Claudia Moreira de Brito

**Estudo da absorção do anticoncepcional
hormonal combinado oral após o bypass
gástrico com reconstrução em Y-de-Roux**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientadora: Dra. Cintia Cercato

**São Paulo
2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Brito, Claudia Moreira de
Estudo da absorção do anticoncepcional hormonal
combinado oral após o bypass gástrico com
reconstrução em Y-de-Roux / Claudia Moreira de
Brito. -- São Paulo, 2020.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.
Orientadora: Cintia Cercato.

Descritores: 1.Anticoncepcionais orais 2.Bypass
gástrico 3.Cirurgia bariátrica 4.Farmacocinética
5.Obesidade 6.Absorção 7.Etinilestradiol
8.Levonorgestrel

USP/FM/DBD-146/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha família, por me ensinar o
verdadeiro valor do conhecimento e me
incentivar durante toda a minha formação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, Marcia e Sergio, agradeço a educação, os valores, o incentivo e a confiança.

Ao meu amor, Lucas, por sua paciência e compreensão nos momentos de ausência. Agradeço a parceria nas horas difíceis e por sempre se preocupar em me colocar para cima e me estimular a crescer.

Ao meu irmão, Sergio, à minha madrinha, Marisa, à minha avó, Alzira, aos meus tios, Yara e Alberto, agradeço o incentivo e a torcida.

À minha orientadora, Dra. Cintia Cercato, agradeço a confiança, o empenho e a presença em todos os momentos. Seus conhecimentos me inspiram a estudar e a crescer. Sou imensamente grata por ser sua aluna.

Ao Dr. Márcio Mancini e à Dra. Maria Edna de Melo, agradeço o apoio e todas as oportunidades concedidas durante a minha pós-graduação.

Agradeço aos chefes por terem me acolhido gentilmente na Instituição.

Às queridas pós-graduandas do Grupo de Obesidade, agradeço a amizade, as palavras de conforto e todas as contribuições durante o período de desenvolvimento do trabalho.

Às voluntárias, agradeço a participação, confiança e doação de seu tempo.

Agradeço aos funcionários do Ambulatório de Endocrinologia, do LIM18 e do Laboratório de Hormônios do HCFMUSP, pela contribuição durante a execução do projeto.

Seria impossível concluir esta caminhada sem o apoio de todos vocês.

A todos, o meu muito obrigada!

“A vida não é sobre metas, conquistas e linhas de chegada...

É sobre quem você se torna durante a caminhada.”

Gisele Ferreira

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE QUADROS	
LISTA DE ABREVIATURAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Cirurgia bariátrica e anticoncepção	8
1.2 Cirurgia bariátrica e absorção	13
1.3 Farmacocinética do anticoncepcional oral	17
1.4 Obesidade e anticoncepção	19
1.5 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS)	25
2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	28
3 OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo primário	29
3.2 Objetivo secundário	29
4 SUJEITOS E MÉTODOS	30
4.1 Cálculo amostral	30
4.2 Casuística	30
4.3 Considerações éticas	32
4.4 Avaliação clínica e laboratorial	32
4.4.1 Variáveis antropométricas e clínicas	33
4.4.2 Variáveis laboratoriais	33
4.4.3 Etapa experimental	38
4.4.3.1 Equipamento de LC-MS/MS	39
4.4.3.2 Solventes e reagentes	40
4.4.3.3 Padrões de referência	40
4.4.3.4 Padrões de calibração e controle de qualidade	41
4.4.3.5 Condições cromatográficas	42
4.4.3.6 Condições da espectrometria de massas	42
4.4.3.7 Preparação das soluções primárias	45
4.4.3.8 Validação das corridas (intra-lote)	48
4.4.3.9 Validação das corridas (inter-lotes)	49
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
6 RESULTADOS	52
6.1 Caracterização da população do estudo: variáveis antropométricas e clínicas	53
6.2 Variáveis laboratoriais	54
6.3 Análises de subgrupos	59
6.3.1 Variáveis farmacocinéticas e tempo após a cirurgia	59
6.3.2 Variáveis farmacocinéticas e índice de massa corpórea	61
7 DISCUSSÃO	63
8 CONCLUSÃO	73
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Duas técnicas comuns de cirurgia bariátrica	4
Figura 2 - Esquema de um espectrômetro de massas	26
Figura 3 - Parâmetros farmacocinéticos	36
Figura 4 - Organograma representativo da amostra de participantes nos grupos de mulheres operadas e grupo controle	52
Figura 5 - Concentração plasmática de levonorgestrel (A) e etinilestradiol (B) em relação ao tempo em mulheres operadas e um grupo controle. A figura expressa média e desvio padrão	57
Figura 6 - Análise de correlação entre tempo após a cirurgia em dias e ASC de LNG	60
Figura 7 - Análise de correlação entre IMC e variáveis farmacocinéticas de LNG ($AUC_{0-\infty}$)	61
Figura 8 - Análise de correlação entre IMC e variáveis farmacocinéticas de LNG (AUC_{0-8} e $C_{\text{máx}}$)	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de peso pelo IMC	31
Tabela 2 - Características demográficas e antropométricas das pacientes de acordo com o grupo	53
Tabela 3 - Caracterização da evolução do peso do grupo de voluntárias no pré e pós-operatório	54
Tabela 4 - Descrição dos parâmetros farmacocinéticos do EE de acordo com o grupo ...	55
Tabela 5 - Descrição dos parâmetros farmacocinéticos do LNG de acordo com o grupo	55
Tabela 6 - Comparação entre as médias das variáveis farmacocinéticas do EE entre o grupo de mulheres operadas e não operadas	56
Tabela 7 - Comparação entre as médias das variáveis farmacocinéticas do LNG entre o grupo de mulheres operadas e não operadas	56
Tabela 8 - Concentração de EE em todos os tempos de coleta de acordo com o grupo	58
Tabela 9 - Concentração de LNG em todos os tempos de coleta de acordo com o grupo	58

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Concentrações individuais das amostras de etinilestradiol (pg/mL) do estudo piloto	35
Quadro 2 -	Concentrações individuais das amostras de levonorgestrel (pg/mL) do estudo piloto	35
Quadro 3 -	Sumário analítico do ensaio das amostras (estudo piloto)	37
Quadro 4 -	Sumário analítico do ensaio das amostras (projeto)	38
Quadro 5 -	Descrição dos equipamentos de LC-MS/MS (estudo piloto)	39
Quadro 6 -	Descrição dos equipamentos de LC-MS/MS (projeto)	40
Quadro 7 -	Condições de detecção	43
Quadro 8 -	Sumário do método bioanalítico	44
Quadro 9 -	Preparação da solução primária dos analitos para as curvas de calibração e controle de qualidade (estudo piloto)	45
Quadro 10 -	Preparação da solução primária dos padrões internos (estudo piloto)	45
Quadro 11 -	Preparação da solução primária dos analitos para as curvas de calibração e controle de qualidade (projeto)	46
Quadro 12 -	Preparação da solução primária dos padrões internos (projeto)	46
Quadro 13 -	Equações de curva para cada corrida (estudo piloto)	47
Quadro 14 -	Equações de curva para cada corrida (projeto)	47
Quadro 15 -	Análise dos controles de qualidade na corrida do estudo piloto	48
Quadro 16 -	Análise dos controles de qualidade na corrida do projeto	49
Quadro 17 -	Resultado da validação das corridas do estudo piloto	47
Quadro 18 -	Resultado da validação das corridas do projeto	50

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
AHCO	Anticoncepcional Hormonal Combinado Oral
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/P	Amostra Perdida
APCI	Ionização Química a Pressão Atmosférica
APPI	Fotoionização a Pressão Atmosférica
ASC	Área Sob a Curva
ASMBS	<i>American Society for Metabolic and Bariatric Surgery</i>
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
BGA	Banda Gástrica Ajustável
BGYR	Bypass Gástrico com Reconstrução em Y-de-Roux
BMI	Body Mass Index
CA	Circunferência Abdominal
CE	<i>Collision Energy</i>
CEP	<i>Collision Exit Potential</i>
cm	Centímetro
C_{máx}	Concentração Plasmática Máxima
C_{mín}	Concentração Plasmática Mínima
CQA	Controle de Qualidade Alto
CQB	Controle de Qualidade Baixo
CQM	Controle de Qualidade Médio
CV	Coefficiente de Variação
DIU	Dispositivo Intrauterino
EE	Etinilestradiol
ENG	Etonorgestrel
ESI	<i>Electrospray</i>
et al.	e outros
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GC-MS	Cromatografia a Gás Acoplada a Espectrometria em Massas
GLP-2	Peptídeo Glucagon-like 2
GLV	Gastrectomia Vertical Laparoscópica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HHO	Hipotálamo-Hipófise-Ovariano
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
IECA	Inibidor da Enzima de Conversão da Angiotensina

IMC	Índice De Massa Corpórea
kg	Quilograma
LC	Cromatografia Líquida
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas
LIQ	Limite Inferior de Quantificação
LNG	Levonorgestrel
LH	Hormônio Luteinizante
min	Minuto
mm	Milímetro
MRP2	Proteína Multiresistência 2
MS	Espectrometria de Massas
m/z	Razão Massa/Carga
NBSR	<i>National Bariatric Surgery Registry</i>
NET	Noretisterona
N/R	Amostra não recebida
OATP	Polieptídeos Transportadores de Ânion Orgânico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão Arterial
PEPT-1	Oligopeptídeo Transportador
PK	Farmacocinética
PO	Pós-Operatório
r	Coeficiente de Correlação
RYGB	<i>Roux-en-Y Gastric Bypass</i>
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutico
SBCBM	Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica
SHBG	Globulina Ligadora de Hormônios Sexuais
SRM	<i>Selected Reaction Monitoring</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
T	Tempo
t^{1/2}	Meia-vida
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato Gastrointestinal
T_{máx}	Tempo para Atingir a Concentração Plasmática Máxima
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
V	Voluntária
VIGITEL	Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico
WHO	<i>World Health Organization</i>

RESUMO

Brito CM. *Estudo da absorção do anticoncepcional hormonal combinado oral após o bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

INTRODUÇÃO: A cirurgia bariátrica é cada vez mais realizada em todo mundo, como consequência do aumento da obesidade. O bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux (BGRY) é uma técnica restritiva e malabsortiva que pode alterar a farmacocinética de drogas orais por conta das modificações no trato gastrointestinal. A maioria dos pacientes operados são mulheres em idade reprodutiva e, apesar da perda de peso levar ao aumento da fertilidade, as mulheres são orientadas a evitar gestações nos primeiros 12 a 18 meses após o procedimento. A literatura carece de dados sobre a segurança e eficácia do anticoncepcional hormonal combinado oral (AHCO) após a cirurgia bariátrica, que corresponde ao método contraceptivo mais popular e barato em todo o mundo. Devido à falta de evidências, os anticoncepcionais orais não são recomendados após procedimentos malabsortivos. OBJETIVOS: Avaliar a absorção do etinilestradiol (EE) e levonorgestrel (LNG) em mulheres submetidas ao BGRY, através dos principais parâmetros farmacocinéticos, comparado a um grupo controle não operado. O objetivo secundário foi avaliar se o tempo após a cirurgia e o índice de massa corpórea (IMC) no pós-operatório influenciavam os parâmetros de absorção do EE e LNG, após o BGRY. MÉTODOS: Este estudo farmacocinético foi desenhado para comparar a concentração plasmática máxima ($C_{máx}$), o tempo para atingir a concentração plasmática máxima ($T_{máx}$), a área

sob a curva (ASC_{0-8} e $ASC_{0-\infty}$) após dose única do anticoncepcional hormonal combinado oral com 0,03 mg de EE e 0,15 mg de LNG, entre 20 mulheres submetidas ao BGRY e 20 mulheres controles, pareadas por IMC e idade. Nove amostras de sangue foram coletadas 0, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 6 e 8 horas após a ingestão da pílula. As concentrações séricas de EE e LNG foram analisadas através do método validado de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS / MS). RESULTADOS: Não houve diferença significativa nos parâmetros de EE entre os dois grupos. As médias da ASC_{0-8} e $ASC_{0-\infty}$ do LNG foram significativamente maiores no grupo BGRY ($p = 0,048$ e $p = 0,004$) em relação ao grupo controle. Encontramos uma correlação positiva entre o tempo após a cirurgia e ASC_{0-8} ($r^2 = 0,24$, $p = 0,045$) e $ASC_{0-\infty}$ ($r^2 = 0,43$; $p = 0,004$) do LNG. Esse resultado reflete que quanto maior o tempo após a cirurgia, maior a exposição sistêmica ao LNG. Também encontramos uma correlação negativa entre IMC e $C_{máx}$ ($r^2 = 0,32$ $p = 0,018$), AUC_{0-8} ($r^2 = 0,44$, $p = 0,003$) e $AUC_{0-\infty}$ ($r^2 = 0,53$; $p = 0,001$) do LNG. Esse resultado reflete que quanto maior o IMC, menor a exposição sistêmica ao LNG. CONCLUSÕES: O nosso estudo revelou um aumento na exposição sistêmica do LNG após o BGRY. Não houve diferença nos parâmetros farmacocinéticos do EE. Observamos uma correlação positiva entre o tempo após a cirurgia e a exposição sistêmica do LNG. Esse resultado reforça a hipótese de que pode ocorrer adaptação intestinal ao longo do tempo. Nosso estudo reforça que o IMC interfere nos parâmetros farmacocinéticos do LNG.

Descritores: Anticoncepcionais orais; Bypass gástrico; Cirurgia bariátrica; Farmacocinética; Obesidade; Absorção; Etinilestradiol; Levonorgestrel

ABSTRACT

Brito CM. *Study of absorption of combined oral contraceptives after Roux-en-Y gastric bypass* [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

BACKGROUND: Bariatric surgery is increasingly performed all over the world. Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is a restrictive and malabsorptive technique which may alter the pharmacokinetics of oral drugs due to gastrointestinal changes. Most patients undergoing RYGB are women in reproductive age and, although weight loss leads to increased fertility, women are advised not to become pregnant from 12 to 18 months after surgery, according to the guidelines. In addition, women in reproductive age who do not want to become pregnant should be instructed to use a safe and effective contraceptive method during this period. The medical literature lacks data on the safety and efficacy of combined oral contraceptives (COC) after bariatric surgery, which is the most popular and less expensive method in the world. Owing to lack of evidence, the oral methods are not recommended after malabsorptive procedures. **OBJECTIVES:** The primary objective of this study was to evaluate ethinylestradiol (EE) and levonorgestrel (LNG) absorption in women undergoing RYGB, using the main pharmacokinetic parameters compared to non-operated body mass index (BMI) matched controls. A secondary objective was to assess whether the time since surgery and the BMI in the postoperative period influenced the EE and LNG absorption parameters. **METHODS:** This pharmacokinetic study was designed to compare the maximum plasma concentration (C_{max}), the time to the peak

plasma level ($T_{\max}$), the area under the curve (AUC_{0-8} and $AUC_{0-\infty}$) after a single dose of combined oral contraception with 0,03 mg EE and 0,15 mg LNG among 20 women after RYGB and 20 non-operated control women matched for BMI and age. Nine blood samples were collected 0, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6 and 8 hours after the ingestion of the pill. Serum concentrations of EE and LNG were measured using a validated liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS) method. RESULTS: There were no significant differences for EE parameters between the two groups. The mean LNG AUC_{0-8} and LNG $AUC_{0-\infty}$ were significantly higher in RYGB group ($p = 0,048$ and $p = 0,004$). We found a positive correlation for LNG AUC_{0-8} ($r^2 = 0.24$, $p = 0.045$) and $AUC_{0-\infty}$ ($r^2 = 0.43$; $p = 0.004$) and the time since surgery. This result reflects that LNG systemic exposure increases over time after the surgery. We also found a negative correlation for LNG $C_{\max}$ ($r^2 = 0.32$, $p = 0.018$), AUC_{0-8} ($r^2 = 0.44$, $p = 0.003$) and $AUC_{0-\infty}$ ($r^2 = 0.53$; $p = 0.001$), and BMI. This result reflects that LNG systemic exposure decreases as the BMI increases. CONCLUSIONS: Our study revealed an increase in LNG systemic exposure after RYGB. There was no difference in the pharmacokinetic parameters of EE. We observed a positive correlation between time since surgery and the systemic exposure to LNG. This result reinforces the hypothesis that intestinal adaptation may occur over time. Our study emphasizes that BMI interferes with LNG pharmacokinetic parameters.

