

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

**FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA TRANSFERÊNCIA
PLACENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM
SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS**

Cláudia de Oliveira Baraldi

Ribeirão Preto

2007

CLÁUDIA DE OLIVEIRA BARALDI

**FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA TRANSFERÊNCIA
PLACENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM
SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS**

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

Área de concentração: Tocoginecologia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli

Ribeirão Preto

2007

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

Baraldi, Cláudia de Oliveira

Farmacocinética e análise da transferência placentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos. Ribeirão Preto, 2007.

76p. : il.; 30cm

Pró-forma da dissertação de mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Tocoginecologia.

Orientador: Cavalli, Ricardo de Carvalho

1.Síndrome dos ovários policísticos – 2.Gestação – 3.Metformina –
4.Farmacocinética – 5.Transferência placentária

Oração Celta

“Que jamais, em tempo algum, o teu coração acalante ódio.

Que o canto da maturidade jamais asfixie a tua criança interior.

Que o teu sorriso seja sempre verdadeiro.

Que as perdas do teu caminho sejam sempre encaradas como lições de vida.

Que a musica seja tua companheira de momentos secretos contigo mesmo.

Que os teus momentos de amor contenham a magia de tua alma eterna em cada beijo.

Que os teus olhos sejam dois sóis olhando a luz da vida em cada amanhecer.

Que cada dia seja um novo recomeço, onde tua alma dance na luz.

Que em cada passo teu fiquem marcas luminosas de tua passagem em cada coração.

Que em cada amigo o teu coração faça festa, que celebre o canto da amizade profunda que liga as almas afins.

Que em teus momentos de solidão e cansaço, esteja sempre presente em teu coração a lembrança de que tudo passa e se transforma, quando a alma é grande e generosa.

Que o teu coração voe contente nas asas da espiritualidade consciente, para que tu percebas a ternura invisível, tocando o centro do teu ser eterno.

Que um suave acalento te acompanhe, na terra ou no espaço, e por onde quer que o imanente invisível leve o teu viver.

Que o teu coração sinta a presença secreta do inefável!

Que os teus pensamentos e os teus amores, o teu viver e a tua passagem pela vida, sejam sempre abençoados por aquele amor que ama sem nome.

Aquele amor que não se explica, só se sente.

Que esse amor seja o teu acalento secreto, viajando eternamente no centro do teu ser.

Que este amor transforme os teus dramas em luz, a tua tristeza em celebração, e os teus passos cansados em alegres passos de dança renovadora.

Que jamais, em tempo algum, tu esqueças da Presença que está em ti e em todos os seres.

Que o teu viver seja pleno de Paz e Luz!”

Agradecimento Especial

A Deus

“Você se fez presente em todos os momentos firmes ou trêmulos.

*E, passo a passo, pude sentir a Sua mão na minha, transmitindo-me a
segurança necessária para enfrentar o meu caminho e seguir ...*

*A Sua presença é qualquer coisa como a luz e a vida, e eu sinto que, em
meu gesto, existe o Seu gesto e em minha voz, a Sua voz.”*

Vinícius de Moraes

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli, meu orientador, pela amizade, compreensão, incentivo e pela confiança em mim depositada. Exemplo admirável de dedicação e amor ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Geraldo Duarte, pela participação fundamental em minha formação como médica, por me acolher e me apoiar nos momentos difíceis, por me instigar na busca de respostas, incentivar nas lutas diárias e por me fazer acreditar na integridade dos seres humanos. Exemplo de determinação, disciplina e dedicação ao ensino e à pesquisa.

Ao Dr. Rafael Yano, grande mestre, que confiou em minhas mãos, muitas vezes ainda trêmula pela inexperiência do ato; entretanto, esta confiança me tornou apta a exercer a Obstetrícia e tentar seguir os seus passos. Grande amigo e incentivador, responsável por despertar em mim, ainda na graduação, a paixão pela Obstetrícia.

A Prof.^a Teresa Maria Carvalho, por me apresentar um mundo novo, o laboratório de farmacocinética; pela paciência, dedicação e pela ajuda fundamental para o desenvolvimento desse trabalho.

A Prof. Dra. Rosana Reis, pelas valiosas sugestões realizadas e pela disponibilidade de participação na banca examinadora.

A Prof. Dra. Vera Lanchote, pela contribuição no desenvolvimento deste projeto, pelo apoio e orientação, e também pela disponibilidade de participação na banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Francisco José Cândido dos Reis, pela valiosa contribuição em meu exame de qualificação para o mestrado.

Aos meus queridos amigos, minha segunda família: Maria Rita, mãe-irmã, que me traz à razão em momentos difíceis e me mostra o caminho; Stefânia, que me diz como ser forte e nunca desistir; Conrado, que me inspira a paz; Flávia

Aguiar, que me ensina alegria e fé; Flávia Raquel, que me mostra disciplina; Daniela Barra, exemplo de desprendimento e dedicação; Alexandre, amigo de mais longa jornada; Renato, que compartilhou comigo meu presente mais valioso; Daniela Busato e Danielle Ramos, exemplos de que para amigos de verdade não existe distância; e meu amigo-irmão Daniel Leal.

Ao querido Ângelo, filho do coração, por compreender minha ausência em tantos momentos, e por me proporcionar a experiência maravilhosa da maternidade.

Às queridas amigas do Centro Obstétrico: Claudemira, Vitória, Célia, Sandra, Adriana, Maria Ângela, Neide, Edimaura, Claudinéia e Cáritas, que me ajudaram nas punções venosas e coletas de sangue. Saudade de nosso trabalho em equipe.

Aos meus queridos amigos, companheiros de árdua jornada, Areana, Fernando, Nelson, Antônio, Marcos e Ana Carolina.

Às colegas Carolina Sales e Elaine, que me enviaram pacientes para este projeto.

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

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

Aos meus pais, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e, finalmente, pela maneira torta e dolorosa, porém necessária, que me fizeram aprender a cortar meu cordão umbilical.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Síndrome dos ovários policísticos	2
1.2 Metformina	4
1.3 Síndrome dos ovários policísticos e ciclo gravídico puerperal	6
1.4 Metformina e gestação.....	8
1.5 Farmacocinética das drogas utilizadas na gestação	8
1.6 Farmacocinética da metformina	10
1.7 Justificativa.....	11
2 OBJETIVOS	13
3 PACIENTES E MÉTODOS	15
3.1 Casuística.....	15
3.1.1 Aspectos éticos do projeto.....	15
3.1.2 Seleção de pacientes	15
3.2 Métodos	16
3.2.1 Identificação	16
3.2.2 Diagnóstico de SOP.....	17
3.2.3 Exames para rastreamento de desordens metabólicas em pacientes com SOP	17
3.2.4 Coleta de amostras sanguíneas.....	18
3.2.5 Análise bioquímica no plasma materno	19

3.2.6 Estimativa da função renal	20
3.2.7 Metodologia laboratorial para determinação da metformina	20
3.2.7.1 Análise da metformina em plasma	20
3.2.7.2 Análise farmacocinética da metformina	24
3.3 Análise estatística	26
4 RESULTADOS	28
4.1 Características da amostra materna	28
4.2 Características dos recém-nascidos	31
4.3 Avaliação bioquímica materna	32
4.4 Análise das concentrações de metformina em plasma	34
4.5 Farmacocinética da metformina	38
4.6 Avaliação da transferência placentária	39
5 DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÕES.....	55
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	70
Anexo A: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto	70
Anexo B: Termo de consentimento livre e esclarecido	71
Anexo C: Dados individuais coletados durante o estudo	73

RESUMO

BARALDI, C.O. Farmacocinética e análise da transferência placentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos. 2007. **Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.**

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é a endocrinopatia ginecológica mais freqüente no menacne, com prevalência variando entre 3 e 17%. A metformina pertence ao grupo das biguanidas, uma classe de drogas antidiabéticas orais e tem sido utilizada com freqüência no tratamento de pacientes com SOP com obtenção de benefícios relevantes.

O uso de metformina durante toda a gestação, por gestantes com SOP, reduz significativamente o número de abortos espontâneos de primeiro trimestre, a taxa de ocorrência de diabetes gestacional e de síndromes hipertensivas. O objetivo deste trabalho foi investigar a farmacocinética e a análise da transferência placentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos.

Foram avaliadas nove gestantes com SOP, em uso de metformina 850mg via oral, de 12/12 horas e foram submetidas à avaliação da concentração plasmática por um período de oito horas no terceiro trimestre da gestação e submetidas a avaliação no momento do parto.

Foram coletadas amostras sangüíneas maternas nos tempos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 minutos e amostras de sangue materno e do cordão umbilical no momento do parto para determinação das concentrações de metformina por cromatografia. Determinadas as concentrações, foram traçadas as curvas de concentração em função do tempo e análise farmacocinética monocompartimental por intervalo de dose para a metformina, determinando-se $t^{1/2}$, t_{max} , C_{max} , AUC^{0-12} , $C_{média}$, Flutuação, Cl/f e Vd/f . Com base nas concentrações maternas e fetais no momento do nascimento, foi determinada a relação feto/materna desse fármaco.

Os parâmetros farmacocinéticos encontrados foram: mediana do $t^{1/2}$ foi de 4,1 h e da t_{max} foi de 2,66 h. A mediana da C_{max} foi de 1,17 $\mu\text{g/mL}$ e da $C_{média}$ de 0,51 $\mu\text{g/mL}$. A

mediana da AUC⁰⁻¹² foi de 6,15 µg.h/mL, do Cl/f foi de 138,12 L/h, do Vd/f foi de 755,82 L e da flutuação de 140,01%. No momento do parto, a concentração plasmática materna foi de 0,37 µg/mL e a fetal de 0,33 µg/mL, com relação feto/materna mediana de 0,74. O Cmax da metformina apresentou diminuição em relação a pacientes não gestantes, provavelmente em função do aumento do volume de distribuição e aumento da excreção renal decorrentes da gestação. Estes dados nos levam a atentar para a possível necessidade de aumento de dose durante a gestação.

O estudo evidenciou transferência placentária da metformina em razões de aproximadamente 75%, alertando para a elevada transferência deste fármaco através da barreira placentária.

Palavras-chaves: Síndrome dos ovários policísticos – Gestação –Metformina – Farmacocinética – Transferência placentária

ABSTRACT

BARALDI, C.O. Pharmacokinetics and analysis of placental transfer of metformin in pregnant women with polycystic ovary syndrome. 2007. **Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.**

Polycystic Ovary Syndrome (POS) is the most frequent gynecologic endocrinopathy during menacme, with a prevalence ranging from 3 to 17%. Metformin, a drug belonging to the biguanide group, a class of oral antidiabetic drugs, has been frequently used for the treatment of patients with POS, with relevant benefits.

The use of metformin throughout gestation by women with POS significantly reduced the number of spontaneous abortions during the first trimester and the rate of gestational diabetes and of hypertensive syndromes. The objective of the present study was to investigate the pharmacokinetics and the placental transfer of meformin in pregnant women with POS.

Nine pregnant women with POS were evaluated. All were taking 850 mg metformin by the oral route every 12 hours and all were submitted to evaluation of plasma concentration for a period of 8 h during the third trimester of pregnancy and to evaluation at the time of delivery.

Maternal blood samples were collected at 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes and at the time of delivery, together with an umbilical cord sample for the determination of metformin concentration by high performance liquid chromatography (HPLC). Concentration curves were then constructed as a function of time and of monocompartmental pharmacokinetic analysis by dose interval for metformin, with the determination of $t^{1/2}$, t_{max} , C_{max} , AUC^{0-12} , C_{mean} , Fluctuation, Cl/f , and Vd/f . The fetal/maternal ratio of the drug was then determined on the basis of the maternal and fetal concentrations at birth.

