 pg/mL) e amostra do plasma de uma parturiente colhido 90 minutos após a administração do misoprostol.

Figura 7: Plasma Branco.

Figura 8: Plasma branco zero (apenas com PI).

Figura 9: Plasma enriquecido com concentração do Limite Inferior de Quantificação (LIQ) – 2,0 pg/mL.

Figura 10: Plasma enriquecido com padrão de ácido misoprostólico 40 pg/mL e PI.

Figura 11: Amostra do plasma de uma parturiente colhido 90 minutos após a administração do misoprostol.

Os limites de confiança obtidos na validação do método de análise estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Limites de confiança do método de análise do ácido misoprostólico em plasma.

	Ácido misoprostólico
Efeito matriz	
FMN média (%CV)	0,91 (13,26)
Linearidade (pg/mL de plasma)	2-100
Equação da reta	$y=0,0161*x+0,0406$
r^2	$r^2 = 0,9903$
Precisão intracorrída (CV %, n=5)	
LIQ (2 pg/mL)	4,68
CQB (2,5 pg/mL)	1,27
CQM (50 pg/mL)	2,93
CQA (80 pg/mL)	5,94
CQD 1:10 (300 pg/mL)	5,04
Precisão intercorridas (CV %, 3 corridas/5 replicatas)	
LIQ (2 pg/mL)	4,68
CQB (2,5 pg/mL)	7,92
CQM (50 pg/mL)	2,93
CQA (80 pg/mL)	5,94
CQD 1:10 (300 pg/mL)	5,98
Exatidão intracorrída (EPR %, n=5)	
LIQ (2 pg/mL)	-2,12
CQB (2,5 pg/mL)	-1,41
CQM (50 pg/mL)	-6,69
CQA (80 pg/mL)	0,13
CQD 1:10 (300 pg/mL)	5,07
Exatidão intercorrida (EPR %, 3 corridas/5 replicatas)	
LIQ (2 pg/mL)	8,90
CQB (2,5 pg/mL)	4,65
CQM (50 pg/mL)	10,50
CQA (80 pg/mL)	8,70
CQD 1:10 (300 pg/mL)	5,07
Estabilidade (Desvio %, n=3)	
Curta duração (6h a 23°C)	
CQB (2,5 pg/mL)	9,39
CQA (80 pg/mL)	6,90
Pós-processamento (12h a 10°C)	
CQB (2,5 pg/mL)	9,66
CQA (80 pg/mL)	1,28
Três ciclos de congelamento e descongelamento (-70°C)	
CQB (2,5 pg/mL)	7,99
CQA (80 pg/mL)	3,68
Analito e PI em solução (60 dias a -20°C)	
CQB (2,5 pg/mL)	-1,63
CQA (80 pg/mL)	-6,33

FMN: efeito matriz normalizado por padrão interno; 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; CBM: controle de qualidade de média concentração; CQA: controle de qualidade de alta concentração; CQD: controle de qualidade de diluição.

5.6 Farmacocinética do ácido misoprostólico em parturientes durante a indução do trabalho de parto

Os parâmetros farmacocinéticos expressos pela mediana e percentis 25-75% estão apresentados na Tabela 10. As curvas médias de concentração plasmática *versus* tempo estão apresentadas na Figura 12. Os gráficos individuais de concentração plasmática *versus* tempo para o misoprostol (ácido misoprostólico) estão apresentados no APÊNDICE E.

Tabela 10: Parâmetros farmacocinéticos do ácido misoprostólico dos grupos de parturientes avaliados. Os dados estão expressos como mediana e percentis 25-75%.

Parâmetros	Grupo 1 Mediana (Percentis 25-75)	Grupo 2 Mediana (Percentis 25-75)	Grupo 3 Mediana (Percentis 25-75)	Grupo 4 Mediana (Percentis 25-75)
AUC ^{0-∞} (pg.h/mL)	83,89 (71,43–112,28)	73,93 (54,46–92,04)	68,84 (42,07-70,73)	56,77 (48,70-61,41)
C _{max} (pg/mL)	21,89 (15,41–27,31)	16,91 (9,25–29,93)	14,29 (13,36–24,01)	16,67 (10,05–22,45)
t _{max} (h)	2,25 (0,93–4,75)	3,00 (1,63–3,75)	4,50 (3,00–5,00)	3,00 (2,25–4,00)
t _{1/2} (h)	1,18 (0,80–4,88)	1,31 (0,87–4,58)	1,27 (0,67–1,90)	0,96 (0,74–6,05)

AUC^{0-∞}: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo; C_{max}: concentração plasmática máxima no estado de equilíbrio; t_{max}: tempo para alcançar C_{max}; t_{1/2}: meia-vida de eliminação. Teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn como pós-teste, para todos os dados pareados, p>0,05.

Figura 12: Curvas de concentração plasmática *versus* tempo do ácido misoprostólico (ng/mL) obtidas na investigação de parturientes do grupo 1 – não obesas (n=10), grupo 2 – obesidade grau I (n=10), grupo 3 – obesidade grau II (n=10) e do grupo 4 – obesidade grau III (n=10), tratadas com dose única de misoprostol vaginal, 25 µg/6h. Dados expressos como média e erro padrão da média.

Na Figura 13 estão representados boxplots dos quatro grupos em relação a AUC. A figura demonstra que não há diferença entre os parâmetros farmacocinéticos do ácido misoprostólico (p -valor $>0,05$), utilizando o teste de Kruskal-Wallis e como pós-teste, o teste de Dunn.

Figura 13: Boxplot referente aos valores de área sob a curva dos quatro grupos avaliados.

Não houve diferença significativa entre IMC e os parâmetros farmacocinéticos ($p\text{-valor} > 0,05$), entretanto houve influência do peso sobre a AUC ($p\text{-valor} = 0,008932$), utilizando o teste de Kruskal-Wallis e como pós-teste, o teste de Dunn (Figura 14).

Figura 14: Influência do peso sobre a AUC.

Houve relação entre a baixa exposição ao misoprostol (AUC) e a maior taxa de falha de indução ($p\text{-valor} = 0,0052$), ou seja, quanto menor a biodisponibilidade, maior a taxa de falha de indução (Figura 15).

Figura 15: Relação entre AUC e falha de indução.

5.7 Distribuição transplacentária do ácido misoprostólico

Na Tabela 11 estão evidenciados os dados da transferência placentária expressos por valores individuais da concentração de ácido misoprostólico no plasma da veia umbilical, da artéria umbilical e do espaço intervilo.

Tabela 11: Transferência placentária do ácido misoprostólico nos compartimentos materno-fetais. Dados individuais.

Parturientes	Concentração de ácido misoprostólico (pg/mL)			
	SMP	SV	AS	SEI
Grupo 1				
P3	2,33	-	-	-
P4	3,24	3,43	2,50	-
P7	3,31	6,45	-	-
P8	8,33	7,59	6,45	20,25
P9	2,11	4,86	-	9,32
Grupo 2				
P1	2,71	8,00	8,01	9,20
P2	3,12	-	-	-
P4	5,25	7,29	4,62	5,75
P7	-	2,17	-	-
Grupo 3				
P1	-	-	2,51	-
P4	6,02	-	-	-
P5	6,18	4,42	-	-
P8	6,4	3,33	11,04	-
P10	9,34	5,24	5,58	-
Grupo 4				
P2	18,69	-	5,47	-
P4	4,90	-	-	-
P7	3,89	2,95	-	-
P10	16,54	-	9,30	-

SMP: sangue venoso materno no momento do parto. SV: sangue da veia umbilical. AS: sangue da artéria umbilical. SEI: sangue do espaço intervilo. P: paciente/parturiente.

Foi possível descrever apenas os dados das pacientes representadas na Tabela 11. O restante das amostras obteve concentrações abaixo do LIQ, tornado inválido os valores encontrados.

Em relação às concentrações de ácido misoprostólico em líquido amniótico: não foi possível detectar concentrações do metabólito ativo do misoprostol distribuídas no líquido amniótico coletados.

O uso de misoprostol em práticas obstétricas está bem estabelecido (BLUM et al., 2010). A Organização Mundial da Saúde endossa o importante papel do misoprostol na saúde reprodutiva, incluindo-o na Lista de Medicamentos Essenciais (WHO, 2011). O estudo abrange a investigação da influência da obesidade materna na farmacocinética do misoprostol administrado para indução do trabalho de parto. Para todas as voluntárias investigadas foi padronizada a administração de misoprostol vaginal 25 µg e todos os comprimidos foram do mesmo lote para evitar viés de concentração.