Descriptors: Contraceptives, oral; Gastric bypass; Bariatric surgery; Pharmacokinetics; Obesity; Absorption; Ethinyl estradiol; Levonorgestrel.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica associada ao excesso de gordura corporal. É fator de risco independente para maior mortalidade e aumenta a predisposição a outros fatores de risco cardiovasculares como hipertensão arterial, intolerância à glicose e dislipidemia. A obesidade também contribui para o aparecimento de doenças relacionadas ao excesso de peso como apnéia obstrutiva do sono, esteatose hepática, osteoartrose, dentre outras.^(1, 2)

Atualmente, a obesidade é um problema crescente e se tornou uma epidemia em todo o mundo, atingindo não só os países desenvolvidos, mas também os países em desenvolvimento e a população de baixa renda. Estima-se que dois terços da população mundial apresentam sobrepeso ou obesidade e o sexo feminino representa mais da metade desse grupo.^(1, 3)

Um estudo brasileiro publicado em 2010 mostrou um aumento de 255% de obesidade mórbida no Brasil, entre 1974 e 2003, sendo maior a prevalência no sexo feminino.⁽¹⁾ Em 2018, o VIGITEL reportou que mais da metade da população brasileira apresenta excesso de peso (55,7%) e 19,8% é portadora de obesidade. O número de mulheres com obesidade ultrapassou o sexo masculino (20,7% x 18,7%, respectivamente).⁽⁴⁾

Como consequência do aumento da prevalência de obesidade, observa-se um número crescente de cirurgias bariátricas em todo mundo.⁽³⁾ Sabe-se que esse procedimento promove uma perda de peso mais expressiva e sustentada, quando comparado a mudança de estilo de vida e ao tratamento com medicamentos.⁽³⁾ Indicações para cirurgia bariátrica incluem falência do tratamento clínico com mudanças comportamentais, dieta, atividade física, suporte psicológico e

pacientes com índice de massa corpórea (IMC) acima de 40 kg/m² ou acima de 35 kg/m², associado a comorbidades relacionadas ao excesso de peso.⁽³⁾

Nos Estados Unidos, entre 1998 e 2005, houve um aumento de aproximadamente 800% na incidência de cirurgias bariátricas.⁽⁵⁾ Segundo dados da *American Society for Metabolic and Bariatric Surgery* (ASMBS), em 2017 foram realizados 228.000 procedimentos no país.⁽⁶⁾

No Brasil, de acordo com pesquisa da Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM), foram realizadas 63.969 cirurgias bariátricas em 2018, o que corresponde a um aumento de 4,38% em relação a 2017. Destas, 11.402 cirurgias foram realizadas no Sistema Único de Saúde (SUS), 49.521 foram realizadas pelos planos de saúde e 3.046 foram particulares. Segundo dados do SUS, o número de procedimentos realizados entre 2008 e 2017 aumentou 215%.⁽⁷⁾ Entre 2011 e 2018, 424.682 pacientes realizaram cirurgias bariátricas no Brasil, refletindo um crescimento de 84,7% em 8 anos.⁽⁸⁾

As cirurgias bariátricas podem ser classificadas em procedimentos restritivos, malabsortivos ou mistos. Os procedimentos restritivos aprovados incluem a banda gástrica ajustável e a gastrectomia vertical.⁽⁵⁾

A banda gástrica ajustável (BGA) consiste na colocação de uma banda de silicone ao redor da cárdia, parte proximal do estômago, por técnica de cirurgia videolaparoscópica. O ajuste da banda é realizado por meio da infusão de solução salina, através de um portal localizado no subcutâneo. A banda comprime a parede do estômago, para formar um pequeno reservatório gástrico, e diminui o diâmetro interno para a passagem de alimentos.^(2, 5)

A gastrectomia vertical laparoscópica (GVL), consiste na confecção de um tubo vertical por meio da remoção da porção lateral do estômago, desde 3 a 4 cm

do piloro até o ângulo de His.^(2, 5) No Brasil, é a segunda técnica mais realizada, seguindo o bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux.⁽²⁾

Os procedimentos malabsortivos aprovados em nosso meio incluem a derivação biliopancreática à Scopinaro e duodenal *switch*. A derivação biliopancreática, ou cirurgia de Scopinaro, consiste em uma gastrectomia parcial distal para a formação de um coto gástrico de aproximadamente 250 ml, que é anastomosado a 200-250 cm da válvula ileocecal. Em geral, a alça comum tem 50 cm de comprimento. O duodenal *switch* consiste na realização de uma gastrectomia vertical e anastomose do bulbo duodenal proximal ao íleo terminal, a 250 cm da válvula ileocecal. Nessa técnica, a alça comum tem aproximadamente 100 cm.^(2, 5)

O bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux (BGRY), ou derivação gastrojejunal em Y-de-Roux, é uma técnica mista, que envolve o componente restritivo e disabsortivo. É realizada a confecção de um pequeno estômago de 20-30 ml ao longo da pequena curvatura (restrição) e uma gastrojejunostomia que, por meio de uma reconstrução intestinal em Y-de-Roux, conecta a pequena bolsa gástrica ao jejuno para formar o componente malabsortivo. A porção remanescente do jejuno proximal é reconectada, via anastomose jejuno-jejunal, para permitir que sais biliares e enzimas pancreáticas entrem em contato com alimentos e drogas ingeridos. (Figura 1) ^(2, 3, 5, 9)

Dentre as técnicas descritas acima, o BGRY ainda é o procedimento mais utilizado no Brasil e em grande parte do mundo, correspondendo a 55% dos procedimentos realizados no Reino Unido.⁽¹⁰⁾ Nos Estados Unidos, o BGRY é a segunda técnica mais realizada, desde 2013, quando a GVL passou a ser a primeira.⁽⁶⁾

Figura 1 - Duas técnicas comuns de cirurgia bariátrica. (A) O bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux consiste em criar uma pequena bolsa gástrica abaixo do esôfago (25-50 ml em humanos) que é conectada diretamente à porção média do jejuno, desviando o resto do estômago, o píloro e a porção superior do intestino delgado (duodeno e jejuno proximal), com anastomose distal. A cirurgia cria três segmentos intestinais anatomicamente distintos: uma alça (ou alça de Roux), que recebe apenas alimentos não digeridos (*setas vermelhas*); uma alça biliopancreática, que drena secreções gástricas, bile e enzimas pancreáticas (*setas azuis*); e uma alça comum que conecta as duas alças mencionadas. Esta cirurgia é muito eficiente, com uma perda de peso importante e sustentada acompanhada de uma redução das comorbidades associadas à obesidade, como hipertensão, hiperlipidemia e diabetes tipo 2 na maioria dos pacientes. (B) A gastrectomia vertical em manga envolve uma ressecção longitudinal do estômago, começando no antro e terminando no fundo próximo à cárdia; o volume restante do compartimento gástrico é de cerca de 150 ml em humanos. Esta cirurgia provou ser um procedimento eficaz a médio prazo, com uma importante perda de peso acompanhada de uma redução nas comorbidades associadas à obesidade, como hipertensão, hiperlipidemia e diabetes tipo 2 em muitos pacientes⁽¹¹⁾

A maioria dos pacientes submetidos ao BGRY são mulheres em idade reprodutiva (18-45 anos).⁽⁵⁾ Dados do *UK National Bariatric Surgery Registry* (NBSR) de 2010, revelam que 80% das cirurgias bariátricas foram realizadas em mulheres, a maioria em idade fértil.⁽¹⁰⁾

Um estudo realizado no Brasil, em 2013, mostrou que 78% dos pacientes que realizaram cirurgia bariátrica eram do sexo feminino e apresentavam idade média de 37 anos.⁽¹²⁾

Aperda de peso após a cirurgia bariátrica melhora a fertilidade, a sexualidade, regulariza o ciclo menstrual e contribui para a redução de complicações gestacionais.^(3, 5, 13, 14) Estudos mostram que a melhora da fertilidade é um dos motivos pelo qual muitas mulheres que apresentam obesidade mórbida optam por realizar o tratamento cirúrgico.^(15, 16)

Apesar de todos os benefícios observados na saúde reprodutiva após a cirurgia bariátrica, existe a possibilidade de inadequação contraceptiva com o uso de anticoncepcionais orais após procedimentos em que existe má absorção.⁽³⁾ A literatura é carente de dados de segurança e eficácia dos contraceptivos orais em pacientes submetidas a cirurgia bariátrica e acredita-se que as alterações no trato gastrointestinal podem comprometer a absorção dessas drogas.⁽¹⁷⁾

Segundo as recomendações do *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG), após a realização da cirurgia bariátrica, a gestação deve ser evitada por 12 a 18 meses, que corresponde ao período em que ocorre a maior perda de peso e as complicações do procedimento, o que pode aumentar o risco de eventos adversos na gestação.^(5, 13) Dessa forma, torna-se imperativo que as mulheres em idade reprodutiva façam uso de métodos

anticonceptivos comprovadamente eficazes, dado o maior risco de uma gestação não planejada.^(5, 13)

Apesar da recomendação de que a gestação deva ser evitada nos primeiros 12 a 18 meses do pós-operatório, existe uma preocupação em relação à prestação de serviço de aconselhamento anticonceptivo para essas mulheres no perioperatório da cirurgia bariátrica. Um número grande de paciente não é referido a ginecologistas e muitos cirurgiões ainda não fornecem, de forma adequada, orientações em relação a anticoncepção.^(16, 18, 19)

Os anticoncepcionais hormonais combinados orais (AHCO) constituem um dos métodos de anticoncepção mais populares e eficazes e são os mais comumente utilizados desde a sua introdução em 1960, desempenhando um papel importante no planejamento familiar.^(20, 21) Apesar de existirem vários métodos anticonceptivos, os anticoncepcionais orais combinados são os preferidos nos Estados Unidos e na Europa como método reversível para o planejamento familiar.⁽²²⁾

O principal efeito dos anticoncepcionais orais é a inibição do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano (HHO), através de feedback negativo. A supressão da ovulação, a alteração no endométrio, na motilidade tubária, o espessamento do muco cervical, ocorrem principalmente pelo componente progestagênico, através da supressão do hormônio luteinizante (LH), e este efeito é dose dependente.⁽²³⁾ Uma supressão adicional da ovulação é proporcionada pelo componente estrogênico, que inibe o hormônio folículo estimulante (FSH), impedindo assim a formação de folículo dominante.⁽²³⁾

Alterações na farmacocinética da pílula podem levar a uma inadequada supressão do eixo HHO, permitindo o desenvolvimento folicular e a

ovulação. Alguns estudos epidemiológicos apontam que o risco de falha dos anticoncepcionais orais pode aumentar linearmente com o aumento do IMC e inclusive mulheres com sobrepeso (IMC 25-29,9 kg/m²) apresentam esse risco.⁽²³⁾

A cirurgia bariátrica pode afetar de forma significativa não só a anatomia do trato gastrointestinal (TGI) mas também a fisiologia da absorção das drogas.⁽²⁴⁾ Quase todas as medicações orais são absorvidas no intestino delgado. Assim, após a cirurgia bariátrica, é provável que ocorram modificações na sua absorção, principalmente em procedimentos que envolvam derivações intestinais.⁽²⁵⁾ Até o momento, existem poucos dados na literatura sobre as alterações farmacocinéticas das drogas após esse procedimento.⁽²⁶⁾

As modificações no TGI podem alterar a farmacocinética das drogas orais por interferirem na sua desintegração, dissolução, solubilidade, alteração no pH, no esvaziamento gástrico, na exposição à mucosa e absorção ao longo da mucosa intestinal.^(9, 17, 25) Dessa forma, cada droga deve ser avaliada de acordo com o seu processo de absorção, que inclui o sítio de absorção e a necessidade de enzimas e transportadores.⁽²⁶⁾

Uma revisão sobre o uso de drogas orais após a cirurgia bariátrica, publicada em 2016, recomenda que, pela ausência de resultados de eficácia e devido a potenciais alterações na farmacocinética da droga, os anticoncepcionais orais devam ser substituídos por métodos anticonceptivos não orais após a realização do BGRY e da derivação biliopancreática.⁽²⁷⁾

É importante ressaltar que a maioria dos estudos de farmacocinética são realizados em pacientes com trato gastrointestinal íntegro e que as mudanças ocasionadas pela cirurgia bariátrica podem afetar de maneira significativa a sua eficácia.

No entanto, até o momento da realização do projeto, não havia nenhum estudo de farmacocinética de anticoncepcionais hormonais combinados orais em uma população de pacientes submetidas ao BGRY, principal técnica realizada em nosso meio. Dessa forma, todas as diretrizes atuais não recomendam o uso de anticoncepcionais orais devido à falta de evidências de eficácia e por acreditarem que exista uma possível redução da sua absorção após procedimentos malabsortivos.

1.1 Cirurgia bariátrica e anticoncepção

A eficácia e segurança dos métodos anticoncepcionais, após a cirurgia bariátrica, estão limitadas a poucos estudos de farmacocinética e observacionais. Estudos de farmacocinética relatam resultados conflitantes sobre a eficácia de anticoncepcionais orais em mulheres que realizaram bypass jejunoileal, procedimento em desuso atualmente.⁽⁵⁾ Os métodos orais também parecem não ser confiáveis após a derivação biliopancreática e devem ser evitados.⁽²⁸⁾

Pela ausência de evidências, o Consenso Americano de 2010 para o uso de métodos contraceptivos não recomenda o uso de anticoncepcionais orais após a cirurgia bariátrica com componente de má absorção, uma vez que os riscos comprovados ou teóricos de não eficácia do método superam os seus benefícios. Todavia, indica que os outros métodos anticoncepcionais não orais não apresentam restrição para o uso após procedimentos restritivos e disabsortivos.⁽²⁹⁾

Segundo as Diretrizes de Prática Clínica para o Paciente Bariátrico de 2013, elaboradas pelas sociedades *American Association of Clinical*

Endocrinologists, The Obesity Society e American Society for Metabolic and Bariatric Surgery, todas as mulheres em idade reprodutiva devem receber aconselhamento contraceptivo após a cirurgia bariátrica.⁽³⁰⁾ Pacientes que realizaram BGRY ou procedimentos de má absorção devem ser orientadas a fazer uso de anticoncepcionais não orais. Dessa forma, não é recomendado o uso de pílulas combinadas, de pílulas compostas apenas por progestagênios e de pílulas para anticoncepção de emergência.^(30, 27, 31, 32) Isso acontece por incertezas a respeito da absorção de anticoncepcionais orais devido às possíveis modificações da farmacocinética, induzidas pelo procedimento cirúrgico.

As diretrizes para o uso de métodos contraceptivos também recomendam que o dispositivo intrauterino (DIU) seja oferecido como método de primeira linha para pacientes que realizaram cirurgia bariátrica, dado o risco teórico de redução da absorção de anticoncepcionais orais. O DIU é uma opção para anticoncepção de longo prazo, reversível, e que não sofre interferência do peso corporal ou de má absorção.^(29, 33)

Um estudo de coorte prospectivo que avaliou por sete anos mulheres operadas, em idade fértil, através de questionários anuais sobre a saúde reprodutiva, observou que 21,1% das pacientes submetidas ao BGRY usaram anticoncepcionais orais no primeiro ano do pós-operatório e metade delas usaram a pílula como único método contraceptivo. Esse estudo teve como objetivo avaliar as práticas anticonceptivas e taxas de concepção após a cirurgia bariátrica. Das 710 mulheres que foram acompanhadas, 154 relataram uma ou mais gestações no período de 6 anos e meio, totalizando 237 gestações. Observou-se que a taxa de concepção não diferiu nos três grupos avaliados:

concepção nos primeiros 18 meses do pós-operatório, concepção entre 18 e 42 meses do pós-operatório e após 42 meses da cirurgia. E, apesar das diretrizes não recomendarem que a concepção ocorra nos primeiros 12 a 18 meses do pós-operatório, 4% das participantes relataram que tentaram engravidar no primeiro ano após a cirurgia e 42% das mulheres reportaram relações sexuais não protegidas nesse primeiro ano. Conclui-se, portanto, que a taxa de gestação observada no pós-operatório precoce não reflete as recomendações dos especialistas e que mais esforços devem ser realizados para que as mulheres em idade reprodutiva recebam um adequado aconselhamento anticonceptivo antes de realizarem a cirurgia bariátrica.⁽³⁴⁾

Essa falha no aconselhamento contraceptivo também foi evidenciada por Ginstman *et al.*⁽³⁵⁾ através de um estudo que avaliou, por meio de questionários, os métodos anticonceptivos usados por mulheres antes e após a realização do BGRY e quais orientações sobre anticoncepção foram fornecidas no pré-operatório. Os questionários foram respondidos por 563 mulheres operadas. Destas, 25% relataram não terem recebido nenhuma orientação para evitar a gestação nos primeiros dois anos de pós-operatório e 14,8% não se recordavam se haviam sido orientadas. Cerca de 3% das mulheres que relataram gestação após a cirurgia afirmaram que estavam em uso de método anticonceptivo no momento da concepção, no entanto, não foi possível identificar com precisão quais métodos foram utilizados por essas pacientes e quanto tempo após a cirurgia elas apresentavam quando engravidaram. Um terço das participantes não relatou uso de métodos anticonceptivos no primeiro ano após o BGRY. Dentre os métodos utilizados, o dispositivo intrauterino foi o mais usado antes e

após a cirurgia e observou-se que o uso de anticoncepcionais orais permaneceu elevado entre as mulheres no pós-operatório.

Esses dados estão de acordo com o recente estudo publicado por Damhof *et al.*⁽³⁶⁾ (N=230) que também avaliou, através de questionários, o uso de métodos anticonceptivos no pré e pós-operatório da cirurgia bariátrica e as orientações recebidas por essas pacientes. Após a cirurgia, uma parte significativa das mulheres relatou não usar qualquer método anticonceptivo (24%) ou fazer uso de método não seguro (anticoncepcional hormonal combinado oral ou pílula de progestagênio). Apesar de ser observada uma redução no uso de métodos orais em relação ao pré-operatório, 16,1% das mulheres permaneceram com esses métodos considerados não seguros.

Diante do grande número de mulheres em idade fértil que realiza cirurgia bariátrica e que não recebem orientação adequada sobre anticoncepção ou que são orientadas apenas no pré-operatório, os autores enfatizam a necessidade de se implementar o aconselhamento contraceptivo e de reforçarem as orientações em relação a anticoncepção após a cirurgia.^(35, 36)

Até o momento da realização do projeto, não havia nenhum estudo na literatura avaliando a absorção dos anticoncepcionais hormonais combinados orais em pacientes submetidas ao BGRY.

Recentemente, um grupo avaliou os parâmetros farmacocinéticos do levonorgestrel (LNG) oral após o BGRY em mulheres que atingiram IMC inferior a 30 kg/m². Não foram encontradas diferenças significativas em relação ao grupo controle, pareado pelo IMC, mostrando que o LNG foi bem absorvido nessa população que não apresentava mais obesidade após a cirurgia bariátrica.⁽³⁷⁾

Anteriormente, o mesmo grupo estudou a farmacocinética do desogestrel após o BGRY e não observou alterações significativas nos parâmetros analisados.⁽³⁸⁾

Ciangura *et al.*⁽³⁹⁾ publicaram uma série de três casos de mulheres com obesidade mórbida que foram submetidas ao implante subdérmico de Etonorgestrel (ENG - Implanon®) entre 1 e 2 meses antes de realizarem o BGRY. As concentrações do ENG foram avaliadas no pré-operatório e no pós-operatório de 3 e 6 meses. Observou-se uma redução nos níveis plasmáticos de ENG ao longo do tempo, após a inserção do implante, assim como ocorre em mulheres com peso normal, e as concentrações foram suficientes para inibir a ovulação nas pacientes operadas. Os autores sugerem que o implante de ENG pode representar um método anticonceptivo seguro em mulheres submetidas ao BGRY mas, diante da variabilidade encontrada nas concentrações do ENG, mais estudos são necessários para se confirmar quando o implante deve ser trocado nessa população de mulheres obesas submetidas à cirurgia.

Victor *et al.*⁽⁴⁰⁾ avaliaram a farmacocinética da Noretisterona (NET) 3 mg e do Levonorgestrel 0,25 mg em sete mulheres, após o bypass jejunoileal e observaram concentrações mais baixas dos hormônios em vários tempos após a ingestão do comprimido. O bypass jejunoileal é um procedimento puramente má abortivo e está em desuso nos dias atuais devido a complicações decorrentes da má absorção de gorduras, sais biliares e da ocorrência de diarreia intratável.⁽²⁴⁾

Um estudo prospectivo avaliou a fertilidade e a história obstétrica de 40 mulheres submetidas à derivação biliopancreática, por meio de questionários, durante pelo menos dois anos após a cirurgia. De 9 pacientes que reportaram uso de anticoncepcional oral como método único para contracepção, 2 pacientes

relataram a ocorrência de gestação não planejada no pós-operatório (aos 9 e 24 meses após a cirurgia).⁽²⁸⁾

Devido à falta de evidências, *The WHO Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use* classifica a cirurgia bariátrica com componente malabsortivo, como uma condição na qual os possíveis riscos de falha do uso de pílulas hormonais combinadas e pílulas compostas apenas por progestagênios superam os benefícios desses métodos. Por outro lado, os outros métodos anticoncepcionais não apresentariam restrição de uso após esse procedimento.⁽⁴¹⁾

1.2 Cirurgia bariátrica e absorção

Até o momento, existe um número limitado de estudos avaliando a absorção de drogas após a cirurgia bariátrica e os resultados são conflitantes. Dessa forma, não é possível prever a influência que a cirurgia irá exercer na absorção de determinada droga.^(17, 38, 42-45)

Após a cirurgia bariátrica, drogas que apresentam longa fase de absorção e que requerem grande exposição à mucosa intestinal, podem ter a sua biodisponibilidade reduzida. As substâncias que são absorvidas rapidamente e primariamente pelo estômago também podem apresentar diminuição da sua absorção após procedimentos com componente restritivo e de má absorção.⁽²⁴⁾ As drogas que requerem meio ácido para o seu processo de absorção e as que necessitam de transportadores intestinais localizados na parede do duodeno devem ser as mais afetadas.⁽⁹⁾

As substâncias administradas por via oral apresentam dissolução gástrica antes de atravessarem a parede do intestino para atingirem a circulação portal.