The pharmacokinetic parameters obtained were: median $t^{1/2}$ 4.1 h and mean t_{max} 2.66 h. Median C_{max} was 1.17 $\mu\text{g/mL}$ and median C_{mean} was 0.51 $\mu\text{g/mL}$. Median AUC^{0-12} was

6.15 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, median Cl/f was 138.12 L/h, median Vd/f was 755.82 L, and median fluctuation was 140.01%. At delivery, maternal plasma concentration was 0.37 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and fetal concentration was 0.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with a median fetal/maternal ratio of 0.74. The C_{max} of metformin was reduced compared to non-pregnant patients, probably caused by the increased volume of distribution and renal excretion due to the physiological changes of pregnancy. These data lead us to warn about the possibility of an increased dose during pregnancy.

The AUC^{0-12} was reduced, with an increase in the volume of distribution and in clearance due to the physiological changes of pregnancy.

The study demonstrated placental transfer of metformin at the rate of approximately 75%, thus alerting to the elevated transfer of this drug through the placental barrier.

Key-words: Polycystic ovary syndrome – Pregnancy – Metformin – Pharmacokinetics – Placental transfer

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome dos Ovários Policísticos

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

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

de retrocontrole, levando à anovulação crônica, que causa distúrbio menstrual e infertilidade (REIS *et al.*, 2004).

Os critérios diagnósticos de SOP foram recentemente revisados (*The Rotterdam ESHRE/ ASRM – sponsored PCOS consensus workshop group*, 2004) e consistem em presença de pelo menos dois dos três itens seguintes:

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

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

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

Em 1921, ARCHARD & THIERS relataram pela primeira vez a associação entre intolerância à glicose e hiperandrogenismo. Atualmente, é bem estabelecida a associação entre resistência à insulina e SOP (SPEROFF *et al.*, 1995).

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

A resistência à insulina pode ocorrer em consequência de vários mecanismos dos quais podemos citar: resistência no tecido-alvo periférico, depuração hepática reduzida, aumento da sensibilidade pancreática ou defeitos nos receptores de insulina. Fatores que podem levar a uma resposta biológica inadequada, resultando em elevadas concentrações de insulina circulante, o que levaria a ações deletérias em diversos segmentos do organismo, incluindo alteração da função ovariana (PORETSKY, 1991). O quadro clínico de pacientes com resistência à insulina depende da habilidade do pâncreas em compensar a resistência à insulina nos tecidos periféricos. Essa resposta compensatória pode levar a várias consequências, como hipertensão arterial, aumento dos níveis de triglicérides e diminuição dos níveis de HDL-colesterol e conseqüente aumento de risco cardiovascular (HAFFNER *et al.*, 1992).

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

1.2 Metformina

A metformina pertence ao grupo das biguanidas, uma classe de drogas antidiabéticas orais e tem sido utilizada com freqüência no tratamento de pacientes com *diabetes mellitus* não insulino-dependente. São múltiplos os seus mecanismos de ação, incluindo inibição da neoglicogênese no fígado e estimulação da recaptção periférica de glicose (BAILEY 1992; BAILEY & TURNER, 1996). Sua fórmula estrutural encontra-se na figura 1.

A metformina foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1995 para o uso em pacientes com *diabetes mellitus* não insulino-dependente em conjunto com orientações dietéticas ou associada a sulfoniluréias. Está contra-indicada em pacientes com insuficiência renal, doença hepática, doença pulmonar, insuficiência cardíaca, doença isquêmica cardíaca, doença vascular periférica e proteinúria, principalmente devido ao risco de acidose láctica (SULKIN *et al.*, 1997). A estimativa de incidência da acidose láctica associada à utilização da metformina é de 0,03 casos/1.000 pacientes ano, sendo que 91% dos pacientes que desenvolveram acidose láctica tiveram algum fator predisponente (BAILEY & TURNER, 1996). Não são totalmente elucidados os mecanismos pelos quais a metformina melhora a hiperinsulinemia em mulheres com SOP. Está estabelecido que os efeitos anti-hiperglicemiantes da metformina são principalmente devidos à redução da produção hepática de glicose, à melhora da sensibilidade dos tecidos à insulina, melhorando a utilização de glicose no músculo esquelético e no adipócito e à diminuição da absorção intestinal de glicose (BAILEY & TURNER, 1996; WIERNSPERGER & BAILEY, 1999; UNLUHIZARCI *et al.*, 1999; MOGHETTI *et al.*, 2000; MORIN-PAPUNEN *et al.*, 2000; PASQUALI *et al.*, 2000).

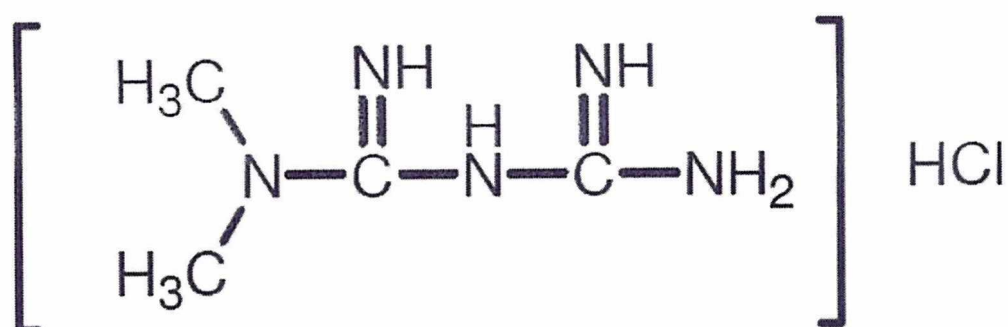


Figura 1: Estrutura química do cloridrato de metformina

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

1.3 Síndrome dos ovários policísticos e ciclo gravídico puerperal

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

gestacionais e complicações neonatais em pacientes com SOP. Concluiu-se que mulheres com SOP apresentam risco significativamente maior de desenvolver *diabetes mellitus* gestacional, pré-eclâmpsia, hipertensão gestacional e parto pré-termo. Seus recém-nascidos têm risco maior de admissão em unidade de tratamento intensivo neonatal e maior mortalidade perinatal (BOOMSMA *et al.*, 2006).

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

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

O uso da metformina no tratamento de mulheres com SOP não grávidas, está bem estabelecido na literatura, com comprovação de benefícios no tratamento (WORTSMAN *et al.*, 1991; VELAZQUEZ *et al.*, 1994, 1997; NESTLER E JAKUBOWICZ, 1997; MORIN-PAPUNEN *et al.*, 1998; MOGUETTI *et al.*, 2000; PASQUALI *et al.*, 2000; FLEMING *et al.*,

2002). Porém, o efeito da metformina em gestantes e seus fetos ainda não foram bem estudados.

1.4 Metformina e gestação

O uso de metformina durante a gestação, por pacientes com SOP, reduz significativamente o número de abortos espontâneos de primeiro trimestre. Quando esse tratamento com metformina é mantido durante toda a gestação, observa-se redução no desenvolvimento de diabetes gestacional (GLUECK *et al.*, 1997).

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

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

1.5 Farmacocinética das drogas utilizadas na gestação

Com referência à farmacocinética das drogas utilizadas na gestação, os resultados dos estudos realizados são freqüentemente conflitantes. Em ampla revisão da literatura, LITTLE (1999) observou que, na gestação, a área sob a curva da concentração plasmática de drogas

em função do tempo diminuiu em 41% das avaliações, o volume de distribuição estava aumentado em 30%, o pico de concentração plasmática estava diminuído em 34% e o *clearance* estava aumentado em 55% dos estudos. Estas mudanças na farmacocinética causam queda da concentração plasmática das drogas. A maioria dos parâmetros farmacocinéticos varia de acordo com o estágio da gestação, devido às mudanças fisiológicas ocorridas.

Os mecanismos que regulam a passagem de drogas pela barreira placentária obedecem à Lei de Difusão de Fick (PASANEN & PELKONEN, 1990; MATHIAS & TORRES, 2000):

Lei de difusão de Fick:

$$Q = \frac{C}{t} = k \cdot \frac{A \cdot (C_m - C_f)}{E}$$

Considerando:

Q = C/t: quantidade de droga transferida para o feto num intervalo de tempo

K: constante de difusão da droga

A/E: relação entre a área de troca e a espessura da placenta

C_m: concentração da droga livre no sangue materno

C_f: concentração da droga livre no sangue fetal

Constante K: é fator fundamental nas trocas, sofrendo influência do peso molecular, grau de ionização e lipossolubilidade da droga.

Concentração sanguínea materna (C_m): é dependente da via de administração, da capacidade de ligação a proteínas plasmáticas e da hemodinâmica materna.

Concentração sanguínea fetal (Cf): a droga que ultrapassa a placenta atinge o sangue fetal. No entanto, para exercer seus efeitos, essa droga deve atingir os tecidos fetais. Assim, o sangue fetal é um compartimento que separa os tecidos fetais da placenta e, portanto, efeitos que alteram a concentração da droga nesse sangue, alteram sua atividade nos diversos tecidos e órgãos fetais.

Ligação protéica: as drogas que ultrapassam a barreira placentária somente o conseguem na forma livre, não o fazendo quando ligadas às proteínas do plasma (albumina, α_1 glicoproteína ácida e lipoproteína).

Circulação materna: além da droga livre no plasma, é importante a quantidade que atinge a placenta na unidade de tempo. Por exemplo, se o débito cardíaco estiver deprimido, haverá menor aporte de droga disponível na placenta e menor será a passagem placentária.

1.6 Farmacocinética da metformina

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

Através do estudo do leite e plasma de mulheres com amamentação exclusiva Hale *et al.* (2002) avaliaram a concentração de metformina no plasma e leite materno. Foram avaliadas sete mulheres com diabetes tipo II, em uso de 1500mg de metformina por dia, e a razão leite/plasma encontrada foi de 0,35, considerada concentração baixa no leite materno.

Neste estudo, a concentração de metformina plasmática foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HLPC), no intervalo de concentrações de 0,1 a 5µg/mL. (HALE *et al.*, 2002)

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

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

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

1.7 Justificativa

Há evidências científicas de benefícios do uso da metformina durante a gravidez, com trabalhos na literatura demonstrando que esta droga tem sido utilizada com segurança materna e fetal em gestantes. Porém, as evidências apontam a necessidade de estudos referentes à farmacocinética da metformina em mulheres grávidas com SOP e a taxa de transferência placentária deste fármaco.

2 - OBJETIVOS

2 - OBJETIVOS

Investigar a farmacocinética da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos, em uso deste fármaco durante a gestação.

Investigar a taxa de transferência placentária da metformina em parturientes com síndrome de ovários policísticos, em uso deste fármaco durante a gestação.

3 - PACIENTES E MÉTODOS

3 - PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Casuística

3.1.1. Aspectos éticos do projeto:

O trabalho intitulado originalmente como **“Farmacocinética e análise da distribuição transplacentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 215ª Reunião Ordinária, realizada em 21 de novembro de 2005 e enquadrado na categoria **APROVADO**, bem como Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Anexo A).

Todas as pacientes que participaram da pesquisa consentiram e assinaram o TCLE (Anexo B)

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

3.1.2. Seleção de pacientes

A casuística foi composta por gestantes com síndrome de ovários policísticos e resistência insulínica, diagnosticados previamente à gestação, em uso de metformina, na dose de 850mg de 12/12h, durante toda a gestação e acompanhadas durante o pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas. As pacientes foram submetidas à coleta de amostras sanguíneas para

análise da farmacocinética entre 28 e 38 semanas de gestação e, quando internadas no Centro Obstétrico do HC-FMRPUSP para resolução da gestação, coletado sangue materno e fetal no momento do nascimento para análise da transferência placentária.

