



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**NAURA TONIN ANGONESE**

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COM USO DE CLORIDRATO DE  
METFORMINA NAS DOSES DE 1500MG E 1000MG DIA EM PACIENTES COM  
SÍNDROME DE OVÁRIOS POLICÍSTICOS**

**CURITIBA**

**2011**

**NAURA TONIN ANGONESE**

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COM USO DE CLORIDRATO DE  
METFORMINA EM PACIENTES COM SÍNDROME DE OVÁRIOS POLICÍSTICOS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.**

**Orientador: Prof. Dr. Almir Urbanetz**

**CURITIBA**

**2011**

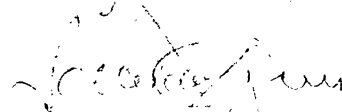


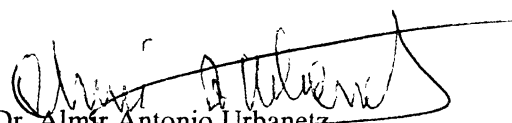
## PARECER

Aos nove dias do mês de dezembro do ano de dois mil e onze, a banca examinadora constituída pelos Professores: Dr. Jean Carl Silva, Dra. Adriane Maria Rodrigues e Dr. Almir Antonio Urbanetz, exarou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por NAURA TONIN ANGONESE, do **Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna – Mestrado da Universidade Federal do Paraná**, intitulada: **ENSAIO CLINICO RANDOMIZADO COM USO DE CLORIDRATO DE METFORMINA EM PACIENTES COM SINDROME DE OVÁRIOS POLICISTICOS**". A Banca examinadora considerou que NAURA TONIN ANGONESE apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna** e a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.

Curitiba, 09 de dezembro de 2011.

  
Professor Dr. Jean Carl Silva

  
Professora Dra. Adriane Maria Rodrigues

  
Professor Dr. Almir Antonio Urbanetz

*À Sofia e Francisco, motivo maior da  
minha existência.*

*Ao Mestre e companheiro André, pelo  
incentivo, exemplo e muito carinho  
nesta jornada.*

*À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Neila, pelo modelo de  
dedicação e empenho ao conhecimento  
desde a minha infância.*

*Aos meus pais que sempre acreditaram  
nas suas filhas.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Almir Urbanetz, por ter oportunizado por meio de sua orientação o meu retorno à academia. O convívio destes anos foi enriquecedor pelo seu grande conhecimento científico e exemplo de vida. Obrigada.

À amiga Josélia Larger Manfio, pelo constante apoio e incentivo. Sua paciência e dedicação para ensinar farmacologia foram fundamentais durante este estudo.

Ao Eduardo Gomes, grande amigo nesta jornada. Estes anos dividimos além do trabalho, nossas expectativas e angústias para nos tornarmos mestres. Obrigada pela parceria.

À Ana Maria, Mauricio, Fabiane, Solange, Mariely e Dirlene e toda a equipe da Biocinese, pelo apoio e carinho, tão decisivos no decorrer deste trabalho. Sem vocês tudo ficaria mais difícil e distante. Valeu!

Ao casal Luis e Carmen Donaduzzi, pela oportunidade de fazer pesquisa em Toledo e ter perspectivas desafiantes e motivadoras constantemente.

À Fabíola, Denise e Andréia, Fernanda, Patrícia e a Hayeska, que estiveram juntas comigo na seleção e acompanhamento das pacientes sempre com muito carinho e dedicação

À *teacher* Juciane, por acreditar em mim.

Às pacientes que voluntariamente aceitaram participar deste experimento acadêmico.

À Valeria e Lúcia, secretárias do programa de pós-graduação pela atenção e carinho e que sempre tiveram comigo. Vocês são maravilhosas.

À Pós-Graduação da Medicina Interna e Ciências da Saúde, por propiciar um excepcional programa de ensino e proporcionar a oportunidade do Mestrado.

## RESUMO

A relação dose-efeito ideal de uma droga é busca constante para assegurar eficácia e segurança terapêuticas. O cloridrato de Metformina (Metformina), medicamento de uso no Diabetes Mellito tipo 2, passou a ser usado para o tratamento da Síndrome dos ovários policísticos (SOP) desde 1994. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento farmacocinético da Metformina nas doses de 1500mg/dia e 1000mg/dia, observando sua resposta clínica e correlacionar com dose terapêutica. Metodologia: Houve a aprovação pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas da UFPR. Trata-se de um ensaio clínico randomizado tipo experimental controlado qualitativo e quantitativo. Foram selecionadas 18 pacientes com idade entre 18 e 49 anos, sem uso de anticoncepcional hormonal ou Metformina por mais de três meses, com diagnóstico de SOP segundo os critérios de Rotterdam, 2003 e com índice de resistência insulínica pelo modelo de HOMA superior a 2,5. As pacientes passaram, no pré e pós-tratamento, por avaliação antropométrica, ecografia transvaginal, exames laboratoriais para insulina, glicemia, colesterol, triglicerídeos, HDL, LDL, FSH, LH, S-DHEA, prolactina e testosterona livre. Foram randomizado em dois grupos: 1500mg/dia – fracionada em 3 x dia e 1000mg/dia – fracionada 2x dia. No primeiro dia do tratamento foram coletadas amostras sanguíneas no *steady state* – 8 horas após o início do tratamento e no vale-1 hora antes da nova dose. A cada 15 dias, por 105 dias, as pacientes retornavam para entrevista sobre frequência de tomadas, possíveis eventos adversos e coleta de amostra sanguínea para quantificar a concentração plasmática da Metformina. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS). Os resultados observados em relação a resposta clínica, após 3 meses de tratamento formam diminuição do IMC, glicemia e testosterona livre para as pacientes que utilizaram a dose de 1500mg/dia, enquanto nas pacientes que utilizaram a dose de 1000mg/dia houve diminuição do intervalo dos ciclos menstruais, aumento do HDL e melhora dos parâmetros para a síndrome metabólica. Eventos adversos foram observado em 27% das pacientes, em ambos os grupos, sendo motivo de descontinuidade de tratamento. Os parâmetros farmacocinéticos (média) para o grupo de 1500mg foi T<sub>1/2</sub>: 9,23h, C<sub>max</sub>: 1734,18ng/mL, ASC 9481,67ng/ml, V: 886922,59ml e Cl: 71725,59ml/h, enquanto para o grupo de 1000mg/dia os parâmetros foram: T<sub>1/2</sub>: 3,87h, C<sub>max</sub>: 372,33ng/mL, ASC 2118,28ng/ml, V: 1560096,07ml e Cl: 311961,12ml/h. A concentração plasmática média encontrada durante o acompanhamento de três meses foi para o grupo de 1500mg/dia de 1192,95ng/mL e para o grupo de 1000mg/dia foi de 797,573ng/mL. As conclusões chegadas foram que não houve superioridade de resposta clínica em ambos os grupos sendo 3 meses tempo insuficiente para esta observação. A análise farmacocinética demonstrou comportamento diferente nos dois grupos, não proporcional a dose. A concentração plasmática a cada 15 dias obtida em ambos os grupos demonstrou variações acentuadas sugerindo baixa aderência ao tratamento. Na busca da menor dose eficaz para o tratamento da SOP a dose de 1000mg dia é promissora.

**Palavras-chave:** Metformina. Síndrome dos Ovários Policísticos. Farmacocinética. Aderência. Eventos adversos.

## ABSTRACT

The ideal dose-effect relationship is a constant search to assure therapeutic efficacy and safety. The Metformin Hydrochloride drug used for treating Diabetes Mellitus Type 2, has also been used for the treatment of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) since 1994 when it was observed the clinical improvement of the patients with these two conditions. This study aimed to assess the pharmacokinetic behavior of metformin in the doses of 1500mg and 1000mg/day, observing its clinical response and correlating with the therapeutic dose. This study was approved by the UFPR Clinical Hospital Ethics and Research Committee. It is a randomized clinical trial, controlled qualitative and quantitative type. 18 patients were screened, aged between 18 and 49 years old, not using hormonal contraceptive and metformin for more than 3 months, diagnosed with PCOS according to the Rotterdam criteria, 2003 and with insulin resistance index by the HOMA model higher than 2,5. The patients underwent pre and post treatment anthropometric evaluation, transvaginal ultrasonography, laboratory examinations for insulin, glycemia, cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, FSH, LH, S-DHEA, prolactin and free testosterone. The patients were randomized in two groups of 1500mg/day fractioned in 3 times/day and 1000mg fractioned twice a day. At the first treatment day blood samples were collected in steady state, 8 hours after the treatment onset,  $C_{min}$  1 hour before the new dose. Every 15 days, in 105 days time the patients were interviewed about the administration of the drug and possible side effects and blood samples collections were taken to quantify the plasma concentration of metformin. The samples were analysed by Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). After 3 months of treatment, the results obtained in relation to the clinical response were the BMI, glycemia, free testosterone for the patients who used the 1500mg/day doses, while the patients who used the 1000mg/day doses had a decrease in the menstrual cycle interval, increase in the HDL and improvement on the parameters for the metabolic syndrome. Adverse events were noted in 27% of patients, in both groups, being the reason for treatment discontinuation. The average pharmacokinetic parameters for the 1500mg group were:  $T_{1/2}$ : 9,23h,  $C_{max}$ : 1734,18ng/mL, ASC 9481,67 ng/ml,  $V$ : 886922,59ml and  $Cl$ : 71725,59ml/h while the 1000mg/day group parameters were: 3,87h,  $C_{max}$ : 372,33ng/mL, ASC 2118,28ng/ml,  $V$ : 1560096,07ml and  $Cl$ : 311961,12ml/h. The average plasma concentration found during the 3-month follow-up for the 1500mg/day was 1192,95ng/mL and for the 1000ml/day was 797,573ng/mL. We reached the conclusion that there was no superiority in the clinical response in both groups, taking into consideration the fact that 3 months were insufficient for this observation. The pharmacokinetics analysis showed different behavior in both groups, not proportional to the dose. The plasma concentration taken every 15 days in both groups showed great variations, suggesting low compliance to the treatment. In the search for the smallest and most effective dose for PCOS, the 1000mg/day dose is very promising.

**Key-words:** Metformin. Polycystic Ovary Syndrome. Pharmacokinetics. Compliance. Adverse events.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	ESTRUTURA QUÍMICA DO CLORIDRATO DE METFORMINA.....	24
FIGURA 2 -	MODELO DA AÇÃO DA METFORMINA NO METABOLISMO DOS LIPÍDIOS E DA GLICOSE .....	25
FIGURA 3 -	TEMPO DE OCORRÊNCIA DE EVENTOS ADVERSOS DO GRUPO A E B .....	41
FIGURA 4 -	GRÁFICO DE AVALIAÇÃO DO INTERVALO MENSTRUAL COM DIMINUIÇÃO DO PERÍODO ENTRE OS CICLOS MENSTRUAIS .....	42
FIGURA 5 -	AVALIAÇÃO DO IMC ANTES E APÓS O TRATAMENTO NOS GRUPOS A E B. ....	43
FIGURA 6 -	AVALIAÇÃO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO DO GRUPO A PARA COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS, HDL, LDL, GLICEMIA .....	44
FIGURA 7 -	AVALIAÇÃO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO DO GRUPO B PARA COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS, HDL, LDL, GLICEMIA .....	44
FIGURA 8 -	CROMATOGRAMA DE METFORMINA EM PLASMA NA CONCENTRAÇÃO DE 1000ng/ml .....	47
FIGURA 9 -	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA DA METFORMINA AVALIADA DURANTE O TEMPO DE 15 A 105 DIAS PARA O GRUPO A E B .....	50
FIGURA 10 -	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA OBSERVADA NOS PACIENTES DO GRUPO A.....	51
FIGURA 11 -	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA OBSERVADA NOS PACIENTES DO GRUPO B.....	51



## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA PARA MULHERES – ATP III .....	17
QUADRO 2 - PACIENTES QUE TIVERAM TÉRMINO PREMATURO, PERÍODO DE PERMANÊNCIA NA PESQUISA E MOTIVO DA SAÍDA.....	40

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - AVALIAÇÃO DOS GRUPOS EM RELAÇÃO À IDADE .....	41
TABELA 2 - AVALIAÇÃO POR GRUPOS DA VARIÁVEL ESCOLARIDADE, ESTADO CIVIL E DESEJO DE GESTAR .....	41
TABELA 3 - AVALIAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA O GRUPO A E B .....	43
TABELA 4 - PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA SEGUNDO OS CRITÉRIOS DA ATPIII, AVALIADAS NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA OS GRUPOS A E B .....	45
TABELA 5 - AVALIAÇÃO LABORATORIAL HORMONAL DO GRUPO A E B NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO .....	45
TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE <i>STEADY STATE</i> E VALE DA METFORMINA ENCONTRADO NAS PACIENTES DO GRUPO A E B NO PRIMEIRO DIA DE TRATAMENTO.....	49
TABELA 7 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA O GRUPO A OBTIDOS NO PRIMEIRO DIA DE USO DE METFORMINA.....	49
TABELA 8 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA O GRUPO B OBTIDOS NO PRIMEIRO DIA DE USO DE METFORMINA.....	49

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\mu\text{L}$	- Microlitro
17 $\beta$ -HSD	- 17 $\beta$ hidroxioesteroide desidrogenase
ACC	- Acetil CoA carboxilase
AMP	- Adenosina monofosfato
AMPK	- Enzima proteína quinase ativada por AMP
ANOVA	- Análise de Variância
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	- Área sob a Curva
ASRM	- American Society for Reproductive Medicine
ATP III	- Adult treatment panel iii
C.V.	- Coeficiente de variação
CCAL	- Curva de Calibração
CDN	- Isótopo delterada d-6
Cl	- <i>Clearance</i>
$C_{\text{max}}$	- Concentração plasmática máxima
$C_{\text{min}}$	- Vale ou Concentração Plasmática Mínina
CNS 196/96	- Conselho Nacional de Saúde, Resolução de número 196/96
CQA	- Controle de qualidade alto
CQB	- Controle de qualidade baixo
CQLQ	- Controle de qualidade de limite de quantificação
CQM	- Controle de qualidade médio
CYP17	- Citocromo P17
DM2	- Diabete Melito tipo 2
ESHRE	- European Society for Human Reproduction and Embryology
F	- Biodisponibilidade
FAZ	- Ácido graxo sintetase
FSH	- Hormonio folículo estimulante
GnRh	- Hormônio Liberador da gonadotrofina
HMGCoA	- 3 hidroxí-3-metilglutaril coa redutase
HOMA IR	- Modelo de avaliação da Homeostase e resistência à insulina

HPLC	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HSD3-b	- Enzimas esteroideogênicas
IGF-1	- Fator de crescimento semelhante à insulina
IMC	- Índice de Massa corporal
Kel	- Coeficiente de eliminação
LH	- Hormônio luteinizante
L-PK	- Gene lipogênico
LQ	- Limite de quantificação
mg	- Miligramas
ml	- Mililitro
NCEP	- National cholesterol education program
OMS	- Organização Mundial da Saúde
P450c17	- Citocromo p450c
PI3K	- Fosfatidilinositol 3-quinase
S14	- Gene lipogênico
S-DHEA	- Sulfato de Dehidroepiandrosterona
SHBG	- Globulina ligadora dos esteroides sexuais
SREBP-1	- Proteína de ligação ao elemento de resposta a esterol
$T_{1/2}$	- Tempo de meia vida
TCLE	- Termo de Consentimento Livre Esclarecido
USP	- Universidade de São Paulo
Vd	- Volume de Distribuição

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1	SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS – SOP.....	15
2.2	CONCEITOS DE FARMACOCINÉTICA.....	18
2.2.1	Parâmetros farmacocinéticos .....	18
2.2.1.1	Tempo de meia vida ( $T_{1/2}$ ) .....	19
2.2.1.2	Volume de distribuição ( $V_d$ ).....	19
2.2.1.3	Área sob a curva total (ASC).....	20
2.2.1.4	<i>Clearance</i> (CL).....	20
2.2.2	Monitoramento Plasmático.....	20
2.2.2.1	Biodisponibilidade .....	21
2.2.2.2	Concentração plasmática dos fármacos .....	21
2.2.2.3	Pico de concentração máxima ( $C_{max}$ ).....	22
2.2.2.4	Vale ( $C_{min}$ ) .....	22
2.2.2.5	Margem terapêutica .....	22
2.3	METFORMINA.....	23
2.3.1	Farmacocinética .....	26
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	28
3.1	OBJETIVO GERAL.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>4</b>	<b>CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	29
4.1	ASPECTO ÉTICO.....	29
4.2	RECRUTAMENTO E SELEÇÃO .....	29
4.2.1	Critérios de inclusão .....	30
4.2.2	Critérios de exclusão .....	31
4.3	CÁLCULO AMOSTRAL.....	32
4.4	TIPO DE ESTUDO .....	32
4.5	MÉTODO .....	33
4.5.1	Etapa clínica .....	33
4.5.2	Etapa analítica .....	34
4.5.2.1	Reagentes e padrões.....	35

4.5.2.2	Equipamentos .....	35
4.5.2.3	Extração .....	35
4.5.2.4	Validação.....	36
4.5.2.5	Análise farmacocinética.....	37
4.5.2.6	Análise estatística .....	38
4.5.3	Etapa estatística .....	38
4.5.3.1	Parâmetros clínicos .....	38
4.4.3.2	Parâmetros farmacocinéticos .....	39
4.4.3.3	Métodos estatísticos .....	39
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
5.1	ETAPA CLÍNICA.....	40
5.2	ETAPA ANALÍTICA .....	46
5.2.1	Método bioanalítico .....	46
5.2.1.1	Especificidade/seletividade.....	46
5.2.1.2	Curva de calibração/linearidade .....	47
5.2.1.3	Limite de quantificação/detecção .....	47
5.2.1.4	Precisão e exatidão .....	48
5.2.1.5	Estabilidade .....	48
5.2.2	Resultados farmacocinéticos .....	48
5.2.3	Monitoramento plasmático .....	50
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
6.1	ETAPA CLÍNICA.....	52
6.2	ETAPA ANALÍTICA .....	60
6.2.1	Monitoramento plasmático .....	61
6.2.2	Resultados farmacocinéticos .....	63
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>
	<b>APÊNDICE 1 - TERMO DE RECRUTAMENTO</b> .....	<b>78</b>
	<b>APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A busca da qualidade e da eficácia terapêutica tem sido constante e conta com muitos desafios. Um deles é a procura da relação ideal entre dose e efeito. A posologia busca a menor dose possível de medicamento para produzir o efeito desejado sem efeitos adversos e colaterais (SAKATE, 2006). Idealizam-se segurança e resposta terapêutica ótima.

A eficácia e a segurança dos fármacos baseiam-se principalmente na avaliação das intervenções experimentais em ensaios clínicos. É por meio destas que se forma a base para as decisões terapêuticas (OATES, 2006). O conhecimento da farmacocinética e da farmacodinâmica aliado à avaliação do paciente embasa a melhor decisão para o tratamento.