Apenas drogas não ionizadas conseguem atravessar as membranas celulares por difusão passiva.⁽⁹⁾ As drogas ionizadas dependem das proteínas transportadoras localizadas nas membranas das superfícies apical ou basolateral dos enterócitos, para o seu influxo ou efluxo celular.⁽⁹⁾

Esses transportadores não estão localizados de forma homogênea, ao longo da mucosa intestinal. Assim, drogas que necessitam de proteínas transportadoras que estão mais localizadas no duodeno e jejuno proximal, devem apresentar absorção mais reduzida em pacientes submetidos ao BGRY. Por outro lado, a absorção de drogas que dependem de transportadores localizados no jejuno distal e íleo, deve ser menos afetada.⁽⁹⁾

O PEPT-1 (oligopeptídeo transportador) é um transportador de influxo, localizado na borda em escova da membrana apical do enterócito, que é encontrado mais frequentemente no duodeno e jejuno.⁽⁹⁾ Está envolvido no processo de absorção de dipeptídeos, tripeptídeos e de drogas peptidomiméticas, exercendo papel importante na absorção de alguns antibióticos, como betalactâmicos, e de drogas inibidoras da enzima de conversão da angiotensina (IECA). Drogas que dependem do PEPT-1 devem apresentar prejuízo na sua absorção após o BGRY.⁽⁹⁾

Os OATPs (polieptídeos transportadores de ânion orgânico) são importantes para a absorção de drogas aniônicas.⁽⁹⁾ O OATP1A2 e OATP2B1 estão localizados na superfície apical dos enterócitos, especialmente no jejuno. Como apenas parte do jejuno é desviada do trânsito no BGRY, não se sabe se as drogas que dependem desse transportador terão a absorção prejudicada.⁽⁹⁾

A glicoproteína-P é um transportador de efluxo localizado na membrana apical do enterócito, que contribui para o retorno de drogas do enterócito para o

lúmen intestinal. Isso permite que a droga seja novamente absorvida em um sítio distal. Sua expressão aumenta do estômago em direção ao cólon.⁽⁹⁾

Após o BGRY, alimentos e medicamentos alcançam diretamente o jejuno, o que pode alterar de forma significativa sua absorção e biodisponibilidade.⁽⁴²⁾

Drogas metabolizadas primariamente por isoenzimas do citocromo P450 CYP3A4 podem não ter sua biodisponibilidade alterada uma vez que estas isoenzimas estão localizadas em maior concentração no jejuno.⁽⁹⁾

As técnicas cirúrgicas que envolvem o componente restritivo, banda gástrica, gastroplastia, BGRY, GVL e algumas formas de derivação biliopancreática, interferem no processo de desintegração e no esvaziamento gástrico. Isso ocorre através da redução na mistura do conteúdo gástrico, na dissolução e solubilidade, secundária à alteração do pH. O aumento do pH gástrico é decorrente da exclusão do fundo e do corpo do estômago, regiões que contêm a maior parte das células ácido-produtoras, levando ao aumento da solubilidade de drogas básicas e redução da solubilidade de drogas ácidas. Essas alterações anatômicas também podem reduzir a desintegração de algumas drogas de formulações sólidas.⁽²⁵⁾

Assim, procedimentos que envolvem bypass intestinal e má absorção, podem alterar a absorção das drogas através de modificações na solubilidade, redução no comprimento intestinal, no trânsito intestinal e na exposição à mucosa.⁽²⁵⁾

As drogas lipofílicas também podem sofrer alteração na sua farmacocinética ou apresentar níveis plasmáticos imprevisíveis. Essas substâncias dependem da disponibilidade de ácidos biliares para sua solubilização e geralmente apresentam recirculação êntero-hepática, que pode estar prejudicada pela redução da superfície de contato do intestino proximal ou pela alteração no

fluxo sanguíneo mesentérico.^(9, 17) O anticoncepcional oral constitui um exemplo de droga que apresenta metabolismo de primeira passagem hepático e recirculação êntero-hepática para manter a estabilidade do seu nível plasmático.⁽⁹⁾

Diante da redução da acidez gástrica e da diminuição da área de superfície para a absorção de drogas, podem ser necessárias mudanças na via de administração ou na dose, para que a sua concentração terapêutica seja atingida.⁽²⁴⁾

Apesar da falta de estudos de farmacocinética dos anticoncepcionais hormonais combinados orais em pacientes submetidas ao BGRY, outras drogas já foram avaliadas nessa população. Um estudo com 12 pacientes elegíveis ao BGRY avaliou a farmacocinética de inibidores de recaptção de serotonina e norepinefrina (venlafaxina N=5, duloxetine N=1) e inibidores seletivos da receptação de serotonina (citalopram N=2, escitalopram N=2 e sertralina N=2) no pré-operatório e no pós-operatório de 1, 6 e 12 meses. Os autores concluem que após a cirurgia, existe um risco substancial para a redução da biodisponibilidade dos inibidores de recaptção de serotonina, principalmente no primeiro mês após a cirurgia, e os pacientes que necessitam dessas medicações devem ser monitorados frequentemente em relação à recorrência de sintomas psiquiátricos.⁽⁴⁶⁾

Após a cirurgia, as alterações no pH e a redução na superfície de absorção intestinal teriam maior impacto nos inibidores seletivos de recaptção de serotonina, o que pode ser explicado pelas diferenças nas características de dissolução das drogas. Reduções mais significativas na área sob a curva (ASC) foram observadas nos pacientes em uso de inibidores seletivos da recaptção de serotonina, em

relação ao grupo dos inibidores de recaptção de serotonina e norepinefrina.⁽⁴⁵⁾ Em outro estudo com pacientes tratados com sertralina para depressão maior, foram observadas menores ASC em pacientes submetidos ao BGRY, em relação aos controles não operados, após a administração de 100 mg de sertralina.⁽⁴²⁾

A absorção de drogas após a cirurgia bariátrica também foi avaliada em uma revisão sistemática com 26 estudos, publicada em 2010.⁽²⁵⁾ Evidência na redução da absorção de drogas foi encontrada em 15 de 22 estudos com bypass jejunoileal, 1 de 3 estudos com BGRY e em nenhum estudo com derivação biliopancreática. Ciclosporina, tacrolimus, levotiroxina, fenitoína e rifampicina apresentaram redução na absorção em mais de um estudo. Amoxicilina, macrodantina, tacrolimus, hidroclorotiazida também apresentaram redução na absorção, porém em apenas um estudo com cada droga.⁽²⁵⁾

1.3 Farmacocinética do anticoncepcional oral

A maioria das pílulas combinadas utiliza o etinilestradiol (EE) como componente estrogênico, associado a um progestagênio. Após a administração por via oral, os hormônios esteróides passam por um processo de dissolução no estômago e alcançam o intestino, onde sofrem a ação de enzimas bacterianas e de enzimas da mucosa intestinal. Em seguida, são absorvidos ao longo da mucosa do intestino, atingem a veia porta e o fígado para serem metabolizados.^(22, 47, 48)

Na maioria dos indivíduos, o pico sérico do EE é alcançado entre 1 e 2 horas após a ingestão e sua biodisponibilidade (quantidade da droga que atinge a circulação sistêmica após a primeira passagem hepática) atinge 25-65% da droga ingerida.^(22, 47, 48)

Durante a primeira passagem hepática, o EE sofre reações de hidroxilação por enzimas mediadas pelo citocromo P450 CYP3A4, localizadas em maior concentração no jejuno, e CYP2C9.^(9, 47) Os metabólitos hidroxilados e o hormônio não metabolizado são, em parte, conjugados a glucuronídeos, que são compostos inativos e apresentam excreção renal, e a sulfatos (3 e 17-sulfatos), que retornam para a circulação sistêmica e passam pelo processo de recirculação êntero-hepática. As formas sulfatadas aumentam a meia-vida do EE em cerca de 10 vezes. Essas formas também podem ser desconjugadas após a recirculação êntero-hepática. A principal forma de excreção do EE é pela via fecal.^(22, 47, 48)

A proteína multirresistência 2 (MRP2) é uma proteína transportadora, localizada primariamente no duodeno e jejuno. Exerce papel importante na absorção de glucuronídeos conjugados, que são metabólitos de drogas para serem excretados.⁽⁹⁾ Até o momento, não se sabe se ocorre comprometimento da sua funcionalidade em pacientes submetidos ao BGRY, podendo levar ao acúmulo desses metabólitos.⁽⁹⁾

Os progestagênios sintéticos presentes nos anticoncepcionais orais apresentam absorção e metabolismo de primeira passagem hepática semelhantes ao do etinilestradiol e geralmente atingem a sua concentração plasmática máxima entre 1 e 3 horas.^(47, 48)

O levonorgestrel, o gestodeno e o dienogest apresentam as maiores biodisponibilidades, no entanto, existe grande variabilidade interindividual e intraindividual no metabolismo, farmacocinética e nível sérico dos progestagênios.⁽⁴⁸⁾

A produção hepática de SHBG (proteína ligadora de hormônios sexuais) sofre interferência dos hormônios esteroides presentes nos anticoncepcionais.⁽⁴⁷⁾ Os estrógenos são importantes indutores de sua produção. Os progestagênios reduzem a produção de SHBG e quanto mais androgênico, maior redução. O LNG reduz a produção de SHBG mas quando combinado ao EE, promove redução do aumento induzido pelo componente estrogênico. Assim, o efeito anticonceptivo depende da fração livre do progestagênio, que deve ser suficiente para promover a adequada supressão ovariana, mesmo diante da elevação da SHBG. Até o momento, a complexa interação entre obesidade, SHBG e farmacocinética dos contraceptivos orais não é totalmente compreendida.⁽⁴⁷⁾

1.4 Obesidade e anticoncepção

Apesar da obesidade estar associada a maiores taxas de infertilidade, ela deve ser considerada ao se prescrever um método anticonceptivo.⁽⁴⁹⁾ A mulher com obesidade apresenta maior risco de tromboembolismo venoso e de complicações obstétricas.⁽⁴⁹⁾ Observam-se maiores incidências de diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, abortamento espontâneo, distócia de ombro e partos cesáreas, em relação às mulheres com peso normal.⁽⁴⁹⁾ Dessa forma, é muito importante a prevenção de uma gestação não planejada.^(49, 50)

Em geral, a obesidade pode afetar a farmacocinética de algumas drogas, no entanto, esse mecanismo ainda é pouco compreendido. Muitos estudos que avaliam os métodos anticonceptivos acabam excluindo pacientes que apresentam mais de 130% do seu peso ideal, dificultando a compreensão em relação à eficácia nessa população.^(23, 47)

A farmacocinética (PK) se refere ao estudo da droga no organismo, desde a sua absorção, distribuição, metabolização, até a sua eliminação. Muitos parâmetros farmacocinéticos usados para avaliar a eficácia de uma droga, são calculados através de suas concentrações plasmáticas, dentre eles: ASC (área sob a curva), concentrações plasmáticas mínimas ($C_{\min}$) e máximas ($C_{\max}$), biodisponibilidade, volume de distribuição, *clearance*, meia-vida ($t_{1/2}$). A área sob a curva (ASC) reflete a exposição sistêmica total a uma droga e é obtida após o cálculo da concentração plasmática em vários tempos após a sua ingestão.⁽⁵⁰⁾

O excesso de peso pode interferir na farmacocinética dos anticoncepcionais hormonais orais, no entanto, existem controvérsias se essas alterações poderiam impactar na sua eficácia anticonceptiva.^(49, 51)

A obesidade exerce influência na absorção, biodisponibilidade, metabolismo hepático (reduzindo a atividade das enzimas do citocromo P450), metabolismo biliar, *clearance* renal, ligação a proteínas, volume de distribuição da droga e excreção, podendo modificar a sua resposta terapêutica.^(21, 23, 48, 52, 53)

O aumento do débito cardíaco, um maior fluxo sanguíneo para o trato gastrointestinal e um esvaziamento gástrico mais acelerado contribuem para uma absorção mais rápida e um menor tempo para a droga atingir a sua concentração plasmática máxima.⁽⁴⁷⁾ No entanto, drogas transdérmicas e intramusculares podem apresentar absorção mais lenta por conta do aumento do tecido adiposo.⁽⁵⁰⁾

A distribuição da droga depende da quantidade de tecido adiposo, de massa magra, do fluxo sanguíneo tecidual, de proteínas ligadoras plasmáticas e teciduais.^(47, 48, 53)

A obesidade aumenta o volume de distribuição para drogas hidrofóbicas, como é o caso dos hormônios esteróides.⁽⁴⁷⁾ Ocorre também redução da produção hepática de SHBG, glicoproteína que se liga aos estrógenos endógenos, andrógenos e progestágenos sintéticos, interferindo na fração livre e ligada dos hormônios sexuais e contribuindo, portanto, com a sua distribuição.⁽⁴⁷⁾

A obesidade também interfere na metabolização hepática das drogas. Ocorre redução da atividade das enzimas CYP3A e CYP2E1 durante o metabolismo de fase 1, que inclui reações de oxidação, redução e hidrólise. Essas enzimas são reguladas por citocinas que se encontram elevadas pelo estado inflamatório crônico da obesidade. O excesso de peso aumenta a atividade das enzimas do metabolismo de fase 2, responsáveis por reações de conjugação, podendo aumentar o *clearance* da droga.⁽⁴⁷⁾

O processo de excreção também pode ser modificado pela obesidade. O *clearance* renal geralmente está aumentado pela elevação da taxa de filtração glomerular e a excreção biliar pode sofrer influência das alterações que ocorrem com a secreção de sais biliares e transportadores.⁽⁴⁷⁾

A meia-vida ($t_{1/2}$) de uma droga se refere ao tempo em que a sua concentração é reduzida à metade. Esse parâmetro sofre interferência do volume de distribuição e do *clearance* (eliminação). A meia-vida influencia diretamente o tempo necessário para a droga atingir a sua estabilidade de concentração, que geralmente representa 4 a 5 vezes a meia-vida. A estabilidade de uma droga reflete o momento em que as suas concentrações permanecem constantes, quando a taxa de eliminação do fármaco é igual à taxa de biodisponibilidade.⁽⁵⁰⁾

Um estudo conduzido por Edelman *et al.*⁽²³⁾, com o objetivo de avaliar se o aumento do IMC poderia afetar os parâmetros farmacocinéticos do

anticoncepcional oral e a atividade do eixo HHO, demonstrou uma maior meia-vida do LNG e um tempo maior para alcançar a estabilidade na circulação de mulheres obesas, quando comparado às mulheres de peso normal. As pacientes com obesidade também apresentaram maior atividade do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano.

Segundo os autores, a maior meia-vida e esse maior tempo para atingir a estabilidade do LNG sugerem que em mulheres obesas, o anticoncepcional precisaria de um tempo mais prolongado para alcançar a sua concentração inibitória tanto no início do uso da pílula quanto após o intervalo de 7 dias, podendo criar uma “janela de oportunidade” para reativação do eixo HHO, desenvolvimento folicular e ovulação.^(23, 48, 53, 54)

Outro estudo avaliou os parâmetros farmacocinéticos do EE e LNG em um grupo de mulheres com obesidade por um tempo mais prolongado (168 horas). Os autores correlacionaram esses parâmetros com alterações no muco cervical e com desenvolvimento folicular, através de ultrassom transvaginal.⁽⁵⁴⁾ Também foram observadas maior meia-vida, maior tempo para se atingir a estabilidade, alterações no muco cervical e desenvolvimento folicular, sugestivos de atividade do eixo HHO. No entanto, não houve correlação entre a severidade das alterações PK e o muco cervical ou crescimento de folículo ovariano.⁽⁵⁴⁾

Westhoff *et al.*⁽⁵²⁾ relataram reduções na ASC e $C_{m\acute{a}x}$ do EE em um grupo de mulheres obesas, comparado a um grupo eutrófico. Os parâmetros do LNG caminharam na mesma direção, porém sem significância estatística. Também foram observados níveis de EE e LNG mais baixos nas mulheres com obesidade. Todavia, apesar das alterações farmacocinéticas, não houve diferença na supressão ovariana e ovulação entre os grupos.