Todas as pacientes foram submetidas à avaliação da função metabólica, renal, hepática e hematológica, além da quantificação dos níveis séricos de proteínas totais, alfa 1-glicoproteína ácida e albumina. Os resultados obtidos foram considerados dentro dos valores de normalidade. Exceto para a fosfatase alcalina, em que todas as gestantes apresentaram níveis mais altos que os padronizados. A fosfatase alcalina é produzida pelo fígado, intestino, rins e ossos, no entanto durante o período gestacional a placenta também a produz, explicando o aumento desta enzima nas pacientes investigadas (DARBY; CALLAGHAN; MCMAHON, 2011). Sugere-se que haja uma alteração nos valores de fosfatase alcalina para gestantes. Em um futuro trabalho, seria interessante padronizar os níveis de fosfatase alcalina durante a gravidez.

Em relação aos dados demográficos, as gestantes de todos os grupos apresentaram idade similar. A idade é considerada uma das variáveis relevantes, que podem explicar a variabilidade inter e intra-paciente (PARIENTE et al., 2016). Como não houve diferença significativa entre as idades de cada grupo, sugere-se uma menor variabilidade entre as análises farmacocinéticas das parturientes.

Assim como a idade, o tamanho do colo do útero também não foi diferente entre os grupos. Essa homogeneidade é importante, pois de acordo com RAO et al. (2008), a medida do colo uterino é capaz de predizer o início do trabalho e parto.

Em todos os grupos o Índice de Bishop foi menor que cinco, portanto com indicação de indução com Misoprostol. De acordo com Vrouenraets et al. (2005) um índice de Bishop maior que 5 é favorável ao parto vaginal. Como não houve diferença no tamanho da medida do colo e não houve paciente que iniciou a indução com o índice de Bishop maior que cinco, considera-se que não houve viés de inclusão das parturientes.

Houve diferença significativa entre os dias de indução, a média do grupo 1 foi de 1,10 dias, enquanto que do grupo 4 chegou a 2,40 dias. Além da gestante obesa

ficar mais dias internada, há um número maior de comprimidos utilizados. Enquanto nas parturientes do grupo 1 foram administrados em média 2,5 comprimidos de misoprostol, nas do grupo 4, foram, em média, 4,8 comprimidos.

Portanto, sobre o desfecho do parto, pode-se observar que as parturientes do grupo 1 apresentaram uma taxa de sucesso de indução de 60%, com uma média de 1,10 dias de indução e 2,50 comprimidos de misoprostol. No grupo 2, houve uma taxa de sucesso de indução de 70%, em 1,40 dias de indução, utilizando 2,80 comprimidos. No grupo 3, a taxa de sucesso foi de 60%, em 1,70 dias de indução e também utilizou 2,80 comprimidos. Já no grupo 4, a taxa de sucesso foi de apenas 30%, em 2,40 dias e utilizando quase o dobro de comprimidos (4,80). Houve uma diferença significativa da falha de indução entre os grupos, a taxa de falha de indução no grupo 4 foi de 70%, enquanto nos demais grupos foi de apenas 10%.

Gestantes obesas têm menores taxas de trabalho de parto espontâneo, que não obesas. Após as 37 semanas de gestação, a cada semana que passa a mulher obesa se torna menos propensa a entrar em trabalho de parto espontâneo (STOTLAND; WASHINGTON; CAUGHEY, 2007; DENISON et al., 2008; FROLOVA et al., 2018).

Em um estudo de Wolfe; Rossi; Warshak (2011), 13% das mulheres não obesas tiveram falha de indução e a taxa de falha de indução para mulheres com obesidade foi mais que o dobro, 29%. Estes dados corroboram os encontrados no presente estudo, em que as gestantes obesas tiveram maiores taxas de falha de indução, 70%. Portanto, mulheres com obesidade têm maior probabilidade de induzir o parto e ter maior taxa de falha de indução.

Em relação ao genótipo, não houve associação entre o genótipo MDR1 (ABCB1) e a expressão de P-gp, corroborando o estudo de Hitzl (2004). Entretanto houve discordância em relação aos polimorfismos que apresentaram menor expressão da P-gp. O grupo que apresentou a maior frequência do polimorfismo TT, foi o que obteve menor expressão da glicoproteína. E, o grupo com maior frequência do polimorfismo CT apresentou maior expressão da P-gp. Já no estudo de Hitzl (2004), o polimorfismo com menor expressão de P-gp foi o CT.

A partir dos resultados da expressão da P-gp na placenta, acredita-se que quanto maior a expressão, menor a transferência placentária do misoprostol, pois a P-gp é uma proteína de efluxo que tem como principal função de modular a exposição do feto a drogas e xenobióticos (HAN; GAO; MAO, 2018).

Todos os recém-nascidos das pacientes dos grupos 2 e 3 apresentaram índice de Apgar maior que 7 no primeiro e no quinto minuto. Apenas 10% dos recém-nascidos das pacientes do grupo 1 apresentou índice de Apgar menor que 7 no primeiro minuto e igual a 7 no quinto minuto. No grupo 4, apenas 10% apresentou índice de Apgar menor que 7 no primeiro e no quinto minutos. Todos os recém-nascidos apresentaram evolução favorável no período pós-natal.

Durante a gravidez há o aumento no volume plasmático e a diminuição da concentração de albumina, que podem provocar alteração no volume de distribuição dos medicamentos e consequentemente redução da concentração plasmática máxima na administração de doses múltiplas ou na concentração inicial na administração da dose de ataque (ANDERSON, 2005; ABDULJALIL et al., 2012; ISOHERRANEN, 2013). Para a análise da farmacocinética do misoprostol em parturientes foi necessário o desenvolvimento e a validação de um método analítico em plasma com alta sensibilidade capaz de quantificar o fármaco.

O misoprostol é rapidamente e totalmente metabolizado em ácido misoprostólico (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007), portanto analisou-se o ácido misoprostólico. O método de análise em plasma foi desenvolvido baseando-se nos trabalhos disponíveis na literatura como o Zou et al. (2007); Méndez; Guerra (2011), Bharathi et al. (2011), Simões et al. (2012); Kumar et al. (2012), Hung et al. (2015).

Para o desenvolvimento foram necessários 500 µL de plasma. As análises consistem em extração em fase sólida, seguida pela análise por UPLC-MS/MS. Foi utilizada a varfarina como padrão interno e o tempo de retenção foi de 4,22 minutos para o ácido misoprostólico e de 4,75 para o PI.

Os dados apresentados indicaram que nenhum dos componentes do plasma, matriz biológica, causou interferências na resposta do fármaco, pois o fator de matriz normalizado por padrão interno (FMNs) foi inferior a 15%.

As curvas analíticas construídas para plasma, 2,0-100 pg/mL, mostraram linearidade, com coeficiente de correlação linear superiores a 0,99. Os intervalos lineares abrangem todas as concentrações experimentadas.

O limite de quantificação (LIQ) foi de 2,0 pg/mL para análise em plasma. Este resultado, quando comparado com trabalhos desenvolvidos Zou et al. (2007); Méndez; Guerra (2011), Bharathi et al. (2011), Kumar et al. (2012), Hung et al. (2015), que quantificaram o ácido misoprostólico em plasma, demonstra que o método

desenvolvido no presente estudo é o de maior sensibilidade. Os autores relataram LIQ variando entre 2,5 a 10 pg/mL de plasma (Tabela 12).

Tabela 12: Comparação de métodos de análises do ácido misoprostólico entre trabalhos descritos na literatura e o presente estudo.

Referências	Matriz (mL)	Preparação da amostra	Método	LIQ (pg/mL)	Tempo de retenção (min)
Presente estudo	Plasma (0,5)	EFS	UPLC-MS/MS	2,0	4,22
Zou et al. (2007)	Plasma (0,2),	ELL	HPLC-MS/MS	10,0	~3,00
Méndez; Guerra (2011)	Plasma (1,0)	PPT	HPLC-UV/VIS	5,0	5,30
Bharathi et al. (2011)	Plasma (0,2)	EFS	API-LC-MS	2,5	3,88
Simões et al. (2012)	Sg Total (1,0)	EFS	UPLC-MS/MS	25000	~3,00
Kumar et al. (2012)	Plasma (1,0)	EFS	UPLC-MS/MS	5,00	4,50
Hung et al. (2015)	Plasma (0,2)	EFS	HPLC-MS/MS	10,00	~2,00

LIQ: limite inferior de quantificação; EFS: extração em fase sólida; ELL: extração líquido-líquido; PPT: precipitação com acetonitrila; UPLC-MS/MS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; HPLC-MS/MS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; HPLC-UV: high performance liquid chromatographic with ultraviolet/visible detector; APCI-LS-MS: atmospheric pressure ionization liquid chromatographic-mass spectrometric. Em negrito estão os dados do presente estudo.