Determinados fármacos são utilizados com diferentes indicações clínicas. Estudos observacionais, quando avaliam paciente com mais de uma doença em uso de um determinado princípio ativo, podem sinalizar novas indicações terapêuticas. Quando há comprovação de eficácia, cabe o questionamento da melhor dose.

O cloridrato de Metformina (Metformina) foi, primeiramente, descrito para o tratamento da Diabetes Mellito tipo 2 (DM2), em 1957 (DAVIS, 2006). A observação clínica evidenciou que pacientes em uso de Metformina por DM2 e com SOP concomitante, apresentavam ciclos menstruais mais regulares, diminuição do índice de massa corporal, redução dos androgênios circulantes e ocorrência de casos de gestação durante o tratamento. O emprego da Metformina foi descrito por Velazquez *et al.* (1994), para o tratamento do SOP. Atualmente, é preconizada, também, para o tratamento da Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) quando associada à resistência à insulina e diabetes gestacional (ROWAN *et al.*, 2008; TARLATZIS *et al.*, 2008).

A recomendação de uso da Metformina contempla alguns anseios, visto que seu uso é indicado em mulheres com idade fértil e muitas vezes desejosas de gestação. É um fármaco sem evidência de ser teratogênico, e seu uso tem sido recomendado durante o curso da gestação por sua ação profilática para diabetes gestacional (GLUECK *et al.*, 2008).

Apesar desta segurança terapêutica, tem-se observado que há uma intolerância ao uso da Metformina pelos seus efeitos colaterais agudos presentes em até 20%

das pacientes. Esses efeitos são diarreia, desconforto abdominal, náuseas, sabor metálico e anorexia (DAVIS, 2006). Isto leva à baixa aderência ao tratamento, bem como à diminuição da dose do medicamento pela paciente.

A dose preconizada para o tratamento da SOP segue os estudos clínicos usados para DM2 e, atualmente, busca-se verificar qual é a dose terapêutica da Metformina para o tratamento da SOP (BAYRAK *et al.*, 2007).

Doses menores de Metformina são suficientes para sua ação antiandrogênica e melhora da resposta ovariana? Este questionamento decorre da prática clínica e origina este trabalho, pois nela observou-se que pacientes diminuía a dose recomendada sem orientação médica buscando melhor adaptação ao medicamento e redução dos eventos adversos.

O presente estudo objetivou a avaliação farmacocinética de diferentes doses de Metformina (1000 e 1500mg fracionadas durante o dia) e correlacionou com resposta terapêutica em pacientes com SOP por três meses em busca da menor dose eficaz. Está organizado da seguinte forma: inicialmente apresenta uma revisão de literatura com objetivo de situar a evolução dos estudos sobre SOP e Metformina e conceituar os parâmetros farmacológicos relacionados ao estudo realizado. A seguir apresenta a metodologia empregada evidenciando os objetivos, materiais e métodos da etapa clínica, analítica e estatística. Expõe e discute os resultados obtidos buscando elucidar o problema de pesquisa proposto.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta etapa do trabalho busca situar os conceitos sobre SOP, Metformina e Farmacologia que darão suporte à análise e discussão de dados obtidos neste estudo.

### 2.1 SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS – SOP

Em 1935, Stein e Leventhal descreveram uma síndrome com amenorreia, hirsutismo, obesidade e infertilidade associada aos ovários policísticos. Deste então, evoluiu muito o conhecimento em relação a esta síndrome quanto a sua prevalência, fisiopatologia e tratamento, porém sua etiologia permanece desconhecida e ainda há controvérsias quanto ao seu diagnóstico e tratamento (HOMBURG, 2008). Atualmente é conhecida como Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP), também denominada Anovulação por Retrocontrole Impróprio ou Anovulação Hiperandrogênica.

É uma das alterações endocrinológicas mais frequentes em mulheres na idade fértil com prevalência de 6 a 10% sendo responsável por 72 a 82% dos quadros de hiperandrogenismo (AZZIZ *et al.*, 2005).

Estudos genéticos sugerem que a SOP é uma desordem complexa e multigênica. Seu mecanismo fisiopatológico é controverso. O aumento dos hormônios androgênicos está relacionado à maior expressão do gene CYP17 (que codifica uma enzima com atividade de 17 alfa hidroxilase e 17,20 liase) que catalisa reações na via da biossíntese de esteróides, envolvida na produção de testosterona. Os androgênios em excesso são convertidos em estrona nos tecidos periféricos. A estrona inibe a dopamina hipotalâmica provocando um aumento da frequência de pulsos do hormônio hipotalâmico liberador de gonadotrofinas (GnRH), o que torna maior a produção do hormônio luteinizante (LH) sobre a formação do hormônio folículo-estimulante (FSH) (REIS,2004). O aumento relativo da secreção hipofisária de LH ocasiona incremento de produção de androstenediona pela teca ovariana, a qual é convertida em 17  $\beta$ - hidroxisteróide desidrogenase do tipo 5 (17  $\beta$ -HSD) em testosterona ou aromatizada em estrona. Nas células da granulosa, estrona é

convertida em estradiol (EHRMANN *et al.*, 2006). A redução da dopamina hipotalâmica pode estar associada, em alguns casos, ao aumento da prolactina, que por sua vez é fator de estímulo da adrenal para produzir androgênio (HOMBURG, 2008).

A associação entre hiperandrogenismo e resistência à insulina foi descrita em 1921 por Archard e Thiers e logo correlacionada com SOP. Isso fica evidente quando se observa que 80% das mulheres com obesidade e 40% das magras que têm SOP também têm hiperinsulinemia devido à resistência à insulina (HOMBURG, 2008; EHRMANN, 2005).

A insulina promove o aumento da expressão do gene CYP17 e da atividade do citocromo P450c17, o que leva à secreção anormal de LH a nível periférico e promove a secreção ovariana de andrógenos, tanto diretamente como mediante o estímulo do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1). A insulina diminui a síntese hepática de IGFBP-1 e da globulina ligadora dos hormônios sexuais (SHBG), aumentando os níveis de andrógenos livres. No momento, está sendo proposto, na SOP, um envolvimento de hipersensibilidade das células da teca à ação da insulina, defeito este intrínseco e não secundário ao estímulo crônico do LH e ocorrendo mesmo na ausência da resistência à insulina ou hiperinsulinemia (BAILLARGEON; NESTLER, 2006).

Trata-se de uma doença com amplo espectro de sinais e sintomas. O início do seu quadro acontece após a menarca e poderá ser acentuado com fatores ambientais como estilo de vida sedentária e ganho de peso. Porém, parece estar associado desde a vida intraútero, visto que antecedentes de baixo peso ao nascer e puberdade precoce conferem risco aumentado para SOP (EHRMANN, 2005).

Irregularidade menstrual com oligomenorreia ao sangramento disfuncional, manifestações androgênicas (acne e hirsutismo), ganho de peso e infertilidade são as principais manifestações clínicas. Porém nem sempre sua apresentação é exuberante e a suspeita diagnóstica pode ser confirmada por meio de exames complementares.

Em busca de uma diretriz, os critérios diagnósticos de SOP foram revisados e estabelecidos em Rotterdam, em 2003, com consenso mediado pela European Society for Human Reproduction and Embryology - ESHRE e a American Society for Reproductive Medicine - ASRM (HOMBURG, 2008). Foi estabelecido que dois, dos três achados, seriam suficientes para o diagnóstico:

- a) oligomenorreia e (ou) anovulação, caracterizada por irregularidade menstrual ou amenorreia;

- b) hiperandrogenismo clínico com presença de acne, alopecia androgênica ou hirsutismo ou alteração bioquímica com dosagens aumentadas de androgênios;
- c) ovários policísticos ao exame ultrassonográfico, caracterizado pela presença de 12 ou mais folículos de dois a nove milímetros de diâmetro médio ou volume ovariano superior a 10cm<sup>3</sup>.

Além das alterações já descritas, as pacientes com SOP têm múltiplos fatores de risco para doenças cardiovascular e DM2. A gênese da resistência à insulina parece estar associada à secreção de citocinas pró-inflamatórias, tais como: interleucina 6 e fator de necrose tumoral pelo tecido adiposo. Esta inflamação subclínica justificaria o maior risco cardiovascular (CUSONS; STUCKEY; WATTS, 2005). A resistência à insulina é apontada com base fisiopatológica da síndrome metabólica. A prevalência desta síndrome nas pacientes com SOP varia de 33 a 43%, cerca de duas vezes maior que a observada em mulheres da população geral, pareadas para a idade e IMC. Geralmente o diagnóstico de ocorre entre 30 e 39 anos, enquanto na população sem SOP espera-se o incremento de 15% de diagnóstico na mesma faixa etária (EHRMANN *et al.*, 2006).

Diversas entidades buscaram definir critérios diagnósticos e de tratamento para a síndrome metabólica. Dentre esses consensos, em 2001 a National Cholesterol Education Program (NCEP) e Adult Treatment Panel III (ATP III) propuseram um conjunto de medidas que utilizam a circunferência abdominal, níveis de colesterol - HDL, glicemia, triglicerídeos e pressão arterial. A presença de três dos cinco fatores predisponentes positivos confirma o diagnóstico, de acordo com o ilustrado pelo quadro 1.

CRITÉRIOS (3 dos 5 para o diagnóstico)	PONTOS DE CORTE
Circunferência abdominal	≥ 88 cm
Triglicerídeos <sup>(1)</sup>	≥ 150 mg/dL
HDL colesterol <sup>(1)</sup>	≤ 50 mg/dL
Pressão arterial <sup>(1)</sup>	Pressão sistólica ≥130 mmHg ou diastólica ≥ 85mm Hg
Glicemia de jejum <sup>(1)</sup>	≥ 100mg/dL

QUADRO 1 - CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA PARA MULHERES – ATP III – com modificações

FONTE: Dados obtidos a partir de Alberti, Zimmet e Shaw (2006)

(1) Uso de medicamentos para tratamento de dislipidemia, glicemia ou hipertensão, mesmo com valores normais durante a avaliação constitui critério positivo.

O tratamento para a SOP deve agir na gênese da desordem. A utilização de medicamento que atua sobre a hiperinsulinemia promovendo a normalização da insulina pode diminuir os efeitos deletérios sobre os ovários e sobre o metabolismo.

## 2.2 CONCEITOS DE FARMACOCINÉTICA

A ação farmacológica ocorre quando o fármaco atinge um determinado tecido específico em determinado receptor. Para que isso aconteça, ao tomar um medicamento, o organismo deve começar processá-lo por meio dos mecanismos de absorção, distribuição, metabolismo (biotransformação) e eliminação. A avaliação quantitativa e temporal deste processo é conhecida como farmacocinética (BUXTOON, 2006).

Para atingir o objetivo terapêutico, é necessário que a concentração do fármaco no sítio de ação específico seja adequada. A escolha da dose deve garantir a chegada e a manutenção de concentrações terapêuticas junto aos sítios receptores. Quantidades insuficientes em períodos longos de administração tornam ineficazes ou doses elevadas e (ou) intervalos curtos podem produzir concentrações excessivas acarretando toxicidade e aumento de eventos adversos (BATLOUNI, 2004).

A importância da farmacocinética está na busca da eficácia terapêutica e da redução dos efeitos indesejáveis. As aplicações de seus princípios durante a seleção e modificação dos esquemas posológicos permitem atingir este objetivo (BUXTON, 2006).

A ação do fármaco no indivíduo e as suas variações específicas são avaliadas dentro da farmacodinâmica. A resposta terapêutica é o resultado dos fenômenos que ocorrem após administração e depende das características do fármaco, do indivíduo e, o mais importante, da interação entre os dois. Para compreender este processo dinâmico, modelos matemáticos são usados para entender e simular os processos de absorção, distribuição e eliminação. Estes parâmetros farmacocinéticos são expressos por equações envolvendo concentração (variável dependente) no organismo em função do tempo (variável independente), reproduzindo o sistema biológico após a tomada da forma farmacêutica (SILVA, 2006a).

### 2.2.1 Parâmetros farmacocinéticos

Esta revisão tem como objetivo conceituar parâmetros farmacocinéticos que foram utilizados durante o presente estudo. Os parâmetros farmacocinéticos importantes na avaliação de disposição do fármaco são: tempo de meia vida ( $T_{1/2}$ ), volume de distribuição ( $V_d$ ) e, a área sob a curva total (ASC), e *clearance* ou depuração (CL). Já para o monitoramento plasmático de concentração do fármaco são observados: biodisponibilidade (F), concentração plasmática por meio da análise do pico de concentração máxima ( $C_{max}$ ) e vale ( $C_{min}$ ).

#### 2.2.1.1 Tempo de meia vida ( $T_{1/2}$ )

É o tempo necessário para que a concentração plasmática ou a quantidade do fármaco presente no organismo seja reduzida em 50%. É um conceito cronológico. Entre os parâmetros farmacocinéticos empregados na prática clínica, a meia-vida é de suma importância, pois possibilita o cálculo da dose e esquema posológico a serem empregados no paciente, já que define em quanto tempo 50% da dose administrada será eliminada pelo organismo (WILKINSON, 2001).

No modelo monocompartimental (representação esquemática da distribuição homogênea do fármaco em todo o organismo) a  $T_{1/2}$  é um parâmetro que varia inversamente à depuração (capacidade de um organismo em eliminar um fármaco), ou seja, à medida que a eliminação é diminuída a  $T_{1/2}$  é maior. Entretanto, essa relação é válida apenas quando a doença não altera o volume de distribuição. Quando isso acontece, poderão ocorrer alterações imprevisíveis na  $T_{1/2}$  (BUXTON, 2006).

A meia-vida biológica fornece boa indicação do tempo necessário para alcançar um estado de equilíbrio (*Steady state*) após o início ou alteração de um esquema posológico, visto que são necessárias quatro meias-vidas para alcançar 94% de um novo estado de equilíbrio do tempo necessário para um fármaco ser eliminado, e como meio para estimar o intervalo posológico apropriado (BUXTON, 2006).

#### 2.2.1.2 Volume de distribuição ( $V_d$ )

A extensão de distribuição extravascular de um fármaco é obtida pela medida do volume de distribuição aparente. É uma medida hipotética do volume do qual uma dose teria que se diluir para atingir a concentração plasmática desejada. Representa uma constante de proporcionalidade. O Vd (Volume de distribuição) não se refere necessariamente a um volume fisiológico identificável, mas ao volume líquido necessário para conter o fármaco na mesma concentração do plasma. Este volume reflete a extensão em que ele está presente no sistema extravascular e pode variar amplamente dependendo dos graus relativos de ligação às proteínas plasmáticas e teciduais, do coeficiente de partição do fármaco, assim como idade, sexo, compleição física e presença de doenças associadas (BATLOUNI, 2004).

#### 2.2.1.3 Área sob a curva total (ASC)

A área sob a curva ou extensão da absorção é um parâmetro farmacocinético utilizado para determinar a quantidade de droga após a administração de uma única dose. É o gráfico em que se relaciona a concentração plasmática do fármaco *versus* o tempo decorrido após a administração (SILVA, 2006a).

#### 2.2.1.4 Clearance (CL)

Indica a remoção completa do fármaco em uma unidade de tempo. O *clearance* (CL) pode ter o mesmo conceito de eliminação (metabolismo e excreção). Este pode ser excretado sem modificações ou parcialmente metabolizado sob a forma de metabólitos. A biotransformação hepática, excreção renal, a eliminação pulmonar e a excreção fecal são os processos usuais de eliminação dos fármacos que determinam o *clearance* (SILVA, 2006a). O *clearance* é inversamente proporcional ao  $T_{1/2}$  e diretamente proporcional ao Vd.

#### 2.2.2 Monitoramento Plasmático

### 2.2.2.1 Biodisponibilidade

A biodisponibilidade refere-se à quantidade de fármaco que alcança a circulação sistêmica. Ela depende da dose administrada, da fração que é absorvida e do que não é eliminado quando ocorre a passagem pelo intestino e fígado (efeito de primeira passagem). É a quantidade de fármaco disponível para ser utilizada pelo organismo (SILVA, 2006a).

Diversos fatores podem influenciar na biodisponibilidade como suas características, forma farmacêutica, interação com outras substâncias no trato gastrointestinal e as características próprias do paciente.

A característica do fármaco, bem como a sua formulação, influencia na desintegração e dissolução do produto, podendo interferir diretamente na absorção. Se a liberação for incompleta ou retardada, a absorção poderá ser inadequada. A administração do fármaco na presença de alimentos ou com uso concomitante de outras substâncias medicamentosas pode provocar interações que irão intervir na absorção.

As características do paciente tornam a biodisponibilidade individual. Isso porque pH e motilidade gastrointestinal, perfusão e flora intestinal, estado de má absorção por outras patologias, função hepática e genótipo podem interferir na absorção e conseqüentemente na quantidade de fármaco disponível (SILVA, 2006a).

### 2.2.2.2 Concentração plasmática dos fármacos

Após a absorção, o interesse clínico volta-se para a concentração plasmática. É necessário verificar se ela encontra-se em nível terapêutico, subterapêutico ou excessivamente elevado e tóxico. O esquema posológico desejável é uma concentração constante. Constância, na realidade, representa uma série de pequenas oscilações, mas mantendo um platô médio. A constância da concentração plasmática máxima média é contingencial e reflete um estado estável de equilíbrio dinâmico (*steady state*) entre a dose do fármaco que é administrado e a taxa do fármaco que é distribuída e eliminada (SILVA, 2006b; BUXTON, 2006).

### 2.2.2.3 Pico de concentração máxima ( $C_{max}$ )

O pico de concentração máxima ( $C_{max}$ ) é a medida que representa a maior concentração do fármaco observada e é diretamente proporcional ao montante absorvido pelo organismo.

### 2.2.2.4 Vale ( $C_{min}$ )

É a medida que representa a menor concentração do fármaco observada e está relacionada ao *clearance*.

### 2.2.2.5 Margem terapêutica

É a relação entre a dose máxima tolerada, ou também tóxica, e a dose terapêutica (dose tóxica/dose terapêutica). Em farmacologia clínica equivale a Índice Terapêutico. Em multidoses, após atingir o *steady state*, a margem terapêutica estará flutuando entre um  $C_{max}$  e um  $C_{min}$ , não devendo ter concentrações tóxicas ( $C_{max}$  elevado) ou concentração que não garantam o efeito terapêutico desejado ( $C_{min}$  baixo) (SILVA, 2006c).



## 2.3 METFORMINA

A Metformina é uma das drogas orais mais comumente prescritas no mundo para o tratamento da DM2 e deve manter essa posição apesar de inúmeros antidiabéticos orais que vêm sendo introduzidos no mercado farmacológico (WYSOWSKI; ARMSTRONG; GOVERNALE, 2003). Em 1995 foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da DM2 em conjunto com orientações dietética.