A possibilidade de um escape ovulatório, decorrente do maior tempo para se atingir a estabilidade, parece ser o fator de maior relevância clínica para o risco de falha do anticoncepcional oral.^(48, 52, 53) Nas mulheres com obesidade, isso poderia ocorrer devido a uma concentração sérica mais baixa dos esteroides, associada à sua maior distribuição na massa gorda, por se tratar de uma droga lipofílica.^(23, 52)

Os métodos anticonceptivos reversíveis e de longa duração, como DIU e implante de progestagênio, oferecem as menores taxas de falha e parecem apresentar eficácia equivalente nas diferentes categorias de peso e IMC.⁽⁴⁷⁾ Apesar de existirem poucos estudos avaliando o DIU nas diferentes categorias de peso, o método se mostra muito eficaz e é uma excelente opção para mulheres com obesidade que não desejam engravidar.⁽⁵⁰⁾

Os DIUs de cobre ou hormonais e os anticoncepcionais por via vaginal atuam localmente, no útero, e a sua eficácia anticonceptiva ocorre por essa ação local. A concentração hormonal plasmática periférica é muito baixa.⁽⁵¹⁾ A eficácia anticonceptiva do anel vaginal também parece ser semelhante em mulheres com e sem obesidade.⁽⁴⁷⁾

Os implantes subdérmicos de etonorgestrel também apresentam taxas de falha extremamente raras em mulheres com obesidade, assim como nas mulheres com peso normal.⁽⁴⁷⁾

Por outro lado, a pílula para anticoncepção de emergência com levonorgestrel pode apresentar eficácia reduzida em mulheres obesas.⁽⁴⁷⁾ Um recente estudo reportou menores níveis de LNG total e biodisponível em mulheres com obesidade e obesidade mórbida, após a ingestão de dose única da pílula de anticoncepção de emergência contendo 1,5 mg de LNG.⁽⁵⁵⁾

O contraceptivo transdérmico combinado está associado a redução na ASC dos componentes estrogênico e progestagênico em mulheres com obesidade, secundários ao aumento do peso e da área de superfície corporal. Sabe-se que o método transdérmico apresenta maiores taxas de falha em mulheres com peso corporal acima de 90 kg e, portanto, não está indicado nessa população.^(47, 50)

A *World Health Organization (WHO) Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use* divide os métodos anticoncepcionais em categorias de recomendação de acordo com a condição médica do paciente.⁽⁴¹⁾ De acordo com essa classificação, a obesidade é considerada categoria 2 (na qual as vantagens do uso desses métodos geralmente superam os riscos teóricos ou comprovados) para o uso das pílulas hormonais combinadas, anticoncepcional transdérmico e anel vaginal. No entanto, a obesidade não apresenta nenhuma restrição (categoria 1) para o uso de das pílulas compostas apenas por progestagênios, do implante de progestagênio, do progestagênio injetável e do DIU de cobre ou hormonal.⁽⁴¹⁾

Ainda não está totalmente esclarecido quanto a obesidade pode influenciar na eficácia anticoncepcional dos métodos de curta ação. Dessa forma, como os métodos contraceptivos reversíveis de longa ação (DIU e implantes de progestagênios) se mostram eficazes independente do peso corporal, muitos autores sugerem que devem ser oferecidos como método de primeira linha para mulheres com obesidade.^(47, 49, 50)

1.5 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS)

Os imunoensaios são os métodos mais utilizados para a quantificação das concentrações do estrógeno e progesterona na rotina laboratorial. No entanto, esse método identifica o 17-beta-estradiol e não o componente sintético etinilestradiol e o progestagênio levonorgestrel. Ensaio específicos de imunoensaios para EE podem ainda apresentar reação cruzada com esteroides endógenos ou seus metabólitos.^(56, 57)

A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas apresenta maior seletividade, sensibilidade, simplicidade e rendimento analítico em relação aos imunoensaios.⁽⁵⁶⁾ O seu rendimento para analitos de baixo peso molecular também é maior quando comparada à HPLC tradicional (cromatografia líquida de alta performance/pressão convencional) ou GC-MS (cromatografia a gás acoplada a espectrometria em massa), que eram as principais alternativas aos imunoensaios para esses analitos.⁽⁵⁷⁾

A Cromatografia Líquida (LC) é um método de separação de compostos químicos em solução, realizada por equipamentos modulares, permitindo que o usuário configure um cromatógrafo líquido de acordo com as suas necessidades. O solvente (também denominado de fase móvel ou efluente) é conduzido por uma bomba de alta pressão em direção à coluna, na qual ocorre a separação. O efluente da coluna é direcionado para um detector, que acusa a presença dos analitos ionizados e gera um sinal, que é captado por um software e forma um cromatograma, mostrando a variação do sinal do detector em função do tempo de análise. O acoplamento entre a LC e a espectrometria de massas permitiu

a utilização da cromatografia como técnica de separação e a espectrometria de massa como técnica de identificação.⁽⁵⁸⁾

A espectrometria de massas (MS) é uma técnica analítica para detectar e identificar moléculas de interesse por meio da medição da sua massa e da caracterização de sua estrutura química. Consiste na colocação de carga nas moléculas de interesse, os analitos, para a criação de íons de compostos orgânicos e posterior caracterização por um espectrômetro de massas de acordo com a massa, carga, estrutura ou propriedades físico-químicas.^(58, 59) Dessa forma, é possível detectá-los de forma qualitativa e quantitativa por sua respectiva razão massa/carga (razão entre massa e número de carga em íons ou m/z) e abundância.^(58, 59)

O equipamento de MS é composto por: um sistema de introdução de amostras (que pode ser sólido, líquido ou gasoso), uma fonte de ionização (as usadas para o acoplamento com cromatografia líquida trabalham a pressão atmosférica), um analisador de massas e um detector (ambos sempre sob vácuo). (Figura 2)⁽⁵⁹⁾

Figura 2 - Esquema de um espectrômetro de massas⁽⁵⁹⁾

Assim, para que um analito seja analisado por espectrometria de massas, ele deve ser passível de ionização. A fonte de ionização converte o analito em íons de fase gasosa. Essa ionização pode ocorrer de modo positivo ou negativo, de acordo com a molécula de interesse.⁽⁵⁹⁾ As fontes que apresentam melhor desempenho no acoplamento LC-MS produzem ionização em pressão atmosférica e as mais usadas são: Electrospray (ESI), Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI) e Ionização por Fótons a Pressão Atmosférica (APPI).^(58, 59)

Através da Fonte de Fotoionização a Pressão Atmosférica (APPI), o analito é primeiramente volatizado e depois ionizado. Utiliza-se uma sonda com um capilar de sílica fundido envolto por uma resistência, na qual é aplicada uma corrente, para elevar a temperatura e levar à vaporização da fase móvel. O analito gasoso é direcionado a uma lâmpada UV com energia suficiente para ionizar os compostos. Geralmente, utiliza-se água na composição do solvente para a separação das cargas e um solvente orgânico com capacidade de se misturar a água (metanol e/ou acetonitrila).⁽⁵⁹⁾

O efluente da coluna cromatográfica, após ser ionizado, geralmente à pressão atmosférica, é direcionado para o analisador de massas, que separa os íons de acordo com a sua razão massa/carga. O analisador tipo Quadrupolo é o mais popular e apresenta custo relativamente baixo.^(58, 59)

O detector é o último módulo de um espectrômetro de massas e consiste em um dispositivo capaz de converter o feixe de íons em sinal elétrico, que é processado pelo sistema de dados do computador. Assim, um espectro de massas é um registro dos íons detectados em função da relação m/z .^(58, 59)

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Após o bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux, procedimento cirúrgico realizado principalmente em mulheres em idade reprodutiva, é necessário o uso de um método anticonceptivo eficaz para evitar gestações nos primeiros 12 a 18 meses do pós-operatório. Além disso, as mulheres que não desejam engravidar devem receber um aconselhamento contraceptivo adequado após a realização da cirurgia bariátrica.

Até o momento do desenho e da execução do projeto, não havia nenhum estudo avaliando a existência de alteração na absorção dos anticoncepcionais hormonais combinados orais após cirurgia bariátrica. Esse método contraceptivo é o método preferido pela maioria das mulheres e é fornecido pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

O estudo foi desenhado com a hipótese de que a exposição total aos hormônios do AHCO, evidenciada através da ASC, estaria reduzida em relação ao grupo controle, resultante da menor área disponível para a sua absorção, secundária à redução do novo estômago e exclusão do duodeno e jejuno proximal do trânsito intestinal.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Avaliar a absorção do EE e LNG em mulheres submetidas ao BGRY, através dos principais parâmetros farmacocinéticos, comparado a um grupo controle não operado.

3.2 Objetivo secundário

Avaliar se o tempo após a cirurgia e o índice de massa corpórea (IMC), no pós-operatório, influenciam os parâmetros de absorção do EE e LNG após o BGRY.

4 SUJEITOS E MÉTODOS

4.1 Cálculo amostral

Considerando o teste t (diferença entre duas médias independentes) bicaudal, nível de significância de 5%, poder do teste de 95% e tamanho do efeito de 1,25, foi obtido um tamanho amostral de 36 voluntárias (18 em cada grupo).

O cálculo amostral foi obtido utilizando o software “G*power versão 3.1.9.2”.

4.2 Casuística

A casuística do estudo foi constituída por 40 mulheres entre 18 e 45 anos que foram divididas em dois grupos: 20 pacientes em pós-operatório de cirurgia bariátrica pela técnica do BGRY e 20 pacientes não operadas, pareadas por idade e índice de massa corpórea.

Apesar do cálculo do tamanho da amostra indicar que a casuística do estudo poderia ser composta por 36 pacientes, foi optado por selecionar um número maior de voluntárias para garantir que a análise estatística fosse realizada com o tamanho amostral calculado. Após a revisão da literatura, verificamos que estudos que comparam os parâmetros de farmacocinética do anticoncepcional oral entre mulheres obesas e eutróficas utilizam, em média, uma amostra entre 20 e 32 pacientes.^(23, 52, 54)

As mulheres operadas deveriam apresentar um tempo mínimo de pós-operatório de 12 meses, devido à maior estabilidade de peso corporal, permitindo um pareamento mais adequado entre os dois grupos.

Os critérios de inclusão foram: mulheres em idade fértil, entre 18 e 45 anos, com história de ciclos menstruais espontâneos e regulares, sem uso atual de anticoncepcional hormonal, que apresentavam sobrepeso ou obesidade, com estabilidade do peso corporal nos últimos 3 meses (variação não superior a 5%), auto-referido pelas voluntárias.

Os diagnósticos de sobrepeso e obesidade estão de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS). (Tabela 1)⁽²⁾

Tabela 1 - Classificação de peso
pelo índice de massa corpórea

IMC (kg/m ²)	CLASSIFICAÇÃO
$\leq 18,5$	Abaixo do Peso
$18,6 \leq \text{IMC} \leq 24,9$	Peso Normal
$25 \leq \text{IMC} \leq 29,9$	Sobrepeso
≥ 30	Obesidade

Os critérios de exclusão foram: uso atual ou prévio de drogas que poderiam interferir no metabolismo dos esteroides sexuais (como anticonvulsivantes, antibióticos) por 3 meses, uso atual de método contraceptivo hormonal (incluindo anticoncepcional oral, transdérmico, injetável mensal e trimestral, anel vaginal e DIU com levonorgestrel (Mirena®), ausência de ciclos menstruais regulares ou histórico de histerectomia, alto risco de trombose e presença de doenças hepáticas ou renais graves.

4.3 Considerações éticas

Este projeto está de acordo com os requisitos da Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do HCFMUSP, em atenção à Resolução n°. 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, aprovado sob o registro CAAE 39634514.5.0000.0068.

As participantes receberam explicações sobre a pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido contendo informações detalhadas sobre a pesquisa, anteriormente ao início dos procedimentos.

4.4 Avaliação clínica e laboratorial

Todas as pacientes passaram por uma pré-triagem, por telefone, para verificação dos critérios de inclusão e exclusão, antes do agendamento da data do projeto.

As pacientes foram admitidas no Ambulatório de Endocrinologia no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, às 7 horas da manhã. O primeiro procedimento foi a aplicação do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição e, em seguida, foi preenchida uma ficha com os dados pessoais de cada paciente (nome, data de nascimento, idade, raça), data da última menstruação e medicamentos em uso. As mulheres operadas também informaram a data e o local da realização da cirurgia, o peso e o IMC pré-operatórios.

4.4.1 Variáveis antropométricas e clínicas

As voluntárias foram caracterizadas clinicamente por meio de história clínica e exame físico, com análise dos seguintes parâmetros:

Peso (kg): aferido através de balança digital marca Filizola®, com precisão de 100 gramas. As medidas foram realizadas com as pacientes trajando roupas leves e descalças.

Estatura (cm): determinada utilizando estadiômetro graduado em centímetros e com precisão de 1,0 milímetro, apresentando a barra de madeira vertical e fixa, com esquadro móvel para posicionamento sobre a cabeça do indivíduo descalço, em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilhas, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt.

Circunferência abdominal (CA) (cm): utilizou-se fita plástica inelástica e flexível, com precisão de 1,0 mm. Como referencial anatômico, foi adotada a medida do ponto médio entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca. A paciente foi orientada a permanecer em posição ereta, com o abdômen relaxado, mantendo os braços paralelos ao corpo e os pés unidos, sendo a leitura da medida realizada no momento da expiração.

4.4.2 Variáveis laboratoriais

A coleta de sangue periférico foi realizada após 8 horas de jejum de alimentos, através da punção de uma veia no braço não dominante para a colocação de um cateter venoso periférico e foi conduzida na sala de testes do

Ambulatório da Endocrinologia do HCFMUSP. Às 8 horas da manhã, após a coleta de uma amostra de sangue basal, as pacientes ingeriram apenas um comprimido (dose única) do anticoncepcional hormonal combinado oral monofásico de referência contendo 0,15 mg de Levonorgestrel (LNG) e 0,03 mg de Etinilestradiol (EE), Microvlar® (laboratório Bayer, lotes BS01GF1 e BS01JFH), com 200 ml de água. Todas as pacientes foram orientadas a suspenderem as medicações de uso contínuo 48 horas antes do teste.

Levando-se em consideração a farmacocinética habitual do anticoncepcional oral, na qual o tempo para se atingir a concentração plasmática máxima é de 1,5 hora a 2 horas, com variação de aproximadamente 1 hora, as dosagens de LNG e EE foram realizadas nos tempos: 0, 1h, 1h30, 2h, 2h30, 3h, 4h, 6h e 8 horas após a ingestão do comprimido.

Em cada tempo, foi realizada a coleta de 10 ml de sangue em temperatura ambiente, com tubo de heparina de sódio (BD Vacutainer®). As amostras foram centrifugadas no Laboratório de Hormônios HCFMUSP a 3.500 rpm por 10 minutos, em centrífuga gelada (Centrifuge 5810R, Eppendorf), a 4 °C, para a separação do plasma que, posteriormente foi transferido para um tubo criogênico de 5,0 ml (KASVI, modelo K2-205). Todas as amostras foram estocadas a -70 °C, em freezer localizado no LIM18 na Faculdade de Medicina da USP, até a sua análise.

Durante o teste, todas as refeições foram fornecidas pelo pesquisador de forma padronizada, com o objetivo de reduzir uma possível interferência na variabilidade farmacocinética entre as participantes. Após a coleta da amostra do tempo 2h30, todas as pacientes receberam um café da manhã e, posteriormente, foram fornecidos o almoço e o lanche da tarde.

Inicialmente, foi conduzido um estudo piloto com 6 pacientes (3 mulheres operadas e 3 não operadas) com o objetivo de verificar se os tempos escolhidos para as coletas das amostras estavam adequados, uma vez que as alterações no TGI após a cirurgia poderiam levar a um pico de absorção mais tardio, o que acarretaria em modificações nos tempos das coletas. As concentrações individuais de etinilestradiol e levonorgestrel, em pg/mL, encontram-se nos quadros 1 e 2, respectivamente.

Quadro 1 - Concentrações individuais das amostras de etinilestradiol (pg/mL) do estudo piloto

Voluntário		001	002	003	004	005	006
Período		P1	P1	P1	P1	P1	P1
Tempo (h)	0:00	<LIQ	<LIQ	<LIQ	16,38	<LIQ	<LIQ
	1:00	21,43	15,99	24,99	62,83	43,07	44,80
	1:30	30,15	26,69	25,78	62,90	32,19	71,03
	2:00	29,06	24,17	25,35	57,22	30,99	42,73
	2:30	34,76	27,57	20,66	62,71	28,32	36,68
	3:00	47,43	18,27	27,02	54,68	29,32	37,07
	4:00	31,09	25,48	19,45	38,83	27,75	30,64
	6:00	30,81	14,91	15,93	29,10	23,57	27,01
	8:00	18,22	12,93	13,53	26,78	17,72	15,32

Observações:

<LIQ = Abaixo do valor de LIQ

N/R = amostra não recebida

A/P = Amostra perdida

Grupo BGRY: voluntárias 01, 03, 05

Grupo controle: voluntárias 02, 04, 06

Quadro 2 - Concentrações individuais das amostras de levonorgestrel (pg/mL) do estudo piloto

Voluntário		001	002	003	004	005	006
Período		P1	P1	P1	P1	P1	P1
Tempo (h)	0:00	<LIQ	<LIQ	<LIQ	1895	<LIQ	<LIQ
	1:00	701	1024	817	4564	1386	2058
	1:30	1420	1315	700	3979	1189	1933
	2:00	1718	1169	578	3265	1018	1451
	2:30	1946	1058	530	3335	735	1235
	3:00	1595	1032	1316	3396	594	876
	4:00	1052	891	951	2891	457	586
	6:00	877	779	806	2514	349	394
	8:00	714	540	657	2861	279	321

Observações:

<LIQ = Abaixo do valor de LIQ

N/R = amostra não recebida

A/P = Amostra perdida

Grupo BGRY: voluntárias 01, 03, 05

Grupo controle: voluntárias 02, 04, 06

Após os resultados do estudo piloto, observou-se que todas as pacientes, operadas e não operadas, apresentaram valores dosáveis de EE e LNG desde o primeiro tempo de coleta após a tomada da medicação (T01:00 hora). Além disso, todas as voluntárias apresentaram o pico de concentração plasmática máxima de ambos os hormônios dentro dos tempos de coleta determinados, permitindo a manutenção do desenho inicial do estudo. Após o projeto piloto, também foi optado por excluir a voluntária 4 (V04), que apresentou níveis de EE e LNG detectáveis desde o tempo zero (basal), ou seja, valores diferentes de zero antes da tomada do anticoncepcional.

A avaliação da absorção do anticoncepcional hormonal combinado oral foi realizada através da análise dos principais parâmetros farmacocinéticos do etinilestradiol e do levonorgestrel (Figura 3):

- $C_{\text{máx}}$: concentração plasmática máxima
- $T_{\text{máx}}$: tempo para atingir a concentração máxima
- ASC_{0-8} : área sob a curva da concentração plasmática até o último valor de concentração dosado (AUC_{last})
- $ASC_{0-\infty}$: área sob a curva entre a primeira amostra dosada (pré-dosagem) e o infinito

Figura 3 - Parâmetros farmacocinéticos⁽⁶⁰⁾

O $C_{\text{máx}}$ e o $T_{\text{máx}}$ foram obtidos diretamente das curvas e o método trapezoidal foi utilizado para o cálculo da área sob a curva. A ASC_{0-8} reflete a exposição sistêmica à droga até o último valor dosado e a $ASC_{0-\infty}$ reflete a exposição sistêmica até a completa eliminação da droga. O $C_{\text{máx}}$ representa a maior concentração sanguínea alcançada pelo fármaco após a administração oral e o $T_{\text{máx}}$ reflete o tempo para essa concentração ser atingida. Dessa forma, $C_{\text{máx}}$ e $T_{\text{máx}}$ são influenciados pela velocidade de absorção.

As dosagens de EE e LNG foram realizadas por meio de método validado de cromatografia líquida acoplado a espectrometria de massas (LC-MS/MS), na Empresa Magabi.⁽²⁴⁾ A Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas Ltda é um laboratório brasileiro, especializado em análises de amostras biológicas para estudos de bioequivalência e biodisponibilidade relativa, possuindo certificação pela ANVISA. Tornou-se o primeiro laboratório no país para análise de amostras biológicas para estudos de bioequivalência de contraceptivo oral (hormônio).