Os coeficientes de variação obtidos nos estudos de precisão e os erros padrão relativos obtidos nos estudos de exatidão intra e inter-corridas foram inferiores a 15%, assegurando a reprodutibilidade e repetibilidade dos resultados, podendo assim, ser utilizado como um trabalho de referência para outros estudos que envolvam a análise do ácido misoprostólico em plasma.

A avaliação da estabilidade em três ciclos de congelamento e descongelamento, manutenção durante 6 h em temperatura ambiente e durante 12 h à 10°C, após o processamento das amostras, apresentou valores de porcentagem de desvio inferiores a 15%, garantindo a estabilidade dos analitos durante o descongelamento, preparo e o processamento das amostras.

O LIQ de 2,0 pg/mL de plasma permitiu a análise da nifedipina até 6h após a administração via vaginal de 25 µg de misoprostol para todas as pacientes investigadas.

O método desenvolvido e validado para a análise do misoprostol em plasma é compatível com a aplicação em estudo de farmacocinética em pacientes por apresentarem vantagens como o baixo volume de plasma requerido nas análises (500 µL), alta sensibilidade com LIQ (2,0 pg/mL de plasma), é preciso, exato e estabilidade assegurada em estudos de curta duração, ciclos de congelamento e descongelamento e pós-processamento.

Fatores placentários e fetais que pudessem interferir na avaliação da taxa de transferência placentária do misoprostol, como o peso da placenta e a idade gestacional foram avaliados. O peso placentário foi homogêneo entre os grupos avaliados e não foram observadas alterações macroscópicas que pudessem alterar o transporte de drogas. Entretanto, o LIQ não foi suficiente para quantificar todas as amostras de transferência placentário e de líquido amniótico coletadas no momento do parto, sugerindo uma baixa distribuição e concentração nestes compartimentos.

A farmacocinética da misoprostol, avaliada com base nos parâmetros C_{max} , t_{max} , $AUC^{0-\infty}$ e $t_{1/2}$ do ácido misoprostólico, não mostrou diferenças com significância estatística entre os quatro grupos. No entanto, este é o primeiro estudo da farmacocinética do misoprostol, utilizando a dose de 25 µg via vaginal (Tabela 13).

Os parâmetros farmacocinéticos *clearance* (Cl) e volume de distribuição (Vd), dependentes da biodisponibilidade, não podem ser calculados porque dependem da dose do ácido misoprostólico. O misoprostol foi administrado por via oral às parturientes e não há dados da biodisponibilidade do misoprostol na população estudada, nem da dose específica de ácido misoprostólico.

Tabela 13: Comparação de parâmetros farmacocinéticos de trabalhos da literatura comparados com o presente estudo.

	Dose (μg)	Via de Administração	C_{max} (pg/mL)	T_{max} (h)	AUC (pg.h/mL)
Grupo 1	25	Vaginal	21,89	2,25	83,89*
Grupo 2	25	Vaginal	16,91	3,00	73,93*
Grupo 3	25	Vaginal	14,29	4,50	68,84*
Grupo 4	25	Vaginal	16,67	3,00	56,77*
Zieman et al. (1997)	400	Oral	277	0,57	273****
Zieman et al. (1997)	400	Vaginal	165	1,33	503****
Tang et al. (2002)	400	Oral	287	0,47	403****
Tang et al. (2002)	400	Vaginal	125	0,90	434****
Tang et al. (2002)	400	Sublingual	575	0,42	744****
Khan; El- Refaey (2003)	600	Oral	184	0,68	311**
Khan; El- Refaey (2003)	600	Retal	328	0,30	190**
Khan; El- Refaey (2003)	400	Oral	259	0,24	152**
Khan; El- Refaey (2003)	400	Vaginal	211	1,08	446**
Schaff; DiCenzo; Fielding (2005)	800	Sublingual	1140	0,50	1910*
Schaff; DiCenzo; Fielding (2005)	800	Oral	229	0,50	380*
Meckstroth et al. (2006)	400	Vaginal	446	1,53	1025***
Meckstroth et al. (2006)	400	Sublingual	265	1,40	520***
Aronsson et al. (2007)	800	Oral	79	1,60	302*****
Aronsson et al. (2007)	400	Vaginal	118	1,70	415*****
Aronsson et al. (2007)	400	Sublingual	580	0,50	758*****
Lee et al. (2011)	400	Vaginal	263	2,00	850***

- dados não disponíveis. C_{max} : concentração plasmática máxima no estado de equilíbrio; t_{max} : tempo para alcançar C_{max} ; $t_{1/2}$: meia-vida de eliminação; AUC: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo. *AUC^{0-∞}; **AUC⁰⁻²⁴⁰; ***AUC⁰⁻³⁰⁰; ****AUC⁰⁻³⁶⁰; *****AUC⁰⁻⁷²⁰. Em negrito estão os dados do presente estudo. (AUBERT; BEJAN-ANGOULVANT; JONVILLE-BERA, 2014).

Todos os trabalhos (Tabela 13) utilizaram doses para abortamento, portanto este é o primeiro estudo com dados completos de farmacocinética do misoprostol com doses utilizadas rotineiramente para indução do trabalho de parto com feto vivo.

No presente estudo, o misoprostol foi administrado via vaginal, que difere da via oral, pois a concentração plasmática aumenta gradualmente e há níveis detectáveis de ácido misoprostólico até 6 horas após a administração. Apesar da concentração máxima ser maior após a administração oral, a AUC é maior quando o misoprostol é administrado via vaginal, sendo assim há uma maior biodisponibilidade do fármaco (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

De acordo com Zieman et al. (1997) o coeficiente de variação da AUC após a administração vaginal é maior que a oral, ou seja, a absorção via vaginal é inconsistente. Também relataram que após a administração de misoprostol 400 µg, o C_{max} é atingido após 70, ou 80 minutos, este dado também foi encontrado por Tang et al. (2002), que encontrou T_{max} de aproximadamente 75 minutos. Estes dados diferem do presente estudo, pois o T_{max} variou de 2,25 a 4,50 horas, os dados ficam mais próximos do encontrado por Lee et al. (2011), cuja média do T_{max} foi de 2 horas $\pm$ 1,5 horas.

A obesidade pode alterar a farmacocinética de medicamentos, devido à infiltração gordurosa no fígado, provocando alterações nas enzimas do citocromo P450. Além disso, pacientes obesas podem apresentar alteração do volume de distribuição e do *clearance* de medicamentos (JANSON; THURSKY, 2012; UDY; ROBERTS; LIPMAN, 2013; CLAUS et al., 2013).

O presente estudo não encontrou diferença significativa entre o IMC e os parâmetros farmacocinéticos, entretanto houve uma grande influência do peso na AUC. Quanto maior o peso, menor a AUC, ou seja, menor a biodisponibilidade, menor a exposição da parturiente ao fármaco. O peso também pode interferir no *Clearance*, quanto maior o peso, maior o *Clearance*. O aumento do *Clearance* em pacientes obesos está associado ao aumento do tamanho do rim e do fluxo sanguíneo renal que estão associados a obesidade (CHO; YOON; KIM, 2013).

Um outro dado relevante é que houve uma relação entre a AUC e a falha de indução. Quanto menor a AUC, menor a exposição da paciente ao fármaco, consequentemente, maior risco de ocorrer falha de indução. A partir destes dados, sugere-se que para gestantes obesas seja possível realizar a indução com misoprostol vaginal 50 µg.

Em um estudo de Ozkan et al. (2009) utilizou-se o misoprostol vaginal 50 µg para indução do trabalho de parto em mulheres com obesidade grau III. Os autores observaram menor intervalo até o início do trabalho de parto, maiores taxas de partos vaginais dentro de 12 horas, menor necessidade de uso de ocitocina sintética, menor tempo de internação sem causar taquissistolia aumentada. Portanto o misoprostol 50 µg é seguro e pode ser usado em gestantes obesas.

A partir dos dados do presente estudo foi possível entender a farmacocinética do misoprostol administrado via vaginal, em doses para indução do trabalho de parto. Estes dados sugerem que há possibilidade de alteração da posologia do misoprostol, quando utilizado em gestantes obesas, demonstrando a importância da pesquisa laboratorial para a prática clínica.