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

- **CrITÉRIOS de inclusão:** gestantes com SOP e gravidez única, em uso de metformina, na dose de 850mg de 12/12h, tendo iniciado a medicação previamente à gestação e em acompanhamento pré-natal no ambulatório de gestação de alto risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

- **CrITÉRIOS de exclusão:** pacientes com nefropatias e hepatopatias crônicas, interrupção da gestação antes da 34ª semana de gestação e pacientes que desenvolveram diabetes gestacional durante o período do estudo.

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

3.2. Métodos

3.2.1. Identificação

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

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

3.2.2. Diagnóstico de SOP

Os critérios diagnósticos de SOP foram recentemente revisados (*The Rotterdam ESHRE/ ASRM – sponsored PCOS consensus workshop group, 2004*) e consistem em presença de pelo menos dois dos três itens seguintes:

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

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

3.2.3. Exames para rastreamento de desordens metabólicas em pacientes com SOP

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

- Glicemia e insulina de jejum, bem como o cálculo do QUICKI (*Quantitative Insulin-Sensitivity Check Index*) e dos índices I/G (insulina/ glicose) e G/I (glicose/ insulina)
- GTT com 75g de glicose
- Lipidograma completo

3.2.4. Coleta de amostras sanguíneas

No terceiro trimestre, entre a 28 e 38 semanas de gestação, as pacientes foram encaminhadas para o estudo farmacocinético. Foi coletada uma amostra de sangue materno (5 mL) por punção única de veia periférica, para avaliação de função renal e hepática. . Justifica-se pela influência da função renal na farmacocinética da metformina e da contra-indicação do uso da droga em paciente hepatopata. Além disso, mais 5mL de sangue materno foi coletado para avaliação da concentração de metformina no tempo zero. O acesso venoso foi mantido com escalpe salinizado para coleta de amostras seriadas de duas meias-vidas da metformina (total de 8horas) para determinação das concentrações sanguíneas de metformina e posterior realização de curva de concentração plasmática em função do tempo. Amostras seriadas de 5mL de sangue materno foram coletadas para avaliação da concentração de metformina nos tempos de 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 150 minutos, 180 minutos, 240 minutos, 300 minutos, 360 minutos, 420 minutos e 480 minutos para posterior realização de curva de concentração plasmática em função do tempo e determinação das curvas de absorção e eliminação do fármaco.

No momento da resolução da gestação, especificamente no momento do parto, foi coletado 5mL de sangue materno e 5mL de sangue fetal através de punção placentária para determinação da transferência placentária da metformina.

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

Foi obtido acesso venoso periférico com escalpe nº 21 e coletado 5mL de sangue em tubo seco para exames bioquímicos hepáticos, renais e eletroforese de proteínas (Uréia, Creatinina, TGO, TGP, Bilirrubinas, Proteína Total, Albumina), após o escalpe foi salinizado com 10mL de solução fisiológica a 0,9% até desaparecer sangue do conduto do mesmo. O

protocolo foi conduzido desta forma em todas as coletas, determinando sempre a hora da coleta.

Após nascimento da criança, uma amostra do sangue do cordão umbilical foi coletada, para determinar as concentrações de metformina e analisar a taxa de transferência placentária do fármaco.

Após todo material coletado, o sangue foi centrifugado a 2000 rotações por minuto (rpm) por 10 a 15 minutos e coletado o plasma que foi armazenado em tubo seco congelado a -20°C e encaminhado para o Laboratório de Farmacocinética e Metabolismo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, para dosagem da concentração plasmática de metformina.

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

3.2.5. Análise bioquímica no plasma da paciente

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

3.2.6 Estimativa da função renal

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

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

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

3.2.7. Metodologia laboratorial para determinação de metformina

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

3.2.7.1 Análise da metformina em plasma

- **Soluções-padrão e reagentes:**

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

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

A solução estoque de metformina (cloridrato de 1,1-dimetilbiguanida 97% - *Aldrich*) foi preparada em metanol-água (1:1) na concentração de 1mg/mL e diluída em metanol: água (1:1) para obtenção da solução de trabalho na concentração de 100 µg/mL. A solução de trabalho foi diluída para a obtenção de soluções nas concentrações de 0,2; 0,6; 1; 5; 10; 20; 45µg/mL. As soluções de metformina foram armazenadas a -20° C.

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

- **Equipamentos:**

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

- **Extração Líquido-Líquido**

Alíquotas de 0,5mL de plasma foram adicionadas de 25µl de solução de atenolol 0,1mg/mL (padrão interno) e de 1mL de acetonitrila a -20°C. Os tubos foram agitados vigorosamente em *mixer* por 1 minuto e em seguida centrifugados durante 10 minutos a 2000 rpm. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos e adicionados de 3mL de

diclorometano. Os tubos foram agitados por 10 minutos em agitador tipo *mixer* (Vibrax) e centrifugados durante 10 minutos a 2000rpm. Aliquotas de 120 μ L da camada aquosa foram acrescentadas de 10 μ L de solução de HCl 1M e submetidas (100 μ L) à análise cromatográfica (HALE *et al*, 2002). O fluxograma da extração da metformina em plasma está ilustrado na figura 2.

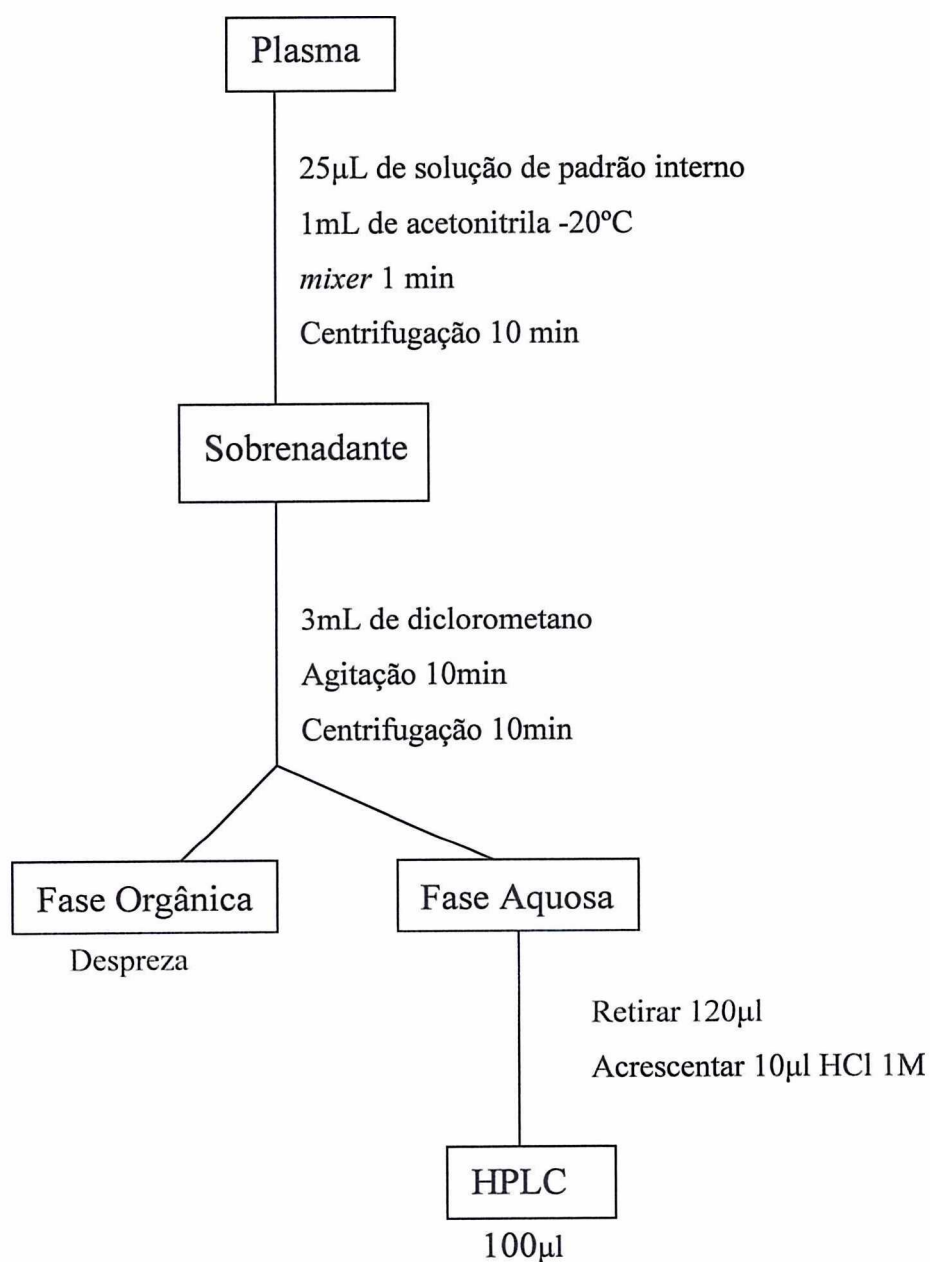


Figura 2: Fluxograma para extração da metformina em plasma

- **Curva de Calibração:**

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

- **Validação:**

Limite de quantificação

O limite de quantificação foi definido como a menor concentração quantificada com precisão e exatidão igual ou inferior a 15%. Foram avaliadas amostras de plasma humano enriquecidas com metformina em concentrações tão baixas quanto 0,02µg/mL de plasma. As amostras foram analisadas em quintuplicata (HALE *et al*, 2002).

Linearidade

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

Seletividade

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

Precisão e exatidão

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

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

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

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

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

3.2.7.2 Análise farmacocinética da metformina

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

A área sob a curva concentração plasmática versus tempo no intervalo de dose de 12 horas (AUC^{0-12}) foi determinada pelo método linear trapezoidal do tempo zero até a última amostra coletada (8h) e extrapolada até 12h.

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

$Cl/f = \text{dose} / AUC^{0-12}$ e o volume aparente de distribuição como $Vd/f = Cl/f / Kel$. Os parâmetros C_{max} e T_{max} foram calculados utilizando as equações padrão do *Software* (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros empregados na farmacocinética da metformina.

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

c vs t: concentração *versus* tempo

tau: intervalo de dose

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

3.3 Análise estatística

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

Não houve necessidade de realização de testes estatísticos de comparação, já que se tratou de um estudo descritivo e transversal, com objetivo de avaliar a farmacocinética e a taxa de transferência placentária de metformina administrada via oral em grupo único de gestantes com síndrome dos ovários policísticos, com avaliação da farmacocinética por intervalo de dose. Portanto, foi adotada a forma descritiva dos dados.

4 - RESULTADOS

4 - RESULTADOS

4.1 Características da amostra materna

Foram avaliadas nove gestantes com SOP, internadas no Centro Obstétrico do HC-FMRP-USP, onde foram submetidas a coletas de amostras sanguíneas para determinação da concentração plasmática no terceiro trimestre da gestação e coleta de sangue materno e sangue do cordão umbilical no momento do parto.

A mediana de idade materna foi de 26 anos, com percentil 25 (P25) de 22 anos e percentil 75 (P75) de 33 anos. Sendo que seis pacientes eram primigestas e três pacientes eram multigestas. A idade gestacional mediana do estudo farmacocinético foi com 245 dias, variando de 232 a 256 dias. Na resolução da gestação, oito pacientes possuíam gestação a termo na resolução da gestação (acima de 259 dias), sendo a mediana de idade gestacional de 278 dias (P25: 274 dias, P75: 283 dias). A mediana de peso das pacientes pré-gravídico foi de 89kg e do Índice de Massa Corporal de $34,04\text{kg/m}^2$. As pacientes apresentaram mediana de ganho de peso de $6,6\text{ AUC}^{0-12}\text{Kg}$ com mediana de peso na resolução da gestação de $94,8\text{Kg}$ e do Índice de Massa Corporal de $36,38\text{kg/m}^2$ (Tabela 2).

Tabela 2: Mediana e percentis 25 e 75 dos dados demográficos das nove gestantes com SOP.