Seu emprego foi primeiramente descrito por Velazquez *et al.* (1994) para o tratamento da SOP. Os autores observaram a diminuição do índice de massa corporal, os ciclos menstruais mais regulares, a redução dos androgênios com consequente melhora da acne e hirsutismo e a ocorrência de casos de gestação durante o tratamento. Em 2007, na busca de consenso, a European Society for Human Reproduction and Embryology and the American Society for Reproductive Medicine (ESHRE) recomendou o uso da Metformina em paciente com intolerância à glicose associado à SOP junto ao controle dietético e atividade física (TARLATZIS *et al.*, 2008).

O uso durante a gestação é visto, atualmente, como promissor. Não há evidência de associação com aumento de má formação fetal (LOPES, 2011). Vários autores têm indicado seu uso para profilaxia do abortamento do primeiro trimestre gestacional, mais frequente em pacientes com SOP e nas complicações durante a gestação como diabetes gestacional, pré-eclampsia, parto pré-termo e macrosomia fetal (GLUECK *et al.*, 2001; GLUECK *et al.*, 2008; JAKUBOWICZ *et al.*, 2002; BJERCKE *et al.*, 2002).

Os efeitos adversos frequentemente observados durante o seu uso são diarreia, desconforto abdominal, náuseas, sabor metálico e anorexia. Tem sido observada intolerância à Metformina em aproximadamente 30% dos pacientes, sendo motivo de descontinuidade de uso em 5% dos casos (BOUCHOUCHA; UZZAN; COHEN, 2011). Porém a maioria dos trabalhos relaciona eventos adversos com pacientes DM2 que, pela própria doença de base, apresentam distúrbios funcionais gastrointestinais prévios ao tratamento, o que poderia aumentar a aceitação da Metformina nestas pacientes (BOUCHOUCHA, UZZAN, COHEN, 2011). Nestler (2008) recomenda o esquema de titulação gradual para melhora aceitação da medicação. Também com o objetivo

de minimizar eventos adversos é recomendado seu uso com alimentos (SAMBOL *et al.*, 1996).

A Metformina pode causar má absorção de vitamina B12 no íleo distal em 10-30% dos pacientes. O mecanismo proposto para a diminuição da absorção da vitamina B12 envolve mobilidade intestinal alterada, supercrescimento bacteriano e efeitos diretos na mucosa intestinal. Esta situação está associada em pacientes com mais idade e tempo de uso (NESTLER, 2008).

Está contraindicada 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. Estima-se que a incidência da acidose láctica associada à utilização da Metformina seja de 0,03 casos/1.000 pacientes por ano, sendo que 91% dos pacientes que desenvolveram acidose láctica apresentam algum fator predisponente (BAILEY; TURNER, 1996).

A Metformina é um derivado da guanidina. Sua fórmula estrutural, 1,1-dimetilbiguanida, é mostrada na Figura 1. O composto ativo hipoglicemiante é a *Galega officinalis*, erva medicinal usada por séculos na Europa como tratamento do diabetes desde a época medieval. O uso das guanidinas e de seus derivados fenformina, buformina e metformina como agentes terapêuticos para DM, data do início do século passado. Apesar da longa história de uso deste fármaco, seu mecanismo de ação permanece um enigma (BAILEY; TURNER, 1996, ZHOU *et al.*, 2001).

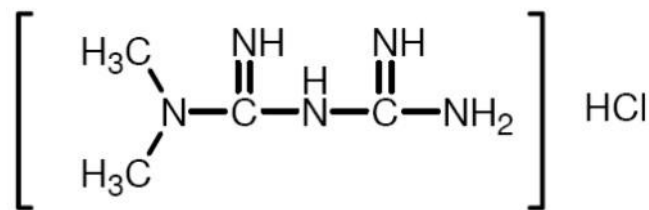


FIGURA 1 - ESTRUTURA QUÍMICA DO CLORIDRATO DE METFORMINA

FONTE: Bailey e Turner (1996)

Os efeitos do controle glicêmico ocorrem, principalmente, pela redução da produção hepática da glicose (inibição da neoglicogênese). Isso acontece em função da melhor sensibilidade dos receptores da insulina, melhor utilização da glicose no músculo esquelético e no adipócito e da diminuição da absorção intestinal de glicose

(WIERNSPERGER; BAILEY, 1999). Ela não tem ação direta sobre a secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreática, portanto, seu uso não provoca hipoglicemia.

O mecanismo de ação conhecido até o momento pode ser sintetizado na Figura 2. Com o uso da Metformina parece haver ativação da enzima proteína quinase ativada por AMP (AMPK). Esta enzima é responsável pela homeostasia energética. Sua ativação parece desencadear vários processos semelhantes à atividade física. Este resultado não parece ser casual visto que a AMPK também está ativada no exercício. Esta afirmação é baseada nos estudos de Zhou *et al.* (2001), que avaliaram a ação da Metformina em hepatócitos de ratos *in vitro* e *in vivo*. Sua constatação foi que a Metformina promove a ativação e fosforilação da AMPK. Isso, por conseguinte, determina também por fosforilação a inibição da ACC redutase (acetil CoA carboxilase) e 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA redutase (HMGCoA), enzimas envolvidas na formação dos ácidos graxos. Dessa forma, contribui para a redução dos ácidos graxos e do colesterol, além de diminuir a síntese de lipoproteínas. Como consequência, ocorrem uma menor esteatose hepática e o aumento da sensibilidade do fígado à insulina.

Outra ação da AMPK é a diminuição, em longo prazo, da expressão de genes lipogênicos (FAS, S14, L-PK e SREBP-1) e neoglicogênicos (PEPCK e glicose-6-fosfatase). Além disso, na musculatura esquelética, ocorre o aumento da captação de glicose, sendo essencial este mecanismo para a homeostase da glicose.

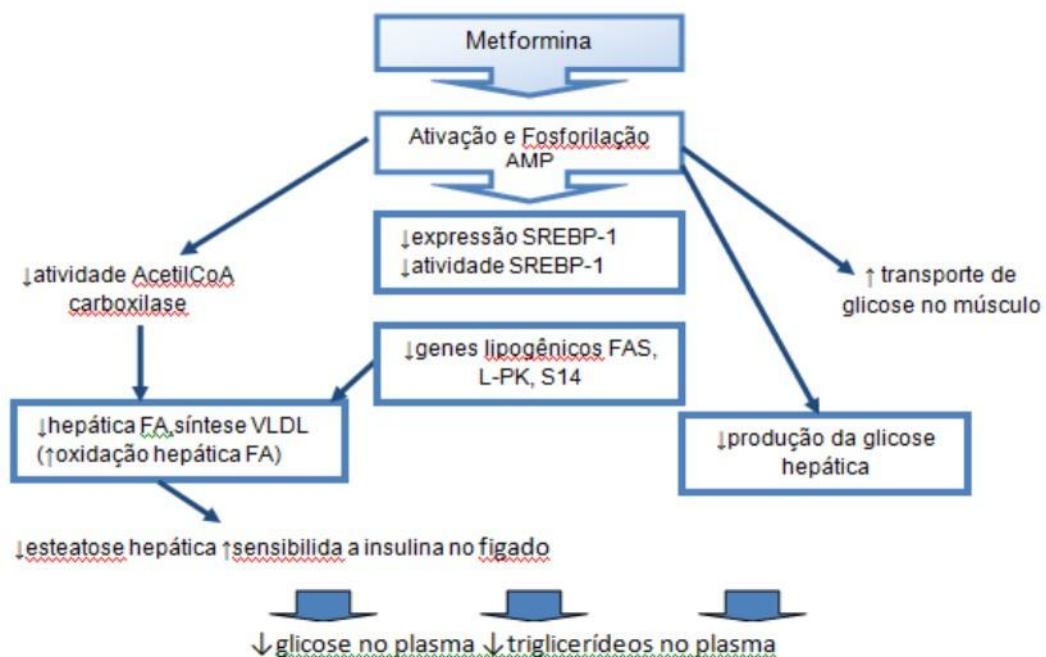


FIGURA 2 - MODELO DA AÇÃO DA METFORMINA NO METABOLISMO DOS LIPÍDIOS E DA GLICOSE  
 FONTE: Zhou *et al.* (2001)

Em relação à ação da Metformina em paciente com SOP, parece afetar a função ovariana, direta ou indiretamente, de duplo modo, pela redução da resistência à insulina e também por uma ação direta na esteroidogênese e no crescimento folicular. Nas células da teca ovariana pode inibir o gene CYP17 devido ao aumento da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), que reduz os níveis de insulina. Com a redução dos níveis de insulina inibe, na granulosa do ovário, a expressão do receptor de LH, proteína de regulação aguda da esteroidogênese (StAR), enzimas esteroidogênicas HSD3-b e CYP11A. Atuando de forma direta no aumento do AMPK, ocorre uma melhora da defesa antioxidativa no tecido ovariano, o que contribui para a menor produção de esteroides sexuais e da luteinização prematura e conseqüentemente melhorar a ovulação (DIAMANTI *et al.*, 2010).

### 2.3.1 Farmacocinética

Sobre a farmacocinética da Metformina é referido que é lenta e incompletamente absorvida pelo intestino delgado. A biodisponibilidade absoluta é de cerca de 50 a 60% podendo ser reduzida na presença de alimentos. Não é metabolizada, circulando em forma livre. A fração ligada a proteínas plasmáticas pode ser considerada como insignificante. A meia-vida plasmática é de cerca de duas horas, para a fase principal de eliminação, compreendendo 90% da dose absorvida. Os 10% restantes são eliminados mais lentamente, com meia-vida terminal de 9 a 12 horas, refletindo compartimento tecidual. Nos pacientes submetidos a tratamento prolongado com 2 ou 3 comprimidos ao dia, o nível sanguíneo pela manhã, em jejum, é de cerca de 1 µg/ml ( $\pm 0,5$ ). É excretada por via urinária inalterada e de forma muito rápida. Seu *clearance*, em uma pessoa sadia, é, em média, de 400ml/min (4 a 5 vezes maior que o da creatinina), o que indica filtração glomerular seguida por secreção tubular. Em caso de insuficiência renal, a meia-vida é aumentada, expondo ao risco de acumulação (MICROMEDEX, 2010).

A avaliação do plasma de voluntários saudáveis com uso de 1 comprimido de Metformina 500mg para estudos de bioequivalência obteve C<sub>max</sub> de 0,79 µg/mL, no tempo de 2,4h. A meia-vida de eliminação foi de 5,6h e AUC foi de 5,87 µg.h/mL. (WANG *et al.*, 2004).

Cheng *et al.* (2004) avaliaram 24 chineses saudáveis com dose única de 500mg de Metformina e compararam com 14 outros estudos de bioequivalência ao longo do mundo observando que não há diferenças na farmacocinética em relação à raça, ou gênero.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento farmacocinético da Metformina nas doses de 1500mg dia e 1000mg dias em pacientes com SOP com vista a correlacionar com a melhor dose terapêutica.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar eventos adversos com o uso da Metformina nas doses de 1000mg e 1500mg/dia;
- Obter e analisar os parâmetros farmacocinéticos da Metformina nas doses de 1000mg e 1500mg/dia;
- Obter e analisar a concentração plasmática da Metformina a cada 15 dias, nas pacientes com SOP;
- Avaliar a resposta clínica e laboratorial da Metformina após três meses de acompanhamento das pacientes com SOP
- Avaliar aderência ao tratamento proposto e correlacionar com concentração plasmática da Metformina a cada 15 dias.

## 4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

### 4.1 ASPECTO ÉTICO

A pesquisa intitulada originalmente como “Ensaio Clínico Randomizado com uso de cloridrato de Metformina em pacientes com Síndrome de Ovários Policísticos” foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e possui o Termo de Consentimento Livre Esclarecido sob o número CAAE: 0038.0.208.000-09, CEP: 1870.037/2009-02, na data de 22 de novembro de 2009. Sua divulgação teve aprovação do mesmo Comitê sob o número CAAE: 0139.0.208.091-09. Atende aos aspectos das resoluções CNS 196/96 e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996). Também obteve a aprovação do Departamento de Tocoginecologia da UFPR. A pesquisa atual está registrada no Clinic Trials com a identificação NCT01366391 (CLINIC TRIALS, 2011).

O protocolo de pesquisas foi apresentado para as pacientes de forma clara e objetiva, obtendo a assinatura do TCLE após serem esclarecidas dúvidas, com adesão espontânea aos projetos.

### 4.2 RECRUTAMENTO E SELEÇÃO

Após a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética, as pacientes foram convidadas a participar do estudo por meio de anúncios em rádio e panfletos. As pacientes deveriam ter entre 18 a 40 anos e não estar fazendo uso de anticoncepcional oral ou Metformina há pelo menos três meses.

Para a seleção de pacientes com SOP foram entrevistadas pela pesquisadora 130 mulheres, junto à Clínica Plena (clínica de ginecologia) situada no Largo Chico Mendes, 210 em Toledo-PR.

Todas as pacientes entrevistadas assinaram o termo de Recrutamento prévio à entrevista.

Todas foram identificadas com idade, escolaridade, estado civil, raça/cor. Houve a avaliação da história obstétrica e ginecológica com paridade, desejo do momento de gestar e uso de método contraceptivo atual, padrão do ciclo menstrual, acne e hirsutismo.

Pacientes com diagnóstico prévio de SOP, sem tratamento no momento ou história compatível, seguiram para a realização de ecografia transvaginal ou pélvica. Este exame foi realizado pelo mesmo profissional médico. Havendo critérios diagnósticos ecográficos, as pacientes realizaram exames laboratoriais de glicemia e insulina.

Foi calculada a resistência insulínica pela fórmula da Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA-RI) em que a resistência é determinada pelo produto da insulina em jejum (em  $\mu\text{U/ml}$ ) com a glicemia em jejum (em  $\text{mmol/l}$ ) dividido por 22,5.

Quando o índice foi superior a 2,5, as pacientes foram encaminhadas para a realização dos demais exames laboratoriais: Hormônio Folículo Estimulante (FSH), Hormônio Luteinizante (LH), Prolactina, Dehidroepiandrosterona (S-DHEA), Testosterona livre, colesterol, triglicerídeos, HDL, LDL.

Dezoito pacientes preencheram os critérios de inclusão/exclusão previamente determinados no protocolo de pesquisa sendo convidadas a permanecer na pesquisa e assinar o TCLE.

Houve a randomização em dois grupos: pacientes que usaram 1500 mg/dia (grupo A) e as pacientes que utilizaram 1000mg/dia (grupo B). A randomização foi realizada por ordem de inclusão da paciente, sendo que as inclusões em números pares foram para grupo A e as inclusões em número ímpares para o grupo B.

#### 4.2.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão adotados foram:

- a) idade entre 18 a 40 anos;
- b) não estar em uso de contracepção hormonal há pelo menos três meses;
- c) não estar grávida e nem amamentando;



- d) não estar em uso de Metformina há três meses ou qualquer outro agente sensibilizador da insulina;
- e) diagnóstico de SOP, segundo os critérios diagnósticos estabelecidos em Rotterdam em 2003, sendo que dois dos três achados são suficientes para o diagnóstico:
  - Oligo ou anovulação: definido como a ovulação que ocorre menos de uma vez a cada 35 dias;
  - Hiperandrogenismo clínico ou bioquímico: definido como hirsutismo (índices de Ferriman- Gallwey maior de 8), acne, alopecia com padrão masculino e (ou) aumento de testosterona sérica ou sulfato de deidroepiandrosterona;
  - Policistos em ovários na ecografia: achados pelo menos de 12 folículos de 2-9mm em um dos ovários e (ou) aumento de volume ovariano (>10ml), avaliado após ter transcorrido pelo menos o 18.º dia da menstruação;
- f) apresentar resistência a insulínica superior a 2,5, sendo que o cálculo realizado foi estimado pela fórmula da Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA), em que a resistência é determinada pelo produto da insulina de jejum (em  $\mu\text{U/ml}$ ) com a glicemia de jejum (em  $\text{mmol/l}$ ), dividido por 22,5.
- g) Não ter hipersensibilidade a Metformina ou alergia importante a medicamentos;
- h) não ter história ou presença de doença hepática, renal ou gastrointestinal ou outra condição que interfira com a absorção, distribuição, excreção ou no metabolismo do fármaco;
- g) não ter alguma doença que curse com excesso de androgênio como hiperprolactinemia, hiperplasia adrenal, síndrome de Cushing, neoplasia produtora de androgênio e acromegalia

#### 4.2.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão adotados foram:

- a) gestar durante o acompanhamento;

- b) abandonar o uso do medicamento;
- c) eventos adversos que comprometam a saúde da paciente ou voluntária.

#### 4.3 CÁLCULO AMOSTRAL

Para a estimativa do número de pacientes com SOP e resistência à insulina foi utilizada a fórmula para o cálculo do tamanho de uma amostragem simples, baseada na prevalência esperada, visto ser desconhecida a abrangência da população que a pesquisa atingiria.

$$n = Z * Z [P (1 - P)] / (D* D)$$

Em que: Z: valor da distribuição normal padrão correspondente ao nível de confiança de 95% desejado. P: prevalência esperada. D: erro máximo aceitável na estimativa.

Foi estimada como parâmetro uma prevalência esperada de 4.48% (pois a prevalência de Síndrome de Ovários Policísticos é de 7% da população em geral e destas 64% tem resistência à insulina associada, com um erro tipo I ( $\alpha$ ) de 5% obtendo-se um  $Z=1.96$  e um erro máximo aceitável de 10%). Baseando-se na fórmula referenciada, o tamanho da amostra foi:

$$n = 1,96*1,96 [0,0448 (1 - 0,448)] / (0,10* 0,10)$$

$$n \sim 17 \text{ indivíduos}$$

#### 4.4 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, analítico, tipo experimental controlado qualitativo e quantitativo.

## 4.5 MÉTODO

### 4.5.1 Etapa clínica

Esta etapa envolveu todos os procedimentos e condutas realizadas com as pacientes já incluídas no estudo e que assinaram o TCLE.

Em data agendada com a paciente para o início do tratamento foi realizada coleta de amostra sanguínea em jejum.

Foi realizada no dia 1, reavaliação clínica e foi disponibilizado espaço para responder questionamentos da paciente, caso ainda houvesse. Após, houve avaliação antropométrica sendo utilizada balança antropométrica tipo plataforma, estadiômetro portátil para a determinação do peso, altura e o cálculo do IMC ( $\text{peso}/\text{altura}^2$ ). A medida da circunferência da cintura (CC) teve como ponto de avaliação o topo da crista ilíaca, sendo a fita métrica colocada de forma confortável em torno do abdômen sem comprimir a pele. A medida de pressão arterial foi obtida por meio de esfigmomanômetro mecânico aneroide após repouso mínimo de 15 minutos. A paciente foi avaliada novamente em relação à frequência do ciclo menstrual, presença de acne, desejo de gestar e pontuado o hirsutismo segundo o Índice de Ferriman- Gallwey (FONSECA *et al.*, 2010).

Conforme randomização pela inclusão no grupo de pesquisa, houve a orientação do uso da Metformina. Pacientes do grupo A foram orientadas a usar o medicamento no café da manhã, almoço e jantar, perfazendo a dose de 1500mg/dia. Pacientes do grupo do grupo B tiveram orientação de uso no café da manhã e jantar de 1000mg/dia. Houve a entrega de medicamentos para 15 dias de tratamento e orientação sobre o seu retorno.