1. A obesidade influencia a biodisponibilidade (AUC) do fármaco, sugerindo que o regime posológico do misoprostol seja alterado de 25 µg para 50 µg, via vaginal, nas pacientes obesas.
2. O método de análise do misoprostol em plasma, empregando UPLC-MS/MS apresenta limites de quantificação compatíveis com a aplicação em estudos farmacocinéticos e análise até 6 horas após a administração de 25 µg de misoprostol via vaginal.
3. Entretanto o método não foi capaz de detectar as concentrações para o cálculo de transferência placentária e distribuição para o líquido amniótico. Portanto não foi possível avaliar os efeitos da obesidade nestes compartimentos.
4. Não houve diferença entre os grupos em relação aos parâmetros farmacocinéticos, portanto o IMC não é a principal característica para analisar ao induzir o parto. O peso é a variável mais robusta, pois influencia na AUC do ácido misoprostólico.
5. Este é o primeiro estudo com descrição completa da farmacocinética do misoprostol para indução do trabalho de parto, utilizando doses de 25 µg do medicamento em parturientes obesas e não obesas.
6. Em relação ao genótipo, não houve associação entre o genótipo MDR1 (ABCB1) e a expressão de P-gp.
7. A obesidade influenciou a taxa de falha de indução, quanto maior o IMC, maior a taxa de falha de indução, maior o tempo de internação, maior o número de comprimidos utilizados

ABDEL-ALEEM, H. et al. The pharmacokinetics of the prostaglandin E1 analogue misoprostol in plasma and colostrum after postpartum oral administration. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, Amsterdam, v. 108, p. 25–28, 2003.

ACOG. American College of Obstetricians and Gynecologists. Induction of Labor. ACOG Committee Opinion no 10. Washington, DC: ACOG, 1999.

ALFIREVIC, Z.; WEEKS, A. Oral misoprostol for induction of labour. *The Cochrane Database Systematic Reviews*, Oxford, v. 2, CD001338, 2006.

ALLEN, R.; O'BRIEN, B. M. Uses of misoprostol in obstetrics and gynecology. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, New York, v. 2, n.3, p. 159-168, 2009.

ANDERSON, G. D. Pregnancy-Induced Changes in Pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, New York, v.44, n.10, p.989-1008, 2005.

ANVISA – Agência Brasileira 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*, 22 de maio de 2012, seção 1, p. 93.

ARONSSON, A. et al. Pharmacokinetic profiles up to 12 h after administration of vaginal, sublingual and slow-release oral misoprostol. *Human reproduction*, v. 22, n. 7, p. 1912-1918, 2007.

AUBERT, J.; BEJAN-ANGOULVANT, T.; JONVILLE-BERA, A.P. Pharmacologie du misoprostol (données pharmacocinétiques, tolerance et effets tératogènes). *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, Paris, v. 43, p. 114-122, 2014.

BALAYSSAC, D. et al. Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions? *Toxicology Letters*, Amsterdam, v. 156, n. 3, p. 319-329, 2005.

BARAU, G. et al. Linear association between maternal pre-pregnancy body mass index and risk of caesarean section in term deliveries. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, Oxford, v.113, n. 10, p. 1173–1177, 2006.

BHARATHY, D. V. et al. Development and validation of highly sensitive method for determination of misoprostol free acid in human plasma by liquid chromatography-

electrospray ionization tandem mass spectrometry: Application to a clinical pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, Amsterdam, v. 879, n. 26, p. 2827-2833, 2011.

BISHOP, E. H. Pelvic scoring for elective induction. *Obstetrics and Gynecology*, New York, v. 24, p. 266-268, 1964.

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

CHANG, C. et al. Rapid identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors. *Drug Metabolism and Disposition: the biological fate of chemical*, Bethesda, v. 34, n. 12, p. 1976-1984, 2006.

CHANG, J.; STREITMAN, D. Physiologic adaptations to pregnancy. *Neurologic Clinics*, Philadelphia, v. 30, n. 3, p. 781-789, 2012.

CECKOVA-NOVOTNA, M.; PAVEK, P.; STAUD, F. P-glycoprotein in the placenta: Expression, localization, regulation and function. *Reproductive Toxicology*, Elmsford, v. 22, n. 3, p. 400-410, 2006.

CLAUS, B. O. et al. Augmented renal clearance is a common finding with worse clinical outcome in critically ill patients receiving antimicrobial therapy. *Journal of Critical Care*, Orlando, v. 28, n. 5, p. 695–700, 2013.

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

CREININ, M. D. et al. A randomized trial of the effect of moistening misoprostol before vaginal administration when used with methotrexate for abortion. *Contraception*, New York, v. 59, p.11-16, 1999.

DAHLMAN, I.; ARNER, P. Obesity and polymorphisms in genes regulating human adipose tissue. *International Journal of Obesity*, London, v. 31, n. 11, p. 1629-1641, 2007.

DANIELSSON, K. G. et al. Comparison between oral and vaginal administration of misoprostol on uterine contractility. *Obstetrics and Gynecology*, v. 93, n. 2, p. 275-280, 1999.

DELLA TORRE, M. et al. Betamethasone in pregnancy: influence of maternal body weight and multiple gestation on pharmacokinetics. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v. 203, n. 3, p. 254.e1-254.e12, 2010.

DRAKE, A. J.; REYNOLDS, R. M. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. *Journal of Reproduction and fertility*, Cambridge, v. 140, n. 3, p. 387-398, 2010.

DUPONT, W. D.; PLUMMER, W. D. Power and sample size calculations: A review and computer program. *Controlled Clinical Trials*, New York, v. 11, n. 2, p. 116-128, 1990.

ENGIN, A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Advances in experimental medicine and biology*, New York, n. 960, p. 1-17, 2017.

FOOTE, E. F. et al. Disposition of misoprostol and its active metabolite in patients with normal and impaired renal function. *Journal of Clinical Pharmacology*, v.35, n. 4, p. 384-389, 1995.

FRISHMAN, W. H.; ELKAYAM, U.; ARONOW, W. S. Cardiovascular drugs in pregnancy. *Cardiology Clinics*, Philadelphia, v. 30, n. 3, p. 463-491, 2012.

GABRIELSSON, J.; WEINER, D. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis: concepts & Applications*. 3 ed. Stockholm, Sweden: Apotekarsocieteten, 2000. 924 p.

GARRY, D. et al. Randomized controlled trial of vaginal misoprostol versus dinoprostone vaginal insert for labor induction. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, Boca Raton, v. 13, n. 4, p.254–259, 2003.

GEMZELL-DANIELSSON, K. et al. Comparison between oral and vaginal administration of misoprostol on uterine contractility. *Obstetrics and Gynaecology*, New York, v. 93, n. 2, p. 275–280, 1999.

GOLDBERG, A. B.; GREENBERG, M. B.; DARNEY, P. D. Misoprostol and pregnancy. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 344, p. 38–47, 2001.

GUELINCKX, I. et al. Maternal obesity: pregnancy complications, gestational weight gain and nutrition. *Obesity Reviews: an Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, Oxford, v. 9, n. 2, p. 140-150, 2008.

GUNATILAKE, R. P.; PERLOW, J. H. Obesity and pregnancy: clinical management of the obese gravida. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v.204, n.2, p. 106-119, 2011.

HANLEY, M. J.; ABERNETHY, D. R.; GREENBLATT, D. J. Effect of obesity on pharmacokinetics of drugs in humans. *Clinical Pharmacokinetics*, New York, v. 49, n.2, p. 71-87, 2010.

HITZL, M. et al. Variable expression of P-glycoprotein in the human placenta and its association with mutations of multidrug resistance 1 gene (MDR1, ABCB1). *Pharmacogenetics*, London, v. 5, n. 14, p. 309-318, 2004.

HOFMEYR, G. J.; GÜLMEZOGLU, A. M. Vaginal misoprostol for cervical ripening and induction of labour. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, Oxford, v.1, CD000941, 2003.

HOFMEYR, G. J.; GÜLMEZOGLU, A. M.; PILEGGI, C. Vaginal misoprostol for cervical ripening and induction of labour. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, Oxford, v.10, CD000941, 2010.

HRUBY, A. HU, F. The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*, New Zealand, v. 33, n. 7, p. 673-689, 2015.