Parâmetros	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Idade	anos	22,0	26,0	33,0
Idade gestacional	dias	274	278	283
Peso pré-gravídico	kg	76,00	89,00	97,00
IMC	kg/m ²	29,59	34,04	37,45
Peso na resolução	kg	86,90	94,8	101,60
IMC	kg/m ²	33,95	36,38	39,19
Estatura	m	1,57	1,59	1,61

IMC: Índice de Massa Corporal

Todas as pacientes realizaram pré-natal no Ambulatório de Gestação de Alto Risco (AGAR) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRPUSP), tendo realizado a avaliação laboratorial de pré-natal nessa Unidade (Tabela 3).

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

Tabela 3: Mediana e percentis 25 e 75 da hemoglobina, hematócrito e glicemia de jejum das nove pacientes com SOP.

Parâmetros	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Hemoglobina	g/dL	11,5	12,5	13,1
Hematócrito	%	33,7	39,0	41,0
Glicemia de jejum	mg/dL	81,0	84,0	88,0

A avaliação da mediana da glicemia basal e da insulina basal pré-gravídicos foram de 95mg/dl e 17 μ iU/mL, respectivamente. A mediana do índice de QUICK pré-gravídico foi de 0,30 (Tabela 4).

Tabela 4: Mediana e percentis 25 e 75 da glicemia basal, insulina basal e Índice de QUICK das pacientes com SOP (pré gestacional).

Parâmetros	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Glicemia basal	mg/dl	89,0	95,0	100,0
Insulina basal	μ iU/mL	16,0	17,0	23,0
Índice de QUICK		0,29	0,30	0,31

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

As parturientes foram submetidas à resolução da gestação por indicação obstétrica. Em relação à via de parto seis (66,6%) pacientes foram submetidas à resolução da gestação por via alta, com indicações variáveis (Tabela 5) e três (33%) pacientes submetidas a parto vaginal.

Tabela 5: Diagnóstico obstétrico que resultou na indicação da resolução da gestação por via abdominal (cesárea), nas gestantes com SOP, em uso de metformina.

Paciente	Via de parto e indicação
1	Parada secundária da dilatação
2	Sufrimento fetal agudo
3	Obesidade mórbida
4	Sufrimento fetal agudo
5	Falha da indução do trabalho de parto
6	Sufrimento fetal agudo

4.2 Características dos recém-nascidos

Nenhum recém-nascido apresentou patologia diagnosticada ao nascer. Quatro recém-nascidos foram do sexo masculino e cinco do sexo feminino. A mediana de peso ao nascer foi de 3235g e a de estatura foi de 49cm (Tabela 6).

Nenhum recém-nascido apresentou Índice de Apgar menor que 7 no 1º minuto, sete apresentaram Índice de Apgar igual a 10 no 5º minuto e dois com Índice de Apgar igual 9, no 5º minuto. Todos os recém-nascidos apresentaram evolução favorável no período pós-natal e receberam alta hospitalar em conjunto com a mãe.

Tabela 6: Mediana e percentis 25 e 75 das características dos recém-nascidos das nove gestantes com SOP, em uso de metformina.

Parâmetros	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Peso	g	3025	3235	3480
Estatura	cm	49	49	49

4.3. Avaliação bioquímica materna

Foram realizados exames laboratoriais para avaliação materna. Os valores das medianas dos referidos exames foram: uréia 13mg/dL; creatinina 0,6mg/dL; *clearance* de creatinina 200,0mL/min; transaminase glutâmica pirúvica (TGP) 14,0U/L; transaminase glutâmica oxalacética (TGO) 12,0U/L; bilirrubina total 0,45mg/dL; bilirrubina direta 0,09mg/dL; albumina 3,8g/dL; glicemia 89mg/dL; colesterol total 194mg/dL; HDL colesterol 48mg/dL; LDL colesterol 108mg/dL; triglicérides 209mg/dL. O teste oral de tolerância a glicose com sobrecarga de 75g (GTT 75g) apresentou mediana de glicemia no tempo 0 de 89mg/dL e no tempo de 2h de 102mg/dL (Tabela 7).

Tabela 7: Mediana e percentis 25 e 75 da avaliação laboratorial das nove gestantes com SOP, em uso de metformina.

Parâmetros	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Valores de referência
Uréia	mg/dL	12,0	13,0	15,0	10 - 50
Creatinina	mg/dL	0,5	0,6	0,6	0,5 – 1,2
Clearance de creatinina	mL/min	176,0	200,0	217,0	75 - 115
TGP	U/L	13,0	14,0	16,0	7 – 45
TGO	U/L	11,0	12,0	14,0	7 - 39
Bilirrubina Total	mg/dL	0,36	0,45	0,76	<1,2
Bilirrubina Direta	mg/dL	0,07	0,09	0,12	< 0,4
Albumina	g/dL	3,7	3,8	4,0	3,5 – 5,0
Colesterol total	mg/dL	155,0	194,0	211,0	< 200
HDL-Colesterol	mg/dL	40,0	48,0	55,0	>40
LDL-Colesterol	mg/dL	82,0	108,0	114,0	<100
Triglicérides	mg/dL	168,0	209,0	250,0	<150
Glicemia 0h	mg/dL	80,0	89,0	95,0	70 - 110
Glicemia 2h	mg/dL	100,0	102,0	132,0	<140

4.4 Análise das concentrações da metformina em plasma

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

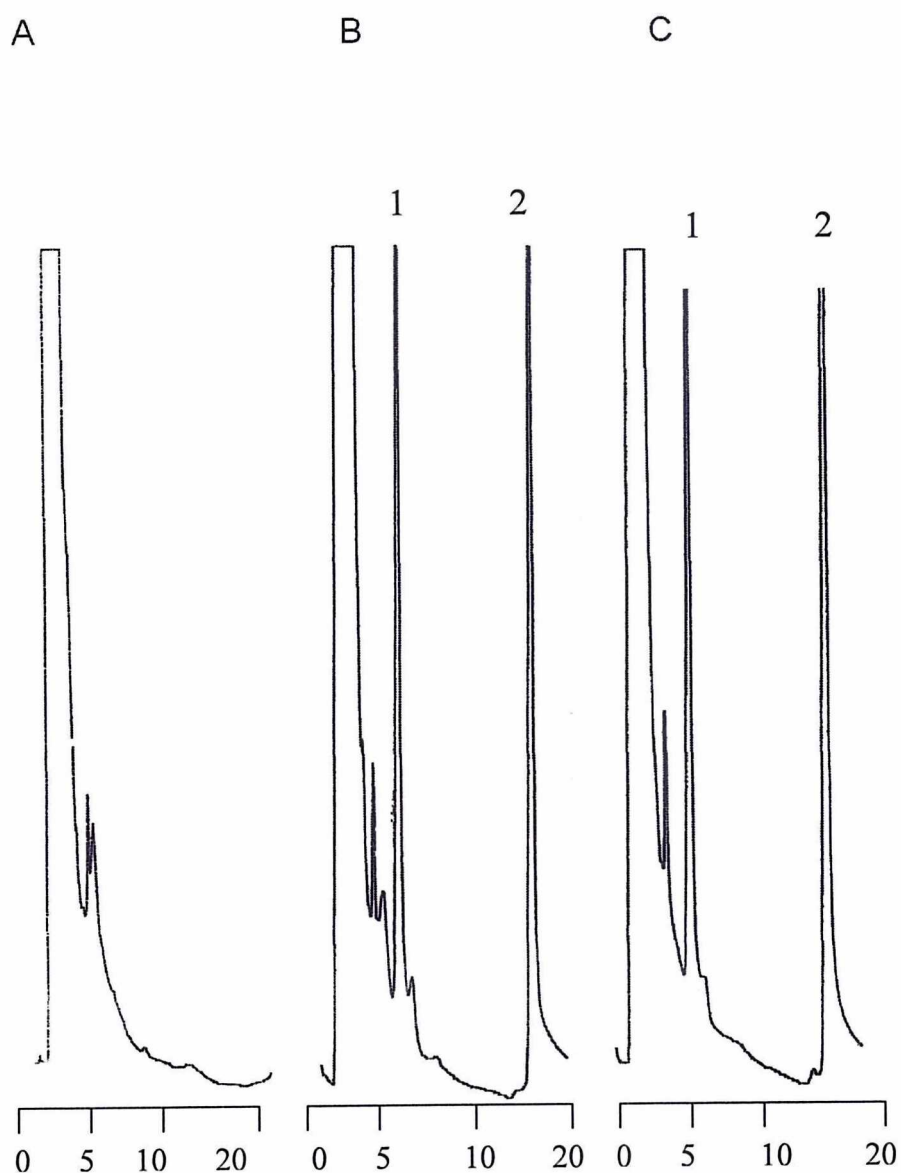


Figura 4- Análise da metformina em plasma

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

- **Curva de Calibração:**

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

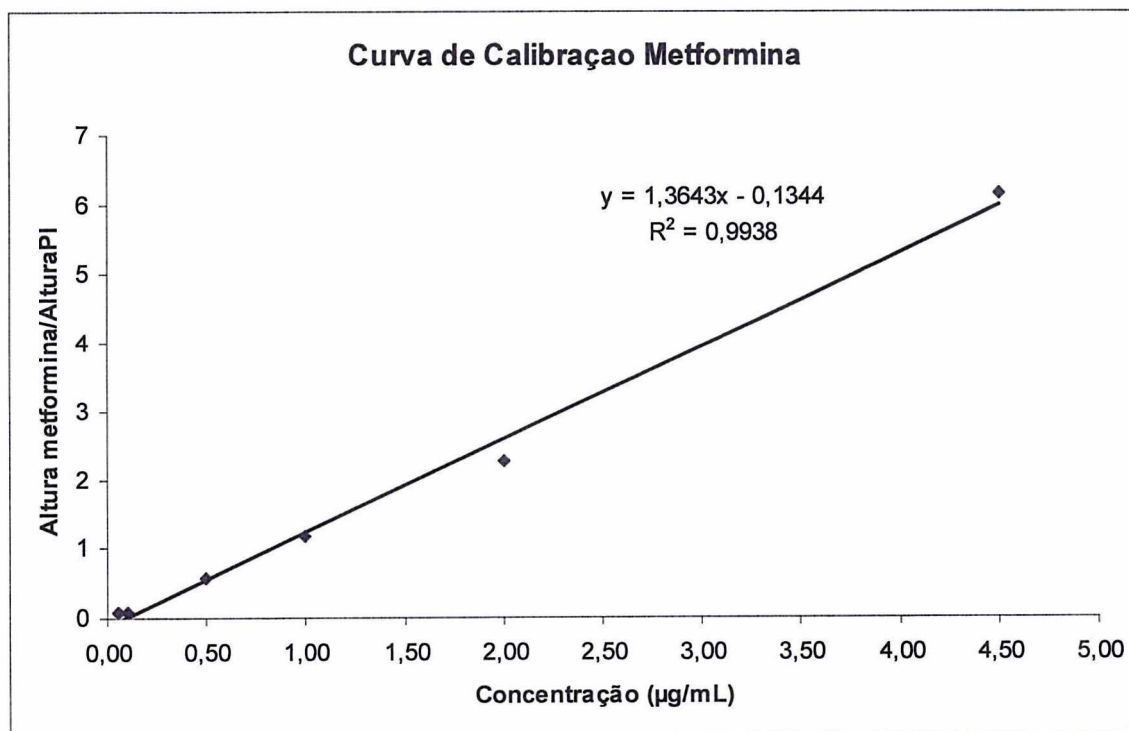


Figura 5 - Curva de Calibração da Metformina em plasma (0,02- 4,50 µg/mL)

- **Validação do método**

As tabelas 8 e 9 mostram os resultados obtidos na validação do método de análise da metformina em plasma humano. O alto coeficiente de correlação (r) obtido indica a existência de relação linear entre a área do pico e a concentração da metformina. O método apresentou limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão compatíveis com a aplicação em estudos de disposição cinética.