A Metformina utilizada foi através de comprimidos revestidos com 500mg, formulação genérica, produzido pela Medley Indústria Farmacêutica Ltda.

Após a primeira tomada do medicamento, foi realizada nova coleta sanguínea oito horas após, contemplando quatro meias-vidas da Metformina com as quais espera-se ter sido atingido o *steady-state*. Foi coletada nova amostra uma hora antes da nova dose do medicamento: para o grupo A, uma hora antes do almoço e para o grupo B uma hora antes do jantar para determinar o vale.

As amostras sanguíneas foram obtidas através de acesso venoso periférico com coleta de aproximadamente 7,5ml de sangue, em tubos contendo heparina sódica como anticoagulante.

O retorno foi agendado a cada 15 dias (dias 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105), quando ocorriam coletas de novas amostras de sangue, avaliação clínica e entrega do medicamento até o próximo retorno.

Nesse momento, as pacientes eram entrevistadas sobre o andamento do tratamento e motivadas a permanecer no estudo, fazer uso correto da medicação conforme orientação do horário descrito na caixa do medicamento e entrar em contato em caso de dúvidas ou sintomas.

A não aderência ao uso da medicação ou eventos adversos não tolerados pela paciente foi considerada critério de exclusão. O relato de mal-estar persistente, náuseas e dores na mama, mantendo o atraso menstrual, relatado por uma das pacientes, motivou a solicitação de exame de BHCG com constatação de gestação, sendo assim excluída do estudo.

Nos 105 dias a paciente foi reavaliada sobre padrão do ciclo menstrual, acnes e hirsutismo, medidas antropométrica com cálculo de IMC e circunferência abdominal, ecografia transvaginal e exames laboratoriais: FSH, LH, Prolactina, S-DHEA, Testosterona livre, colesterol, triglicérides, HDL, LDL e glicemia.

#### 4.5.2 Etapa analítica

Esta etapa envolveu a análise das amostras obtidas no primeiro dia de tratamento e a cada 15 dias, ao longo de três meses de tratamento com Metformina. O método analítico é baseado na identificação e quantificação do Cloridrato de Metformina em plasma humano. Durante esta etapa foram seguidos os parâmetros de análise preconizados pela ANVISA no guia validação de métodos analíticos e bioanalíticos (BRASIL, 2003).

#### 4.5.2.1 Reagentes e padrões

Os reagentes utilizados para execução das análises foram Ácido Fórmico (Carlo Erba), Ácido Trifluoracético (Vetec), Água Ultrapura (Laboratório Analítico), Acetonitrila Grau HPLC (J.T. Baker), Metanol Grau HPLC (J.T. Baker).

Os padrões utilizados para quantificação do fármaco na matriz biológica foram: cloridrato de Metformina (USP), lote I0H236, com pureza de 99,7%, utilizado como analito e Metformina delterada d-6 (CDN Isotopes), lote V283P75, com pureza de 99,9%, utilizado como padrão interno.

#### 4.5.2.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram: agitador de tubos Vórtex AP 56 (Phoenix); agitador de microtubos (Finemixer PCR); balança semimicro analítica XS205DU (Mettler Toledo); banho maria (Tecnal); bomba à vácuo TE 058 (Tecnal); centrífuga refrigerada 5804 R (Eppendorf); capela de exaustão; dessecador de padrões (Labstore); dispensador de solventes (Brand); extrator de solventes para fase líquida; freezer - 20°C (Eletrolux); pipetas automáticas 200, 1000 e 5000µL (Eppendorf); refrigerador (Eletrolux); relógio temporizador RF TR 119 (Oregon Scientific); sistema ultrapurificador de água (MilliQ); ultra-som com sistema de aquecimento Maxiclean 1400 A (Unique); sistema de LC-MS/MS (Waters®).

#### 4.5.2.3 Extração

O método de extração utilizado para quantificação das amostras foi Líquido-Líquido, seguindo o seguinte procedimento: um total de 100µL de plasma foi transferido para tubo eppendorf, adicionado de 50µL de solução padrão interno (1000ng/mL dissolvidos em Metanol).

A extração foi realizada com 1000µL de Acetonitrila: Ácido Fórmico (99,5:0,5 v/v) e os tubos com as amostras foram agitados em agitador de microtubos por 5 minutos e centrifugadas por 5 minutos em 10000rpm sob temperatura de 4°C. Após centrifugação, as amostras foram evaporadas sob nitrogênio líquido até a secagem em temperatura de 45°C e o resíduo foi reconstituído com 300µL de Ácido Trifluoracético 0,5%: Metanol (70:30 v/v).

#### 4.5.2.4 Validação

A validação do método bioanalítico desenvolvido para quantificação de Metformina em plasma humano foi realizada por meio de determinação dos parâmetros de especificidade, linearidade, limite de quantificação, limite de detecção, precisão e exatidão e estabilidade seguindo os parâmetros preconizados pela Resolução n.º 899, de 29 de maio 2003 (BRASIL, 2003).

- Especificidade/seletividade

Para avaliar a interferência de componentes endógenos, foram analisadas seis amostras de plasma branco, sendo uma de plasma lipêmico, uma de plasma hemolisado e quatro de plasma normal, obtidos de voluntários sadios e isentos de Metformina e padrão interno. Foram avaliadas as áreas do analito e do padrão interno separadamente.

- Curva de calibração/linearidade

A curva de calibração utilizada para quantificação das amostras foi preparada diariamente utilizando-se amostras de plasma adicionado do padrão de Metformina em oito concentrações diferentes (10; 50; 200; 500; 1000; 2000; 3000; 4000 ng/mL) e duas determinações de cada. Estabeleceu-se correlação linear entre a concentração, considerada variável independente (x), e a resposta\*, considerada variável dependente (y), aplicando a ponderação de  $1/x^2$  devido à amplitude da curva de calibração de (10-4000ng/mL), bem como para aumentar a exatidão dos padrões de concentrações baixas e diminuir o efeito residual, conforme avaliação da heterocedasticidade (fenômeno estatístico de hipótese matemático) mediante a soma dos resíduos (desvios) nas

ponderações  $1/x$  e  $1/x^2$ . O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98.

- Limite de quantificação/detecção

O limite de quantificação foi definido como a menor concentração do analito capaz de ser quantificável com precisão e exatidão. Esse parâmetro foi analisado com dez determinações de CQLQ (controle de qualidade de limite de quantificação), que corresponde à concentração do LQ (Limite de quantificação), e uma curva de calibração em duplicata.

- Precisão e exatidão

Esses parâmetros foram determinados pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações (controle de qualidade baixo - CQB, médio - CQM, alto - CQA). Foram avaliadas a precisão e exatidão intracorridas e intercorridas em dez determinações.

- Estabilidade

Determinou-se a estabilidade de amostras de Metformina em plasma, mantidas à  $-20^{\circ}\text{C}$ , submetendo-as a ciclos de congelamento e descongelamento, bem como a estudos de estabilidade de curta duração, pós-processamento. Avaliou-se também a estabilidade das soluções-padrão de Metformina e do padrão interno.

#### 4.5.2.5 Análise farmacocinética

A análise foi conduzida com fase móvel constituída de Ácido Trifluoroacético 0,5% e Metanol (70:30, v/v), sob fluxo de 0,5mL/min (Split 1:3) e o volume de injeção foi de 20 $\mu\text{L}$ .

O sistema de cromatografia líquida acoplado ao espectrômetro de massas (LC-MS/MS) utilizado foi Alliance, modelo LC-2695 Waters com sistema de bombeamento quaternário e módulo de degaseificação de fase móvel automático. A detecção foi realizada por espectrometria de massas MS/MS, modelo Quattro Micro API. A separação cromatográfica foi efetuada com coluna Phenomenex Luna C18 (50 x 4,6mm, 5 $\mu\text{m}$ ).

O cálculo das concentrações plasmáticas foi realizado pelo Software Masslynx em função da curva de calibração que utiliza o método de regressão linear.

#### 4.5.2.6 Análise estatística

Para construção da curva de calibração/linearidade utilizou-se o método dos quadrados mínimos. Os parâmetros de validação foram expressos como médias. Os valores de desvio padrão relativos (C.V.) foram calculados e comparados com o especificado para cada tipo de determinação, de acordo com os critérios de aceitação.

#### 4.5.3 Etapa estatística

Esta etapa envolve as análises estatísticas realizadas com os dados obtidos das etapas clínica e analítica sendo guia para a discussão e conclusão do presente estudo.

##### 4.5.3.1 Parâmetros clínicos

No estudo da variável idade, escolaridade, estado civil, ciclo menstrual, acne, hirsutismo, pressão arterial e ecografia pélvica/transvaginal, realizou-se uma análise descritiva dos resultados.

Nas avaliações antropométricas, circunferência abdominal e índice de massa corpórea (IMC), utilizou-se o teste t-Student para comparação entre os grupos A e B. Foi considerado nível de significância de 5%. Já para a variável escolaridade, estado civil e desejo de gestar, realizou-se o teste Qui-quadrado para verificação da homogeneidade dos grupos A e B.

Os achados laboratoriais foram comparados por meio do teste pareado t-Student considerando nível de significância de 5%.



#### 4.4.3.2 Parâmetros farmacocinéticos

Estimaram-se os parâmetros farmacocinéticos mediante a aplicação do modelo não compartimental utilizando-se o software WinNolin® versão 5.0.1 (Pharsight Corporation, USA, 2005) com base nas concentrações plasmáticas de Metformina obtidas no *steady state*. A disponibilidade sistêmica foi obtida por meio do cálculo da área sob a curva (ASC), o volume de distribuição (Vd). A área sob a curva de concentração de Metformina no plasma *versus* tempo (ASC) foi calculada aplicando-se método dos trapézios. A constante da taxa de eliminação terminal de primeira ordem ( $k_{el}$ ) foi estimada pelo coeficiente angular da reta de regressão, calculada pelo método dos mínimos quadrados, do logaritmo natural da concentração *versus* tempo. A meia-vida ( $T_{1/2}$ ) foi originada dessa constante da taxa ( $\ln(2)/K_{el}$ ).

#### 4.4.3.3 Métodos estatísticos

A análise farmacocinética baseou-se na comparação dos resultados médios e medianos obtidos para cada parâmetro determinado pela utilização dos softwares *Microsoft Excel 2007* (Microsoft Corporation, USA) e *GraphPad Prism versão 4.0* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Considerando-se que os dados farmacocinéticos seguem distribuição gaussiana, os grupos foram comparados por meio da aplicação da análise de variância (ANOVA). Foi considerado nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ETAPA CLÍNICA

A procura espontânea para a participação do estudo aconteceu com 130 mulheres. Após a entrevista, 60 pacientes tinham evidências clínicas de SOP e foram encaminhadas para a realização de ecografia transvaginal, sendo que 48 pacientes seguiram a investigação com exames laboratoriais de glicemia de jejum e insulina. Destas, 30 pacientes, 62,5%, tinham HOMA inferior a 2,5.

Foram incluídas 18 pacientes que preencheram os critérios de elegibilidade para o presente estudo. Estiveram em acompanhamento por 105 dias. Por ordem de inclusão foram randomizada em dois grupos: grupo A em uso de 1500mg/dia e o grupo B em uso de 1000mg/dia.

Concluíram o estudo 11 pacientes, sendo que 7 tiveram término prematuro. Uma paciente do grupo A teve doença intercorrente e uma paciente do grupo B teve diagnóstico de gestação após 75 dias, sendo excluídas, conforme Quadro 2.

PACIENTE/GRUPO	TERMINO PREMATURO	MOTIVO
2/ B	45 dias	Doença intercorrente: lúpus eritematoso sistêmico
3/ A	45 dias	Dor gástrica, náuseas, flatulência
9/ A	15 dias	Diarreia, dor gástrica e náuseas
10/B	45 dias	Dor gástrica e náuseas
11/A	30 dias	Dor gástrica e náuseas
12/B	75 dias	Gestação
18/B	30 dias	Dor gástrica, náuseas, flatulência

QUADRO 2 - PACIENTES QUE TIVERAM TÉRMINO PREMATURO, PERÍODO DE PERMANÊNCIA NA PESQUISA E MOTIVO DA SAÍDA

FONTE: O autor (2011)

Os eventos adversos foram distúrbios gastrointestinais, em tempos diferentes, conforme Figura 3.

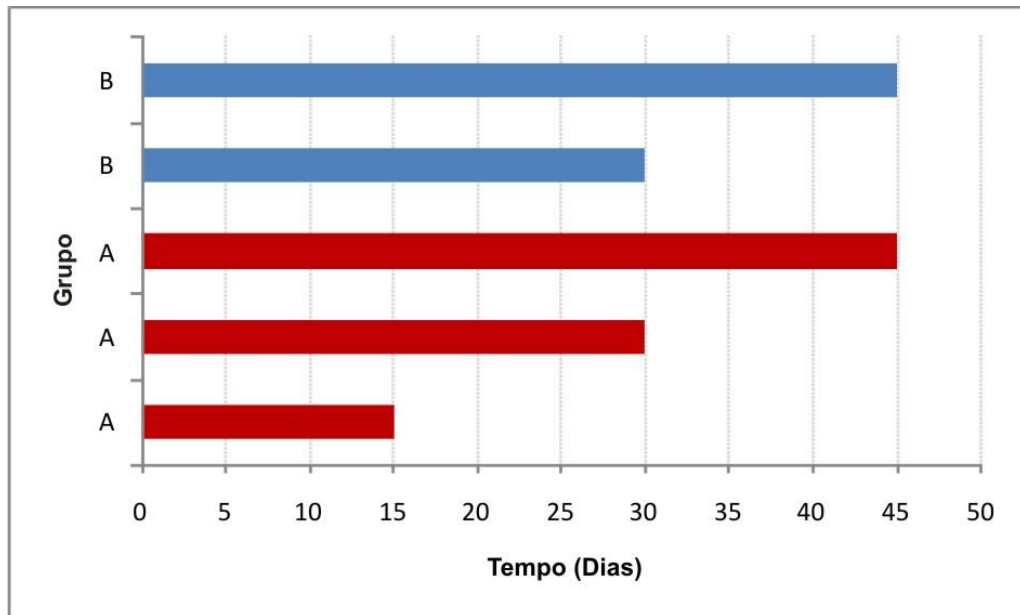


FIGURA 3 - TEMPO DE OCORRÊNCIA DE EVENTOS ADVERSOS DO GRUPO A E B  
 FONTE: O autor (2011)  
 NOTA: Avaliação estatística p: 0,5987.

A avaliação da idade nos grupos A e B está demonstrada na Tabela 1.

Tabela 1 – AVALIAÇÃO DOS GRUPOS EM RELAÇÃO A IDADE

	Idade (anos)		Valor de p
	Grupo A	Grupo B	
<b>Media ± D.P.</b>	29.22 ± 6.22	28 ± 6.24	
<b>Mínimo - Máximo</b>	(20.00 - 39.00)	(21.00 - 40.00)	0,6829
<b>Mediana</b>	28,00	28,00	
<b>C.V.%</b>	21,29%	22,30%	

D.P. = Desvio-padrão C.V.% = Coeficiente de Variação

Em relação à escolaridade, estado civil e desejo de gestar, a avaliação está representada na Tabela 2.

TABELA 2 - AVALIAÇÃO POR GRUPOS DA VARIÁVEL ESCOLARIDADE, ESTADO CIVIL E DESEJO DE GESTAR

	GRUPO A	GRUPO B	TESTE ESTATÍSTICO (p)
Escolaridade			
Ensino Fundamental	1	1	
Ensino Médio	6	6	1,0000
Ensino Superior	2	2	
Estado Civil			
Solteira	1	0	
Casada	7	9	0,3247
Separada	1	0	
Desejo de Gestar			
Sim	8	9	0,3035
Não	1	0	

FONTE: O autor (2011)

Durante a avaliação clínica prévia ao tratamento, em relação à frequência dos ciclos menstruais 5,5% das mulheres apresentavam ciclos a cada 25-30 dias, 22,2% a cada 30-45 dias, 27,5% a cada 45-60 dias e 44,4% com mais de 60 dias entre os ciclos. Após o tratamento houve diminuição do intervalo entre os ciclos menstruais, conforme Figura 4.

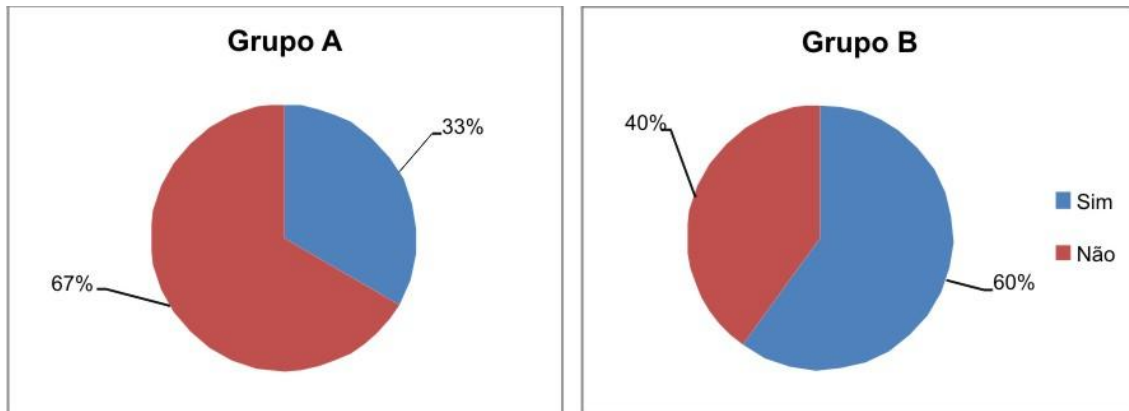


FIGURA 4 - GRÁFICO DE AVALIAÇÃO DO INTERVALO MENSTRUAL COM DIMINUIÇÃO DO PERÍODO ENTRE OS CICLOS MENSTRUAIS  
 FONTE: O autor (2011)

A análise de acne, hirsutismo, IMC e circunferência abdominal esta representada na tabela 3. A queixa de acne foi predominante nos dois grupos, permanecendo presente na mesma proporção ao término do tratamento. A presença da acne foi constatada clinicamente e não foi avaliada a sua severidade. Os índices de hirsutismo segundo o Índice de Ferriman-Gallwey foram em média 13, tanto no pré quanto no pós-tratamento para o grupo A, e em média 6 para o grupo B. A avaliação para o IMC no grupo A apresentou no pré e pós-tratamento uma média de 38,65 e 37,86, respectivamente, sendo considerado nas duas situações com classe II de obesidade, segundo OMS (WHO, 2011). Porém a diminuição de peso foi estatisticamente significativa. Já o grupo B teve médias de 33,10 e 32,47 no pré e no pós-tratamento, classe I de obesidade (Figura 5).

TABELA 3 – AVALIAÇÃO DE ACNE, HIRSUTISMO, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E IMC NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA O GRUPO A E B COM COMPARAÇÃO ENTRE ELES.