HUNG, C. et al. Evaluating misoprostol content in pregnant women with hourly oral administration during labor induction by microElution solid phase extraction combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, New York, v. 1000, p. 176-180, 2015.

JANSON, B.; THURSKY, K. Dosing of antibiotics in obesity. *Current Opinion in Infectious Diseases*, London, v. 25, n. 6, p. 634–649, 2012.

KARIM, A. Antiulcer prostaglandin misoprostol: single and multiple dose pharmacokinetic profile. *Prostaglandins*, New York, v.33, p. 40-50, 1987.

KARIM, A. et al. Effects of food and antacid on oral absorption of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog. *Journal of Clinical Pharmacology*, Stamford, v. 29, n.5, p. 439-443, 1989.

KHAN, R. U.; EL-REFAEY, H. Pharmacokinetics and adverse-effect profile of rectally administered misoprostol in the third stage of labor. *Obstetrics and gynecology*, New York, v. 101, p. 968-974, 2003.

KHAN, R. U. et al. Oral, rectal, and vaginal pharmacokinetics of misoprostol. *Obstetrics and Gynecology*, New York, v. 103, p.866-870, 2004.

KIM, S. Y. et al. Trends in pre-pregnancy obesity in nine states, 1993-2003. *Obesity*, Silver Spring, v. 15, n. 4, p. 986- 993, 2007.

KOMINIAREK, M. A. et al. Consortium on Safe Labor. The maternal body mass index: a strong association with delivery route. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v. 203, N. 3, p. 264.e1–264.e7, 2010.

KUMAR, S. et al. Quantitation of misoprostol acid in human plasma at 5 pg/mL level using an ACQUITY UPLC system with a xevo TQ-S tandem quadrupole mass spectrometer. *Waters*, Bangalore, p. 1-7, 2012.

LEE, V. C. et al. A randomized comparison of pharmacokinetics of a single vaginal dose of dry misoprostol or misoprostol moistened with normal saline or with acetic acid. *Human Reproduction*, Oxford, v. 26, n. 11, p. 2981-2987, 2011.

LIN, J. H. Drug-drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Amsterdam, v. 55, p. 53-81, 2003.

LINHARES, R. S. et al. Distribuição de obesidade geral e abdominal em adultos de uma cidade no Sul do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 28, p. 438-447, 2012.

MARZOLINI, C.; PAUS, E.; BUCLIN, T.; KIM, R.B. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, St. Louis, v.75, n.1, p.13-33, 2004.

MECKSTROTH, K. R. et al. Misoprostol administered by epithelial routes: drug absorption and uterine response. *Obstetrics and gynecology*, New York, v. 108, p. 582-590, 2006.

MÉNDEZ, D. N.; GUERRA, E. A. Determinación cromatográfica de misoprostol a dosis baja em plasma neonatal y calostro materno. *Medisan*, Santiago, v. 15, n. 5, p. 580-590, 2011.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, London, v.16, n.3, p.1215, 1988.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Pesquisa de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (Vigitel). 2016.

MUZONZINI, G.; HOFMEYR, G. J. Buccal or sublingual misoprostol for cervical ripening and induction of labour. *The Cochrane Database Systematic Reviews*, Oxford, v. 4, CD004221, 2004).

OGDEN, C. L. et al. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *Journal of the American Medical Association*, Chicago, v. 311, n. 8, p. 806-814, 2014.

OZKAN, S. et al. Comparative efficacy and safety of vaginal misoprostol versus dinoprostone vaginal insert in labor induction at term: a randomized trial. *Archives of gynecology and obstetrics*. Berlin, v. 280, n. 1, p. 19-24, 2009.

PARIENTE, G. et al. Pregnancy-associated changes in pharmacokinetics: a systematic review. *Public Library of Science Medicine*, San Francisco, v. 13, n. 11, p. 1-36, 2016.

PEVZNER, L. et al. Effects of maternal obesity on duration and outcomes of prostaglandin cervical ripening and labor induction. *Obstetrics and Gynecology*, New York, v. 114, n. 6, p.1315-1321, 2009.

PHELAN, J. P. et al. Amniotic fluid index measurements during pregnancy. *The Journal of Reproductive Medicine*, Chicago, v. 32, n. 8, p. 601-604, 1987.

R Development Core Team. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

RANE, S. M. et al. The value of ultrasound in the prediction of successful induction of labor. *Ultrasound Obstetrics and Gynecology*, Carnforth, v, 25, n. 5, p. 538-549, 2004.

RYAN, D. Obesity in women: a life cycle of medical risk. *International Journal of Obesity*, London, v. 31, p. S3-S7, 2007.

SCHAFF, E. A.; DICENZO, R.; FIELDING, S. L. Comparison of misoprostol plasma concentrations following buccal and sublingual administration. *Contraception*, New York, v. 71, p. 22-25, 2005.

SCHOENHARD, G.; OPPERMAN, J.; KOHN, F. E. Metabolism and pharmacokinetic studies of misoprostol. *Digestive Diseases and Sciences*, New York, v. 30, p. S126-S128, 1985.

Searle. Cytotec (misoprostol) (information package). Chicago: GD Searle & Co; 1995.

SENIOR, J. et al. *In vitro* characterization of prostanoid receptors on human myometrium at term pregnancy. *British Journal of Pharmacology*, London, v.108, n. 2, p.501–506, 1993.

SIMÕES, S. S.; AJENJO, A. C.; DIAS, M. J. Validated method for the determination of misoprostol acid in whole blood by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Oxford, v. 71, p. 198-201, 2012.

SINGH, K. et al. Does an acidic medium enhance the efficacy of vaginal misoprostol for pre-abortion cervical priming? *Human Reproduction*, Oxford, v. 14, n. 6, p.1635-1637, 1999.

ST-PIERRE, M. V. et al. Expression of members of the multidrug resistance protein family in human term placenta. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, Bethesda, v. 279, n. 4, p. R1495-R1503, 2000.

SYME, M. R.; PAXTON, J. W.; KEELAN, J. A. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clinical Pharmacokinetics*, New York, v. 43, n. 8, p. 487–514, 2004.

TAN, T-C. et al. A randomized controlled trial of low-dose misoprostol and dinoprostone vaginal pessaries for cervical priming. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, Oxford, v. 117, n. 10, p. 1270-1277, 2010.

TANABE, M. et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetics polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Baltimore, v. 297, n. 3, p. 1137-1143, 2001.

TANG, O. S. et al. Pharmacokinetics of different routes of administration of misoprostol. *Human Reproduction*, Oxford, v.17, n. 2, p. 332-336, 2002.

TANG, O. S.; HO, P. C. The pharmacokinetics and different regimens of misoprostol in early first trimester medical abortion. *Contraception*, New York, v.74, p. 26-30, 2006.

TANG, O. S.; GEMZELL-DANIELSSON, K.; HO, P. C. Misoprostol: Pharmacokinetic profiles, effects on the uterus and side-effects. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, New York, v. 99, p. S160-S167, 2007.

THOMAS, A. E., MCKAY, D. A., CUTLIP, M. B. A nomograph method for assessing body weight. *The American journal of clinical nutrition*, Bethesda, v. 29, n. 3, p. 302-304, 1976.

UDY, A. A.; ROBERTS, J. A.; LIPMAN, J. Clinical implications of antibiotic pharmacokinetic principles in the critically ill. *Intensive Care Medicine*, Berlin, v. 39, n. 12, p. 2070–2082, 2013.

USHIGOME, F. et al. Human placental transport of vinblastine, vincristine, digoxin and progesterone: contribution of P-glycoprotein. *European Journal of Pharmacology*, Amsterdam, v. 408, p. 1-10, 2000.

VÄHÄKANGAS, K.; MYLLYNEN, P. Drugs transporters in the blood-placental barrier. *British Journal of Pharmacology*, London, n. 158, n. 3, p. 665-678, 2009.

VAHRATIAN, A. et al. Maternal prepregnancy overweight and obesity and pattern of labor progression in term nulliparous women. *Obstetrics and Gynecology*, New York, v.104, n. 5 Pt1, p.943-951, 2004.

VOGEL, D. et al. Misoprostol versus methylergometrine: pharmacokinetics in human milk. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v. 191, n. 6, p.2168–2173, 2004.

WANG, J. S. et al. The emerging importance of transporter proteins in the psychopharmacological treatment of the pregnant patient. *Drug Metabolism Reviews*, London,, v. 39, n. 4, p. 723-746, 2007.