O estudo piloto foi conduzido de 11 de maio de 2017 a 10 de agosto de 2017. Em 14 de dezembro de 2017, as amostras foram encaminhadas ao laboratório Magabi em gelo seco e foram mantidas congeladas a -70°C até a realização da análise. As corridas analíticas ocorreram de 8 a 9 de fevereiro de 2018, conforme mostra o sumário analítico do ensaio das amostras (Quadro 3). O estudo analítico foi encerrado em 26 de julho de 2018 e o relatório analítico foi recebido em 31 de julho de 2018.

Quadro 3 - Sumário analítico do ensaio das amostras (estudo piloto)

Corridas analíticas	Amostras desconhecidas (Voluntários)	Final do processo de preparação da amostra	Dados das corridas analíticas					Duração do processo de preparação (h)	Equip.	Obs.
		Data/hora	Data/hora de início	Data/hora de término	Número de amostras	Status	Duração da corrida (h)			
MGB02917LA01	001, 002, 003, 004, 005 e 006	08/02/18 16:00	08/02/18 16:26	09/02/18 11:16	77	Aprovada	18,8	19,3	MS01	-

O restante do projeto foi conduzido de 08 de março de 2018 a 31 de janeiro de 2019, com 34 pacientes (17 mulheres operadas e 17 não operadas). Todas as amostras foram estocadas em freezer a -70°C na Faculdade de Medicina da USP, após a coleta e centrifugação.

Em 21 de março de 2019, as amostras foram encaminhadas ao laboratório Magabi, em gelo seco, e foram mantidas congeladas a -70°C até a realização da análise. As corridas analíticas ocorreram de 16 a 17 de agosto de 2019, conforme mostra o sumário analítico do ensaio das amostras (Quadro 4). O estudo analítico foi encerrado em 24 de agosto de 2019 e o relatório analítico foi recebido em 26 de agosto de 2019.

Quadro 4 - Sumário analítico do ensaio das amostras (projeto)

Corridas analíticas	Amostras desconhecidas (Voluntários)	Final do processo de preparação da amostra	Dados das corridas analíticas					Duração do processo de preparação (h)	Obs.
		Data/hora	Data/hora de início	Data/hora de término	Número de amostras	Status	Duração da corrida (h)		
MGB02917LP01	007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023	15/08/19 12:00	16/08/19 09:00	17/08/19 00:38	179	Aprovada	15,6	36,6	1
MGB02917LP02	024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040	15/08/19 16:00	17/08/19 00:43	17/08/19 16:15	178	Aprovada	15,5	48,3	-

A empresa recebeu todos os tubos de forma cega, com identificação apenas do número da voluntária e do tempo correspondente.

4.4.3 Etapa experimental

As dosagens foram realizadas na Empresa Magabi Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas Ltda de acordo com o PO-MGB.007: Sequência de Corridas Bioanalíticas que está de acordo com as normas nacionais e internacionais vigentes.

4.4.3.1 Equipamento de LC-MS/MS

O equipamento de cromatografia líquida acoplado a espectrometria de massas utilizado para as análises foi composto por: Espectrômetro de Massas modelo API5000, fabricante Sciex/Applied Biosystems, Canadá (número de série: AG00830504); sistema de dados – MS modelo Analyst v1.4.2, fabricante Sciex/Applied Biosystems, Canadá e Sistema de Dados – Extrator on line modelo Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4, fabricante Spark Holland, Holanda.

A descrição detalhada dos equipamentos utilizados no estudo piloto e no restante do projeto encontram-se nos quadros 5 e 6, respectivamente.

Quadro 5 - Descrição dos equipamentos de LC-MS/MS (estudo piloto)

Sistema	MS01/SK01		
Componente	Fabricante, País	Modelo	Número de série
Conditioned Stacker	Spark Holland, Holanda	931	50028
Reliance	Spark Holland, Holanda	930	50028
HPD Standard	Spark Holland, Holanda	730	50045
HPD Mixer	Spark Holland, Holanda	730	60064
Ace	Spark Holland, Holanda	725	50038
Bombas HPLC	Spark Holland, Holanda	750	50040 / 50041
Forno	Agilent Technologies, Alemanha	G1316B	DE60557424
Degasser	Agilent Technologies, Japão	G1379A	JP40722995
Espectrômetro de Massas	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	API5000	AG00830504
Fonte	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Photospray	010167042506
Sistema de Dados – MS	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Analyst v1.4.2	-
Sistema de Dados – Extrator on-line	Spark Holland, Holanda	Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4	-

Quadro 6 - Descrição dos equipamentos de LC-MS/MS (projeto)

Sistema	MS02/SK02		
Componente	Fabricante, País	Modelo	Número de série
Conditioned Stacker	Spark Holland, Holanda	931	50030
Reliance	Spark Holland, Holanda	930	50030
HPD Standard	Spark Holland, Holanda	730	50049
HPD Mixer	Spark Holland, Holanda	730	60063
Ace	Spark Holland, Holanda	725	50039
Bombas HPLC	Spark Holland, Holanda	750	50038 / 50039
Forno	Agilent Technologies, Alemanha	G1316B	DE600557424
Degasser	Agilent Technologies, Japão	G1379A	JP40722995
Espectrômetro de Massas	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	API5000	AG012650607
Fonte	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Photospray	061050425
Sistema de Dados – MS	Sciex/Applied Biosystems, Canadá	Analyst v1.4.2	-
Sistema de Dados – Extrator on-line	Spark Holland, Holanda	Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4	-

4.4.3.2 Solventes e reagentes

Foram utilizados os seguintes solventes e reagentes: água deionizada (Ultrapura, fabricante Millipore/ Brasil), metanol (Grau HPLC, Merck/ Alemanha), acetonitrila (Grau HPLC, Merck/ Alemanha), éter etílico (Grau Analítico, Merck/ Alemanha), hexano 95% (Grau Analítico, Merck/ Alemanha) e tolueno (Grau Analítico, Merck/ Alemanha para o estudo piloto e Grau Analítico, Carlo Erba/ Itália para o projeto final).

4.4.3.3 Padrões de referência

Os padrões de referência (analito e padrão interno) utilizados durante a condução do estudo analítico foram: etinilestradiol (analito), fabricante USP/ EUA (lote ROM195); 17-alfa-etinilestradiol-d4 (padrão interno), fabricante CDN

Isotopes/ Canadá (lote E-106); levonorgestrel (analito), fabricante Farmacopéia Britânica/ Reino Unido (lote 3018); 3-Ceto-Desogestrel (padrão interno), fabricante USP/EUA (lote H0L400).

4.4.3.4 Padrões de calibração e controle de qualidade

As soluções de trabalho foram preparadas por meio de diluições seriadas das soluções de estoque de EE, 17-alfa-etinilestradiol-d4, LNG e 3-ceto-desogestrel. O solvente de diluição utilizado foi o metanol/água (50/50; v/v). A curva de calibração foi construída através de uma série de amostras padrão em concentrações diferentes e conhecidas do analito. Os tubos de polipropileno (tipo Falcon) contendo as soluções foram devidamente rotulados e armazenados a uma temperatura de 4 °C (geladeira) durante todo o período do estudo.

A curva de calibração para o EE foi preparada com as soluções de trabalho e plasma isento de analito até a obtenção de tempos de diluição com as seguintes concentrações finais: 5, 10, 30, 60, 90, 150, 300 e 500 pg/mL. A curva de calibração para o LNG foi preparada da mesma forma até a obtenção das seguintes concentrações finais: 150, 300, 900, 1800, 2700, 4500, 9000, 15000 pg/mL. Precisão e exatidão ao nível do Limite Inferior de Quantificação (LIQ): os LIQs estabelecidos pelo método foram de 5,00 pg/mL para etinilestradiol e 150 pg/mL para levonorgestrel.

4.4.3.5 Condições cromatográficas

Para a separação dos compostos na coluna cromatográfica, utilizou-se uma pressão de coluna de 80 Bar. A temperatura do amostrador foi de 6 °C, o volume de injeção da fase móvel (com solvente) de 200,0 µL e fluxo de fase móvel de 0,80 mL/min.

Sob essas condições, o intervalo da corrida para o etinilestradiol foi de 0,00 min e 2,40 min, com os seguintes tempos de retenção na coluna: $1,92 \pm 0,29$ min para etinilestradiol e $1,89 \pm 0,28$ min para 17-alfa-etinilestradiol.

Para o levonorgestrel, o intervalo de corrida foi de 2,41 min e 4,60 min, com os seguintes tempos de retenção: $3,64 \pm 0,55$ min para levonorgestrel e $3,66 \pm 0,55$ min para 3-ceto-desogestrel.

4.4.3.6 Condições da espectrometria de massas

A espectrometria de massas foi realizada com Fonte de Fotoionização a pressão atmosférica (APPI) Photospray (Sciex/Applied Biosystems, Canadá, número de série 010167042506 para o estudo piloto e 061050425 para o restante do projeto): o etinilestradiol recebeu fotoionização negativa (APPI-) e o levonorgestrel, fotoionização positiva (APPI+).

Os analitos foram infundidos na interface que conecta o sistema de cromatografia líquida com o espectrômetro de massas e o tolueno foi utilizado como dopante, com um fluxo de 0,15 mL/min. Os parâmetros da fonte de ionização e gases foram a temperatura 420 °C, íon de transferência de voltagem -950V para EE e 850V para LNG, gás de colisão 12.0 unidades arbitrárias para

EE e 10.0 unidades arbitrárias para LNG, gás de cortina 10.0 unidades arbitrárias para ambos os analitos e Dwell *time* (tempo para a leitura das transições) de 200 msec para cada transição.

A espectrometria de massas foi realizada com energia de colisão de -44.0 volts para EE e 17-alfa-etinilestradiol-d4 e 26.0 volts para LNG e 3-ceto-desogestrel.

Na fase de colisão, após a seleção do íon precursor pelo primeiro analisador, através da sua relação m/z (característica de cada substância), ocorreu a quebra desse determinado íon em uma posição específica para formar o íon filho (íon produto), que também possui uma relação m/z específica, permitindo a sua detecção pelo segundo analisador. Utilizou-se o monitoramento de reações selecionadas (do inglês *selected reaction monitoring* - SRM) para a detecção dos analitos e dos padrões internos.

A relação massa/carga (m/z) do íon precursor > íon produto (relação m/z do produto após a quebra na câmara de colisão): 295.1 > 269.1 foi monitorada para etinilestradiol, m/z 299.1 > 273.0 foi monitorada para 17-alfa-etinilestradiol-d4, m/z 313.3 > 245.1 foi monitorada para levonorgestrel e m/z 325.3 > 257.2 foi monitorada para o 3-ceto-desogestrel (Quadro 7).

Quadro 7 - Condições de detecção

Nome dos compostos	Precursor ion	Product ion	Dwell time (msec)	CE (volts)	CXP (volts)
Etinilestradiol	295,1	269,2	200	-44,0	-28,0
17-Alfa-Etinilestradiol	299,1	273,1	200	-44,0	-28,0
Levonorgestrel	313,3	245,1	200	26,0	15,0
3-Ceto-Desogestrel	325,3	257,2	200	26,0	15,0

CE: *collision energy*

CXP: *collision exit potencial*

As aquisições dos dados e as análises foram realizadas através do software Analyst (versão 1.4.2, Sciex/ Applied Biosystems, Canadá) como componente do Sistema de dados – MS e Symbiosis Pharma for Analyst Release 1.0 sp4 (Spark Hollan, Holanda) como componente do sistema de dados – extrator online.

A descrição do sumário do método bioanalítico encontra-se no quadro 8.

Quadro 8 - Sumário do método bioanalítico

Código do estudo analítico	MGB-029/17
Centro analítico	MAGABI Pesq. Clín. Farm. Ltda.
Técnica analítica	LC-MS/MS
Método utilizado durante a quantificação	MPH038_01
Códigos dos equipamentos utilizados	MS01/SK01; MS02/SK02
Analitos	Etinilestradiol/Levonorgestrel
Padrões internos	17-Alfa-Etinilestradiol/3-Ceto-Desogestrel
Matriz biológica	Plasma humano
Anticoagulante	Heparina
Linearidade	5,00 pg/mL a 500,00 pg/mL / 150 pg/mL a 15000 pg/mL
Equação da curva	$y = a + bx \ (1/x)$
Limite Inferior de Quantificação (LIQ)	5,0 pg/mL / 150 pg/mL
Controle de qualidade baixo (CQB)	15,00 pg/mL / 450 pg/mL
Controle de qualidade médio (CQM)	200,00 pg/mL / 6 000 pg/mL
Controle de qualidade alto (CQA)	400,00 pg/mL / 12 000 pg/mL
Tempo de estabilidade de pós processamento	154 horas
Ciclos de congelamento e descongelamento	3 ciclos
Tempo de estabilidade de longa duração a -70 °C	2215 dias

*LIQ: menor concentração do analito que pode ser determinada com nível aceitável de precisão e veracidade.

Um estudo de estabilidade de fármacos em líquidos biológicos, realizado pela empresa Magabi para avaliar o tempo de estabilidade de longa duração das amostras quando mantidas a -70 °C, demonstrou que as amostras não sofreram degradação significativa quando mantidas congeladas por 2215 dias (6 anos).

4.4.3.7 Preparação das soluções primárias:

As soluções primárias foram preparadas a partir da pesagem do padrão respectivo com precisão de $\pm 0,01$ mg. As descrições detalhadas da preparação das soluções primárias encontram-se nos quadros 9 e 10 (estudo piloto) e 11 e 12 (projeto).

Quadro 9 - Preparação da solução primária dos analitos para as curvas de calibração e controles de qualidade (estudo piloto)

Solução-mãe de	Etinilestradiol	
Código de identificação	PH03801M1C02	
Data de Pesagem	1-fev-18	
Data de preparo da solução	1-fev-18	
Massa pesada	2,14200	em mg
Fator de pureza	0,99800	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,42754	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Solução-mãe de	Levonorgestrel	
Código de identificação	PH03801M2C02	
Data de Pesagem	1-fev-18	
Data de preparo da solução	1-fev-18	
Massa pesada	2,12000	em mg
Fator de pureza	0,99700	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,42273	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Quadro 10 - Preparação da solução primária dos padrões internos (estudo piloto)

Solução-mãe de	17-Alfa-Etinilestradiol-d4	
Código de identificação	PH03801M3I06	
Data de Pesagem	1-fev-18	
Data de preparo da solução	1-fev-18	
Massa pesada	1,16000	em mg
Fator de pureza	0,98800	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,22922	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Solução-mãe de	3-Ceto-Desogestrel	
Código de identificação	PH03801M4I06	
Data de Pesagem	1-fev-18	
Data de preparo da solução	1-fev-18	
Massa pesada	1,49400	em mg
Fator de pureza	1,00000	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,29880	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Quadro 11 - Preparação da solução primária dos analitos para as curvas de calibração e controles de qualidade (projeto)

Solução-mãe de	Ethinilestradiol	
Código de identificação	PH03801M1C03	
Data de Pesagem	2-jul-19	
Data de preparo da solução	2-jul-19	
Massa pesada	2,42400	em mg
Fator de pureza	0,99800	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,48383	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Solução-mãe de	Levonorgestrel	
Código de identificação	PH03801M2C03	
Data de Pesagem	2-jul-19	
Data de preparo da solução	2-jul-19	
Massa pesada	2,45400	em mg
Fator de pureza	0,99700	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,48933	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Quadro 12 - Preparação da solução primária dos padrões internos (projeto)

Solução-mãe de	17-Alfa-Ethinilestradiol-d4	
Código de identificação	PH03801M3I07	
Data de Pesagem	2-jul-19	
Data de preparo da solução	2-jul-19	
Massa pesada	1,44000	em mg
Fator de pureza	0,98800	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,28454	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

Solução-mãe de	3-Ceto-Desogestrel	
Código de identificação	PH03801M4I07	
Data de Pesagem	2-jul-19	
Data de preparo da solução	2-jul-19	
Massa pesada	2,27800	em mg
Fator de pureza	1,00000	-
Fator de correção	1,00000	-
Volume adicionado	5,00000	em mL
Conc. Final	0,45560	em mg/mL
Solvente utilizado	Metanol puro	

O cálculo da concentração das amostras desconhecidas foi realizado com base na construção de uma curva de calibração de 8 pontos para cada analito dentro do sistema de dados do software Analyst versão 1.4.2.

A curva de calibração foi construída com uma série de amostras padrão conhecidas do analito e em concentrações diferentes. A função aplicada às diferentes amostras da curva de calibração foi calculada por um sistema de regressão linear ponderada utilizando a relação área do analito de interesse e a área do padrão interno (resposta) proveniente dos respectivos cromatogramas.

Dessa forma, a relação entre a área da curva do analito de interesse e a área do padrão interno permite estabelecer a concentração do analito. Essa função foi previamente validada conforme disposto nas legislações vigentes.

As amostras de branco (isento de analito), zero ou rejeitadas pelos critérios de aceitação/rejeição não foram utilizadas para a construção da curva de calibração. As respostas provenientes de cada amostra desconhecida foram, então, interpoladas pelo próprio software na curva de calibração a fim de proporcionar a concentração do composto de interesse.

O método bioanalítico utilizou a seguinte equação: $y = a + bx (1/x)$, conforme consta nos quadros 13 e 14. A linearidade do método apresenta coeficiente de correlação (r) acima de 0,99 para os dois analitos.

Quadro 13 - Equações de curva para cada corrida (estudo piloto)

Etinilestradiol			
O método bioanalítico utilizou a seguinte equação			
$y = a + bx (1/x)$			
Corrida analítica	a	b	r
MGB02917LA01	2,09E-02	6,57E-02	0,9958

Levonorgestrel			
O método bioanalítico utilizou a seguinte equação			
$y = a + bx (1/x)$			
Corrida analítica	a	b	r
MGB02917LA01	-1,06E-03	4,09E-04	0,9986

r: coeficiente de correlação de P

Quadro 14 - Equações de curva para cada corrida (projeto)

Etinilestradiol

O método bioanalítico utilizou a seguinte equação			
$y = a + bx (1/x)$			
Corrida analítica	a	b	r
MGB02917LP01	-7,42E-02	6,29E-02	0,9986
MGB02917LP02	1,77E-02	5,12E-02	0,9969

Levonorgestrel

O método bioanalítico utilizou a seguinte equação			
$y = a + bx (1/x)$			
Corrida analítica	a	b	r
MGB02917LP01	5,71E-04	4,79E-04	0,9999
MGB02917LP02	2,81E-03	4,31E-04	0,9994

4.3.3.8 Validação das corridas (intra-lote)

De acordo com a RDC27 de 2012 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) – Ministério da Saúde – Brasil, Art. 49, que dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos, para a aprovação da corrida analítica, no mínimo 50% (cinquenta por cento) dos controles de cada concentração devem apresentar desvio menor ou igual a 15% (quinze por cento) em relação aos seus respectivos valores nominais. Dessa forma, o status do controle foi considerado aprovado (Quadros 15 e 16).