Grupos		Presença de Acne	Hirsutismo (Media ± D.P)	Circ. Abdominal (Media ± D.P)	IMC (Media ± D.P)
Grupo A	Pré-Tratamento	83,33%	13.00 ± 5.54	114.33 ± 8.59	38.65 ± 4.16
	Pós-Tratamento	83,33%	13.00 ± 4.97	111.67 ± 10.50	37.89 ± 4.47
	Valor de p	1,0000	0,8090	0,4190	0,0284
Grupo B	Pré-Tratamento	80,00%	6.00 ± 3.90	99.60 ± 17.90	33.10 ± 9.13
	Pós-Tratamento	80,00%	6.00 ± 3.90	99.20 ± 23.51	32.47 ± 9.49
	Valor de p	1,0000	1,0000	0,9146	0,2262
Grupo A x Grupo B	Pré-Tratamento ( p)	0,8865	0,0451	0,1059	0,2125
	Pós-Tratamento ( p)	0,8865	0,0371	0,2701	0,2424

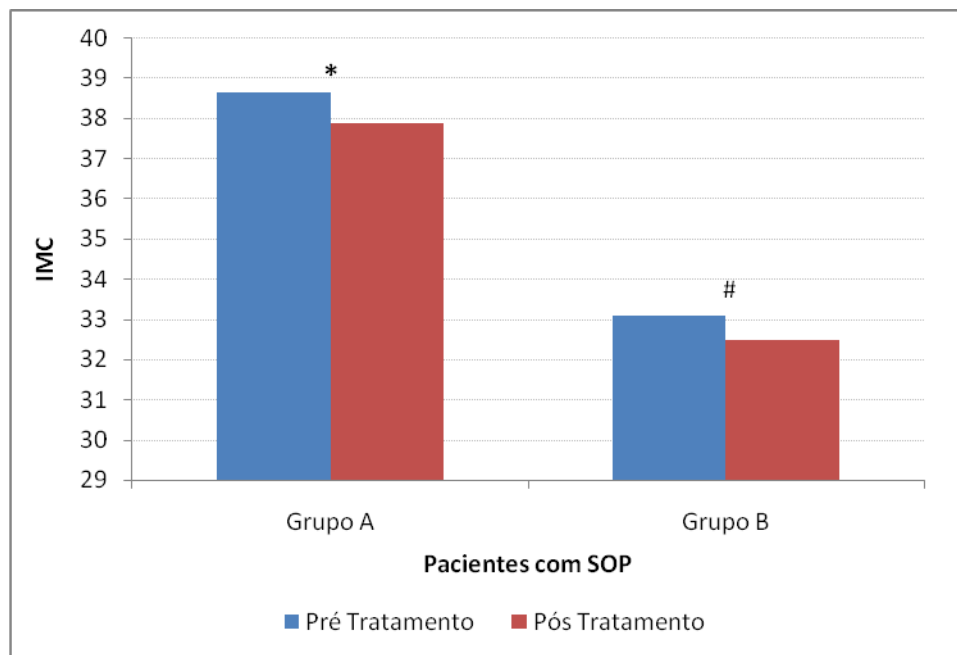


FIGURA 5 – AVALIAÇÃO DO IMC ANTES E APÓS O TRATAMENTO NOS GRUPOS A E B. DIFERENÇA ESTATÍSTICA PRESENTE NO GRUPO A ENTRE O ANTES E PÓS TRATAMENTO.

FONTE: O autor (2011)

NOTA: \* diferença significativa (valor de p 0,0284)

# diferença não significativa (valor de p 0,2262)

Em relação aos níveis tensionais, as pacientes de ambos os grupos estavam normotensas no início do estudo e assim permaneceram ao término dos 105 dias.

A avaliação do colesterol, triglicerídeos, HDL, LDL e glicemia foi realizada pré e pós-tratamento para o grupo A e está demonstrada na Figura 6. A avaliação relativa ao Grupo B aparece na Figura 7.

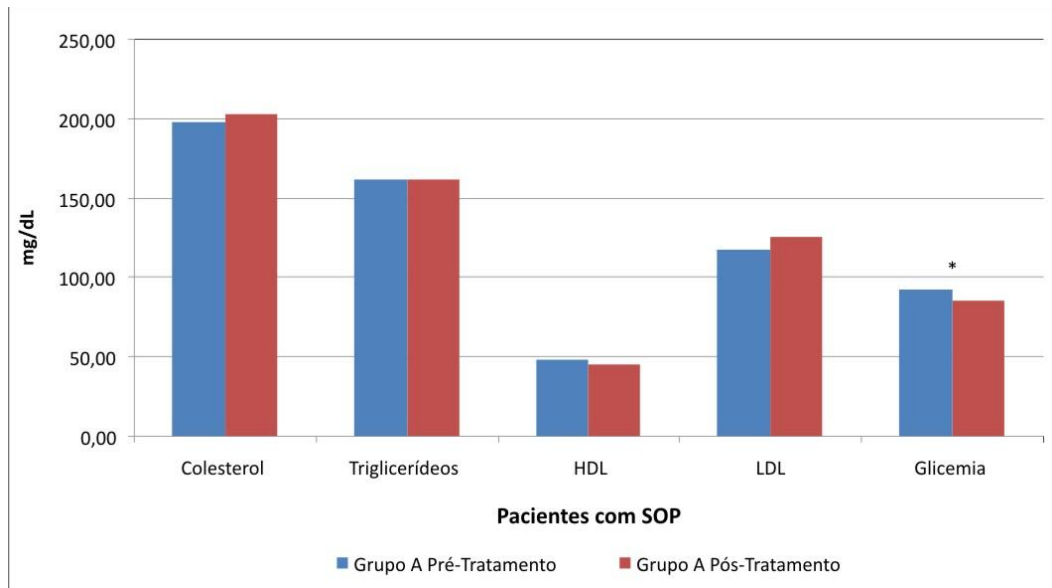


FIGURA 6 - AVALIAÇÃO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO DO GRUPO A PARA COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS, HDL, LDL, GLICEMIA (MÉDIA + ERRO PADRÃO). DIFERENÇA ESTATÍSTICA PARA GLICEMIA  
 FONTE: O autor (2011)  
 NOTA: Diferença significativa (valor de  $p=0.0259$ ).

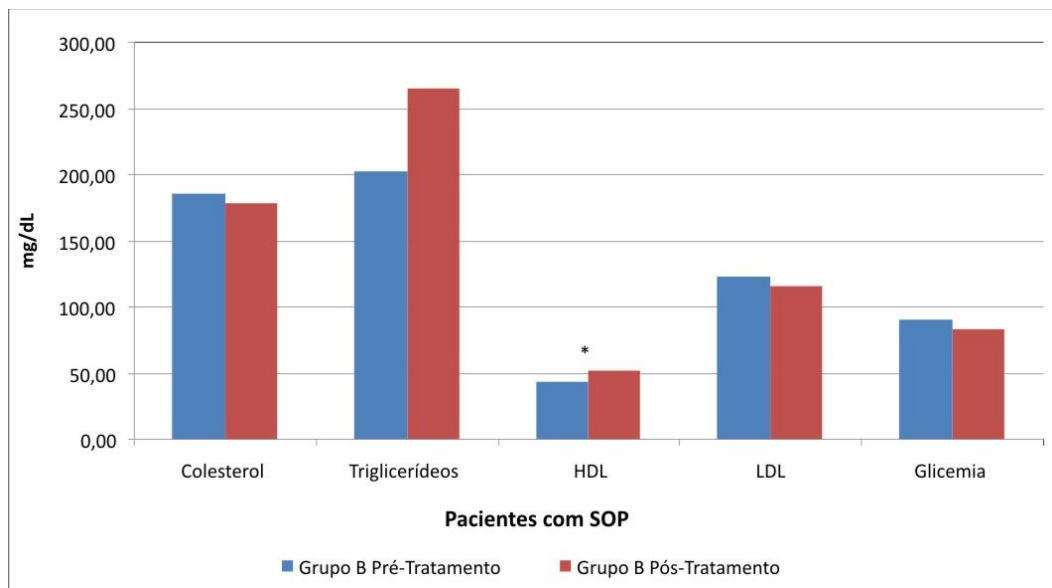


FIGURA 7 - AVALIAÇÃO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO DO GRUPO B PARA COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS, HDL, LDL, GLICEMIA (MÉDIA + ERRO PADRÃO)  
 FONTE: O autor (2011)  
 NOTA: Diferença significativa para o HDL (valor de  $p=0.0372$ ).

A análise estatística destes exames laboratoriais estão demonstrada na tabela 4, com os dados de ambos os grupos no pre-tratamento e pós-tratamento e a comparação entre eles.

TABELA 4 – AVALIAÇÃO DE COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS, HDL, LDL, GLICEMIA NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA O GRUPO A E B COM COMPARAÇÃO ENTRE ELES.

Grupos Tratamento		Colesterol (mg/dL) Media ± D.P	Triglicerídeos (mg/dL) Media ± D.P	HDL (mg/dL) Media ± D.P	LDL (mg/dL) Media ± D.P	Glicemia (mg/dL) Media ± D.P
G A	Pré	197.50 ± 26.64	161.17 ± 76.75	48.00 ± 6.63	117.27 ± 16.81	82.33 ± 4.97
	Pós	203.00 ± 22.59	161.67 ± 66.00	45.33 ± 8.73	125.33 ± 12.88	85.33 ± 4.13
	p	0,7222	0,9890	0,4469	0,3680	0,0259
G B	Pré	185.80 ± 16.47	203.00 ± 186.74	43.60 ± 9.53	122.40 ± 18.06	90.60 ± 9.66
	Pós	178.00 ± 52.54	264.80 ± 320.98	51.40 ± 11.17	115.75 ± 27.76	82.80 ± 6.14
	p	0,7172	0,4218	0,0372	0,4666	0,2372
G A x G B	Pré (p)	0,9441	0,6262	0,3902	0,6578	0,7089
	Pós(p)	0,6458	0,4578	0,3376	0,4752	0,4351

A insulina junto com a glicemia para o cálculo de HOMA constituiu padrão de seleção das pacientes. Não sendo realizada novamente após o término do tratamento avaliação deste cálculo.

A síndrome metabólica foi avaliada segundo os critérios da ATP III. Foi considerado como síndrome metabólica as pacientes que tinham a presença de três ou mais fatores predisponentes positivos. Esta avaliação foi realizada no pré e pós-tratamento em ambos os grupos, considerando as pacientes que chegaram ao término do estudo, conforme ilustrado na Tabela 5.

TABELA 5 - PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA SEGUNDO OS CRITÉRIOS DA ATP III, AVALIADAS NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA OS GRUPOS A E B

GRUPO	PACIENTE	DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA	
		Pré	Pós
A	1	+	+
	5	-	-
	7	-	-
	13	+	+
	15	+	+
	17	-	-
B	4	-	-
	6	-	-
	8	+	-
	14	+	-
	16	-	-

FONTE: O autor (2011)

A avaliação da ecografia mostrou critérios para SOP em todas as pacientes incluídas, não havendo alteração de diagnóstico após três meses de tratamento. As flutuações de tamanho dos ovários foram consideradas dentro do esperado.

Os exames laboratoriais para avaliação hormonal estão demonstrados na Tabela 6.

TABELA 6 – AVALIAÇÃO DE FSH, LH, PROLACTINA, S-DHEA, TESTOSTERONA LIVRE NO PRÉ E PÓS-TRATAMENTO COM METFORMINA PARA O GRUPO A E B COM COMPARAÇÃO ENTRE ELES

Grupos tratamento		FSH (mUI/mL) Media ± D.P	LH (mUI/mL) Media ± D.P	Prolactina (ng/mL) Media ± D.P	S-DHEA (ug/dL) Media ± D.P	Testosterona (ng/dL) Media ± D.P
G A	Pré	3.48 ± 1.10	8.65 ± 5.04	17.43 ± 10.52	189.70 ± 70.71	1.33 ± 0.64
	Pós	3.79 ± 2.16	5.70 ± 3.23	18.95 ± 6.62	179.40 ± 68.37	0.90 ± 0.43
	p	0,7481	0,1014	0,7377	0,7747	0,0478
B	Pré	4.82 ± 1.68	7.88 ± 3.75	14.28 ± 12.40	135.54 ± 45.23	1.51 ± 1.11
	Pós	4.98 ± 0.83	7.24 ± 2.99	20.08 ± 11.97	126.08 ± 69.26	1.02 ± 0.32
	p	0,8426	0,8022	0,2170	0,7446	0,4864
G A x	Pré (p)	0,1464	0,7844	0,6584	0,1749	0,7508
G B	Pós (p)	0,2774	0,4374	0,8467	0,2324	0,6523

## 5.2 ETAPA ANALÍTICA

Na etapa analítica serão apresentados os resultados dos parâmetros farmacocinéticos das 18 pacientes incluídas no estudo e a concentração plasmática nos tempos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 dias das 11 pacientes que concluíram o estudo.

### 5.2.1 Método bioanalítico

Será descrito o método realizado por meio da cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa para a detecção da Metformina nas amostras sanguíneas.

#### 5.2.1.1 Especificidade/seletividade

A presença de picos interferentes no tempo de retenção do analito é de 8,98%, sendo inferior a 20% da resposta do Limite de Quantificação, e no tempo de retenção do padrão interno é de 0,04%, sendo inferior a 5% da resposta na concentração



utilizada. Portanto, o método demonstrou-se específico para o analito e padrão interno em questão.

### 5.2.1.2 Curva de calibração/linearidade

Os parâmetros de correlação foram estimados por meio do método dos mínimos quadrados resultando na equação da reta  $y = ax + b$ . A resposta é obtida automaticamente pelo software MassLynx do sistema de LC-MS/MS, da marca Waters. O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98. A Figura 8 representa a obtenção dos dados por meio da curva de calibração.

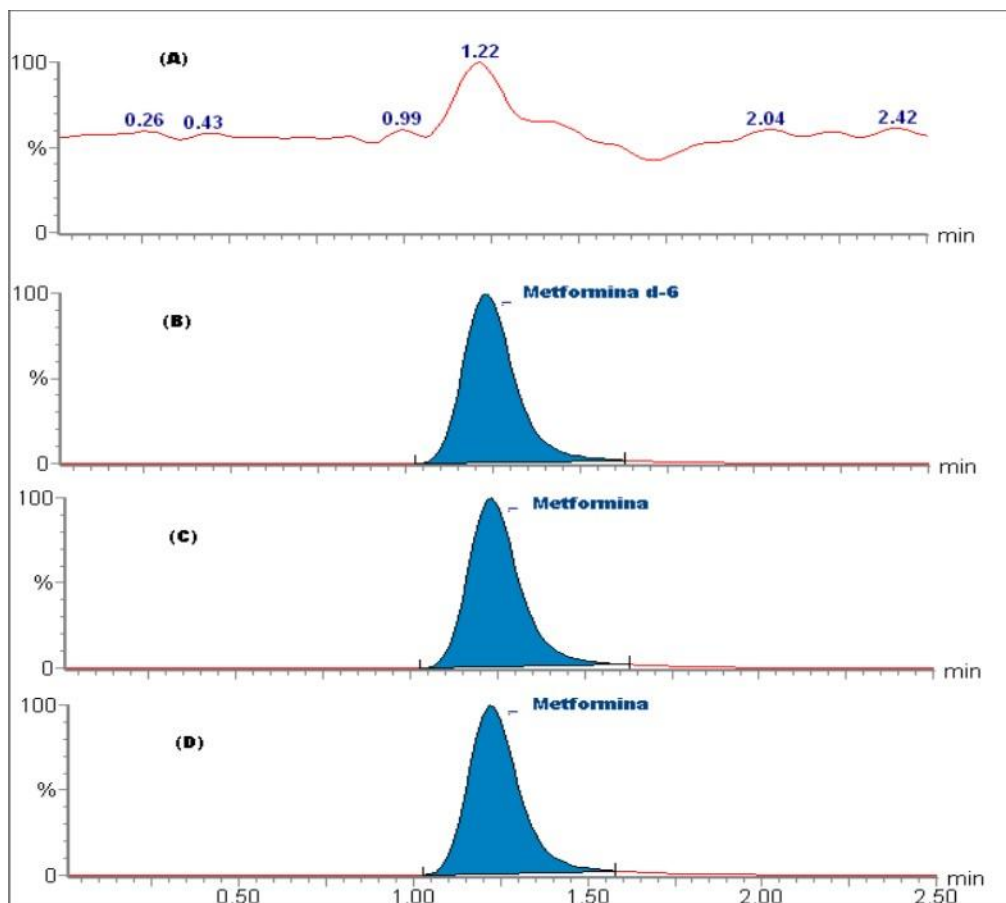


FIGURA 8 - CROMATOGRAMA DE METFORMINA EM PLASMA NA CONCENTRAÇÃO DE 1000ng/ml  
FONTE: O autor (2011)

NOTA: (A) Amostra branca; (B) Amostra padrão interno; (C) Amostra CCAL 300ng/ml; (D) Amostra paciente.

### 5.2.1.3 Limite de quantificação/detecção

O valor do CV% médio encontrado foi de 6,03% com exatidão de 90,39%. Esses dados demonstram sensibilidade significativa do método com precisão e exatidão dentro dos limites preconizados.

#### 5.2.1.4 Precisão e exatidão

Os resultados foram determinados utilizando-se uma curva de calibração em duplicada para cada dia de análise, encontrando-se os seguintes resultados: a precisão e exatidão intracorridas apresentaram valores de coeficiente de variação e exatidão, respectivamente, de: 3,25% e 99,70% para CQB; 2,05% e 96,55 para CQM e 1,62% e 92,43% para CQA. Já a precisão e exatidão intercorridas apresentaram valores de coeficiente de variação e exatidão, respectivamente, de 1,29 e 99,70% para CQB; 2,41% e 96,56% para CQM e 2,14% e 92,44% para CQA.

Observou-se que o método apresenta precisão, pois os valores do CV para cada nível de concentração foram inferiores ao limite aceito de 15% e a exatidão correspondente, na faixa de 85 a 115% do valor nominal, cumprindo parâmetros preconizados.

#### 5.2.1.5 Estabilidade

Determinou-se a estabilidade de amostras de Metformina em plasma, mantidas a -20°C, submetendo-as a quatro ciclos de Congelamento e Descongelação, bem como a estudos de estabilidade de Curta Duração (seis horas), Pós-Processamento (27 horas). A concentração de Metformina após cada período de armazenamento foi determinada com base na curva de calibração, em duplicata, preparada para cada análise, e comparada com o resultado das amostras recém-extraídas e analisadas.

#### 5.2.2 Resultados farmacocinéticos

Para o estudo farmacocinético de concentração plasmática no primeiro dia de tratamento (*steady – state* e *vale*) e dos parâmetros  $T_{1/2}$ ,  $C_{max}$ ,  $ASC$ ,  $V_d$  e  $Cl$  foram incluídas as 18 pacientes. Já para a avaliação de concentração plasmática durante o estudo foram consideradas somente as pacientes que concluíram os três meses de tratamento.