Tabela 8: Limites de confiança para o método de análise da metformina em plasma humano

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

CV = coeficiente de variação $[(\text{SD}/\text{média}) \times 100]$;

r = coeficiente de correlação linear.

% Inexatidão = $[(\text{Observada} - \text{Cadicionada}) / \text{Cadicionada}] \times 100$

Tabela 9: Estudo de estabilidade do método de análise da metformina em plasma humano

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

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

As concentrações plasmáticas medianas e percentis 25 e 75 da metformina das nove pacientes analisadas em cada momento da coleta, nos tempos pré-estabelecidos, estão demonstradas na figura 6 e na tabela 10.

Tabela 10: Mediana e percentis 25 e 75 das concentrações de metformina ($\mu\text{g/mL}$) no plasma materno em tempos (minutos) determinados (n:9).

Tempo (minutos)	Percentil 25 ($\mu\text{g/mL}$)	Mediana ($\mu\text{g/mL}$)	Percentil 75 ($\mu\text{g/mL}$)
0	0,16	0,52	0,60
30	0,30	0,47	0,64
60	0,43	0,58	0,90
90	0,41	0,71	1,17
120	0,53	0,86	1,14
150	0,45	0,87	1,65
180	0,35	0,83	1,17
240	0,34	0,51	0,90
300	0,30	0,59	0,74
360	0,34	0,47	0,65
420	0,29	0,35	0,52
480	0,23	0,32	0,48

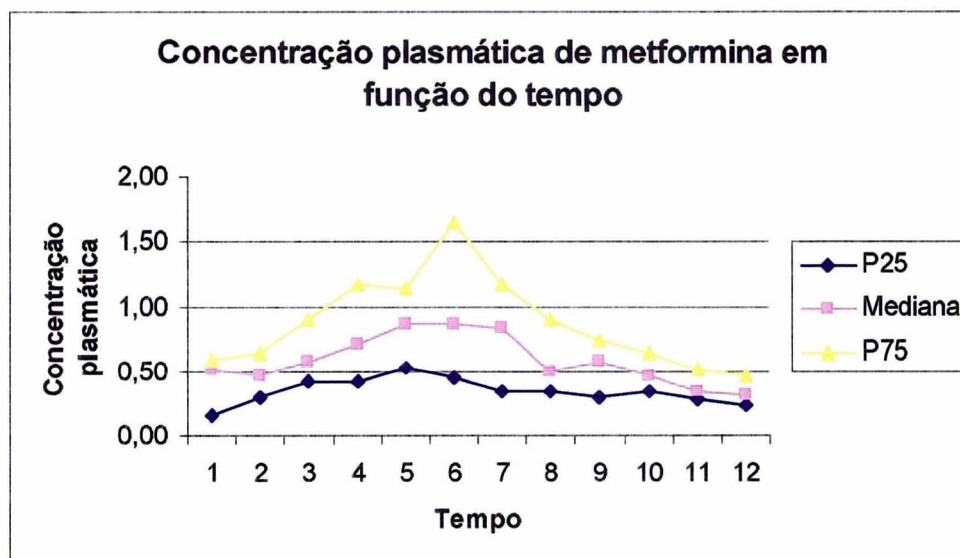


Figura 6: Gráfico das medianas e dos percentis 25 e 75 (P25 e P75) das concentrações plasmáticas de metformina ($\mu\text{g/mL}$) em função do tempo (minutos).

4.5 Farmacocinética da metformina

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

Os parâmetros farmacocinéticos analisados foram: $t_{1/2}$, t_{max} , C_{max} , AUC^{0-12} , $C_{\text{média}}$, Flutuação, Cl/f e Vd/f (Tabela 12).

A mediana da $t_{1/2}$ foi de 4,10h e da t_{max} foi de 2,66h. A mediana da C_{max} foi de 1,17 $\mu\text{g/mL}$ e da $C_{\text{média}}$ de 0,51 $\mu\text{g/mL}$.

A mediana da AUC^{0-12} foi de 6,15 $\mu\text{g.h/mL}$, do Cl/f foi de 138,12 L/h, do Vd/f foi de 755,82L e da flutuação de 140,01%.

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

Parâmetro	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
t_{1/2}	h	3,24	4,10	6,03
t_{max}	h	2,00	2,66	2,75
C_{max}	µg/mL	0,79	1,17	1,67
AUC⁰⁻¹²	µg.h/mL	4,46	6,15	9,67
C_{média}	µg/mL	0,37	0,51	0,80
Flutuação	%	113,13	140,01	150,78
Cl/f	L/h	87,91	138,12	174,21
Vd/f	L	532,71	755,82	1120,91

4.6. Avaliação da transferência placentária

Para a avaliação da taxa de transferência placentária da metformina, foram determinadas a concentração de metformina no plasma materno no momento do parto e a concentração no plasma do cordão umbilical, sendo esta realizada para determinar a concentração fetal no momento do parto. Então foi estabelecida a relação feto / materna.

No momento do parto a concentração plasmática mediana materna foi de 0,37µg/mL e a mediana fetal de 0,33µg/mL, com relação feto / materna mediana de 0,74 (Tabela 12).

Tabela 12: Mediana e percentis 25 e 75 (P25 e P75) das concentrações de metformina ($\mu\text{g/mL}$) em plasma materno e em plasma fetal e relação feto/materna.

Parâmetro	Unidade	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Concentração Materna	$\mu\text{g/mL}$	0,28	0,37	0,93
Concentração Fetal	$\mu\text{g/mL}$	0,17	0,33	0,62
Relação Feto / Materna	--	0,46	0,74	0,99

5 - DISCUSSÃO

5 - DISCUSSÃO

O grupo de pacientes incluído no presente estudo, representado por gestantes com SOP e com resistência insulínica, foi homogêneo em relação aos dados demográficos, antropométricos e clínicos analisados, como: idade materna, idade gestacional, realização de exames de pré-natal, peso, estatura e índice de massa corporal (IMC). A mediana do Índice de QUICK foi de 0,30, lembrando que o critério de inclusão foi de paciente com SOP e resistência insulínica. Todas as pacientes apresentaram Índice de QUICK $< 0,34$ (LEWY *et al.*, 2001).

O IMC mediano do grupo avaliado foi considerado aumentado. As pacientes com SOP apresentam peso e IMC acima dos valores preconizados, condições que muitas vezes estão associadas à ocorrência desta comorbidade (PASQUALI *et al.*, 2000; BJERCKE *et al.*, 2002).

Os dados antropométricos podem influenciar a farmacocinética de drogas (HODGKISSON; HUSAIN, 1980). Contudo, no grupo avaliado, apesar do aumento de peso e do IMC, essas características foram encontradas de maneira homogênea entre as pacientes, reduzindo a probabilidade de dúvidas em relação aos dados apresentados.

Quanto à paridade das gestantes deste estudo, houve predomínio de primigestas, pois foram recrutadas pacientes que estavam em seguimento no ambulatório de endocrinologia ginecológica em uso de metformina, em busca de melhora da resistência insulínica e do retorno da ovulação, melhorando as taxas de fertilidade. Pacientes com anovulação crônica e infertilidade, que em uso de metformina no desejo de gestação, obtém retorno da ovulação e sucesso na fertilidade (SANTANA *et al.*, 2004).

A metformina utilizada em pacientes com SOP durante a gestação tem se mostrado benéfica na redução das taxas de perdas gestacionais, ocorrência de diabetes gestacional e

síndromes hipertensivas (GLUECK *et al.*, 2007 a, b). De acordo com os relatos da literatura, de que o tratamento com metformina reduz as altas taxas de perdas gestacionais e de desenvolvimento de diabetes gestacional nestas pacientes, em nosso estudo não foram observados casos de aborto e diabetes gestacional. Porém, neste estudo foi observado incidência de 60% de casos de Síndromes Hipertensivas, que pode estar associado à SOP e ao sobrepeso das pacientes (DIAMANT *et al.*, 1982; VELAZQUEZ *et al.*, 1994; MIKOLA *et al.*, 2001; GLUECK *et al.*, 2002). Dados estes que estão de acordo com o encontrado em recente meta-análise sobre gestação em pacientes com SOP (BOOMSMA *et al.*, 2006).

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

Em todas as pacientes do estudo foi analisado a concentração plasmática da albumina, que apresentou mediana de 3,8mg/dL, valor considerado normal. Ressalta-se, no entanto, que a metformina praticamente não se liga às proteínas plasmáticas.

Na avaliação do lipidograma, a mediana do colesterol total foi de 194mg/dL, HDL colesterol foi de 48mg/dL, LDL colesterol de 108mg/dL e do triglicérides foi de 209mg/dL, demonstrando que as pacientes com SOP, apesar de estarem em uso da metformina, apresentam quadro de dislipidemia. O quadro clínico de pacientes com resistência à insulina depende da habilidade do pâncreas para compensar a resistência à insulina dos tecidos periféricos. Essa resposta compensatória pode levar a várias conseqüências, por exemplo, hipertensão arterial, aumento dos níveis de triglicérides e diminuição dos níveis de HDL-colesterol e conseqüente aumento de risco cardiovascular. Este quadro pode apresentar melhora com uso de metformina, pois a mesma atua diminuindo a resistência periférica dos tecidos à insulina (HAFFNER *et al.*, 1992; DEFRONZO *et al.*, 1995).

Os recém-nascidos apresentaram-se saudáveis ao nascer e durante a evolução pós-natal, com peso e estatura adequados para a idade gestacional. Em relação à avaliação dos Índices de Apgar no 1^o e 5^o minutos, não se observou casos com Índice de Apgar menor que 7 no 1^o minuto, indicando boa vitalidade pós-natal. Não foram observados casos de hipoglicemia neonatal e/ou outras intercorrências perinatais em nosso estudo, assim como nos demais relatados na literatura (GLUECK *et al.*, 2004; GLUECK *et al.*, 2007a).

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

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

Marques *et al.*, (2007), reportam a análise da metformina plasmática empregando LC-MS/MS (Cromatografia Líquida – Massa /Massa). Os autores relatam desproteinização com acetona e empregam metoprolol como padrão interno. O limite de quantificação de 20µg/mL é similar ao encontrado no método desenvolvido e validado no presente trabalho (Tabela 8).

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

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

Os estudos com administração de dose única por via oral, em indivíduos saudáveis, foram realizados com doses de 500, 850, 1000 e 1500mg. Houve relação da concentração máxima com a dose de metformina administrada, sendo que na dose única de 850mg o C_{max} foi de 1,5µg/mL (ARAFAT *et al.*, 1994; SCHEEN, 1996). Em nosso estudo, com administração de 850mg de metformina, com intervalo de 12 horas, foi observado C_{max} de 1,17µg/mL. Ao considerarmos que nosso estudo foi realizado em pacientes no terceiro trimestre de gestação, o C_{max} encontrado, inferior ao C_{max} em indivíduos saudáveis, se explica pelo aumento do volume de distribuição durante a gestação, com conseqüente diminuição da concentração máxima. Outro estudo realizado com administração de 850mg de metformina via oral, em dose única, em não gestantes, observou C_{max} de 1,53µg/mL, valor superior ao observado durante a gestação (QAISI *et al.*, 2006). Os dados encontrados na literatura, para não gestantes, estão comparados com os nossos dados, em gestantes, na tabela 13.

O nosso estudo revela resultado exclusivo do C_{max} durante a gestação, com 850mg de metformina, via oral de 12/12h, e nos mostra ser abaixo dos valores descritos na literatura, para não gestantes. Tal dado nos faz questionar a necessidade de aumento da dose terapêutica de metformina, durante a gestação.