Os valores descritos como rejeitados foram desconsiderados para o cálculo de precisão intra-corrida, que não foi aplicável por apresentar apenas um valor válido. Não há valores de coeficiente de variação (CV) inter-corridas uma vez que se trata de apenas 1 corrida analítica e um controle aprovado (50%).

Quadro 15 - Análise dos controles de qualidade na corrida do estudo piloto

Ethinilestradiol												
Valor nominal (pg/mL)	15,00			200,00			400,00			400,00		
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			CQD		
Corrida	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status
MGB02917LA01	15,07	0,4	Aprovado	232,76	16,4	Rejeitado	430,99	7,7	Aprovado	-	-	-
	19,42	29,5	Rejeitado	212,39	6,2	Aprovado	448,99	12,2	Aprovado	-	-	-

Levonorgestrel												
Valor nominal (pg/mL)	450			6000			12000			12000		
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			CQD		
Corrida	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status
MGB02917LA01	459	2,0	Aprovado	5440	-9,3	Aprovado	10827	-9,8	Aprovado	-	-	-
	471	4,6	Aprovado	5659	-5,7	Aprovado	10846	-9,6	Aprovado	-	-	-

Quadro 16 - Análise dos controles de qualidade na corrida do projeto

Etinilestradiol

Valor nominal (pg/mL)	15,00			200,00			400,00		
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA		
Corrida	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status
MGB02917LP01	18,30	22,0	Rejeitado	177,03	-11,5	Aprovado	368,38	-7,9	Aprovado
	16,33	8,9	Aprovado	185,20	-7,4	Aprovado	416,30	4,1	Aprovado
	16,56	10,4	Aprovado	197,11	-1,4	Aprovado	329,55	-17,6	Rejeitado
MGB02917LP02	17,00	13,3	Aprovado	205,38	2,7	Aprovado	409,62	2,4	Aprovado
	16,72	11,4	Aprovado	211,68	5,8	Aprovado	409,95	2,5	Aprovado
	18,33	22,2	Rejeitado	185,00	-7,5	Aprovado	404,71	1,2	Aprovado

Levonorgestrel

Valor nominal (pg/mL)	450			6000			12000		
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA		
Corrida	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status	Valores indiv.	Desvio (%)	Status
MGB02917LP01	491	9,2	Aprovado	6155	2,6	Aprovado	12252	2,1	Aprovado
	493	9,5	Aprovado	5950	-0,8	Aprovado	11875	-1,0	Aprovado
	512	13,7	Aprovado	5813	-3,1	Aprovado	11723	-2,3	Aprovado
MGB02917LP02	504	11,9	Aprovado	6474	7,9	Aprovado	12921	7,7	Aprovado
	520	15,5	Rejeitado	6275	4,6	Aprovado	12833	6,9	Aprovado
	512	13,8	Aprovado	6361	6,0	Aprovado	12483	4,0	Aprovado

4.3.3.9 Validação das corridas (inter-lotes)**Quadro 17 - Resultado da validação das corridas do estudo piloto**

Etinilestradiol														
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			CQD			Total de CQs aprovados na corrida	Total de CQs incluído na corrida
Valor nominal (pg/mL)	15,00			200,00			400,00			400,00				
Corrida analítica	CQBs aprovados	CQBs incluídos	%	CQMs aprovados	CQMs incluídos	%	CQAs aprovados	CQAs incluídos	%	CQDs aprovados	CQDs incluídos	%		
MGB02917LA01	1	2	50,0	1	2	50,0	2	2	100,0	-	-	-	4	6
Total geral	1	2	50,0	1	2	50,0	2	2	100,0	-	-	-		
CQs usados para o cálculo	2			2			2			-				
Média geral (pg/mL)	15,07			212,39			439,99			-				
CV (%)	N/D			N/D			2,9			-				
EPR (%)	0,5			6,2			10,0			-				
Total de CQs adicionados													6	
Total de amostras desconhecidas													54	
% de CQs do total de amostras desconhecidas													11,1%	
Total de CQs aprovados													4	
% de aprovação													66,7%	

Levonorgestrel														
Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			CQD			Total de CQs aprovados na corrida	Total de CQs incluído na corrida
Valor nominal (pg/mL)	450			6000			12000			12000				
Corrida analítica	CQBs aprovados	CQBs incluídos	%	CQMs aprovados	CQMs incluídos	%	CQAs aprovados	CQAs incluídos	%	CQDs aprovados	CQDs incluídos	%		
MGB02917LA01	2	2	100,0	2	2	100,0	2	2	100,0	-	-	-	6	6
Total geral	2	2	100,0	2	2	100,0	2	2	100,0	-	-	-		
CQs usados para o cálculo	2			2			2			-				
Média geral (pg/mL)	465			5550			10837			-				
CV (%)	1,8			2,8			0,1			-				
EPR (%)	3,3			-7,5			-9,7			-				
Total de CQs adicionados													6	
Total de amostras desconhecidas													54	
% de CQs do total de amostras desconhecidas													11,1%	
Total de CQs aprovados													6	
% de aprovação													100,0%	

CQB: Controle de Qualidade Baixo (EE 15,00 pg/mL – LNG 450 pg/mL)

CQM: Controle de Qualidade Médio (EE 200,00 pg/mL – LNG 6 000 pg/mL)

CQA: Controle de Qualidade Alto (EE 400,00 pg/mL – LNG 12 000 pg/mL)

Quadro 18 - Resultado da validação das corridas do projeto

Etinilestradiol

Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			Total de CQs aprovados na corrida	Total de CQs incluídos na corrida
Valor nominal (pg/mL)	15,00			200,00			400,00				
Corrida analítica	CQBs aprovados	CQBs incluídos	%	CQMs aprovados	CQMs incluídos	%	CQAs aprovados	CQAs incluídos	%		
MGB02917LP01	2	3	66,7	3	3	100,0	2	3	66,7	7	9
MGB02917LP02	2	3	66,7	3	3	100,0	3	3	100,0	8	9
Total geral	4	6	66,7	6	6	100,0	5	6	83,3	-	
CQs usados para o cálculo	6			6			6				
Média geral (pg/mL)	17,21			193,57			389,75				
CV (%)	5,1			6,9			8,7				
EPR (%)	14,7			-3,2			-2,6				
Total de CQs adicionados											
Total de amostras desconhecidas										305	
% de CQs do total de amostras desconhecidas										5,9%	
Total de CQs aprovados										15	
% de aprovação										83,3%	

Levonorgestrel

Tipo de CQ	CQB			CQM			CQA			Total de CQs aprovados na corrida	Total de CQs incluídos na corrida
Valor nominal (pg/mL)	450			6000			12000				
Corrida analítica	CQBs aprovados	CQBs incluídos	%	CQMs aprovados	CQMs incluídos	%	CQAs aprovados	CQAs incluídos	%		
MGB02917LP01	3	3	100,0	3	3	100,0	3	3	100,0	9	9
MGB02917LP02	2	3	66,7	3	3	100,0	3	3	100,0	8	9
Total geral	5	6	83,3	6	6	100,0	6	6	100,0	-	
CQs usados para o cálculo	6			6			6				
Média geral (pg/mL)	505			6171			12348				
CV (%)	2,3			4,1			4,0				
EPR (%)	12,2			2,8			2,9				
Total de CQs adicionados											
Total de amostras desconhecidas										305	
% de CQs do total de amostras desconhecidas										5,9%	
Total de CQs aprovados										17	
% de aprovação										94,4%	

CQB: Controle de Qualidade Baixo (EE 15,00 pg/mL – LNG 450 pg/mL)

CQM: Controle de Qualidade Médio (EE 200,00 pg/mL – LNG 6 000 pg/mL)

CQA: Controle de Qualidade Alto (EE 400,00 pg/mL – LNG 12 000 pg/mL)

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise descritiva, as variáveis contínuas foram expressas em termos de medidas de resumo (média, desvio padrão).

Gráficos de perfil foram utilizados para ilustrar as variáveis dependentes do tempo (etinilestradiol e levonorgestrel).

Para a comparação de grupo das variáveis dependentes do tempo foi utilizado a ANOVA *two way* não paramétrica (Análise de Variância para dois fatores), que possibilita a comparação entre as concentrações do hormônio em vários instantes de tempo na mesma análise.

Para a comparação de grupo das demais variáveis contínuas foi utilizado o teste t para variáveis que seguiam a distribuição normal (teste de Anderson-Darling) e para as demais foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e Brunner-Munzel, respectivamente, para as variáveis homogêneas e heterogêneas (teste de Bartlett).

Foram executados modelos de regressão linear univariado com o objetivo de encontrar associações entre as variáveis explicativas e de desfecho. As variáveis de desfecho sempre foram as variáveis farmacocinéticas e as variáveis explicativas foram tempo após a cirurgia e IMC.

Devido a variabilidade, o cálculo foi realizado retirando os outliers, que foram definidos utilizando a distância de Cook.

O nível de significância adotado nos testes foi de 0,05. Foram consideradas hipóteses unicaudais (direita e esquerda) e bicaudais.

O software R versão 3.6.0 foi utilizado para a realização de todas as análises.

6 RESULTADOS

Foram triadas 176 mulheres interessadas em participar do estudo, dentre as quais 111 haviam realizado cirurgia bariátrica. Após exclusões por critérios descritos anteriormente ou por desistência, foram consideradas elegíveis 40 voluntárias, conforme representado na figura 4.

Figura 4 - Organograma representativo da amostra de participantes nos grupos de mulheres operadas e grupo controle

Os motivos da não inclusão foram: uso de medicamentos não permitidos (12) como anticonvulsivantes, uso de contraceptivo hormonal oral, injetável, adesivo, anel vaginal, uso de DIU (28), menopausa precoce (3), IMC normal (30), gestação atual (1), histerectomia (3) e outros (59). Dentre as pacientes excluídas por outros motivos, incluíam mulheres que não apresentaram interesse em participar do projeto, mulheres que não aceitaram usar anticoncepcional oral e falta de disponibilidade para permanecer 8 horas dentro da instituição.

6.1 Caracterização da população do estudo:

variáveis antropométricas e clínicas

Todas as 40 voluntárias foram consideradas para a análise das variáveis básicas (peso, altura, IMC, idade, circunferência abdominal, tempo após a cirurgia), separadas entre os grupos de mulheres operadas e não operadas. As pacientes do grupo BGRY apresentaram média de idade de $33,1 \pm 5,5$ anos e média de IMC de $32,2 \pm 5,2$ kg/m² e as mulheres do grupo controle apresentaram idade média de $32,4 \pm 6,1$ anos e IMC médio de $32,4 \pm 4,2$ kg/m², evidenciando o pareamento entre os grupos. As características demográficas e antropométricas das pacientes encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 - Características demográficas e antropométricas das pacientes de acordo com o grupo

Variável (n=40)	BGRY (n=20)	Controles (n=20)	p
Idade (anos)	$33,1 \pm 5,5$	$32,4 \pm 6,1$	0,68
Peso (kg)	$87,2 \pm 15,2$	$87,1 \pm 11,9$	0,97
Altura (cm)	$164,4 \pm 5,2$	$162,9 \pm 5,5$	0,37
IMC (kg/m²)	$32,2 \pm 5,2$	$32,4 \pm 4,2$	0,70
CA (cm)	$97,3 \pm 11,2$	$97,5 \pm 9,9$	0,96

Das 40 participantes do projeto, 35 eram de etnia branca (87,5%) e 5 mulheres eram de etnia não branca, sendo 2 do grupo BGRY (10%) e 3 do grupo controle (15%). Apenas 2 pacientes em cada grupo relataram histórico de tabagismo, totalizando 10% da amostra.

As voluntárias do grupo BGRY realizaram a pesquisa com uma média de tempo após a cirurgia de $3,8 \pm 2,4$ anos ($1.392,5 \pm 858,0$ dias). A evolução do peso no pós-operatório encontra-se na tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização da evolução do peso do grupo de voluntárias no pré e pós-operatório

Variável	T0 - antes da cirurgia	T1 - após a cirurgia	Diferença T0-T1 (média $\pm$ dp)	% diferença (média $\pm$ dp)
Peso (kg)	$128,5 \pm 17,0$	$87,2 \pm 15,2$	$41,3 \pm 11,5$	$32,12 \pm 7,72$
IMC (kg/m²)	$47,5 \pm 6,1$	$32,2 \pm 5,2$	$15,3 \pm 4,5$	$32,11 \pm 7,69$

Uma das voluntárias do grupo operado (V35) relatou ter engravidado no 8º mês de pós-operatório, em uso regular de AHCO contendo 0,15 mg de desogestrel e 0,02 mg de etinilestradiol (Mercilon Conti®).

6.2 Variáveis laboratoriais

Para avaliar os parâmetros farmacocinéticos de absorção do etinilestradiol e do levonorgestrel foram analisados: $C_{\text{máx}}$, $T_{\text{máx}}$, ASC_{0-8} e $ASC_{0-\infty}$.

Foram excluídas 2 voluntárias (V04 do grupo controle e V23 do grupo operado) da análise das variáveis laboratoriais porque apresentaram concentrações de EE e LNG diferentes de zero no tempo inicial (T0). Os parâmetros farmacocinéticos do EE e LNG encontram-se nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Descrição dos parâmetros farmacocinéticos do EE de acordo com o grupo

Variável	BGRY (n=19)				Controle (n=19)			
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Mínimo	Máximo
C_{máx} (pg/mL)	46,4 ± 16,0	43,1	23,1	84,2	46,7 ± 14,3	47,3	24,3	76,9
T_{máx} (h)	1,8 ± 0,8	1,5	1,0	4,0	2,0 ± 0,8	2,0	1,0	4,0
ASC₀₋₈ (pg*h/mL)	200,2 ± 44,1	194,3	102,8	285,6	197,7 ± 46,5	205,4	116,1	263,9
ASC_{0-∞} (pg*h/mL)	313,6 ± 74,4	303,8	126,1	428,3	299,4 ± 94,0	277,3	165,0	495,9

Tabela 5 - Descrição dos parâmetros farmacocinéticos do LNG de acordo com o grupo

Variável	BGRY (n=19)				Controle (n=19)			
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Mínimo	Máximo
C_{máx} (pg/mL)	1 909,5 ± 741,9	1 679,0	951,0	3 679,0	1 855,3 ± 616,2	1 949,0	822,0	2 906,0
T_{máx} (h)	1,7 ± 0,6	1,5	1,0	3,0	1,5 ± 0,6	1,5	1,0	3,0
ASC₀₋₈ (pg*h/mL)	7 711,8 ± 2 831,2	7 563,5	4 090,0	15 909,8	6 345,6 ± 2 012,8	6 498,0	3 617,3	10 537,5
ASC_{0-∞} (pg*h/mL)	12 093 ± 4 992,1	11 376,0	5 230,2	24 619,3	8 291,4 ± 2 961,6	8 154,7	4 755,2	14 294,7

Uma das voluntárias do grupo controle (V36), perdeu o acesso periférico no momento da última coleta (T08:00) e não foi possível realizar a análise nesse tempo do teste.

Nota-se uma grande variabilidade dos parâmetros farmacocinéticos entre as participantes dos dois grupos.

Ao se comparar a média das variáveis farmacocinéticas do etinilestradiol entre as mulheres operadas e não operadas, não houve diferença estatística em nenhum dos parâmetros entre os grupos (Tabela 6).

Tabela 6 - Comparação entre as médias das variáveis farmacocinéticas do EE entre o grupo de mulheres operadas e não operadas.

Variável	BGRY	Controle	p
$C_{\text{máx}}$ (pg/mL)	46,4 ± 16,0	46,7 ± 14,3	0,946
$T_{\text{máx}}$ (h)	1,8 ± 0,8	2,0 ± 0,8	0,329
ASC_{0-8} (pg*h/mL)	200,2 ± 44,1	197,7 ± 46,5	0,823
$ASC_{0-\infty}$ (pg*h/mL)	313,6 ± 74,4	299,4 ± 94,0	0,505

Em relação ao levonorgestrel, também não foi observada diferença estatística no $C_{\text{máx}}$ e $T_{\text{máx}}$ entre os grupos, porém o grupo de mulheres operadas apresentou uma maior ASC_{0-8} ($p=0,046$) e $ASC_{0-\infty}$ ($p=0,004$) quando comparado ao grupo controle, refletindo maior exposição sistêmica ao LNG (Tabela 7).

Tabela 7 - Comparação entre as médias das variáveis farmacocinéticas do LNG entre o grupo de mulheres operadas e não operadas

Variável	BGRY	Controle	p
$C_{\text{máx}}$ (pg/mL)	1 909,5 ± 741,9	1 855,3 ± 616,2	1,000
$T_{\text{máx}}$ (h)	1,7 ± 0,6	1,53 ± 0,6	0,346
ASC_{0-8} (pg*h/mL)	7 711,8 ± 2 831,2	6 345,6 ± 2 012,8	0,048*
$ASC_{0-\infty}$ (pg*h/mL)	12 093 ± 4 992,1	8 291,4 ± 2 961,8	0,004*

*p <0,05

A figura 5 ilustra as médias das concentrações de EE e LNG em relação ao tempo e o desvio padrão de cada grupo.

Figura 5 - Concentração plasmática de levonorgestrel (A) e etinilestradiol (B) em relação ao tempo em mulheres operadas e um grupo controle. A figura expressa média e desvio padrão

A comparação das concentrações dos hormônios nos 9 tempos de coleta, entre os dois grupos, foi realizada através da análise ANOVA two way não paramétrica, que possibilita a comparação entre as concentrações do hormônio em vários instantes de tempo na mesma análise. Não foi observada diferença estatística entre os grupos de mulheres operadas e não operadas, em nenhum dos tempos de coleta, tanto em relação ao EE (Tabela 8) quanto em relação ao LNG (Tabela 9).