As coletas sanguíneas aconteceram *steady state*, ou seja, oito horas após a ingestão da primeira dose da Metformina para ambos os grupos. A outra coleta aconteceu no *vale* correspondendo a uma hora antes da nova dose terapêutica. No grupo A isso significou uma hora antes do almoço e para o grupo B, uma hora antes do jantar. Os valores obtidos estão descritos na Tabela 6.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE *STEADY STATE* E *VALE* DA METFORMINA ENCONTRADO NAS PACIENTES DO GRUPO A E B NO PRIMEIRO DIA DE TRATAMENTO

GRUPO A	TEMPO ZERO	STEADY STATE	VALE	GRUPO B	TEMPO ZERO	STEADY STATE	VALE
Média	0,00	1605,43	1046,82	Média	0,00	372,33	256,64
Desvio-padrão	0,00	680,40	344,50	Desvio-padrão	0,00	86,83	82,31

FONTE: O autor (2011)

A avaliação dos parâmetros farmacocinéticos para  $T_{1/2}$ ,  $C_{max}$ ,  $ASC$ ,  $V_d$  e  $Cl_T$  está representada na Tabela 7 para o grupo A e na Tabela 8 para o grupo B.

TABELA 7 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA O GRUPO A OBTIDOS NO PRIMEIRO DIA DE USO DE METFORMINA

Grupo A	$T_{1/2}$ (h)	$C_{max}$ (ng/mL)	$ASC$ (h*ng/mL)	V (mL)	$Cl$ (mL/h)
Média	9.23	1734.18	9481.67	886922.59	71725.50
Mediana	9.22	1539.54	8639.89	856673.12	68618.63
Desvio-Padrão	4.46	703.06	3355.09	418133.01	24367.61
Mínimo	2.64	949.92	5620.33	405334.60	45444.38
Máximo	14.90	2757.79	14847.85	1474778.18	106326.72

FONTE: O autor (2011)

TABELA 8 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA O GRUPO B OBTIDOS NO PRIMEIRO DIA DE USO DE METFORMINA

Grupo B	$T_{1/2}$ (h)	$C_{max}$ (ng/mL)	$ASC$ (h*ng/mL)	V (mL)	$Cl$ (mL/h)
Média	3.87	372.33	2118.28	1560096.07	311961.12
Mediana	3.57	370.22	2141.54	1605299.52	249627.58
Desvio-Padrão	1.33	86.83	513.51	237549.36	124759.65
Mínimo	2.26	271.14	1502.65	1090199.37	175437.63
Máximo	5.94	515.16	2925.18	1843181.89	504470.24

FONTE: O autor (2011)

### 5.2.3 Monitoramento plasmático

A concentração plasmática média da Metformina obtida no *steady-state* a partir do 15 dia de uso e ao longo dos 105 dias está retratada para o grupo A e B na Figura 9.

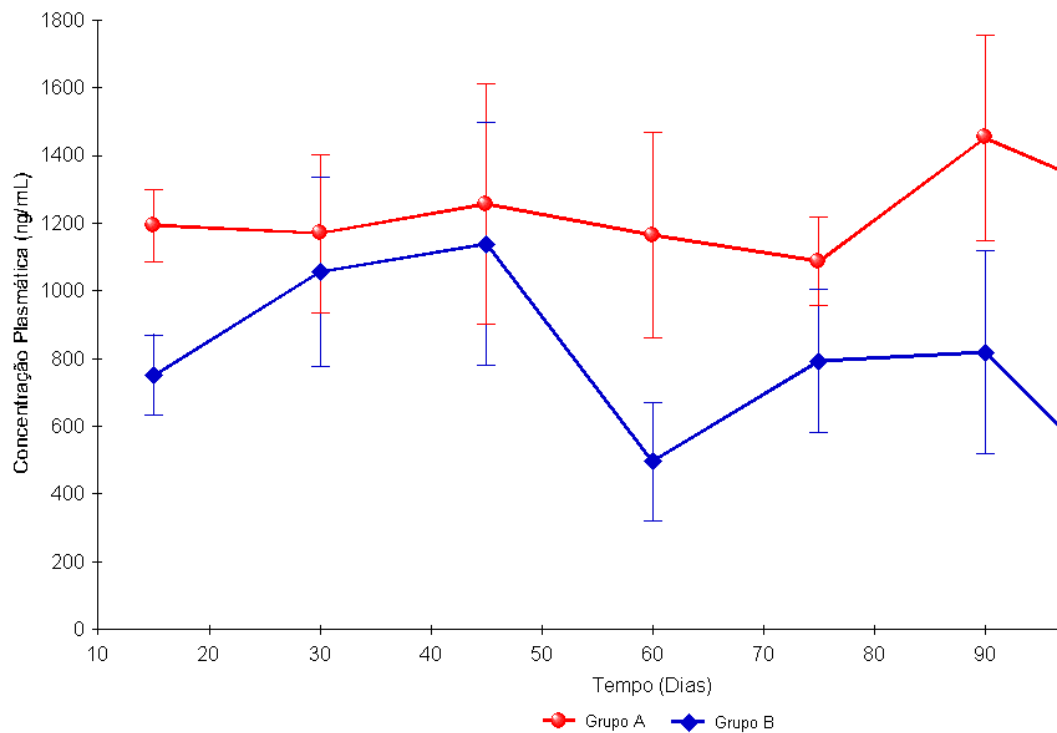


FIGURA 9 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA DA METFORMINA AVALIADA DURANTE O TEMPO DE 15 A 105 DIAS PARA O GRUPO A E B  
FONTE: O autor (2011)

A observação do comportamento por pacientes foi registrada para o grupo A na Figura 10 e para o grupo B na Figura 11.

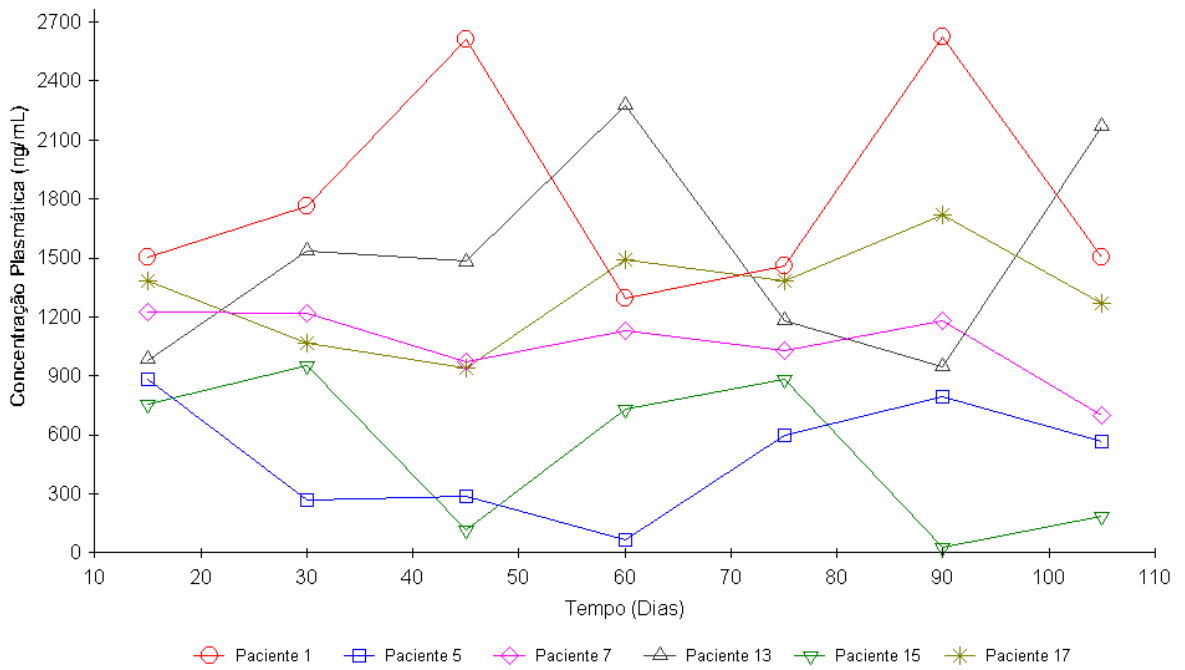


FIGURA 10 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA OBSERVADA NOS PACIENTES DO GRUPO A  
 FONTE: O autor (2011)

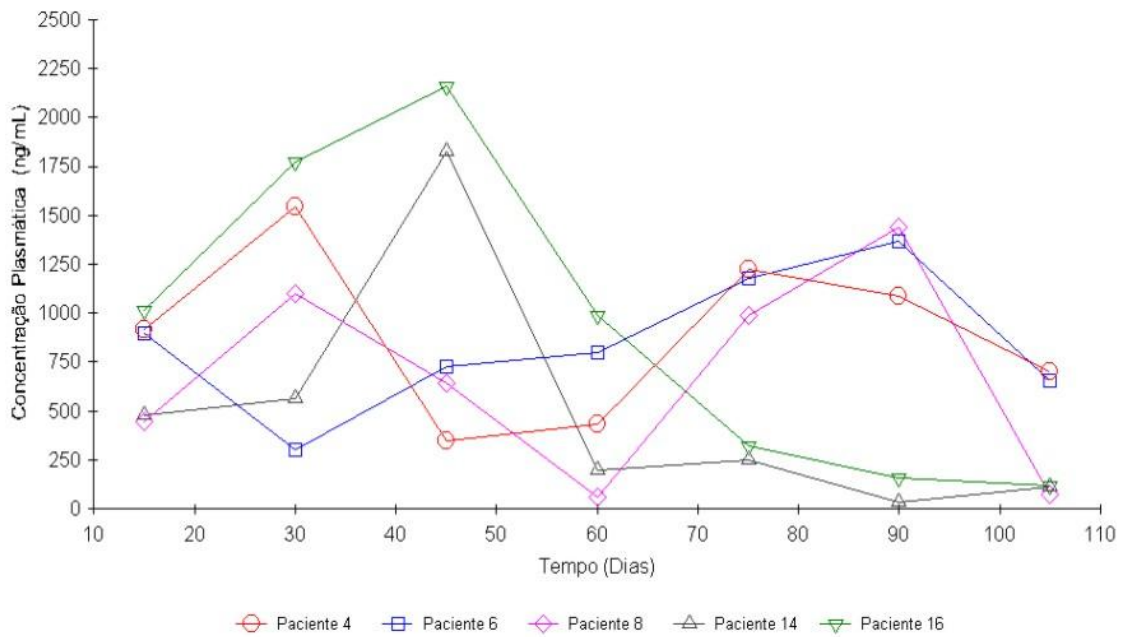


FIGURA 11 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA OBSERVADA NOS PACIENTES DO GRUPO B  
 FONTE: O autor (2011)

## 6 DISCUSSÃO

Segundo Graham *et al* (2011) um terço dos pacientes que usam Metformina não respondeu ao tratamento e há acentuada diferença de respostas clínicas intra e entre pacientes sugerindo variantes genéticas para o transporte e a ação deste medicamento. Na prática clínica, a utilização de Metformina para SOP encontra-se bastante difundida. A observação de respostas diferentes é frequente e muitas vezes tais respostas levam o clínico a desacreditar da eficácia terapêutica. Porém, regimes de tratamento com doses diferentes, baixa aderência ao tratamento e tempo de uso da Metformina estão diretamente relacionados à resposta clínica. Neste trabalho buscou-se a resposta da melhor dose eficaz ao tratamento de SOP.

### 6.1 ETAPA CLÍNICA

Os grupos de pacientes incluídos no presente estudo foram homogêneos em relação à idade, estado civil, escolaridade e desejo de gestar.

Segundo ESHRE e ASRM, desde o Workshop de 2007 (ROWAN *et al.*, 2008; TARLATZIS *et al.*, 2008) a Metformina é preconizada para tratamento de paciente com SOP e resistência à insulina. Dessa forma, os critérios de inclusão para o presente estudo contemplaram esta associação. O diagnóstico de SOP seguiu os critérios de Rotterdam e foi utilizando o índice de HOMA-IR.

O índice de HOMA IR é um cálculo matemático com base nos valores de glicemia de jejum e insulina que permite obter de forma simples uma estimativa da resistência à insulina. Matthews *et al.* (1985) em sua publicação original referem que o modelo HOMA foi ajustado de forma que um indivíduo saudável, com idade inferior a 35 anos, apresentasse um valor igual ou inferior a 1. Porém na maioria dos estudos não há um valor de corte estabelecido como referência na classificação dos resultados (OLIVEIRA; SILVA; LIMA, 2005). No presente estudo o objetivo da inclusão com HOMA 2,5 foi caracterizar uma população com fortes evidências de resistência à insulina. Das pacientes inicialmente que tiveram diagnóstico de SOP, no recrutamento, 37,5% estavam dentro deste critério de inclusão. Legro, Castracane e Kauffman

(2004) afirmam que 50 a 70% das pacientes com SOP apresentam algum grau de resistência insulina. Certamente o percentual que foi encontrado aqui é menor devido ao valor de corte empregado.

Houve incidência de eventos adversos em 27% das pacientes, conforme relatado nas entrevistas quinzenais, ou seja, 3 pacientes do grupo A e 2 pacientes do grupo B. Esses eventos foram dor gástrica, náuseas, vômitos e flatulência. O relato aconteceu nos primeiros 45 dias, sendo que na dose de 1500mg, grupo A, foram mais precoce. Desordens digestivas são esperadas com o uso da Metformina em 30% dos pacientes no início do tratamento de acordo com Bouchoucha; Uzzan; Cohen (2011). Já Moghett *et al.* (2000) encontraram 43% de eventos adversos durante a avaliação de pacientes com SOP em uso de Metformina, com predomínio de alterações gastrointestinais. Em uma metanálise e revisão sistemática Lord, Flight e Norman (2003) consideraram quatro ensaios como adequados para análise de eventos adversos mostrando maior incidência de náuseas e vômitos, e nenhum estudo relatou evento grave. Nestler (2008) refere que os eventos adversos ocorrem em 10-50% dos pacientes nas primeiras semanas de tratamento. Sua gravidade pode ser diminuída empregando um esquema de titulação gradual. Este autor recomenda 500mg diariamente com a maior refeição devendo aumentar a dose gradualmente para até 2500mg/dia. No presente estudo não foi prevista titulação de dose, sendo causa provável de maior incidência de eventos adversos, uso irregular do medicamento e descontinuidade do tratamento.

Os eventos adversos são causa de descontinuidade do tratamento em 5 a 10% dos pacientes (BOUCHOUCHA; UZZAN; COHEN, 2011). Neste estudo, quando as pacientes foram questionadas sobre a frequência de uso do medicamento e sobre eventos adversos, 3 pacientes do grupo A e 2 pacientes do grupo B relataram o uso de doses menores ou irregular da Metformina no período de 15, 30 e 45 dias, fato que motivou suas exclusões do estudo, conforme previsto em protocolo da pesquisa. Sendo assim, o índice de não adesão, ou descontinuidade do tratamento foi de 27%. Este índice de não aderência deve-se aos eventos adversos e por ter havido a busca ativa durante as entrevistas sobre o efetivo uso da Metformina. Abordar a forma e frequência do uso do medicamento constitui-se em método indireto de avaliação de aderência estando sujeito à veracidade das informações da paciente e à veemência com que o entrevistador busca as respostas (VERMEIRE *et al.*, 2001).

A baixa adesão ou descontinuidade ao tratamento pode ser esperada em 30-50% independente do prognóstico da doença ou de ajustes de dose (McDONALD; GARG; HAYNES, 2002). O não cumprimento da orientação médica é um problema importante na saúde pública impondo fardo financeiro considerável. Nos EUA esta carga foi estimada em US \$ 100 bilhões por ano incluindo internações hospitalares e cuidados ambulatoriais (VERMEIRE *et al.*, 2001).

Abre-se um parêntese para algumas definições. Em muitas publicações o termo usado é *compliance* que pode ser traduzido com complacência, submissão, obediência, o que pressupõe um estado passivo do paciente. Já o termo *adherence*, aderência, tem sido empregado para identificar uma escolha livre do paciente em seguir determinada orientação (BEN, 2011).

Os fatores que influenciam nesta aderência estão relacionados ao paciente, ao regime terapêutico e ao serviço de saúde. Menor nível de escolaridade e entendimento sobre sua doença está associado à baixa aderência. Muitas doses diárias ou de difícil administração, bem como eventos adversos, dificuldade de acesso ao medicamento ou atendimento médico também estão associadas a resultados pobres (VERMEIRE *et al.*, 2001; BEN, 2011).

Neste estudo os grupos avaliados foram homogêneos em relação à escolaridade, sendo que 11% apresentavam ensino fundamental completo, 66% ensino médio completo e 22% ensino superior, sem diferença estatística entre os grupos, não justificando assim a baixa aderência. Da mesma forma, a maioria das pacientes procurou o estudo com a expectativa de gestação, o que reforçaria a motivação de obter resultado no tratamento. Houve orientação sobre SOP, Metformina, possíveis eventos adversos, possibilidade de gestação durante o tratamento, e o protocolo de pesquisa foi orientado antes da assinatura do TCLE. O serviço de saúde não apresentava dificuldade de acesso para as pacientes em pesquisa, visto seu atendimento permanente e a disponibilidade dos telefones para contato e não haver custos para seu acompanhamento. Esses fatores que são associados à aderência foram contemplados durante a condução do estudo.

A dose maior de 1500mg/dia orientada no grupo A teve três termos prematuros por eventos adversos e não aderência ao tratamento, enquanto o grupo B, 1000mg/dia, teve dois termos por estes motivos. Considerar a frequência de uso como fator determinante para a menor aderência ao tratamento é prematuro, isso porque a aderência foi avaliada também de forma direta por meio da concentração



plasmática da Metformina, coletada durante o estudo a cada 15 dias, o que será apresentado na discussão da farmacocinética. Além disso, o número de pacientes envolvidas neste estudo não permite ser conclusivo neste item.

Vermeire *et al.* (2001) ressaltam que as crenças e perspectiva que a paciente tem em relação a sua doença têm influencia direta na aderência ao tratamento. Em uma revisão sistemática e meta-análise Dokras *et al.* (2011) encontraram um risco aumentado quatro vezes para a depressão em mulheres com SOP em relação aos do grupos controle e maior frequência de síndromes de ansiedade (11,6%), assim como os transtornos de compulsão alimentar (23,3%). No presente estudo não foram avaliadas as expectativas e crenças em relação ao SOP e os transtornos depressivos. Avaliação desses aspectos pode ser relevante para entender aderência ao tratamento.