WATKINSON, G.; HOPKINS, A.; AKBAR, F. A. The therapeutic efficacy of misoprostol in peptic ulcer disease. *Postgraduate Medical Journal*, London, v. 64, n. 1, p. 60-77, 1988.

WEISS, J. L. et al. Obesity, obstetric complications and cesarean delivery rate: a population-based screening study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v. 190, n. 4, p. 1091-1097, 2004.

WHO - World Health Organization. Model List of Essential Medicines, 17th ed.; 2011.

WHO - World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. Geneva: World Health Organization; 2016.

WOLFE, K. B.; ROSSI, R. A.; WARSHK, C. R. The effect of maternal obesity on the rate of failed induction of labor. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, St. Louis, v. 205, n. 2, p. 128.e1-128.e7, 2011.

WUNTAKAL, R.; HOLLINGWORTH, T. The implications of obesity on pregnancy. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*, Kidlington, v. 19, n. 12, p.344-349, 2009.

YOUNG, A. M.; ALLEN, C. E.; AUDUS, K. L. Efflux transporters of the human placenta. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Amsterdam, v. 55, p. 125-132, 2003.

ZIEMAN, M. et al. Absorption kinetics of misoprostol with oral or vaginal administration. *Obstetrics and Gynecology*, New York, v. 90, p.88-92, 1997.

ZOU, Y. et al. Determination of misoprostol acid in human plasma by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, Amsterdam, v. 852, p. 122-127, 2007.

ANEXO A – Aprovação do comitê de ética e pesquisa

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

CÓPIA

Ofício nº 1937/2015
CEP/MGV

Ribeirão Preto, 27 de maio de 2015.

PROCESSO HCRP Nº. 6645/2014

Prezados Pesquisadores,

O Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 408ª Reunião Ordinária, realizada em 25/05/2015, analisou e aprovou a emenda, bem como o projeto de pesquisa versão 4 de 16/04/2015 e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 4 de 16/04/2015, referente ao projeto **“EFEITOS DA OBESIDADE MATERNA NA FARMACOCINÉTICA DO MISOPROSTOL VAGINAL DURANTE A INDUÇÃO DO TRABALHO DE PARTO”**.

Atenciosamente,

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO – USP*****PESQUISA CIENTÍFICA*****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**NOME DA PESQUISA: “Efeitos da obesidade materna na farmacocinética do
misoprostol vaginal durante a indução do trabalho de parto.”**

NOME DA VOLUNTÁRIA / IDADE: _____/_____

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO: _____

PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Gabriela Campos de Oliveira Filgueira (FMRP-USP) – Cel.: (16) 98141-5953

RESPONSÁVEL CLÍNICO:

Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli (FMRP-USP)

OBSERVAÇÕES: Projeto Integrado entre a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto—USP e Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto—USP.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convido você a participar do estudo: “Efeitos da obesidade materna na farmacocinética do misoprostol vaginal durante a indução do trabalho de parto”.

O estudo implica em que você se submeta a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados, conforme texto a seguir:

Sabe-se que obesidade pode provocar alterações no organismo capazes de modificar o efeito de medicamentos. Faremos, portanto, uma comparação entre pacientes grávidas obesas e grávidas não obesas, ambas com indicação de indução do trabalho de parto, para verificar se há efeitos diferentes do medicamento denominado misoprostol, que é utilizado na indução do trabalho de parto.

Esta pesquisa terá duração de seis horas e para que a senhora possa participar dela, no dia da sua internação para indução do parto, você fará um ultrassom obstétrico e um ultrassom transvaginal e ao toque vaginal para avaliação do seu bebê e do colo do seu útero. Neste mesmo dia nós iremos coletar, caso concorde, três tubos de sangue de 10 mL cada um (cerca de duas colheres de sopa) da veia do seu braço para verificar se as funções do seu corpo estão normais. Será administrado, via vaginal, um comprimido de 25µg de misoprostol (Prostokos[®]). Um tubinho plástico será colocado dentro da sua veia, assim você será picada apenas uma vez. E, então serão coletadas, com seringa, amostras de 5 mL de sangue várias vezes (13 vezes) na veia do seu braço, para avaliar a quantidade do medicamento em seu organismo. No momento do seu parto, será coletada uma amostra de 5 mL do seu sangue, 10 mL do líquido amniótico e depois que seu bebê nascer, será coletada uma amostra de sangue do cordão umbilical para verificar a passagem do medicamento pela placenta. A coleta de líquido amniótico será realizada pela equipe médica, a bolsa amniótica será identificada ao se divulsionar o miométrio de forma a permitir a punção amniótica, evitando assim a contaminação do mesmo com material de origem materna. A punção será realizada após certificar-se que no sítio da punção não haverá nenhuma das partes fetais. Além deste cuidado para não lesar o feto, a punção será realizada com agulha de peridural com ponta romba (estéril), aspirando-se 10 ml de líquido amniótico com seringa. A coleta do sangue do cordão umbilical ocorrerá somente após o clampeamento (interrupção) e secção do cordão, sem oferecer risco para o bebê. Ainda, dentro da sala de parto e após o nascimento do bebê, em uma superfície sem

contaminação, serão coletadas amostras do tecido placentário e do cordão umbilical. O volume total de sangue coletado será 80 mL.

Os riscos da pesquisa são decorrentes da necessidade de punção venosa periférica, podendo causar dor, hematoma ou flebite no local de punção, portanto o procedimento que realizaremos é seguro tanto para a senhora quanto para seu bebê recém-nascido. A sua colaboração levará a benefícios como o melhor entendimento das alterações do medicamento e possibilitará, no futuro, o melhor ajuste de doses para outras gestantes. Permitirá, também, avaliar se este medicamento passa através da placenta para o seu bebê e ajudará na escolha de medicamentos de riscos mais baixos para a gestante e seus bebês.

Eu, _____, abaixo assinada, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar:

1. A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionada com a pesquisa e o tratamento a que serei submetida;
2. A liberdade de aceitar ou não participar da pesquisa, bem como retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso traga prejuízo à continuação do meu acompanhamento e tratamento no HC-FMRP-USP ou na MATER;
3. O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;
4. Os pesquisadores se comprometem a manter sigilo da sua participação e de publicar os resultados da pesquisa para a comunidade médica e científica pertinente;
5. Em caso de danos causados pela pesquisa, a senhora tem o direito de procurar os pesquisadores, que buscarão saná-los.

Declaro que em ____/____/____ concordei voluntariamente em participar como voluntária do projeto de pesquisa acima referido e que fui devidamente informada de todos os detalhes.

Assinatura da voluntária
RG ou CPF:

Doutoranda: Gabriela C. O. Filgueira
CPF: 080.172.456-29

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 201__.

APÊNDICE B – Características individuais das gestantes investigadas

Tabela i: Dados individuais das parturientes do grupo 1 (n=10).

Parturientes	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Idade (anos)	26	21	20	23	23	23	21	28	28	21
IG (sem/dias)	41s5d	41s4d	42s	41s6d	41s	41s4d	41s5d	42s	40s5d	39s4d
Paridade	G3P2A1	G1P1	G1P1	G3P1A2	G1P1	G2P2	G3P3	G4P4	G1P1	G2P2
Peso (kg)	78,2	78,8	62	79	62,4	61,2	72,6	70	58,5	67
Estatura (m)	1,63	1,63	1,55	1,64	1,56	1,60	1,65	1,65	1,48	1,56
IMC (kg/m²)	29,4	29,7	25,8	29,4	25,6	23,9	26,7	25,7	26,7	27,5
Comp. colo (cm)	2,3	2,3	1,8	2,6	3,0	2,4	1,7	1,4	2,6	3,8
Bishop	2	2	1	2	3	4	3	4	1	4
Tipo de parto	PN	PC*	PN	PC**	PC***	PN	PN	PN	PC***	PN
Dias de indução	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
Num. de cps admin.	3	2	3	6	2	1	2	3	2	1

IG – idade gestacional; sem – semanas; IMC – índice de massa corporal; cps – comprimidos; miso – misoprostol; Comp colo: comprimento do colo; GPA: Gestações/Partos/Abortos; PC: parto cesárea; PN: parto normal; num. de cps admin.: número de comprimidos administrados.* Parada de dilatação; **Falha de indução por desproporção céfalo-pélvica; ***Sofrimento fetal.

Tabela ii: Dados individuais das parturientes do grupo 2 (n=10).