Tabela 8 - Concentração de EE em todos os tempos de coleta de acordo com o grupo

Tempo	BGRY (n=19)				Controle (n=19)				p*
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	
00:00	0,0 ± 00,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,141
01:00	36,3 ± 16,7	36,0	16,9	76,4	28,7 ± 17,6	24,3	0,0	58,2	
01:30	41,2 ± 16,8	33,6	23,1	84,2	39,0 ± 18,1	35,7	11,7	76,9	
02:00	38,3 ± 14,4	37,5	20,5	70,2	40,6 ± 12,0	42,0	22,3	59,0	
02:30	34,1 ± 9,7	31,5	20,7	50,3	35,4 ± 9,4	36,7	19,7	48,4	
03:00	32,3 ± 9,9	30,8	17,8	53,9	31,9 ± 8,3	33,4	18,3	47,6	
04:00	24,8 ± 5,9	24,7	13,5	41,8	28,6 ± 7,0	27,9	16,5	44,0	
06:00	20,0 ± 5,6	20,8	9,2	31,2	18,6 ± 5,3	18,8	9,6	29,4	
08:00	14,6 ± 4,6	14,6	5,4	20,6	14,6 ± 4,6	14,1	7,5	26,8	

*ANOVA two way não paramétrica

Tabela 9 - Concentração de LNG em todos os tempos de coleta de acordo com o grupo

Tempo	BGRY (n=19)				Controle (n=19)				p*
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	
00:00	0,0 ± 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,178
01:00	1 517,6 ± 744,8	1 386,0	701,0	3 679,0	1 430,4 ± 868,1	1 427,0	0,0	2 793,0	
01:30	1 626,8 ± 618,1	1 465,0	700,0	3 086,0	1 625,7 ± 631,6	1 719,0	416,0	2 906,0	
02:00	1 531,3 ± 670,9	1 418,0	578,0	3 279,0	1 495,1 ± 509,8	1 421,0	694,0	2 591,0	
02:30	1 392,3 ± 691,0	1 244,0	530,0	3 427,0	1 173,2 ± 436,3	1 099,0	471,0	2 418,0	
03:00	1 212,8 ± 531,1	1 122,0	594,0	2 799,0	967,8 ± 357,0	951,0	416,0	2 020,0	
04:00	933,2 ± 403,7	949,0	457,0	2 119,0	729,3 ± 256,8	748,0	325,0	1 487,0	
06:00	704,0 ± 328,4	667,0	321,0	1 612,0	476,8 ± 202,0	424,0	227,0	981,0	
08:00	581,1 ± 271,1	546,0	248,0	1 293,0	352,4 ± 158,4	321,0	185	742,0	

*ANOVA two way não paramétrica

6.3 Análises de subgrupos

Para avaliar se o tempo após a cirurgia e o índice de massa corpórea no pós-operatório poderiam influenciar os parâmetros de absorção do EE e LNG após o BGRY, foram realizados modelos de regressão linear univariado.

6.3.1 Variáveis farmacocinéticas e tempo após a cirurgia

Foi objetivo secundário avaliar a influência do tempo após a cirurgia nas variáveis farmacocinéticas do EE e LNG entre as pacientes operadas. Após a regressão linear, não foram observadas diferenças significativas para nenhum parâmetro farmacocinético do etinilestradiol. No entanto, houve uma correlação positiva, estatisticamente significativa para AUC_{0-8} (r^2 0,24, $p = 0,045$) e $AUC_{0-\infty}$ (r^2 0,43; $p = 0,004$) do LNG (Figura 6). Esse resultado reflete que quanto maior o tempo após a cirurgia, maior a exposição sistêmica ao LNG.

Figura 6 - Análise de correlação entre tempo após a cirurgia em dias e ASC de LNG

6.3.2 Variáveis farmacocinéticas e índice de massa corpórea

Outro objetivo secundário foi avaliar a influência do IMC nas variáveis farmacocinéticas do EE e LNG entre as pacientes operadas. Não foram observadas diferenças significativas para nenhum parâmetro farmacocinético do EE. No entanto, houve uma correlação negativa, estatisticamente significativa para $C_{\text{máx}}$ ($r^2 = 0,32$ $p = 0,018$), AUC_{0-8} ($r^2 = 0,44$, $p = 0,003$) e $AUC_{0-\infty}$ ($r^2 = 0,53$; $p = 0,001$) do LNG (Figuras 7 e 8). Esse resultado reflete que quanto maior o IMC, menor a exposição sistêmica ao LNG.

Figura 7 - Análise de correlação entre IMC e variáveis farmacocinéticas de LNG ($AUC_{0-\infty}$)

Figura 8 - Análise de correlação entre IMC e variáveis farmacocinéticas de LNG (AUC_{0-8} e $C_{\text{máx}}$)

7 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o impacto do BGRY nos parâmetros farmacocinéticos do EE e LNG, após a administração de dose única de AHCO contendo 0,03 mg de EE e 0,15 mg de LNG em voluntárias operadas, comparadas a um grupo controle não operado, pareado por idade e IMC.

A literatura reporta um número limitado de estudos clínicos avaliando a absorção de drogas após o BGRY. Alguns autores relatam redução da absorção de drogas, outros relatam absorção inalterada ou até maior após a cirurgia. Assim, não é possível prever se determinada droga oral irá sofrer ou não alteração em sua absorção.^(17, 38, 42- 45)

Acredita-se que a absorção dos hormônios do anticoncepcional ocorra predominantemente no trato gastrointestinal alto.⁽⁹⁾ Dessa forma, após a realização do BGRY, a exclusão do duodeno e parte do jejuno levaria, teoricamente, a uma redução da sua absorção.

Nosso estudo não demonstrou diferença estatística nos parâmetros farmacocinéticos do etinilestradiol entre as pacientes operadas e não operadas. Uma justificativa para esse achado pode ser atribuída às propriedades do EE. Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB), que classifica os fármacos de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade, o EE é considerado classe 1 por apresentar alta solubilidade, alta permeabilidade, alto metabolismo e rápida dissolução. Dessa forma, a membrana intestinal é altamente permeável a essa classe, permitindo que a absorção ocorra principalmente por difusão passiva. Acredita-se que os transportadores intestinais não desempenhem um papel importante clinicamente para o seu processo de absorção.⁽⁶¹⁾ Assim, é

possível que mesmo após o BGRY, a absorção do EE ocorra no jejuno distal e íleo, dada a alta permeabilidade intestinal.

Em relação ao levonorgestrel, observamos um aumento significativo da área sob a curva da concentração sérica após a cirurgia bariátrica, tanto no período de 8h (ASC_{0-8}), quanto na $ASC_{0-\infty}$. Esse aumento da ASC sugere que o grupo operado apresentou maior exposição sistêmica ao LNG do que o grupo controle.

O aumento da ASC do LNG nas pacientes operadas sugere que a absorção do LNG não ocorre somente nas porções mais altas do TGI e que a alça alimentar também apresenta capacidade absorviva. Já foi demonstrado por Nilsson *et al.*⁽⁶²⁾ que o íleo é capaz de absorver o levonorgestrel.

O nosso achado de maior exposição sistêmica do LNG também poderia ser explicado pelas alterações anatômicas que ocorrem no bypass, com redução do volume do novo estômago e ausência do piloro, que aumentam a velocidade do esvaziamento gástrico, permitindo uma rápida transferência da droga ao intestino.⁽⁴³⁾

Além disso, é possível que ocorra o processo de “adaptação intestinal”, ao longo do tempo, que aumenta a capacidade de absorção da mucosa intestinal. Como a média de tempo de pós-operatório das nossas pacientes foi de 3,8 anos, muitas podem apresentar essa alteração intestinal, contribuindo para uma melhor exposição sistêmica à droga.

No início de 2020, foi publicado um estudo que avaliou os parâmetros farmacocinéticos do levonorgestrel oral em mulheres com IMC inferior a 30 kg/m² submetidas ao BGRY. Não foram encontradas diferenças significativas em relação ao grupo controle não operado, pareado por IMC, mostrando que o LNG foi bem absorvido após a cirurgia.⁽³⁷⁾ No entanto, os resultados desse

estudo só podem ser aplicados nessa população de mulheres operadas que atingiram IMC <30 kg/m². Além disso, apesar do estudo incluir pacientes com pelo menos 1 ano desde a cirurgia, não foi relatado o tempo de pós-operatório das participantes.

Ginstman *et al.*⁽³⁸⁾ avaliaram pela primeira vez os parâmetros farmacocinéticos do etonogestrel (metabólito ativo do desogestrel) após o BGRY. As pacientes fizeram uso do anticoncepcional contendo apenas esse progestagênio desde o pré-operatório e foram avaliadas antes da cirurgia e no pós-operatório de 12 semanas e de 1 ano. Foi observado um aumento significativo do pico de concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) após a cirurgia, comparado ao pré-operatório. No entanto, os autores não evidenciaram alteração na ASC e nos demais parâmetros, sugerindo que após o BGRY, não ocorram alterações significativas na farmacocinética do desogestrel. Nenhuma participante engravidou durante o período do estudo.⁽³⁸⁾

O metabolismo do desogestrel já havia sido avaliado *in vitro* por Madden *et al.*⁽⁶³⁾, demonstrando que íleo e cólon teriam capacidade de absorver e realizar o metabolismo de primeira fase.

Outro estudo avaliou a absorção de dois progestagênios muito usados em anticoncepcionais orais: levonorgestrel e noretisterona (NET) após o bypass jejunoileal, procedimento mais disabsortivo que o BGRY.⁽⁴⁰⁾ Ao contrário do que foi observado em nosso estudo, os autores relataram níveis plasmáticos mais baixos de LNG e NET no grupo operado, em relação ao grupo controle não operado, sugerindo uma menor capacidade de absorção após o bypass jejunoileal. Os achados, no entanto, não podem ser comparados com o nosso estudo, uma vez que esse procedimento é anatomicamente diferente do BGRY

e apresenta maior componente malabsortivo. O bypass jejunoileal é uma técnica que está em desuso nos dias de hoje por levar a graves complicações em curto e longo prazo. Cerca de 35 cm do jejuno proximal é conectado com 10 cm do íleo distal, excluindo do trânsito intestinal grande parte do intestino delgado para proporcionar uma importante má absorção.⁽⁶⁴⁾

O aumento da exposição sistêmica à algumas drogas após o bypass já foi evidenciado por outros autores, ao contrário do que foi exposto com o desogestrel.⁽⁴³⁻⁴⁵⁾

Outros autores observaram aumento da biodisponibilidade do paracetamol após a cirurgia bariátrica. Além de maiores médias de ASC e $C_{máx}$, foi observada menor $T_{máx}$ após a cirurgia. Esse aumento da taxa e da extensão da absorção do paracetamol pode ser explicado pelo esvaziamento gástrico mais acelerado resultante das alterações anatômicas do TGI e também sugere que grande parte do paracetamol pode ter sido absorvida ao longo da parede intestinal.⁽⁴⁵⁾

Maiores médias de $C_{máx}$ e da ASC da amoxicilina também foram observadas após 2 meses da realização do BGRY, sugerindo aumento na taxa de absorção da droga.⁽⁴³⁾ Apesar desses achados, a exposição sistêmica à amoxicilina permaneceu menor do que em indivíduos com peso normal, sugerindo interferência da obesidade nos seus parâmetros farmacocinéticos.⁽⁴⁴⁾

Um outro estudo comparou os parâmetros de absorção do ácido acetil salicílico (AAS), antes e após o BGRY, e evidenciou um aumento da sua exposição sistêmica no pós-operatório precoce. Após a cirurgia, além da elevação do $C_{máx}$ e da ASC, os pacientes apresentaram menor $T_{máx}$ sugerindo uma absorção mais rápida. A absorção do AAS ocorre em parte no estômago, por difusão passiva da droga não ionizada e a droga ionizada geralmente é absorvida no duodeno.

Os achados desse estudo sugerem, portanto, que o AAS também pode ser absorvido no jejuno, substituindo estômago e duodeno como locais de absorção.⁽⁶⁵⁾

Até o momento, a maioria dos estudos recomenda avaliar o efeito da droga no pós-operatório, através do monitoramento da sua eficácia, possíveis efeitos colaterais e concentração, sempre que possível. Os efeitos da perda de peso e a possível adaptação intestinal ao longo do tempo, devem ser considerados ao se avaliar a farmacocinética das drogas após a cirurgia bariátrica.⁽⁴³⁾

Apesar do presente estudo demonstrar um aumento na exposição sistêmica ao LNG, é importante ressaltar que foram avaliados apenas parâmetros de absorção e a dosagem seriada dos hormônios foi realizada após dose única do anticoncepcional, sem tomada diária prévia ao teste. Não foram avaliados parâmetros como volume de distribuição, *clearance*, meia-vida, que exercem influência importante na eficácia de uma droga.

Para ocorrer falha do anticoncepcional, as alterações farmacocinéticas devem estar associadas a menor supressão ovariana. Como o teste não foi realizado após o uso diário da pílula por um ou mais ciclos, também não foram avaliados desfechos clínicos como ativação ovariana e ovulação, desenvolvimento folicular através de ultrassom transvaginal, dosagens séricas de progesterona, avaliação de muco cervical. Assim, as alterações farmacocinéticas mostradas, não nos permitem sugerir que o AHCO seja eficaz e seguro nas pacientes submetidas ao BGRY.

Outro fator importante é que o tempo após a cirurgia das mulheres operadas variou entre 1,5 e 6,2 anos (média 3,8 anos) o que pode ter interferido na média dos resultados por conta do provável fenômeno de adaptação intestinal. Essa

alteração na mucosa intestinal aumentaria a capacidade absorptiva da porção do intestino que entra em contato com alimentos e drogas, e poderia ter influenciado na melhoria da absorção hormonal no grupo operado.^(11, 66-68)

Nosso estudo demonstrou que houve uma correlação positiva entre o tempo após a cirurgia e parâmetros de exposição sistêmica ao LNG. Isso pode ser considerada uma evidência indireta de que pode existir a adaptação intestinal com o passar do tempo. Outros autores já aventaram essa hipótese.^(11, 66-68)

Um estudo publicado em 1978 mostrou alterações adaptativas no intestino de pacientes submetidos ao bypass jejunoileal, através de biópsias do jejuno e do íleo. Foi observado aumento na superfície de absorção, secundário a dilatação e alongamento intestinal da alça alimentar, além de aumento da altura das vilosidades da mucosa do jejuno e íleo. Em contrapartida, houve redução da altura das vilosidades da alça excluída do trânsito, sugerindo atrofia dessa porção.⁽⁶⁶⁾ Apesar da pesquisa ter avaliado outra técnica de cirurgia bariátrica, os resultados sugerem que, em resposta ao contato com alimentos e nutrientes, existam alterações adaptativas para melhorar a capacidade de absorção da porção remanescente do intestino. Essa melhoria funcional poderia contribuir para a estabilização do peso corporal, após 12-18 meses da cirurgia, e permitir aumento da capacidade em absorver não só os nutrientes, mas também os medicamentos.

Em 2009, um estudo em roedores também evidenciou aumento na altura das vilosidades e na profundidade das criptas da mucosa intestinal, após a realização do BGRY, na alça exposta aos nutrientes.⁽⁶⁷⁾ Posteriormente, esse achado intestinal foi confirmado por outros autores, mas diante da dificuldade

em se avaliar as alterações em humanos, a maioria dos trabalhos é realizada em modelos roedores.^(11, 68)

Acredita-se que, após o BGRY, o esvaziamento gástrico acelerado e o contato direto com os nutrientes desencadeiem as alterações estruturais que levam ao aumento total da superfície intestinal de exposição ao conteúdo do lúmen.^(11,68)

Savassi-Rocha *et al.*⁽⁶⁹⁾ demonstraram um aumento significativo na taxa de excreção urinária de manitol, após a ingestão de solução oral, no pós-operatório de 6 meses do BGRY em 16 pacientes, em relação ao pós-operatório de 1 mês. Esse aumento reflete uma melhora da absorção intestinal do manitol e reforça a hipótese de adaptação intestinal.

Outro estudo em modelos animais mostrou que as alterações na morfologia intestinal ocorreram de forma mais acentuada nos segmentos de maior contato com os nutrientes (parte proximal da alça alimentar e parte distal da alça comum) sugerindo que esse contato com o alimento estimula a adaptação intestinal observada após o BGRY. Também foram observados aumento da proliferação celular e redução das taxas de apoptose.⁽⁶⁸⁾

le Roux *et al.*⁽⁷⁰⁾ avaliaram o efeito do BGRY na proliferação celular das criptas em modelos animais e nos níveis de GLP-2 em roedores e humanos. Nos animais foram observados espessamento do intestino delgado e aumento da proliferação celular nas criptas do íleo sugerindo que essas alterações tenderiam a restaurar a superfície de absorção intestinal. Também foi observado aumento do GLP-2 tanto nos roedores quanto em humanos, que é um dos principais fatores que estimulam a proliferação da mucosa e reduzem apoptose.

Esses achados sugerem que, em humanos, também ocorram alterações na morfologia intestinal possibilitando o aumento da sua capacidade absorptiva. Assim, como observamos que o tempo após a cirurgia influenciou a exposição sistêmica do levonorgestrel, acreditamos que este achado pode ser uma evidência indireta do fenômeno de adaptação intestinal.

No entanto, como o estudo avaliou apenas parâmetros de absorção e não avaliou os desfechos clínicos, não podemos afirmar que ao longo do tempo o uso do anticoncepcional seja seguro e que o LNG permaneça acima da concentração mínima necessária para inibir a ovulação.

O presente estudo também observou uma diferença significativa na exposição sistêmica do LNG em relação ao IMC. Houve uma correlação negativa entre IMC elevado no pós-operatório e parâmetros farmacocinéticos de exposição sistêmica ao LNG. As mulheres operadas que permaneceram com IMC mais elevado apresentaram menores $C_{\text{máx}}$, ASC_{0-8} e $ASC_{0-\infty}$ do que aquelas que atingiram IMC menores. Durante muitos anos, os estudos clínicos com anticoncepcionais excluíram mulheres com mais de 130% do seu peso ideal, deixando uma lacuna na compreensão da sua eficácia nessa população com excesso de peso.⁽⁴⁷⁾

Posteriormente, a relação entre obesidade e farmacocinética dos anticoncepcionais foi avaliada por alguns autores.⁽⁵¹⁾ O IMC pode interferir nos parâmetros farmacocinéticos de uma droga através da biodisponibilidade, metabolismo hepático, metabolismo renal e volume de distribuição.⁽⁴⁸⁾ A maioria dos estudos que comparam voluntárias obesas com mulheres eutróficas mostra redução modesta da exposição aos hormônios nas pacientes com obesidade.⁽⁵¹⁾ Acredita-se que uma possível falha anticonceptiva associada à obesidade, seja

decorrente de concentrações hormonais mais baixas, secundárias ao maior volume de distribuição na massa gorda.⁽²³⁾

Os resultados do presente estudo estão de acordo com uma recente pesquisa que avaliou os parâmetros de EE e LNG de 4 estudos realizados por três investigadores independentes, somando uma população de 89 mulheres. Foi observada uma redução na exposição sistêmica de EE e LNG ($C_{\text{máx}}$ e ASC) nas participantes com obesidade, além de maior meia-vida e maiores parâmetros de distribuição, podendo ser atribuídos ao aumento do tecido adiposo.⁽⁷¹⁾ Edelman *et al.*⁽²³⁾ por sua vez, avaliaram se o IMC impactaria na farmacocinética do anticoncepcional contendo 0,02 mg de EE e 0,10 mg de LNG e na supressão de eixo HHO. Em oposição aos nossos resultados, foram observadas maiores médias de ASC do EE e do LNG, maior média de meia-vida e maior tempo para se atingir a estabilidade nas pacientes com obesidade. Esse tempo mais prolongado para atingir a estabilidade sugere que as mulheres obesas requerem um intervalo maior para atingir a concentração inibitória da droga, o que poderia levar ao recrutamento ovariano e ovulação. O estudo também mostrou maior desenvolvimento folicular e possibilidade de ovulação em mulheres com obesidade, porém não avaliou todos os potenciais mecanismos anticonceptivos do método e a fertilidade das pacientes.