No grupo B, 75 dias após o início do tratamento ocorreu o diagnóstico de gestação com estimativa ecográfica de aproximadamente cinco semanas. A gestação provavelmente aconteceu no primeiro mês de tratamento, levando ao questionamento se este curto tempo de uso é o suficiente para atribuir à Metformina este resultado positivo. O relato de gestação com uso Metformina isoladamente ou associada com outros medicamentos tem sido largamente avaliado por muitos autores. O uso da Metformina não tem como objetivo induzir a ovulação, porém corrobora com a fisiopatologia do SOP agindo na resistência à insulina, que pode auxiliar na resposta ovariana (ARIE *et al.*, 2009). A comparação do citrato de clomifeno à Metformina e sua combinação no tratamento de pacientes com anovulação crônica e SOP foi avaliada mediante revisão sistemática por Palomba *et al.* (2007), que concluíram que a administração combinada de Metformina e citrato de clomifeno não é mais eficaz do que a monoterapia. Lord, Flight e Norman (2003), em uma metanálise, compararam a efetividade da Metformina em relação ao uso de placebo para promover a ovulação e concluíram que a Metformina foi mais efetiva para a ocorrência de ovulação, com Odds Ratio de 3,8 (2,2 a 6,6;  $p < 0,0001$ ). Foram avaliados sete estudos; a dose da Metformina utilizada variou de 1.500 a 1.700mg e o tempo de uso da medicação foi de 35 dias a quatro meses. Somente em dois dos estudos desta meta-análise não foram demonstradas diferenças significativas entre os grupos, sendo que, em ambos, o índice de massa corpórea (IMC) era menor do que os dos demais estudos. Segundo o consenso Rotterdam de 2008 (TARLATZIS *et al.*, 2008), o uso de citrato de clomifeno permanece como a primeira opção de droga para indução da

ovulação em pacientes com SOP e o uso da Metformina deve ficar restrito para aquelas mulheres com intolerância à glicose.

A diminuição de intervalo de ciclo menstrual ocorreu em ambos os grupos predominantemente no grupo B. A irregularidade menstrual, com oligomenorreia, está presente na maioria das pacientes com SOP, sendo um dos critérios diagnósticos. Lord, Flight e Norman (2003) mostraram um efeito positivo da Metformina na regularização do ciclo menstrual, com um Odds Ratio (OR) 12,88 ( $p=0,01$ ; IC95%=1,85-89,61) e um risco relativo (RR) 1,45 (IC95%=1,11-1,90). Yilmaz *et al.* (2005), em trabalho randomizado e controlado, compararam 98 mulheres com SOP que receberam Metformina ou troglitazona e verificaram que ambas as drogas melhoram o padrão menstrual, 87,8% no grupo da troglitazona e 79,3% no grupo da Metformina. Curi (2007) comparou de forma randomizada pacientes com SOP que fizeram uso da Metformina 1.800 mg/dia a outras que fizeram uso da associação de dieta e exercícios físicos; não notou diferenças na normalização dos ciclos menstruais e nas taxas de gestação entre os dois grupos. Palomba *et al.* (2009) concluíram, após revisão de vários autores, que a Metformina é a primeira opção de tratamento em mulheres com oligomenorreia em paciente com SOP quando há contraindicação de uso de contraceptivo oral.

A acne foi predominante em 83% das pacientes no início do tratamento permanecendo inalterada nos dois grupos após o tratamento. Esta manifestação androgênica da SOP apresenta fatores locais associados como oclusão do orifício glandular e colonização bacteriana (BAGNOLI *et al.*, 2010). Além disso, o período de três meses não é adequado para avaliar a efetividade do tratamento.

Na avaliação do hirsutismo também não houve modificação desta manifestação androgênica. O ciclo de crescimento do folículo piloso é de cerca de 6 a 8 meses (FONSECA *et al.*, 2010), sendo que a resposta terapêutica necessita de um tempo maior de observação do que os três meses realizados neste estudo.

Em relação ao IMC, ambos os grupos são considerados com obesidade e homogêneo entre si. Não houve mudança neste status após o tratamento de três meses com Metformina, porém no grupo A houve redução do IMC estatisticamente significativo após os três meses. O mesmo não aconteceu no grupo B, de menor dose. Papunen *et al.* (2000) ressaltam que a obesidade em mulheres com SOP, principalmente com distribuição abdominal, tem uma piora da condição clínica e com níveis superiores de hormônios andrógenos quando comparadas com mulheres de peso

normal também com SOP. É observada em 80% das mulheres obesas com SOP a concomitância da resistência à insulina (EHRMANN, 2005; HOMBURG, 2008). Certamente o critério de inclusão de HOMA IR acima de 2,5 condicionou o aumento do IMC para as pacientes neste estudo. A redução do IMC, especificamente em relação ao peso, na dose de 1500mg/dia era esperada. A Metformina tem sido indicada para tratamento de obesidade, independente da SOP ou DM2. Os primeiros estudos com Metformina e controle de peso datam de 1970 quando foram avaliadas crianças obesas de 8 a 14 anos obtendo resultados positivos (LUTJENS; SMIT, 1977). Já Srinivasan *et al.* (2006) avaliaram uma população de 9 a 18 anos com obesidade, comparando o uso de Metformina 1000mg dia e placebo, por seis meses, e concluíram que há benefício do uso, segurança e boa tolerância. Silva *et al.* (2002) avaliaram adolescentes com SOP por três meses com dose de 850mg 2x dia e observaram diminuição significativa de peso.

A avaliação da circunferência abdominal mostrou valores médios superior a 88cm, limite conforme o National Heart, Lung, and blood Institute North American Association for the study of obesity (NHLBI, 2000) para baixo risco de doenças cardiovasculares. Os dois grupos mantiveram o mesmo padrão elevado após o tratamento. De todas as pacientes avaliadas apenas uma paciente do grupo B apresentava valor de circunferência abdominal abaixo do limite no pré e pós-tratamento. A medida da circunferência abdominal visa a uma avaliação indireta da gordura visceral. Lord *et al.* (2006), com objetivo de estabelecer se a Metformina tem ação significativa de redução da gordura visceral, conduziram um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado: 40 mulheres anovuladoras com SOP foram randomizadas para receber Metformina 1500 mg/dia ou placebo durante três meses. A distribuição da gordura foi avaliada pela tomografia computadorizada. Os autores concluem que a Metformina não tem efeito clínico significativo para reduzir a gordura visceral. Assim, não ter havido diminuição significativa da circunferência abdominal no presente estudo está de acordo com a literatura.

Para os exames de colesterol, LDL e triglicerídeos, não houve alteração estatística significativa após os três meses de tratamento tanto na dose de 1500mg ou 1000mg/dia. Já no grupo B houve aumento do HDL de forma estatisticamente significativa após três meses de tratamento. Lord, Flight e Norman (2003) em revisão sistemática e meta-análise não observaram melhora da dislipidemia. Isso os motivou para conduzir um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado com

40 mulheres com SOP que utilizaram Metformina 1500mg/dia ou placebo. O grupo da Metformina teve importante diminuição do colesterol total ( $p=0,02$ ), da LDL ( $p=0,02$ ) e da relação colesterol/HDL ( $p=0,05$ ), mas não houve diferenças significativas entre os grupos de tratamento em relação aos triglicérides (LORD *et al.*, 2006). Palomba *et al.* (2009) ressaltam que mulheres com SOP têm aumento de LDL, colesterol e triglicérides, associado a um maior risco doença cardiovascular. Além disso, a Metformina tem ação sobre o metabolismo lipoproteico de forma direta ou pela redução da concentração de insulina, melhora do metabolismo hepático dos ácidos graxos.

A glicemia apresentou alteração estatisticamente significativa no pós-tratamento para o grupo A. Como já mencionado na revisão de literatura, o controle glicêmico com a Metformina ocorre, principalmente, pela redução da produção hepática da glicose (inibição da neoglicogênese), melhor sensibilidade dos receptores da insulina, melhor da utilização da glicose no músculo esquelético e no adipócito e diminuição da absorção intestinal de glicose. Ela não tem ação direta sobre a secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreática, portanto, seu uso não provoca hipoglicemia (WIERNSPERGER; BAILEY, 1999). A ação anti-hiperglicemia da Metformina está associada à diminuição da absorção de glicose no intestino delgado, aumento do transporte de glicose para dentro das células, diminuição do livre concentrações plasmáticas de ácidos graxos e inibição da gliconeogênese (RAMALHO; LIMA, 2006). Dessa forma, é esperado que controle glicêmico seja dose dependente, fato observado no presente estudo, na dose de 1500mg/dia.

Em relação à síndrome metabólica especificamente, avaliaram-se as pacientes segundo os critérios da National Cholesterol Education Program (NCEP) e a Adult Treatment Panel III (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006). No grupo A, três pacientes preenchem os critérios diagnósticos pré-tratamento e mantiveram esta condição após o tratamento, enquanto no grupo B duas pacientes foram classificadas com síndrome metabólica e após os três meses de uso de Metformina melhoram esta condição. A síndrome metabólica representa um agrupamento de fatores de risco para a doença cardiovascular, como a hipertensão arterial, a dislipidemia, a obesidade visceral e as manifestações de disfunção endotelial. Está associada ao aumento de risco cardiovascular em longo prazo, assim como ao risco de desenvolvimento de DM2 (ARIE *et al.*, 2009). Foi observado que os níveis de colesterol e LDL estão aumentados nas pacientes obesas e não obesas, e as obesas apresentam níveis de triglicérides aumentados. Nestas, os níveis de HDL, embora inferiores a 50mg/dL, são

maiores do quando comparados aos das controles obesas, o que poderia conferir certo grau de proteção contra a doença cardiovascular (LEGRO; KUNSELMAN; DUNAIF, 2001). Alguns parâmetros desta síndrome apresentam melhora significativa com a Metformina. Lord, Flight e Norman (2003) em revisão sistemática verificaram redução da medida da cintura, melhora da resistência à insulina, redução da pressão sistólica e diastólica, sem haver melhora comprovada da dislipidemia. Recentemente, observou-se que tratamento com Metformina foi capaz de melhorar a estrutura e função do endotélio de pacientes com SOP jovens e não obesas, sugerindo que esse agente poderia ser eficaz para reduzir o risco cardiovascular em longo prazo (ORIO JR. *et al.*, 2005). A melhora da síndrome metabólica foi esperada nos dois grupos, conforme literatura, porém só foi observada no grupo B.

O FSH e LH foram avaliados no pré e pós-tratamento no presente estudo e não houve alteração estatisticamente significativa nestes dois momentos. Esta avaliação ficou prejudicada por não haver um dia determinado do ciclo menstrual para sua dosagem, dadas a irregularidade de ciclo e a oligomenorreia presente na maioria das pacientes. A hipersecreção do LH em relação ao FSH é uma das características observadas na SOP e auxilia no diagnóstico (LOBO; CARMINA, 2000). A dosagem da prolactina apresentou valor superior à referência em uma paciente do grupo B e manteve esta alteração após o uso da Metformina. A associação de hiperprolactina e SOP é descrita por vários autores com incidência variável de 17 a 50% (FILHO *et al.*, 2007).

No grupo A houve uma redução estatisticamente significativa para testosterona livre o mesmo não acontecendo no grupo B de dose menor de Metformina. O S-DHEA manteve-se sem variação significativa. Segundo Lobo e Carmina (2000), a testosterona livre é o melhor marcador de hiperandrogenismo ovariano e a S-DHEA é o melhor marcador adrenal. Velazquez *et al.* (1994), na primeira publicação de uso da Metformina para tratamento da SOP estudaram 28 mulheres em uso de 1500mg/dia de Metformina durante oito semanas, e observaram a diminuição da testosterona livre ( $p=0,0001$ ) e a diminuição S-DHEA ( $p=0,04$ ). Na meta-análise de Lord; Flight e Norman (2003) compararam os resultados de placebo e da Metformina em mulheres com SOP, a Metformina também foi mais eficaz em reduzir testosterona livre.

## 6.2 ETAPA ANALÍTICA

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

A determinação Metformina plasmática nas amostras coletadas foi realizada por meio do método analítico de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) previamente descrita na metodologia. O método LC-MS/MS proposto é boa alternativa para quantificação da Metformina em plasma humano uma vez que a extração líquido-líquido garante ótima recuperação destes fármacos. Com os resultados da validação, registraram-se boa precisão e exatidão na faixa de linearidade proposta 10-4000ng/mL para a Metformina.

Existem muitos relatos sobre a farmacocinética de Metformina relacionando indivíduos saudáveis em estudos de bioequivalência farmacêutica ou em pacientes diabético, via oral e em doses variadas. Este estudo busca avaliar o comportamento em paciente com SOP. Os parâmetros avaliados  $T_{1/2}$ ,  $C_{max}$ , ASC, Vd, CL foram calculados baseados nas amostras do primeiro dia de tratamento envolvendo as 18 pacientes selecionadas para o estudo, enquanto a concentração plasmática foi avaliada no *steady-state* nos tempos de 15, 30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias nas pacientes que concluíram o estudo. Este acompanhamento da concentração plasmática foi parâmetro de avaliação direta da aderência ao tratamento.

A análise foi realizada por método monocompartimental. Este modelo constitui uma hipótese matemática para o entendimento dos processos de distribuição dos medicamentos no organismo humano. É o modelo compartimental mais simples e pode representar que após administração da Metformina ela se distribui através da via circulatória para todos os tecidos e se equilibra rapidamente em todo o organismo. Usar este modelo tem como objetivo facilitar a análise farmacocinética, porém não implica necessariamente presumir que a concentração plasmática e a tissular da Metformina sejam as mesmas (BUXTON, 2006).

Neste momento é importante lembrar que a Metformina tem comportamento não linear, ou seja, a mudança da dose resulta numa mudança desproporcional nas concentrações do fármaco no sangue, tanto para as concentrações obtidas após

doses múltiplas, ou após uma dose única. Observa-se que na cinética não linear a velocidade da eliminação do fármaco não é proporcional a sua concentração, a meia-vida é maior com o aumento da dose e a área sob a curva não é proporcional à dose (LABAUNE, 1993). A não linearidade decorre da saturação de ligações protéicas, do metabolismo hepático, ou do transporte renal ativo do fármaco (BUXTON, 2006).

### 6.2.1 Monitoramento plasmático

Em relação à análise da Metformina, vale ressaltar que se trata de uma biguanida hidrofílica de excreção renal. A absorção da Metformina é, provavelmente, por um mecanismo saturável. A biodisponibilidade dos comprimidos é na ordem de 50-60%. Não é metabolizada, circulando em forma livre. A fração ligada a proteínas plasmáticas pode ser considerada como insignificante (BAILEY, 1992).

A diferença básica entre o esquema posológico dose única *versus* dose múltipla é o intervalo de administração das doses. Na dose única, este intervalo é superior a 10 meias-vidas, permitindo a completa eliminação do fármaco. No regime de doses múltiplas, o intervalo de administração necessariamente precisa ser inferior a 10 meias-vidas, possibilitando que a 2.<sup>a</sup> dose reponha a perda da primeira e assim sucessivamente até que se atinja um platô de equilíbrio, ou seja, *steady state* (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

No presente protocolo, que avalia um regime de dose múltipla, buscou-se determinar a concentração mínima (vale) e máxima (pico) após a obtenção do *steady state*. O vale é obtido por meio da quantificação plasmática do fármaco no período imediatamente anterior à administração da nova dose. Já o pico pode ser obtido após 3 a 5 meias-vidas do fármaco, ou seja, período necessário para obtenção do *stead state*.

O regime de múltiplas doses exige a administração do medicamento em doses idênticas com intervalos regulares gerando uma curva de impregnação. Neste protocolo, visando minimizar as reações adversas do medicamento e de acordo com a orientação habitual de uso do medicamento com as refeições, os intervalos de administração não foram regulares.

Dessa forma, a avaliação do pico e do vale em ambos os grupos foi prejudicada. No entanto, no grupo A, em que a quantificação plasmática do fármaco relativa ao pico ocorreu após a administração da 2.<sup>a</sup> dose e a quantificação do vale ocorreu anteriormente à administração da 2.<sup>a</sup> dose, observaram-se os seguintes resultados, respectivamente: 1605,46ng/mL (+680,40) e de 1046,82ng/mL (+344,50). Na descrição da farmacocinética da Metformina com dose diária de 1500mg é preconizado 1000ng/ml (+/- 0,5) como concentração terapêutica (MICROMEDEX, 2010). Assim, é possível afirmar que tais valores encontram-se de acordo com a literatura médica.

Em relação ao grupo B, tem-se que a concentração mínima obtida (vale) anterior à 2.<sup>a</sup> dose foi de 256,64ng/mL (+82,31). Comparativamente ao grupo A, esse valor é cerca de quatro vezes inferior, motivo este explicado pelo fato que a coleta sanguínea correu três horas após a administração no grupo A e 11 horas após a administração no grupo B. Este valor de vale obtido no grupo B deve ser considerado a menor concentração de Metformina em pacientes sob regime de doses múltiplas.

O monitoramento Plasmático a cada 15 dias durante três meses teve como objetivo principal avaliar o *steady state* nos dois grupos para correlacionar com a resposta terapêutica. Nesta situação é esperado que as concentrações plasmáticas sejam constantes oscilando entre dois valores de máximo e mínimo dentro do limiar terapêutico, não atingindo doses tóxicas ou doses inativas (LABAUNE, 1993).

Na avaliação dos dados foram observadas flutuações acentuadas nas concentrações em algumas voluntárias enquanto em outras era visualizado o estado de equilíbrio. Esta resposta não esperada levou a questionamentos sobre a aderência das pacientes ao tratamento, dose administrada e posologia, que serão discutidos na sequência.

Quando foi realizada a avaliação da concentração plasmática média do grupo A foi encontrado 1121,45ng/mL (Figura 9). Este valor encontra-se dentro do preconizado para dose terapêutica da Metformina (1000ng/ml). Porém, ao ser avaliado comportamento individual, houve flutuações acentuadas de concentrações (Figura 10). Isso pode ser visto, no grupo A, durante o acompanhamento da paciente 5 na qual a concentração chegou ao valor mínimo de 64,60ng/mL e a paciente 15, com valor mínimo de 29,25ng/mL. Da mesma forma, foi observada na paciente 1 concentração de



2613,15ng/mL e na paciente 13 valor de 2275,18ng/mL, muito superior à concentração de pico, que foi de 1605,43ng/mL. Já no grupo B a concentração plasmática média foi de 797,573ng/mL (Figura 9), sendo também observadas flutuações na concentração plasmática durante o acompanhamento quinzenal (Figura 11). A paciente 8 apresentou concentração mínima de 48,509ng/mL, paciente 14 de 36,406ng/mL e a paciente 16 de 116,072ng/mL. Concentrações altas foram observada a paciente 4 com 1543,864ng/ml, paciente 14 com 1824,231 e a paciente 16 com 2158,860. Os valores de concentração plasmática abaixo da concentração mínima de 256,64 ng/mL (+-82,31) sugerem não aderência ao tratamento e dose subterapêutica. Fato este observado em duas pacientes do grupo A e três pacientes do grupo B. Em relação aos picos observados nos dois grupos, como não foi preconizado no protocolo o horário de coletas sanguíneas a cada 15 dias, podem corresponder à dose imediatamente após a nova dose do medicamento. O não estabelecimento de horário para coleta sanguínea quinzenas foi porque se acreditava, pelo conceito de estado de equilíbrio, que haveria uma oscilação discreta entre a dose máxima e mínima, situação esta não demonstrada no comportamento destas pacientes.