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

Parâmetro	Unidade	Arafat <i>et al.</i>, 1994	Baraldi <i>et al.</i>, 2007	Qaisi <i>et al.</i>, 2006
Dose		850mg	850mg	850mg
Via		oral	oral	oral
Quantidade		única	12/12h	única
t1/2	h	2,39	4,10	5,06
tmax	h	3,30	2,66	2,77
Cmax	µg/mL	1,50	1,17	1,53
AUC⁰⁻¹²	µg.h/mL		6,15	9,44 (AUC ⁰⁻⁰⁰)
Cmédia	µg/mL		0,51	
Flutuação	%		140,01	
Cl/f	L/h	111,0	138,12	
Vd/f	L	380,00	755,82	

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

A concentração média da metformina em plasma foi de 0,51 μ g/mL (0,37 a 0,80 μ g/mL), demonstrando que a mesma esteve cerca de 50% da concentração máxima. Os achados da concentração média demonstram resultados exclusivos na literatura e representam estabilidade da concentração da droga quando administrada em intervalo de dose de 12 horas. Provavelmente deve haver queda na concentração média da metformina, em gestantes, em relação a não gestantes, por aumento do volume de distribuição atribuído à gestação.

O tempo (t_{max}) para atingir a concentração máxima foi de 2,66h, e este resultado pode ser comparado ao de Scheen, (1996) com t_{max} de 3,30h e Qaisi, (2006) de 2,77h. Porém, em nosso estudo o t_{max} foi calculado com a paciente em regime de múltiplas doses e a avaliação por intervalo de dose. Apesar disto, os valores do t_{max} para a dose de 850mg via oral, única ou em múltiplas doses (12/12h) são semelhantes e comparáveis, demonstrando que o mesmo não se altera em regime de dose seqüencial e durante a gestação (SCHEEN, 1996; QAISI, 2006).

Estudos que descrevem a metodologia da quantificação da metformina em plasma, descreveram os parâmetros farmacocinéticos com diferentes doses de administração única por via oral. Dentre eles, o estudo de Marques *et al.*, (2007) com 850mg via oral encontrou t_{max} de 3,89h e o estudo de Wang *et al.*, (2004) administrando 500mg de metformina via oral teve t_{max} de 2,4h. (WANG *et al.*, 2004; MARQUES *et al.*, 2007). O t_{max} encontrado em nosso estudo está dentro dos parâmetros esperados para administração de metformina por via oral. Chen *et al.*, (2004) encontraram t_{max} de 2,5h para administração de 500mg via oral de metformina, em voluntários sadios (CHEN *et al.*, 2004).

As curvas da mediana, percentil 25 e percentil 75 das concentrações plasmáticas em função do tempo apresentaram-se estáveis no intervalo de dose, atingindo a concentração máxima com aproximadamente 3horas após a administração da droga e a concentração máxima atingida foi de 1,98 μ g/mL. Não houve grandes variações das concentrações

plasmáticas em cada momento coletado, observando a pequena variação entre a mediana e o P25 e P75. Os dados apresentados demonstram estabilidade da concentração plasmática, na administração de metformina de 850mg via oral, por intervalo de dose de 12 horas.

A meia-vida de eliminação da metformina no nosso estudo foi de 4,10h, enquanto outros estudos da literatura, com administração de 850mg oral em dose única, encontraram 2,39h (ARAFAT *et al.*, 1994) e 5,06h (QAISI *et al.*, 2006), ambos os estudos em voluntários sadios em idade adulta. Nos estudos de validação da metodologia de análise da metformina plasmática, Wang *et al.*, (2004) encontraram meia-vida de 5,6h, com administração de 500mg de metformina por via oral em voluntários sadios e, estudos conduzidos por Chen *et al.*, (2004), em condições semelhantes, encontraram 5,2h para a meia-vida de eliminação (ARAFAT *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2004; QAISI *et al.*, 2006).

A meia-vida de eliminação da metformina é representada pelo $t_{1/2}$, que pode ser obtido pela equação $0,693 \times Vd/f / Cl/f$. Ressalta-se que, na gestação, ocorre diminuição da meia-vida de eliminação para a maioria das drogas, por aumento da distribuição dos fármacos (LITTLE, 1997). No nosso estudo a meia-vida de eliminação foi menor quando comparada à literatura, pois este estudo se diferencia por avaliar a meia-vida por intervalo de dose e os outros por dose única oral e, trata-se do único estudo com avaliação durante a gestação. Desta forma, encontramos uma meia-vida de eliminação mediana de 4,1h, abaixo dos parâmetros da literatura, com valores aceitáveis e que podem ser aplicados para a avaliação farmacocinética em gestantes.

A área sob a curva concentração plasmática versus tempo determina a relação da concentração plasmática do fármaco em função do tempo. Little (1999), em revisão de literatura a respeito de farmacocinética de drogas na gestação, conclui que há tendência de diminuição do parâmetro nessa circunstância, porém, poucos dados são reportados. Neste estudo, a mediana da AUC^{0-12} calculada no intervalo de dose de 12h foi de 6,15 μ g.h/mL.

Estudo conduzido por Qaisi *et al.*, (2006) em voluntários sadios adultos, com administração de 850mg de metformina via oral em dose única, encontraram mediana da $AUC^{0-\infty}$ de 9,44 μ g.h/mL. Fato que demonstra que os valores em nosso estudo estão diminuídos, devido à gestação, provavelmente em função do aumento do *clearance* da droga, em consequência do aumento do fluxo plasmático renal e excreção da metformina por via renal. No nosso estudo a diminuição da AUC pode ser explicada pela gestação, enquanto na avaliação de Qaisi são investigados voluntários sadios. (LITTLE, 1999; QAISI *et al.*, 2006). Wang *et al.*, (2004), com administração de 500mg por via oral, em voluntários sadios, encontraram $AUC^{0-\infty}$ de 5,87 μ g.h/mL, valor pouco menor que nosso estudo, porém com dose significativamente menor (WANG *et al.*, 2004).

Em estudos realizados durante a gestação, encontramos apenas a avaliação de Hughes *et al.*, (2006), que avaliaram a AUC de 0-4h e de 0-8h para mulheres com diabetes do tipo II apresentando *clearance* de creatinina normal, em uso de 850mg via oral de 12/12horas durante a gestação, no terceiro trimestre e com as mesmas pacientes durante o puerpério. Os valores encontrados foram AUC^{0-4} e AUC^{0-8} de 3,12 μ g.h/mL e 5,06 μ g.h/mL durante a gestação e AUC^{0-4} e AUC^{0-8} de 5,20 μ g.h/mL e 8,4 μ g.h/mL no puerpério tardio, demonstrando que há diminuição significativa da AUC durante a gestação. A crítica deste estudo é que apenas uma paciente foi avaliada com este regime de administração da droga. Comparando a AUC^{0-8} (5,06 μ g.h/mL) encontrada no estudo de Hughes *et al.*, (2006), o valor encontrado em nosso estudo para a mediana da AUC^{0-12} (6,15 μ g.h/mL) em nove pacientes no terceiro trimestre da gestação, os valores são compatíveis, principalmente porque em nosso estudo, a avaliação da AUC foi de 0-12h, com valor discretamente maior, porém, significativamente diminuído durante a gestação, quando comparado a voluntários adultos saudáveis (HUGHES *et al.*, 2006).

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

A mediana do Cl/f foi de 138,12L/h e do Vd/f foi de 755L em nosso estudo, com administração de 850mg via oral de 12/12h, em gestantes com SOP no terceiro trimestre da gestação. Na literatura, a avaliação destes parâmetros são encontrados apenas no estudo de Arafat *et al.*, (1994), com administração de 850mg via oral de metformina em dose única, em voluntários saudáveis, com Cl/f de 111,00L/h e Vd/f de 380L. Os parâmetros de Cl/f e Vd/f estão aumentados em nosso estudo em relação a voluntários saudáveis, e este fato pode ser explicado pelas modificações fisiológicas da gestação, principalmente no terceiro trimestre, que alteram a farmacocinética. Não há estudo de farmacocinética avaliando o *clearance* e o volume de distribuição da metformina durante a gestação, portanto estes dados são exclusivos, e compatíveis com alterações farmacocinéticas da gestação.

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

aumento da taxa de filtração glomerular (50%), principalmente para a metformina, que é uma droga de excreção predominantemente renal.

O valor de mediana da flutuação encontrado neste estudo foi de 140,01%. Este parâmetro de farmacocinética é exclusivo neste estudo e o valor encontrado representa a estabilidade dos níveis plasmáticos da droga no intervalo de tempo estudado. A extensão da flutuação no estado de equilíbrio depende da meia-vida de eliminação e do intervalo de dose. Quanto mais prolongada a meia-vida e menor o intervalo de dose, menor será a flutuação entre a concentração plasmática máxima e mínima no estado de equilíbrio.

Para a avaliação da taxa de transferência da metformina, foram avaliados fatores placentários que pudessem interferir sobre a mesma. O peso placentário foi homogêneo dentro do grupo estudado, não sendo observadas alterações macroscópicas significativas, que pudessem alterar o transporte de drogas. A diferença de maturação da placenta poderia afetar a razão de transferência de drogas ao feto, já que a espessura do epitélio trofoblástico decresce com o evoluir da gestação. Porém, o efeito dessa variável foi controlado, já que todas as pacientes do estudo apresentavam gestações de termo, portanto, com grau de maturação placentária semelhante (VANKY *et al.*, 2005).

O metabolismo hepático fetal, o efeito das diluições progressivas em circulação fetal e a presença de patologias morfofuncionais nos fetos poderiam influenciar sobre processos farmacodinâmicos e farmacocinéticos da droga, alterando sua concentração (PASANEN & PELKONEN, 1990). A influência dessa variável foi anulada pelo fato de a coleta sanguínea para a análise da transferência placentária da metformina, ter sido realizada em veia umbilical, ou seja, no vaso que transporta o sangue no sentido da placenta para o feto. Não foram detectadas patologias nos recém-nascidos durante a evolução pós-natal, sendo esta favorável em todos os casos.

O risco para o feto poderia ser direto a depender da quantidade de droga transferida via placentária, ou indireto, alterando a função placentária. Poucos são os estudos da transferência placentária da metformina *in vivo* (VANKY *et al.*, 2005). Estudo avaliando 15 gestantes em uso de metformina 850 mg, via oral de 12 em 12 horas, para determinar a concentração materna e fetal (artéria e veia) no momento do parto, encontrou concentrações fetais maiores que as maternas no momento do parto, indicando que a metformina passa livremente à barreira placentária e que os fetos são expostos a concentrações semelhantes aos níveis terapêuticos maternos (VANKY *et al.*, 2005). Entretanto, parece não haver efeitos teratogênicos para os fetos e não ocorrer influência no pH sanguíneo e no Índice de Apgar, alertando apenas para necessidade de seguimento em longo prazo (GLUECK *et al.*, 2007b).

Os modelos experimentais de perfusão de lóbulo placentário têm se mostrado eficazes para avaliação da transferência placentária e podem ser extrapolados para transferência *in vivo* na gestação de termo (SCHNEIDER, 1985).

Avaliando transferência placentária da metformina em modelo experimental, foram estudadas 14 placentas de gestantes de termo sem complicações e 10 placentas de gestantes de termo com diabetes gestacional. Neste modelo, os autores observaram transferência placentária de metformina da ordem de 0,51 para placentas consideradas normais e 0,59 para placentas de mulheres com diabetes gestacional (NANOVSKAYA *et al.*, 2006)

Outro estudo experimental avaliou placentas de seis pacientes com gestação de termo sem patologias, submetendo o cotilédone placentário à perfusão com metformina *in vitro* e obteve razão placentária de 0,34, inferindo baixa taxa de transferência placentária da metformina, porém, com pequeno número de casos estudados e avaliação *in vitro* (KOVO *et al.*, 2007).