Outro estudo publicado pelo mesmo autor avaliou os parâmetros farmacocinéticos por um período mais prolongado (168 h), visando aumentar a acurácia dos resultados, e evidenciou maior meia-vida, maior tempo para atingir a estabilidade e maior ASC nas mulheres com obesidade. No entanto, não houve correlação entre a severidade das alterações farmacocinéticas e os sinais de ativação do eixo HHO. Os achados não conseguem provar redução da eficácia

anticonceptiva nas mulheres com obesidade, mas pode gerar preocupação se o método for associado a uma aderência inadequada.⁽⁵⁴⁾

Silvin *et al.*⁽⁷²⁾ demonstraram a importância da concentração plasmática mínima do LNG na eficácia anticonceptiva em mulheres usando implante de levonorgestrel. Os autores observaram que as mulheres com maior peso apresentaram as concentrações hormonais mais baixas e, independente do peso corporal, as mulheres que engravidaram durante o estudo apresentaram valores de LNG abaixo de 180 pg/ml.

É importante reforçar que as mulheres com obesidade apresentam maiores taxas de subfertilidade em relação às mulheres com peso normal.⁽⁷³⁾ No entanto, classicamente, a cirurgia bariátrica induz a uma melhora na fertilidade. Dessa forma, o achado de menor exposição sistêmica ao LNG nas mulheres com maior IMC pode aumentar o risco de falha do anticoncepcional.

Nossos resultados não podem ser aplicados para anticoncepcionais com outras composições, outras vias de administração e a outras técnicas de cirurgia bariátrica. Mais pesquisas são necessárias para avaliar o desfecho clínico antes que se alterem as recomendações para o uso de anticoncepcionais hormonais combinados orais após o BGRY.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou um aumento na exposição sistêmica do levonorgestrel após o BGRY. Não houve diferença nos parâmetros farmacocinéticos do etinilestradiol.

Observamos que houve uma correlação positiva entre o tempo após a cirurgia e a exposição sistêmica ao LNG. Esse resultado reforça a hipótese de que possivelmente ocorra adaptação intestinal ao longo do tempo.

Nosso estudo reforça que o IMC interfere nos parâmetros farmacocinéticos do LNG.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santos LMP, Oliveira IV, Peters LR, Conde WR. Trends in Morbid Obesity and in Bariatric Surgeries Covered by Brazilian Public Health System. *Obes Surg*. 2010;20(7):943-8.
2. Mancini MC. *Tratado de obesidade*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2015.
3. Merhi ZO. Impact of bariatric surgery on female reproduction. *Fertil Steril*. 2009;92(5):1501-8.
4. VIGITEL Brasil 2018. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/julho/25/vigitel-brasil-2018.pdf>>. Acesso em 07 de março de 2020.
5. Paulen ME, Zapata LB, Cansino C, Curtis KM, Jamieson DJ. Contraceptive Use Among Women with History of Bariatric Surgery: a Systematic Review. *Contraception*. 2010;82:86-94.
6. American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS). Estimate of Bariatric Surgery Numbers, 2011-2017. Disponível em: <<https://asmbs.org/resources/estimate-of-bariatric-surgery-numbers>>. Acesso em: 21 de outubro de 2018.
7. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Número de cirurgias bariátricas no Brasil aumenta 46,7%. Disponível em: <<https://www.sbcm.org.br/numero-de-cirurgias-bariatricas-no-brasil-aumenta-467/>>. Acesso em 15 setembro de 2018.
8. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Cirurgia Bariátrica cresce 84,73% entre 2011 e 2018. Disponível em: <<https://www.sbcm.org.br/cirurgia-bariatrica-cresce-8473-entre-2011-e-2018/>> Acesso em 02 de março de 2020.
9. Smith A, Henriksen B, Cohen A. Pharmacokinetics Considerations in Roux-en-Y Gastric Bypass Patients. *Am J Health Syst Pharm*. 2011;68(23):2241-7.
10. Wellbourn R, Fiennes A, Walton P, *et al*. The National Bariatric Surgery Registry: First Registry Report to March 2010. Henley-on-Thames, UK: Dendrite Clinical Systems Limited, 2011.
11. Cavin JB, Bado A, Le Gall M. Intestinal Adaptations after Bariatric Surgery: Consequences on Glucose Homeostasis. *Trends Endocrinol Metab*. 2017;28(5):354-364.
12. da Silva PT, Patias LD, Alvarez Gda C, Kirsten VR, Colpo E, de Moraes CM. Profile of patients who seek the bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig*. 2015;28(4):270-3.
13. Merhi ZO. Revising Optimal Hormonal Contraception Following Bariatric Surgery. *Contraception*. 2013;87:131-3.
14. Maggard MA, Yermilov I, Li Z, Maglione M, Newberry S, Suttrop M, Hilton L, Santry HP, Morton JM, Livingston EH, Shekelle PG. Pregnancy and Fertility Following Bariatric Surgery. *A Systematic Review*. *JAMA*. 2008;300(19):2286-96.
15. Pournaras D, Manning L, *et al*. Polycystic ovary syndrome is common in patients undergoing bariatric surgery in a British center. *Fertil Steril*. 2010;94(2):e41.
16. Mengesha BM, Carter JT, Dehlendorf CE, Rodriguez AJ, Steinauer JE. Perioperative pregnancy interval, contraceptive counseling experiences, and contraceptive use in women undergoing bariatric surgery. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219(1):81.e1-9.
17. Yska JP, Van der Linde S, Tapper VV, Apers JÁ, Emous M, Totté ER, Wilffert B, Van Roon EM. Influence of Bariatric Surgery on the Use and Pharmacokinetics of Some Major Drug Classes. *Obes Surg*. 2013;23(6):819-25.
18. Chor J, Chico P, Ayloo S, Roston A, Kominiarek MA. Reproductive health counseling and practices: A crosssectional survey of bariatric surgeons. *Surg Obes Relat Dis*. 2015;187-92.
19. Luyssen J, Jans G, Bogaerts A, Ceulemans D, Matthys C, Van der Schueren B, Lannoo M, Verhaeghe J, Lemmens L, Lannoo L, Shawe J, Devlieger R. Contraception, Menstruation, and Sexuality after Bariatric Surgery: a Prospective Cohort Study. *Obes Surg*. 2018;28(5):1385-93.
20. Merhi ZO. Challenging Oral Contraception after Weight Loss by Bariatric Surgery. *Gynecol Obstet Invest*. 2007;64:100-2.
21. Shaw KA, Edelman AB. Obesity and Oral Contraceptives: A Clinician's Guide. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013;27:55-65.
22. Stanczyk FZ, Archer DF, Bhavnani BR. Ethinyl estradiol and 17 β -estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assesment. *Contraception*. 2013;87(6):706-27.
23. Edelman AB, Carlson NE, Cherala G, Munar MY, Stouffer RL, Cameron JL, Stanczyk FZ, Jensen JT. Impact of Obesity on Oral Contraceptive Pharmacokinetics and Hypothalamic-Pituitary-ovarian activity. *Contraception*. 2009;80(2):119-27.
24. Titus R, Kastenmeier A, Otterson MF. Consequences of gastrointestinal surgery on drug absorption. *Nutrition in Clinical Practice*. 2013;28(4):429-36.

25. Padwal R, Brocks D, Sharma AM. A Systematic Review of Drug Absorption Following Bariatric Surgery and its Theoretical Implications. *Obesity Reviews*. 2009;11:41-50.
26. Schlatter J. Oral contraceptives after bariatric surgery. *Obes Facts*. 2017;10:118-26.
27. Azran C, Wolk O, Zur M, Fine-Shamir N, Shaked G, Czeiger D, Sebbag G, Kister O, Langguth P, Dahan A. Oral drug therapy following bariatric surgery: an overview of fundamentals, literature and clinical recommendations. *Obes Rev*. 2016;17(11):1050-66.
28. Gerrits EG, Ceulemans R, van Hee R, Hendrickx L, Totté E. Contraceptive treatment after biliopancreatic diversion needs consensus. *Obes Surg*. 2003;13(3):378-82.
29. Jacobson JC, Murphy PA. United States Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use 2010: A Review of Changes. *Journal of Midwifery and Women's Health*. 2011;56(6):598-607.
30. Mechanick JI, Youdim A, Jones DB, Garvey WT, Hurley DL, McMahon MM, *et al*. Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient–2013 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery. *Obesity* (Silver Spring). 2013;21 Suppl 1:S1-27.
31. Ostrowska L, Lech M, Stefanska E, Jastrzebska-Mierzynska M, Smarkusz J. The use of contraception for patients after bariatric surgery. *Ginekol Pol*. 2016;87,8:591-3.
32. Graham Y, Wilkes S, Mansour D, Small PK. Contraceptive needs of women following bariatric surgery. *J Fam Plann Reprod Health Care*. 2014;40:241-4
33. UK Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use (UKMEC 2009). London, UK: FSRH, 2009.
34. Menke MN, King WC, White GE, Gosman GG, Courcoulas AP, Dakin GF, Flum DR, Orcutt MJ, Pomp A, Pories WJ, Purnell JQ, Steffen KJ, Wolfe BM, Yanovski SZ. *Obstet Gynecol*. 2017;130(5):979-87.
35. Ginstman C, Frisk J, Ottonsson J, Brynhildsen J. Contraceptive Use Before and After Gastric Bypass. *Obes Surg*. 2015;25(11):2066-70.
36. Damhof MA, Pierik E, Krens LL, Vermeer M, van Det MJ, van Roon EN. Assessment of Contraceptive Counseling and Contraceptive Use in Women After Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2019;29(12):4029-35.
37. Ginstman C, Kallner HK, Fagerberg-Silwer J, Carlsson B, Årlemalm A, Böttiger Y, Brynhildsen J. Pharmacokinetics of Oral Levonorgestrel in Women After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery and in BMI-Matched Controls. *Obes Surg*. 2020;30(6):2217-24.
38. Ginstman C, Frisk J, Carlsson B, Årlemalm A, Hagg S, Brynhildsen J. Plasma Concentration of Etonogestrel in obese women using oral desogestrel before and after Roux-en-Y gastric bypass surgery (RYGB): a Pharmacokinetic Study. *BJOG*. 2019;126(4):486-92.
39. Ciangura C, Corigliano N, Basdevant A, Mouly S, Declèves X, Touraine P, Lloret-Linares C. Etonogestrel concentrations in morbidly obese women following Roux-en-Y gastric bypass surgery: three case reports. *Contraception*. 2011;84:649-51.
40. Victor A, Odland V, Kral JG. Oral contraceptive absorption and sex hormone binding globulins in obese women: effects of jejunoileal bypass. *Gastroenterol Clin North Am*. 1987;16:483-91.
41. WHO Medical Eligibility Criteria (MEC) for contraceptive use. 2015; 5th edition. World Health Organization, Geneva.
42. Roerig JL, Steffen K, Zimmerman C, Mitchell JE, Crosby RD, Cao L. Preliminary comparison of sertraline in postbariatric surgery patients versus matched nonsurgical cohort. *Surg Obes Relat Dis*. 2012;8:62-6.
43. Angeles PC, Robertsen I, Seeberg LT, Krogstad V, Skattebu J, Sandbu R, Åsberg A, Hjelmæsæth J. The influence of bariatric surgery on oral drug bioavailability in patients with obesity: A systematic review. *Obes Rev*. 2019;20:1299–1311.
44. Rocha MBS, De Nucci G, Lemos FN, Babadopulos RFAL, Rohleder AVP, Fachine FV, Antunes NJ, Mendes GD, Nascimento DF, Moraes MO, Moraes MEA. Impact of Bariatric Surgery on the Pharmacokinetics Parameters of Amoxicillin. *Obes Surg*. 2019;29(3):917-27.
45. Arno AG, Farré M, Rodríguez-Morató J, Ramon JM, Pérez-Mañá C, Papaseit E, Civit E, Langohr K, Ili Carbó M, Boix DB, Nino OC, Le Roux JAF, Pera M, Grande L, la Torre R. Pharmacokinetics in Morbid Obesity: Influence of Two Bariatric Surgery Techniques on Paracetamol and Caffeine Metabolism. *Obes Surg*. 2017;27(12):3194-3201.
46. Hamad GG1, Helsel JC, Perel JM, Kozak GM, McShea MC, Hughes C, Confer AL, Sit DK, McCloskey CA, Wisner KL. The effect of gastric bypass on the pharmacokinetics of serotonin reuptake inhibitors. *Am J Psychiatry*. 2012;169(3):256-63.
47. Simmons KB, Edelman AB. Hormonal contraception and obesity. *Fertil Steril*. 2016;106(6):1282-88.
48. Edelman AB, Cherala G, Stanczyk FZ. Metabolism and Pharmacokinetics of Contraceptive steroids in Obese Women: a Review. *Contraception*. 2010;82:314-23.
49. Cipriani S, Todisco T, Scavellio I, Di Stasi V, Maseroli E, Vignozzi L. Obesity and hormonal contraception: an overview and a clinician's practical guide. *Eat Weight Disord*. 2019 Sep 12 (Published online).

50. Robinson JA, Burke AE. Obesity and hormonal contraceptive efficacy. *Womens Health* (Lond). 2013;9(5):453-66.
51. Jusko WJ. Clarification of contraceptive drug pharmacokinetics in obesity. *Contraception*. 2017; 95:10-16.
52. Westhoff CL, Torgal AH, Mayeda ER, Pike MC, Stanczyk FZ. Pharmacokinetics of a combined oral contraceptive in obese and normal-weight women. *Contraception*. 2010;81:474-80.
53. Rodriguez MI, Edelman AB. Safety and efficacy of contraception- Why should obese women be any different?. *Rev Endocr Metab Disord*. 2011;12:85-91.
54. Edelman AB, Cherala G, Munar MY, DuBois B, McInnis M, Stanczyk FZ, Jensen JT. Prolonged Monitoring of Ethinyl Estradiol and Levonorgestrel Levels Confirms an Altered Pharmacokinetic Profile in Obese Oral Contraceptive Users. *Contraception*. 2013;87:220-6.
55. Natavio M, Stanczyk FZ, Molins EAG, Nelson A, Jusko WJ. Pharmacokinetics of the 1.5 mg levonorgestrel emergency contraceptive in women with normal, obese and extremely obese body mass index. *Contraception*. 2019;99(5):306-11.
56. Borges NC1, Astigarraga RB, Sverdlhoff CE, Galvinas PR, da Silva WM, Rezende VM, Moreno RA. A novel and sensitive method for ethinylestradiol quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to atmospheric pressure photoionization (APPI) tandem mass spectrometry: application to a comparative pharmacokinetics study. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009;877(29):3601-9.
57. Grebe SKG, Singh RJ. LC-MS/MS in the Clinical Laboratory – Where to From Here?. *Clin Biochem Rev*. 2011;32(1):5-31.
58. Lanças FM. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”?. *Scientia Chromatographica*. 2009;1(2):35-61.
59. Iglesias AH. Introdução ao Acoplamento Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/17MET/minicursos/introducao%20ao%20acoplamento%20cromatografia%20liquida%20-%20espectrometria%20de%20massas.pdf>>. Acessado em: 10 de Março de 2020.
60. Biodisponibilidade: definição. Disponível em: <<https://slideplayer.com.br/slide/11813440/>> Acessado em: 22 de março de 2020.
61. Custodio JM, Wu CY, Benet LZ. Predicting drug disposition, absorption/ elimination/ transporter interplay and the role of food on drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60(6):717–33.
62. Nilsson LO, Victor A, Kral JG, Johansson EDB, Kock NG. Absorption of an oral contraceptive gestagen in ulcerative colitis before and after proctectomy and construction of a continence ileostomy. *Contraception*. 1985;31:195-204.
63. Madden S, Back DJ, Martin CA, Orme MLE. Metabolism of the contraceptive steroid desogestrel by the intestinal mucosa. *Br J Clin Pharmacol*. 1989;27:295-299.
64. Singh D, Laya AS, Clarkston WK, Allen MJ. Jejunoileal bypass: a surgery of the past and a review of its complications. *World J Gastroenterol*. 2009;15(18):2277-9.
65. Mitrov-Winkelmoen L, van Buul-Gast MCW, Swank DJ, Overdiek HWPM, Van Schaik RHN, Touw DJ. The Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery in Morbidly Obese Patients on Pharmacokinetics of (Acetyl)Salicylic Acid and Omeprazole: the ERY-PAO Study. *Obes Surg*. 2016;26(9):2051-8.
66. Solhaug JH, Tvette S. Adaptive changes in the small intestine following bypass operation for obesity. *Scand J Gastroenterol*. 1978;13(4):401-8.
67. Stearns AT, Balakrishnan A, Tavakkolizadeh A. Impact of roux-en-Y gastric by-pass surgery on rat intestinal glucose transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;297:G950-7.
68. Taqi E, Wallace LE, de Heuvel E, Chelikani PK, Zheng H, Berthoud HR, Holst JJ, Sigalet DL. The influence of nutrients, biliary-pancreatic secretions, and systemic trophic hormones on intestinal adaptation in a Roux-en-Y bypass model. *J Pediatr Surg*. 2010;45(5):987-95.
69. Savassi-Rocha AL, Diniz MT, Vilela EG, Diniz Mde F, Sanches SR, da Cunha AS, Ferrari Mde L, Torres HO, Maciente BA, Ataliba GS, Araújo PM, Guerra TB, Balbino IK. Changes in intestinal permeability after Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg*. 2014;24(2):184-90.
70. le Roux CW, Borg C, Wallis K, Vincent RP, Bueter M, Goodlad R, Ghatei MA, Patel A, Bloom SR, Aylwin SJ. Gut hypertrophy after gastric bypass is associated with increased glucagon-like peptide 2 and intestinal crypt cell proliferation. *Ann Surg*. 2010;252(1):50-56.
71. Luo D, Westhoff CL, Edelman AB, Natavio M, Stanczyk FZ, Jusko WJ. Altered pharmacokinetics of combined oral contraceptives in obesity- multistudy assessment. *Contraception*. 2019;99:256-63.
72. Silvín I, Wan L, Ranta S, Alvarez F, Brache V, Mishell Jr DR, Darney P, Biswas A, Diaz S, Kiriwat O, Anant MP, Klaisle C, Pavez M, Schechter J. Levonorgestrel concentrations during 7 years of continuous use of Jadelle contraceptive implants. *Contraception*. 2001;64:43-9.
73. Broughton DE, Moley KH. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertil Steril*. 2017;107(4):840–7.