Parturientes	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Idade (anos)	32	27	33	22	21	23	28	25	24	31
IG	42s	41s4d	42s2d	41s	41s6d	42s	41s1d	42s	41s5d	40s
(sem/dias)										
Paridade	G5P4	G1P1	G2P2	G2P2	G2P1A1	G4P4	G4P4	G4P3A1	G2P2	G1P1
Peso (kg)	92,5	92,5	92,7	86,1	76,4	85,2	98,7	68	83,2	78
Estatura (m)	1,66	1,75	1,68	1,59	1,50	1,61	1,70	1,50	1,63	1,60
IMC (kg/m²)	33,5	30,2	32,8	34	34,0	32,9	34,2	30,2	31,5	30,5
Comp. colo	2,6	2,5	3,2	2,2	2,1	1,2	2,8	2,2	3,9	3,3
(cm)										
Bishop	2	3	2	2	2	3	2	4	2	1
Tipo de parto	PN	PN	PC*	PN	PC**	PN	PN	PN	PN	PC***
Dias de indução	1	1	2	2	2	1	1	1	1	2
Num. de cps admin.	3	2	3	5	3	1	1	2	2	6

IG – idade gestacional; IMC – índice de massa corporal; cps – comprimidos; miso – misoprostol; Comp colo: comprimento do colo; GPA: Gestações/Partos/Abortos; PC: parto cesárea; PN: parto normal; num. de cps admin.: número de comprimidos administrados.*Sofrimento fetal; **Parada da dilatação; *** Falha de indução

Tabela iii: Dados individuais das parturientes do grupo 3 (n=10).

Parturientes	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Idade (anos)	21	19	24	24	30	23	23	25	30	23
IG (semanas/dias)	41s6d	42s	42s	39s3d	41s1d	39s1d	40s6d	40s1d	40s	39s 2d
Paridade	G1P1	G1P1	G3P3	G1P1	G2P1A1	G1P1	G2P2	G1P1	G2P2	G1P1
Peso (kg)	87,2	97,7	90	98,2	93,2	96,2	99,8	103	96,5	105,2
Estatura (m)	1,55	1,66	1,60	1,57	1,59	1,60	1,67	1,68	1,56	1,71
IMC (kg/m²)	36,3	35,5	35,2	39,8	36,8	37,6	35,8	36,5	39,6	36
Comp. colo (cm)	3,4	0,97	2,9	2,71	4	3,7	3,1	1,5	3,9	3,7
Bishop	0	3	2	2	0	2	3	4	0	1
Tipo de parto	PC*	PN	PN	PN	PC*	PC*	PN	PN	PN	PC**
Dias de indução	1	2	2	2	1	2	1	1	2	3***
Num. de cps admin.	3	3	3	2	2	2	2	1	3#	7

IG – idade gestacional; IMC – índice de massa corporal; cps – comprimidos; miso – misoprostol; Comp colo: comprimento do colo; GPA: Gestações/Partos/Abortos; PC: parto cesárea; PN: parto normal; num. de cps admin.: número de comprimidos administrados. * Sofrimento fetal; ** Falha de indução; ***3º dia de indução com ocitocina; #Taquissitolia após segundo comprimido de misoprostol no primeiro dia de indução, iniciou indução no segundo dia e manteve 4 contrações.

Tabela iv: Dados individuais das parturientes do grupo 4 (n=10).

Parturientes	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Idade (anos)	25	27	27	37	20	26	19	29	28	30
IG (semanas/dias)	39s1d	42s	40s	40s2d	40s	39s	39s	41s	41s	40s
					4d	2d		3d	5d	6d
Paridade	G1P1	G2P1A0	G1P1	G3P3	G1P1	G4P4	G1P1	G2P2	G2P2	G1P1
Peso (kg)	133,5	128	121,1	95,9	113,6	118	117,7	120,6	137,8	122,5
Estatutura (m)	1,61	1,65	1,65	1,54	1,65	1,56	1,63	1,59	1,75	1,73
IMC (kg/m²)	51,5	47	44,5	40,4	41,7	48,5	44,3	47,7	45	40,9
Comp. colo (cm)	2,9	2,9	3,5	2,9	3,5	1,9	3,3	3,8	2,4	2,25
Bishop	1	3	2	3	1	3	0	2	3	1
Tipo de parto	PN*	PC*	PC*	PN	PC*	PN*	PN*	PN*	PN	PN
Dias de indução	3**	2	3**	1	3**	3**	3**	3**	2	1
Num. de cps admin.	7	4	7	2	6	5	5	6	4	2

IG – idade gestacional; IMC – índice de massa corporal; cps – comprimidos; miso – misoprostol; Comp colo: comprimento do colo; PG- Paciente/Grupo; GP: Gestações/Partos; PC: parto cesárea; PN: parto normal; num. de cps admin.: número de comprimidos administrados.* Falha de indução; **3º dia de indução com ocitocina.

APÊNDICE C – Parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados para a avaliação da normalidade dos sistemas/órgãos hematológico, renal, hepático e endócrino.

Tabela v: Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 1.

Parâmetros	Valor Normal Unidade	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Ureia	10-50 mg/dL	18	14	10	21	9	15	11	18	18	17
Creatinina	0,7-1,5 mg/dL	0,64	0,65	0,54	0,53	0,58	0,61	0,49	0,54	0,53	0,55
TGO	Até 32 U/L	30	20	15	16,2	14,8	22	17	20,3	15	22
TGP	Até 31 U/L	29,1	9	9	15,5	7	10	11	10,3	12	11
Bb total	0,2-1,2 mg/dL	0,27	0,34	0,42	0,36	0,23	0,49	0,49	0,19	0,40	0,34
Bb direta	0,0-0,3 mg/dL	0,06	0,09	0,09	0,08	0,06	0,08	0,14	0,06	0,09	0,11
Proteínas totais	6,4-8,2 g/dL	6,6	7,2	5,6	6,1	6,6	7,4	6,0	6,2	6,5	6,4
Albumina	3,5-5,0 g/dL	3,4	3,5	3,5	3,5	3,9	3,7	3,5	3,4	3,6	3,8
α1 glicopt.ácida	50-120 mg/dL	101,9	85	56	67,3	92,6	54	69	68,7	58	46
γ GT	5-85 U/L	33	17	8	12	13	13	26	12	16	26
Fosfatase alcalina	50-136 U/L	451	419	359	270	449	429	370	348	336	218
Hemoglobina	12-16 g/dL	12,6	12,8	11,1	12,6	11,2	13,1	12,1	10,1	14	10,9
Hematócrito	37-47 %	39	38	33	36	33	38	38	32	41	33
Plaquetas	150-450 10 ³ /μL	143	220	139	286	200	246	204	199	151	150
Glicemia	70-100 mg/dL	70	72	70	71	77	72	70	80	72	70
Hb glicada	<6,3 %	5,2	5,3	5,3	5,3	5,8	5,6	5,5	5,7	4,7	4,7
Colesterol total	<200 mg/dL	214	279	220	221	265	275	173	194	302	233
LDL	100-129 mg/dL	127	150	130	120	165	179	98	80	170	127
HDL	>50 mg/dL	43	63	59	61	63	62	56	68,5	72	77
Triglicérides	<150 mg/dL	218	332	153	202	183	171	97	228	299	144

TGO: Aspartatoaminotransferase; TGP: Alaninoaminotransferase; Bb: bilirrubina; glicopt: glicoproteína; γ GT –gamaglutamiltransferase; Hb: hemoglobina; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

Tabela vi: Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 2.