Em nosso estudo, no momento do parto, a concentração plasmática mediana materna foi de 0,37µg/mL e a mediana fetal de 0,33µg/mL com relação feto/materna mediana de 0,74.

Esses valores indicam concentrações plasmáticas fetais em torno de 75% da concentração materna de metformina no momento do parto, alertando para a elevada transferência desse fármaco através da barreira placentária. Neste estudo, as pacientes estavam em uso contínuo de metformina durante toda a gestação, na dose de 850mg de 12 em 12 horas, permitindo transferência placentária durante toda gestação, sem que possamos inferir o quanto da droga transferida foi eliminada pelo feto. Devemos salientar que este estudo avaliou a transferência do fármaco *in vivo*, que somado ao fato do uso contínuo pode justificar a alta taxa de transferência da metformina.

Apesar da alta taxa de transferência placentária, não foram encontradas complicações no grupo de recém-nascidos estudados, o que pode ser comprovado pelos elevados Índices de Apgar. Vale ressaltar, que todos os recém-nascidos foram acompanhados no alojamento conjunto e não apresentaram sinais e dados objetivos de hipoglicemia. No entanto, devemos ter cautela na administração de elevadas doses desse fármaco em gestantes, devido à elevada taxa de transferência placentária e, conseqüentemente, possível ação sobre o feto e/ou recém-nascido e atentarmos para a necessidade de seguimento desses recém-nascidos por longo prazo.

6 - CONCLUSÕES

6 - CONCLUSÕES

- Neste estudo, a concentração máxima (C_{max}) mediana da metformina em plasma foi de $1,17\mu\text{g/mL}$, valor inferior ao encontrado na literatura, na administração de 850mg por via oral para voluntários sadios.
- O t_{max} (tempo para atingir a concentração máxima) foi de 2,66 h, diminuído em relação aos voluntários saudáveis.
- A meia vida de eliminação ($t_{1/2}$) foi de 4,10h, compatível com os dados farmacológicos encontrados na literatura.
- A AUC^{0-12} foi de $6,15\mu\text{g.h/mL}$, diminuída devido ao aumento do *clearance* da droga, salientado que a metformina é uma droga de excreção essencialmente renal.
- O *clearance* (Cl/f) foi de 138,12L/h e o volume de distribuição (Vd/f) de 755,82L mostraram-se aumentados pelas modificações fisiológicas da gestação.
- A mediana da transferência placentária foi de 74%, demonstrando alta taxa de transferência placentária da droga, sem intercorrências imediatas para os recém-nascidos.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aburuz S, Millership J, McElnay J. Dried blood spot liquid chromatography assay for therapeutic drug monitoring of metformin. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006 Mar 7;832(2):202-7.

Aburuz S, Millership J, McElnay J. The development and validation of liquid chromatography method for the simultaneous determination of metformin and glipizide, gliclazide, glibenclamide or glimiperide in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005 Mar 25;817(2):277-86.

Adams J, Franks S, Polson DW, Mason HD, Abdulwahid N, Tucker M, et al.. Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone. *Lancet.* 1985; 2: 1375-9.

Arafat t, Kaddoumi A, Shami M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two oral formulations of metformina hydrochloride. *Adv Ther* 1944; 11: 21-33.

Archard C, Thiers J. Le virilisme pileire et son association a l'insuffisance glycolytique (Diabete des femme a barbe). *Bull Acad Natl Med.* 1921; 86: 51.

Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care.* 1992; 15: 755-72.

Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med* 1996; 334: 574-9.

Balen AH, Tan SL, MacDougall J and Jacobs HS. Miscarriage rates following in vitro fertilization are increased in women with polycystic ovaries and reduced by pituitary desensitization with buserelin. *Hum Reprod.* 1993; 8: 959-964.

Barbieri RL, Ryan KJ. Hyperandrogenism, insulin resistance, and acanthosis nigricans syndrome: a common endocrinopathy with distinct pathophysiologic features. *Am J Obstet Gynecol.* 1983; 147: 90-101.

Bjercke S, Dale PO, Tanbo T, Storeng R, Ertzeid G and Abyholm T. Impact of insulin resistance on pregnancy complications and outcome in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2002; 54: 94-98.

Boomsma CM, Eijkemans MJC, Hughes EG, Visser GHA, Fauser BCJM and Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update*, 2006; 12 (6): 673-83.

Chen X, Gu Q, Qiu F, Zhong D. Rapid determination of metformin in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004; Apr 5; 802(2): 377-81.

Clifford K, Rai R, Watson H and Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod.* 1994; 9: 1328-1332.

Cox SM, Werner CL, Hoffamn BL, Cunningham FG. Williams Obstetrics (2005). 22nd edition. Editors:Hardcover.

Davidoff F, Bertolini D, Haas D. Enhancement of the mitochondrial Ca²⁺ uptake rate by phenethylbiguanide and other organic cations with hypoglycemic activity. *Diabetes*. 1978; 27: 757-65.

Diamant YZ, Rimon E and Evron S. High incidence of preeclamptic toxemia in patients with polycystic ovarian disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1982; 14: 199-204.

DeFronzo RA, Goodman AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med*. 1995; 333: 541-9.

Dominguez LJ, Davidoff AJ, Srinivas PR, Standley PR, Walsh MF, Sowers JR. Effects of metformin on tyrosine kinase activity, glucose transport, and intracellular calcium in rat vascular smooth muscle. *Endocrinology*. 1996; 137: 113-21.

Dunn CJ, Peters DH. Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs*. 1995; May; 49(5): 721-49.

Fleming R, Hopkinson ZE, Wallace AM, Greer IA and Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorrhea treated with metformin in a randomized double blind placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 569-574.

Glueck CJ, Bornovali S, Pranikoff J, Goldenberg N, Dharashivkar S and Wang P. Metformin, pre-eclampsia, and pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetic Medicine*. 2004; 21: 829-836.

Glueck CJ, Goldenberg N, Pranikoff J, Loftspring M, Sieve L and Wang P. Height, weight, and motor-social development during the first 18 months of life in 126 infants born to 109 mothers with polycystic ovary syndrome who conceived on and continued metformin through pregnancy. *Human Reprod*. 2004; 19: 1323-1330.

Glueck CJ, Goldenberg N, Wang P, Loftspring M and Sherman A. Metformin during pregnancy reduces insulin, insulin resistance, insulin secretion, weight, testosterone and development of gestational diabetes: prospective longitudinal assessment of women with polycystic ovary syndrome from preconception throughout pregnancy. *Human Reprod*. 2004; 19: 510-521.

Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L and Wang P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertil Steril*. 2001; 75: 46-52.

Glueck CJ, Wang P, Goldenberg N and Sieve-Smith L. Pregnancy outcomes among women with polycystic ovary syndrome treated with metformin. *Human Reprod*. 2002; 17: 2858-2864.

Glueck CJ, Wang P, Kobayashi S, Phillips H and Sieve-Smith L. Metformin therapy throughout pregnancy reduces the development of gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002; 77: 520-525.

Glueck CJ, Wang P. Metformin before and during pregnancy and lactation in polycystic ovary syndrome. *Expert Opin Drug Saf.* 2007a; Mar; 6(2): 191-8.

Glueck CJ, Pranikoff J, Aregawi D, Wang P. Prevention of gestational diabetes by metformin plus diet in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2007b Aug 2; [Epub ahead of print].

Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes.* 1992; 41: 715-22.

Hale T, Kristensen J, Hackett L, Kohan R, Ilett K. Transfer of metformin into human milk. *Adv Exp Med Biol.* 2004; 554: 435-6.

Hellmuth E, Damm P and Molsted-Pedersen L. Oral hypoglycaemic agents in 118 diabetic pregnancies. *Diabetic Medicine.* 2000; 17: 507-511.

Homburg R, Armar NA, Eshel A, Adams J and Jacobs HS. Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *Br Med J.* 1988; 297: 1024-1026.

Hughes RC, Gardiner SJ, Begg EJ, Zhang M. Effect of pregnancy on the pharmacokinetics of metformin. *Diabet Med.* 2006; Mar; 23(3): 323-6.

Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA and Nestler JE. Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 524-529.

Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 25-33.

Kovo M, Haroutiunian S, Feldman N, Hoffman A, Glezerman M. Determination of metformin transfer across the human placenta using a dually perfused ex vivo placental cotyledon model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007; Mar 9: [Epub ahead of print]

Lanzone A, Fulghesu AM, Cucinelli F, Guido M, Pavone V, Caruso A and Mancuso S. Preconceptional and gestational evaluation of insulin secretion in patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 1996; 11: 2382-86.

Lewy VD, Danadian K, Witchel SF and Arslanian S. Early metabolic abnormalities in adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *J Pediatr.* 2001; 138: 38-44.

Little BB. Pharmacokinetics during pregnancy: Evidence – based maternal dose formulation. *Obstet Gynecol.* 1999; 93: 858-68.

Loebstein R, Lalkin A, Koren G. Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. *Clin Pharmacokinet.* 1997; 33: 328-43.

Marques MA, Soares Ade S, Pinto OW, Barroso PT, Pinto DP, Ferreira-Filho M, Werneck-Barroso E. Simple and rapid method determination for metformin in human plasma using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry: application to pharmacokinetic studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007; Jun 1; 852(1-2): 308-16.

Martindale. The complete drug reference. Thirty-third edition, 2002

McCarthy EA, Walker SP, McLachlan K, Boyle J and Permezel M. Metformin in Obstetric and Gynecologic Practice: A Review. *CME Obstet Gynecol.* 2004; 59: 118-127.

Mikola M, Hiilesman V, Halttunen M, Suhonen L and Tiitnen A. Obstetric outcome in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2001; 16: 226-229.

Moggetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 139-146.

Morin-Papunen LC, Koivunen RM, Ruokonen A and Martikainen HK. Metformin therapy improves the menstrual pattern with minimal endocrine and metabolic effects in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1998; 69: 691-696.

Morin-Papunen LC, Vauhkonen I, Koivunen RM, Ruokonen A, Martikainen HK, Tapanainen JS. Endocrine and metabolic effects of metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3161-8.

Nanovskaya TN, Nekhayeva IA, Patrikeeva SL, Hankins GD, Ahmed MS. Transfer of metformin across the dually perfused human placental lobule. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; Oct;195(4): 1081-5.

Nestler JE and Jakubowicz DJ (1997). Lean women with polycystic ovary syndrome respond to insulin reduction with decreases in ovarian P450c17 alpha activity and serum androgens. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82: 4075-4079.

Paradisi G, Fulghesu AM, Ferrazzani S, Moretti S, Proto C, Soranna L, Caruso A and Lanzone A. Endocrino-metabolic features in women with polycystic ovary syndrome during pregnancy. *Hum Reprod*. 1998; 13: 542-546.

Pasanen M, Pelkonen O. Human placental xenobiotec and steroid biotransformations catalyzed by cytochrome P450, epoxide hidrolase, and glutatione s-transferase activities and their relationships to maternal cigarette smoking. *Drug Metab Ver*. 1990; 21: 427-46.

Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 2767-2774.

Poretsky L. On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulin-resistant states. *Endocr Rev* 1991; 12: 3-13.

Qaisi AM, Tutunji, MF, Sahouri, CA. Determination of metformina in human plasma using normal phase high performance liquid chromatography. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2006; 14 (2): 108-14.

Radon PA, McMahon MJ and Meyer WR. Impaired glucose tolerance in pregnant women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol.* 1999; 94: 194-197.

Regan L, Owen EJ and Jacobs HS. Hypersecretion of luteinising hormone, infertility, and miscarriage. *Lancet.* 1990; 336: 1141-1144.

Reis RM, Rosa e Silva ACJS, Navarro PAAS, Sa MFS e Ferriani RA. Protocolos de Conduta em Infertilidade Conjugal – Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – 1ª edição (2004) Cap 04: 27-48.