Parâmetros	Valor Normal	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Unidade											
Ureia	10-50 mg/dL	19	15	20	16	26	23	13	20	14	24
Creatinina	0,7-1,5 mg/dL	0,74	0,69	0,73	0,52	0,74	0,66	0,86	0,70	0,61	0,72
TGO	Até 32 U/L	17,5	26	19	20	22,7	18	15	24	11	18
TGP	Até 31 U/L	10,3	20	7	17	7,8	10	7	14	8	9
Bb total	0,2-1,2 mg/dL	0,44	0,31	0,31	0,23	0,51	0,29	0,20	0,58	0,38	0,31
Bb direta	0,0-0,3 mg/dL	0,12	0,08	0,07	0,07	0,15	0,07	0,05	0,10	0,08	0,09
Proteínas totais	6,4-8,2 g/dL	6,2	6,4	6,6	6,4	6,2	6,6	6,8	6,4	6,5	6,7
Albumina	3,5-5,0 g/dL	3,6	3,6	3,4	3,6	3,8	3,4	3,4	3,5	3,5	3,7
α1 glicopt.ácida	50-120 mg/dL	76,5	48	68	65	42,6	94	105	53	64	55
γ GT	5-85 U/L	50	47	8	39	29	24	16	13	13	20
Fosfatase alcalina	50-136 U/L	384	475	255	348	501	330	342	409	287	299
Hemoglobina	12-16 g/dL	11,5	12,2	11,7	13,7	13,9	12,9	11,7	12,1	12	12,7
Hematócrito	37-47 %	33	38	36	43	42	38	36	36	37	38
Plaquetas	150-450 10 ³ /μL	155	142	296	244	306	327	348	117	221	243
Glicemia	70-100 mg/dL	75	72	70	70	86	70	70	80	72	79
Hb glicada	<6,3 %	5,2	5,8	5,4	5,5	5,2	5,7	5,7	4,8	5,8	6,3
Colesterol total	<200 mg/dL	276	275	237	220	216	335	196	187	174	247
LDL	100-129 mg/dL	160	164	141	100	110	210	92	100	97	129
HDL	>50 mg/dL	68	61	71	60	68	53	47	47	45	63
Triglicérides	<150 mg/dL	240	249	126	299	190	362	287	199	162	277

TGO: Aspartatoaminotransferase; TGP: Alaninoaminotransferase; Bb: bilirrubina; glicopt: glicoproteína; γ GT –gamaglutamiltransferase; Hb: hemoglobina; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

Tabela vii: Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 3.

Parâmetros	Valor Normal Unidade	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Ureia	10-50 mg/dL	22	16	13	22	14	25	16	16	8	11
Creatinina	0,7-1,5 mg/dL	0,58	0,57	0,59	0,69	0,64	0,78	0,5	0,5	0,60	0,53
TGO	Até 32 U/L	22,6	14	16	16,8	18	26	14,6	7,9	14	15,4
TGP	Até 31 U/L	21,2	8	13	15,1	11	25	16,2	6,8	10	6
Bb total	0,2-1,2 mg/dL	0,30	0,24	0,29	0,28	0,24	0,73	0,24	0,37	0,11	0,31
Bb direta	0,0-0,3 mg/dL	0,08	0,06	0,08	0,08	0,06	0,16	0,06	0,12	0,24	0,07
Proteínas totais	6,4-8,2 g/dL	5,3	6,0	6,5	6,0	6,1	6,2	6,1	6,7	6,1	5,6
Albumina	3,5-5,0 g/dL	3,1	3,5	3,4	3,3	3,5	3,6	3,4	3,6	3,7	3,3
α1 glicopt.Ácida	50-120 mg/dL	128	85	52	69,5	69	56,5	71,9	76,5	72	50,5
γ GT	5-85 U/L	30	16	13	23	16	26	14	14	8	14
Fosfatase alcalina	50-136 U/L	382	341	287	952	430	399	248	499	557	340
Hemoglobina	12-16 g/dL	12,9	12,4	11,2	13	11,6	11,7	11,8	10,9	11,1	10,6
Hematócrito	37-47 %	40	39	32	40	35	34	34	33	33	31
Plaquetas	150-450 $10^3/\mu\text{L}$	222	214	222	286	271	224	264	418	285	300
Glicemia	70-100 mg/dL	71	90	76	74	78	82	79	78	71	71
Hb glicada	<6,3 %	5,0	5,6	5,9	5,1	5,5	4,8	5,3	5,9	4,7	5,4
Colesterol total	<200 mg/dL	226	248	188	184	194	211	246	263	179	178
LDL	100-129 mg/dL	148	142	84	91	83	122	164	157	100	Ind
HDL	>50 mg/dL	50	74	55	55,8	57	38,3	48,2	50,6	46	37
Triglicérides	<150 mg/dL	142	162	247	188	271	253	169	277	167	489

TGO: Aspartatoaminotransferase; TGP: Alaninoaminotransferase; Bb: bilirrubina; glicopt: glicoproteína; γ GT –gamaglutamiltransferase; Hb: hemoglobina; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; Ind: indeterminado.

Tabela viii: Dados da avaliação laboratorial sistêmica das parturientes do grupo 4.

Parâmetros	Valor Normal Unidade	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Ureia	10-50 mg/dL	18	20	12	16	14	16	28	11	21	9
Creatinina	0,7-1,5 mg/dL	0,61	0,58	0,68	0,56	0,64	0,68	1,1	0,47	0,63	0,5
TGO	Até 32 U/L	18	13,1	12,9	10,7	14	26	17,3	11	10,9	17
TGP	Até 31 U/L	12	14	6,3	8,6	9,4	7	15	7	13,2	7
Bb total	0,2-1,2 mg/dL	0,91	0,39	0,21	0,42	0,23	0,11	0,87	0,41	0,34	0,55
Bb direta	0,0-0,3 mg/dL	0,20	0,09	0,06	0,09	0,05	0,07	0,30	0,09	0,11	0,17
Proteínas totais	6,4-8,2 g/dL	6,0	6,1	5,9	6,3	6,1	6,4	7,1	6,5	6,2	6,1
Albumina	3,5-5,0 g/dL	3,2	3,5	3,5	3,7	3,5	3,3	3,7	3,7	3,5	3,7
α1 glicopt.Ácida	50-120 mg/dL	74,5	66,5	35,7	77	37,2	76	92,4	66,4	91,6	80
γ GT	5-85 U/L	17	5	49	13	11	12	23	10	11	7
Fosfatase alcalina	50-136 U/L	295	288	280	303	323	362	617	285	346	361
Hemoglobina	12-16 g/dL	12,7	10,1	11,2	11,9	12	10,3	14,3	11,7	10,9	10,6
Hematócrito	37-47 %	38	32	34	37	37	34	44	35	35	32,2
Plaquetas	150-450 10 ³ /μL	271	309	262	223	311	286	252	430	301	418
Glicemia	70-100 mg/dL	74	66	76	74	73	84	76	75	71	78
Hb glicada	<6,3 %	5,6	5,9	5,6	5,1	5,1	6,0	4,8	4,9	6,0	6,0
Colesterol total	<200 mg/dL	286	252	187	276	169	177	174	277	219	171
LDL	100-129 mg/dL	188	167	96	145	78	87	97	185	136	77
HDL	>50 mg/dL	53	47,6	67,6	70,4	38,7	55	47,8	51,8	62,8	54
Triglicérides	<150 mg/dL	225	186	118	305	260	176	144	199	100	199

TGO: Aspartatoaminotransferase; TGP: Alaninoaminotransferase; Bb: bilirrubina; glicopt: glicoproteína; γ GT –gamaglutamilttransferase; Hb: hemoglobina; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

APÊNDICE D – Características dos recém-nascidos das gestantes investigadas**Tabela ix:** Características dos recém-nascidos das parturientes do grupo 1.

Parâmetros	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Peso (g)	3010	3820	4070	4860	3175	3615	2915	3845	2825	3320
Estatura (cm)	49	52	54	53	47,5	53	47	51,5	48	47,5
Apgar 1º/5º minutos	10/10	6/7*	9/10	9/10	8/9	8/9	9/9	9/9	8/9	8/9

*mecônio ++

Tabela x: Características dos recém-nascidos das parturientes do grupo 2.

Parâmetros	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Peso (g)	3980	3405	3330	3695	3410	3770	3970	3285	2815	3365
Estatura (cm)	51	50	51	50,5	49,5	51	52,5	51	48	49
Apgar 1º/5º minutos	9/10	9/9	8/10	8/9	9/10	8/9	9/10	8/9	7/10	9/10

Tabela xi: Características dos recém-nascidos das parturientes do grupo 3.

Parâmetros	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Peso (g)	4025	3200	4335	3625	3545	2715	3280	3755	3305	3195
Estatura (cm)	51	49	51	50	50,5	48,5	48,5	50,5	50	48
Apgar 1º/5º minutos	8/9	8/9	8/9	9/10	9/10	9/10	7/9*	9/9	9/10	8/10

*mecônio ++

Tabela xii: Características dos recém-nascidos das parturientes do grupo 4.

Parâmetros	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Peso (g)	2875	3455	3025	2830	3200	3750	3025	2850	3680	3685
Estatura (cm)	48	50	49	48	51	50	49,5	48,5	50,5	50,5
Apgar 1º/5º minutos	9/10	9/9	9/10	10/10	4/7*	8/9	9/10	9/10	8/8**	9/10

*mecônio +++++; **mecônio ++

APÊNDICE E – Curvas individuais de concentração plasmática *versus* tempo o misoprostol (ácido misoprostólico).