Sambol NC, Chiang J, O'Conner M, Liu CY, Lin ET, Goodman AM, Benet LZ, Karam JH. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Metformin in Healthy Subjects and Patients with Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus *J. Clin. Pharmacol.* 1996; Nov; 36: 1012 - 1021.

Santana LF, Silva de Sá MF, Ferriani RA, de Moura MD, Foss MC and dos Reis RM. Effect of metformin on the clinical and metabolic assessment of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2004 Aug; 19 (2): 88-96.

Schachter M, Raziell A, Friedler S, Strassburger D, Bern O and Ron-El R (2003). Insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome is associated with elevated plasma homocysteine. *Human Reprod.* 2003; 18: 721-727.

Schneider H, Dancis J. In vitro perfusion of human placental tissue. In: Keller PJ, editor. *Contributions to gynecology and obstetrics.* vol 13. New York: Karger; 1985. p. 1-189.

Scheen AJ. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet.* 1996 May; 30(5): 359-71.

Simmons D, Walters BNJ, Rowan J and McIntyre HD. Metformin therapy and diabetes in pregnancy. *MJA.* 2004; 180: 462-464.

Sirtori CR, Pasik C. Re-evaluation of a biguanide, metformin: mechanism of action and tolerability. *Pharmacol Res.* 1994 Oct-Nov; 30(3): 187-228.

Speroff L, Glass RH, Kase, NG. Anovulação e o ovário policístico. In: SPEROFF L. (editor). *Endocrinologia Ginecológica Clínica e Infertilidade*. São Paulo: Manole Ltda; 1995. p.477-502.

Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*. 1935; 19: 181.

Sulkin TV, Bosman D, Krentz AJ. Contraindications to metformin therapy in patients with NIDDM. *Diabetes Care*. 1997; 20: 925-8.

Tulppala M, Stenman UH, Cacciatore B and Ylikorkala O (1993). Polycystic ovaries and levels of gonadotrophins and androgens in recurrent miscarriage: prospective study in 50 women. *Br J Obstet Gynecol*. 1993; 100: 348-352.

Unluhizarci K, Kelestimur F, Bayram F, Sahin Y, Tutus A. The effects of metformin on insulin resistance and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*. 1999; 51: 231-6.

Vanky E, Salvesen KA, Heimstad R, Fougner KJ, Romundstad P and Carlsen SM (2004). Metformin reduces pregnancy complications without affecting androgen levels in pregnant polycystic ovary syndrome women: results of a randomized study. *Human Reprod*. 2004; 19: 1734-1740.

Vanky E, Zahlsten K, Spigset O, Carlsen SM. Placental passage of metformin in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2005 May; 83(5): 1575-8.

Velazquez E, Acosta A and Mendoza SG (1997). Menstrual cyclicality after metformin therapy in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol.* 1997; 90: 392-395.

Velazquez EM, Mendoza S, Hamer T, Sosa F and Glueck CJ (1994). Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism.* 1994; 43: 647-654.

Virbikova J, Bendlova B, Hill M, Vankova M, Vondra K and Starka L (2002). Insulin sensitivity and beta-cell function in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care.* 2002; 25: 1217-1222.

Wiernsperger NF, Bailey CJ. The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs* 1999;58 Suppl 1: 31-9; discussion 75-82.

Wang Y, Tang Y, Gu J, Fawcett JP, Bai X. Rapid and sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the quantitation of metformin in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004; Sep 5; 808(2): 215-9

Wortzman J, de Angeles S, Futterweit W, Singh KB and Kaufmann RC (1991). Gestacional diabetes and neonatal macrosomia in the polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med.* 1991; 36: 659-661.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo A – Carta de aprovação do trabalho no Comitê de Ética em Pesquisa



COPIA

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

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 24 de novembro de 2005

Ofício nº 3255/2005
CEP/SPC

Prezada Senhora:

O trabalho intitulado
“FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO
TRANSPLACENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM
SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS”, foi analisado pelo
Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 215ª Reunião Ordinária
realizada em 21/11/2005, e enquadrado na categoria: **APROVADO**,
bem como o Termo de Consentimento Livre é Esclarecido, de
acordo com o Processo HCRP nº 12417/2005.

Aproveito a oportunidade para apresentar
a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

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

Ilustríssima Senhora
CLÁUDIA DE OLIVEIRA BARALDI
PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA (Orientador)
Depto. de Ginecologia e Obstetria
Em mãos

Anexo B

Termo de consentimento livre e esclarecido.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Projeto: **FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO
TRANSPLENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM SÍNDROME
DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS**

Nome Pesquisador: Cláudia de Oliveira Baraldi

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

Nome da paciente: _____

Idade: _____ anos Registro HC-FMRP: _____

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

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

Necessitamos também coletar uma amostra do sangue do cordão umbilical, após nascimento do seu filho (a) para dosar a quantidade destes medicamentos presente no mesmo. O único inconveniente desta pesquisa será de a picada da agulha para aplicação de uma via de acesso

venosa para a coleta das amostras. “A pesquisa não interferirá na conduta clínica a ser conduzida no caso da senhora.”

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

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 2005

Nome da paciente: _____ Assinatura: _____

Anexo C

Dados individuais coletados durante o estudo

Tabela 14: Concentrações de metformina ($\mu\text{g/mL}$) no plasma materno em tempos (minutos) determinados (n:9)

Tempo (minutos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0,52	0,6	0,49	0,79	0,73	0,57	0,10	0,05	0,16
30	0,58	0,64	0,41	0,69	1,43	0,47	0,22	0,08	0,30
60	0,58	1,03	0,43	0,66	1,67	0,42	0,36	0,11	0,90
90	0,72	1,46	1,17	0,59	1,51	0,32	0,41	0,29	0,71
120	0,89	1,49	0,85	0,50	1,21	0,25	0,52	0,63	1,14
150	1,70	1,50	0,87	0,34	1,65	0,45	0,49	0,12	1,98
180	1,17	1,40	0,83	0,35	1,52	0,31	0,52	0,12	1,02
240	0,97	0,90	0,51	0,34	1,17	0,29	0,44	0,34	0,70
300	0,74	0,86	0,68	0,30	0,99	0,25	0,35	0,21	0,59
360	0,65	0,79	0,40	0,22	0,83	0,48	0,33	0,13	0,47
420	0,52	0,65	0,37	0,18	0,80	0,34	0,34	0,04	0,29
480	0,48	0,57	0,28	0,15	0,63	0,40	0,32	0,03	0,23

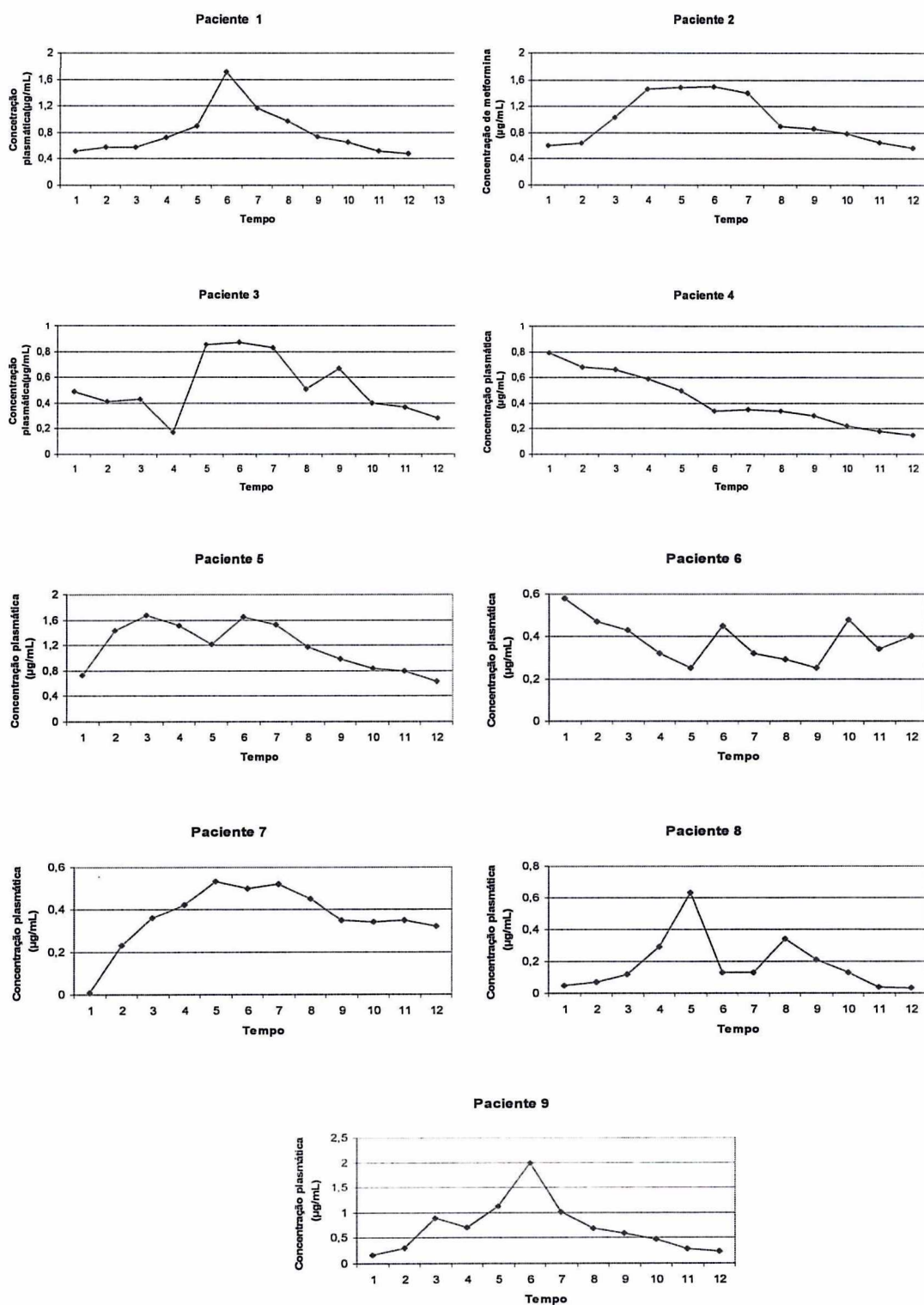


Figura 7- Representação gráfica individual das concentrações plasmáticas mediana de metformina ($\mu\text{g/mL}$) em função do tempo (minutos).

Tabela 15: Avaliação parâmetros da farmacocinética

Parâmetro	Unidade	1	2	3	4	5	6	7	8	9
t1/2	h	3,24	10,50	2,6	4,10	4,26	6,03	7,70	3,35	1,18
tmax	h	3,00	2,70	0,50	2,00	1,00	2,15	2,75	2,91	2,66
Cmax	µg/mL	1,70	1,50	1,17	0,79	1,67	0,57	0,53	1,99	1,07
AUC⁰⁻¹²	µg.h/mL	9,67	11,53	6,15	4,87	11,02	3,60	4,46	7,18	3,60
Cmédia	µg/mL	0,81	0,96	0,52	0,41	0,92	0,30	0,37	0,60	0,30
Flutuação	%	147,89	92,73	150,78	140,01	113,13	107,98	139,31	304,98	371,37
Cl/f	L/h	87,91	73,69	138,12	174,21	77,11	235,73	151,18	118,36	443,03
Vd/f	L	411,29	1120,91	532,71	1032,83	474,92	2051,06	1694,19	572,67	755,82

Tabela 16: Concentrações de metformina ($\mu\text{g/mL}$) no plasma materno e fetal e razão feto/materna no momento do parto

Tempo (minutos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Materno	1,94	0,43	2,38	0,30	0,59	0,11	0,25	0,30	X
Fetal	1,45	0,52	0,90	0,38	0,29	0,10	0,18	0,11	X
Relação	0,75	1,21	0,38	1,29	0,49	0,92	0,74	0,36	