A posologia preconizada nos horários de refeição em ambos os grupos não corresponde aos conceitos sobre múltiplas doses, dado que não é respeitado intervalo regular para a administração da Metformina, o que certamente corrobora para um comportamento farmacocinético não homogêneo.

### 6.2.2 Resultados farmacocinéticos

Para a avaliação dos parâmetros farmacocinéticos os estudos realizados pela BIOCINESE (2009), Centro de Estudos de Bioequivalência Farmacêutica com Metformina, tornam-se importante parâmetro de comparação, por se tratar de 12 voluntárias saudáveis, da mesma região. Estas voluntárias participaram de um estudo de bioequivalência para comparar duas formulações de Metformina 500mg, conforme a regulamentação do Programa de Medicamentos Genéricos no País (BRASIL, 1999). O estudo envolveu 28 voluntários de ambos os sexos, sendo aqui apresentados os dados referentes ao gênero feminino.

Entre os parâmetros farmacocinéticos empregados na prática clínica, o tempo meia-vida é importante, pois possibilita o cálculo da dose e esquema posológico a serem empregados no paciente, já que define em quanto tempo 50% da dose administrada será eliminada pelo organismo (WILKINSON, 2001). No presente estudo foi encontrado  $T_{1/2}$  médio de 9,23 (+/- 4,46) para o grupo A e 3,87(+/-1,33) para o grupo B. Na literatura, com administração de 500 mg oral em dose única, foram encontradas 2,39h (ARAFAT; KADDOUMI; SHAMI, 1994) e 5,06h (QAISI; TUTUNJI; SAHOURI, 2006), ambos os estudos em voluntários sadios em idade adulta. Os dados descritos pela BIOCINESE (2009) para  $T_{1/2}$  foi de 2,93 (+/-1,69)h. O grupo B é concordante com estes autores, pois foi avaliado somente o comportamento de 500mg de Metformina, visto que a segunda dose não participou dos dados para cálculo farmacocinético. Já no grupo A o comportamento da  $T_{1/2}$  sofre influência de mais uma dose. Como  $T_{1/2}$  reflete o tempo necessário para eliminação de 50% da dose, é compreensível que com o aumento da dose haja aumento neste parâmetro.

O conceito de ASC está associado à quantidade total de fármaco absorvido. O valor obtido no grupo A foi de 9481,67(+/-335,52) e para o grupo B de 2118,28 (+/- 513,51) ngh/m. Estudos de bioequivalência utilizando a mesma dose do presente estudo encontraram valores maiores para este parâmetro. Wang *et al.* (2004), com administração de 500mg por via oral, em voluntários sadios, encontraram AUC de  $5870 \pm 900$  ngh/m. BIOCINESE (2009) apresentou valor médio de 4799,20ngh/m. Esta heterogeneidade de resultados é justificada pela não linearidade da Metformina.

Outro parâmetro avaliado foi o volume de distribuição. Esta informação é útil na análise de como se processa a distribuição de um fármaco. No grupo A apresentou volume de distribuição de 886L (+/- 418) enquanto no grupo B foi de 1560L (+/-237). Estes valores estão condizentes com a concentração plasmática, visto que o Grupo A tem volume distribuição menor, porém com concentração plasmática maior enquanto o inverso acontece no grupo B, com baixa concentração plasmática, porém com volume de distribuição elevado.

O *Clarence* é determinado a partir da relação da dose com a ASC. No grupo A o *clearance* encontrado foi de 72 L/h enquanto para o grupo B foi de 32L/h. Já no grupo da BIOCINESE (2009) de 100L/h. Em pacientes com DM2 o clearance médio é de 24/h (MICROMEDEX, 2010). Estas diferenças são porque o grupo B apresenta menor concentração e menor ASC em relação ao grupo A.

Os parâmetros com paciente DM2 podem ter alterações em relação às pacientes com SOP. Geralmente o paciente com DM2 iniciam o tratamento em idade superior aos 40 anos e com outras alterações orgânicas associadas como, por exemplo, diminuição da função renal. Estudos com uma casuística maior com SOP permitirão entender melhor a farmacocinética nesta população.

## 7 CONCLUSÃO

- Os eventos adversos observados durante o tratamento com a Metformina foram esperados, ocorrendo nas duas doses, sendo mais precoce na dose de 1500mg. Ambos foram considerados importantes pelas pacientes sendo motivo para interrupção do tratamento.
- A análise dos parâmetros farmacocinéticos da Metformina em pacientes com SOP demonstrou comportamentos diferentes nas doses de 1500mg/dia e 1000mg/dia, não proporcional à dose.
- A concentração plasmática obtida a cada 15 dias durante três meses demonstrou *steady state* em ambas as doses, sendo que a 1500mg está dentro da recomendação de dose terapêutica e na dose de 1000mg está abaixo desta recomendação. Em ambos os grupos, foi observada concentração plasmática muito baixa, sugestiva de não aderência ao tratamento.
- A resposta clínica após três meses de uso da Metformina constatou melhora do IMC e glicemia e testosterona livre para as pacientes que utilizaram a dose de 1500mg/dia. Houve diminuição do intervalo dos ciclos menstruais, aumento do HDL e melhora dos parâmetros para a síndrome metabólica para pacientes que utilizaram a dose de 1000mg/dia. Após três meses, nas duas dosagens avaliadas, não houve melhora significativa para acne, hirsutismo, circunferência abdominal, colesterol, triglicerídeos, FSH, LH e alteração do padrão ecográfico. Não houve superioridade de resposta em uma das doses. O tempo de três meses pode não ter sido suficiente para ser conclusivo neste item.
- A baixa aderência ao uso da Metformina com abandono do tratamento e o uso irregular da Metformina foram observados nos dois grupos. A posologia de três ou duas tomadas diárias não influenciou na aderência. Os eventos adversos foram associados à causa principal da baixa aderência. Estudos sobre crenças e expectativas em relação ao tratamento SOP, bem como a avaliação de aspectos associados à depressão, podem contribuir para a avaliação de aderência.

- Na busca de menor dose possível de medicamento para produzir o efeito desejado, o uso de 1000mg/dia, mesmo com concentrações plasmáticas menores do que o preconizado como terapêutico, é promissor. Este estudo torna-se piloto para uma avaliação com número maior de pacientes e tempo mais prolongado de uso.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTI K, G.; ZIMMET, P.; SHAW, J. Metabolic syndrome – a new world-wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation. **Diabet Medicine**, Londres, v.23, n.5, p.469-480, abr. 2006.
- ARAFAT, T.; KADDOUMI, A.; SHAMI, M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two oral formulations of metformina hydrochloride. **Advances in Therapy**, Harvard, v.11, n.2, p.21-33, jun. 1944.
- ARIE, W. M. Y.; FONSECA, A. M.; BAGMOLI, V. R.; FASSOLAS, G.; BARACAT, E. Síndrome do ovário policístico e metformina:revisão baseada em evidências. **Femina**, São Paulo, v.37, n.11, p. 585-602, nov. 2009.
- AZZIZ, R.; MARIN, C.; BADAMGARAV, E.; SONG, P. Health Care-Related Economic Burden of the Polycystic Ovary Syndrome during the reproductive Life Span. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v.90, n.8, p.4650-4658, ago. 2005.
- BAGNOLI, V. R.; FONSECA, A. M.; FASSOLAS, G.; ARIE, J. A. V. R.; BARACAT, E. C. Tratamento hormonal da acne baseado em evidência. **Femina**, São Paulo, v.38, n.11, p. 565-574, nov. 2010.
- BAILEY, C. J. Biguanides and NIDDM. **Diabetes Care**, Alexandria-U.S., v.15, n.6, p.755-772, jun.1992.
- BAILEY, C. J.; TURNER, R. C. Drug Therapy: Metformin. **New England Journal of Medicin**, Birmingham, v.334, n.9, p.574-579, fev. 1996.
- BAILLARGEON, J. P.; NESTLER, J. E. Polycystic Ovary Syndrome: a syndrome of ovarian hypersensitivity of insulin? **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v.91, n.1, p.22-24, jan. 2006.
- BATLOUNI, M. Princípios básicos da farmacologia clínica. In: BATLOUNI, M.; RAMIRES, J. A. F. **Farmacologia e terapêutica cardiovascular**, São Paulo, Atheneu, 2004. p.3-22.
- BAYRAK, A.;TERBELL, H.; LANE, R. U.; MOR, E.; STANCZYK, F. Z.; PAULSSON, R. J. Acute effects of metformin therapy include improvement of insulin resistance and ovarian morphology. **Fertility and Sterility**, New York, v.87, n.4, p.870-875, abr. 2007

BEN, A. J. **Confiabilidade e análise de desempenho de dois questionários de avaliação da adesão ao tratamento anti-hipertensivo**: teste de morisky-green e brief medication questionnaire. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/31878>>. Acesso em: 20 jul. 2011.

BIOCINESE. **Estudo de bioequivalência entre cloridrato de metformina 500 mg comprimido revestido produzido pela Prati Donaduzzi Indústria Farmacêutica Ltda e o Referência Glifage® 500 mg comprimido revestido produzido por Merck S.A. em voluntários sadios de ambos os sexos**. Relatório analítico. Toledo-PR, jun. 2009.

BJERCKE, S.; DALE, P. O.; TAMBO, T.; STORENG, R.; ERTZEID, G.; ABYHOLM, T. Impact of insulin resistance on pregnancy complications and outcome in Women with polycystic ovary syndrome. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, Oslo, v.54, n.2, p.94-98, maio 2002.

BOUCHOUCHA, M.; UZZAN, B.; COHEN, R. Metformin and digestive disorders. **Diabetes & Metabolism**, Paris, v.37, n.2, p.90-96, jan. 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996. Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 out. 1996. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/196\\_96.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/196_96.htm)>. Acesso em: 18 set. 2011.

BRASIL. JUSBRASIL. Lei dos Genéricos - Lei n.º 9.787/99. Altera a Lei n.º 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 fev 1999. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/legislacao/110786/lei-dos-genericos-lei-9787-99#art0>>. Acesso em: 20 mar. 2011.

BRASIL. Resolução n.º 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jun. 2003. Seção 1. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899\\_03re.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm)>. Acesso em: 20 mar. 2011.

BUXTON, I. L. O. A ciência da farmacoterapia. In: **Goodman & Gilman**: as bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p.1-36.

CHENG, C. L.; YU, X. L.; LEE, H.; YANG, C.; LUE, C.; CHOU, C. Biowaiver extension potential to BCS Class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.22, n.4, p.297–304, maio 2004.

CLINIC TRIALS. **A service of the U.S. National Institutes of Health**. Registo em 3 de junho de 2011. Disponível em: <<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01366391?term=metformin+brazil&rank=29>>. Acesso em: 15 out. 2011.

CURI, D. D. G. **Comparação entre o tratamento com metformina e orientação dietética associada a exercícios físicos em mulheres com síndrome dos ovários policísticos**. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CUSSENS, A. J.; STUCKEY, B. G.; WATTS, G. F. Cardiovascular disease in the polycystic ovary syndrome: new insights and perspectives. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v.185, n.2, p.227-239, nov. 2005.

DAVIS, S. N. Insulina, agentes hipoglicemiantes orais e a farmacologia do pâncreas endócrino. In: **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p.1459-1488.

DIAMANTI, K. E.; CHRISTAKOU, C.; KANDARAKI, E.; ECONOMOU, F. N. Metformin: an old medication of new fashion: evolving new molecular mechanisms and clinical implications in polycystic ovary syndrome. **European Journal of Endocrinology**, Atenas, v.162, n.2, p.193-212, fev. 2010.

DOKRAS, A.; CLIFTON, S.; FUTTERWEIT, W.; WILD, R. Increased Risk for Abnormal Depression Scores in Women with Polycystic Ovary Syndrome. A Systematic Review and Meta-Analysis. **Obstetrics & Gynecology**, Hagerstown, v.117, n.1, p.145-152, jan. 2011.

EHRMANN, D. A. Polycystic ovary syndrome. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 352, n.12, p.1223-1236, mar. 2005.

EHRMANN, D. A.; LILJENQUIS, D. R.; KASZA, K.; AZZIZ, R.; LEGRO, R. S.; GHAZZI, M. N.; PCOS/TROGLITAZONE STUDY GROUP. Prevalence and Predictors of the Metabolic Syndrome in Women with Polycystic Ovary Syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v.9, n.1, p.48-53, jan. 2006.



FILHO, R. B.; DOMINGUES, L.; NAVES, L.; FERRAZ, E.; ALVES, A.; CASULARI, L. A. Polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia are distinct entities. **Gynecological Endocrinology**, Londres, v.23, n.5, p.267-272, jun. 2007.

FONSECA, A. M.; BAGNOLI, V. R.; ARIE, W. M. Y.; BAGNOLI, F.; SOUZA, M. A.; BARACAT, E. C. Tratamento hormonal do hirsutismo baseado em evidência. **Femina**, São Paulo, v.38, n.8, p.401-413, ago. 2010.

GLUECK, C. J.; PHILLIPS, H.; CAMERON, D.; SMITH, L. S.; WANG, P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. **Fertility and Sterility**, New York, v. 75, n.1, p.46-52, jan. 2001.

GLUECK, C. J.; PRANIKOFF, J.; AREGAWI, D.; WANG, P. Prevention of gestational diabetes by metformin plus diet in patients with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, New York, v.89, n.3, p.625-635, mar. 2008.

GRAHAM, G.; PUNT, J.; ARORA, M.; DAY, R. O.; DOOGUE, M. P.; DUONG, J. K.; FURLONG, T. J.; GREENFIELD, J. R.; GREENUP, L. C.; KIRKPATRICK, C. M.; RAY, J. E.; TIMMINS, P.; WILLIAMS, K. M. Clinical Pharmacokinetics of Metformin. **Clinical Pharmacokinetics**, Austrália, v.50, n.2, p.81-98, jan. 2011.

HOMBURG, R. Polycystic ovary syndrome. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, Israel, v.22, n.2, p.261-274, abr. 2008.

JAKUBOWICZ, D. J.; IUORNO, M. J.; JAKUBOWICZ, S.; ROBERTS, K. A.; NESTLER, J. E. Effects of Metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. **Jornal Clinical Endocrinology Metabolism**, Virginia, v.87, n.2, p.524-529, fev. 2002.

LABAUNE, J. P. Algumas particularidades farmacocinéticas. In: **Farmacocinética**. São Paulo: Andrei, 1993. p.56-58.

LEGRO, R. S.; CASTRACANE, V. D.; KAUFFMAN, R. P. Detecting Insulin Resistance in Polycystic Ovary Syndrome: Purposes and Pitfalls 2004. **Obstetrical & Gynecological Survey**, Baltimore, v.59, n.2, p.141-154, fev. 2004.

LEGRO, R. S.; KUNSELMAN, A. R.; DUNAIF, A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. **The American Journal of Medicine**, New York, v.111, n.8, p.607-613, dez. 2001.

LOBO, R.; CARMINA, E. The Importance of Diagnosing the Polycystic Ovary Syndrome. American College of Physicians. **American Society of Internal Medicine**, Filadelfia, v.132, n.12, p.989-993, jun. 2000.

LOPES, C. J. Antidiabéticos e Adoçantes. Manual de Teratogênese em Humanos. In: FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. **Manuais da FEBRASGO**. São Paulo, 2011. v.18. p.181-189. Disponível em: <<http://bvsmms.saude.gov.br/html/pt/home.html>>. Acesso em: 25 set. 2011.

LORD, J. M.; FLIGHT, I. H. K.; NORMAN, R. J. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. **BMJ.com**, Londres, v.327, n.25, p.1-6, out. 2003.

LORD, J.; THOMAS, R.; FOX, B.; ACHARYA, U.; WILKIN, T. The effect of metformin on fat distribution and the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome – a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Baltimore, v.113, n.7, p.817-824, maio 2006.

LUTJENS, A.; SMIT, J. L. Effect of biguanide treatment in obese children. **Helv Paediatr Acta**, Basel, v.31, n.6, p.473-480, abr. 1977.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, Oxford, v.28, n.7, p.412- 419, abr. 1985.

McDONALD, H. P.; GARG, A. X.; HAYNES, R. B. Interventions to Enhance Patient Adherence to medication Prescriptions. Scientific Review. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.288, n.22, p.2868-2879, dez. 2002.

MICROMEDEX. **Healthcare Series. P**. Disponível em: <[http://www.thomsonhc.com/hcs/librarian/ND\\_T/HCS/ND\\_PR/Main/CS](http://www.thomsonhc.com/hcs/librarian/ND_T/HCS/ND_PR/Main/CS)>. Acesso em: 25 out. 2010.

MOGHETTI, P.; CASTELLO, R.; NEGRI, C. TOSI, F.; PERRONE, F.; CAPUTTO, 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 Evaluatio. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Stanford, v.85, n.1, p.139-146, jan. 2000.

NESTLER, J. E. Metformin for the treatment of the polycystic ovary syndrome. **New England Journal of Medicine**, Inglaterra, v.358, n.1, p.47-54, jan. 2008.

NHLBI - NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE; NORTH AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF OBESITY; OBESITY EDUCATION INITIATIVE. **The Practical Guide**. Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. Out. 2000. Disponível em:<[www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity](http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity)>. Acesso em: 09 out. 2011.

OATES, J. A. A ciência da farmacoterapia. In: **Goodman & Gilman**: as bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p.107-125.

OLIVEIRA, E. P.; SOUZA, M. L. A.; LIMA, M. D. A. Índice HOMA (homeostasis model assessment) na prática clínica: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v.41, n.4, p.237-243, ago. 2005.

ORIO JR., F.; PALOMBA, S.; CASCELLA, T.; SIMONE, B.; MANGUSO, F.; SAVASTANO, S.; RUSSO, T.; TOLINO, A.; ZULLO, F.; LOMBARDI, G.; AZZIZ, R.; COLAO, A. Improvement in endothelial structure and function after metformin treatment in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome: results of a 6-month study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Stanford**, v.90, n.11, p.6072-6076, nov. 2005.

PALOMBA, S.; ORIO, F. J.; FALBO, A.; RUSSO, T.; TOLINO, A.; ZULLO, F. Clomiphene citrate, metformin or both as first-step approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review of head-to-head randomized controlled studies and meta-analysis. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Filadelfia v.92, n.9, p.3498-3503, set. 2007.

PALOMBA, S.; PASQUALI, R.; ORIO JR., F.; NESTLER, J. E. Clomiphene citrate, metformin or both as first-step approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review of head-to-head randomized controlled studies and meta-analysis. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v.70, n.2, p.311-321, maio 2009.

PAPUNEN, M. L.; VAUHKONEN, I.; KOIVUNEN, R. M.; RUOKONEN, A.; MARTIKAINEN, H. K.; TAPANAINEN, J. S. Endocrine and Metabolic Effects of Metformin Versus Ethinyl Estradiol-Cyproterone Acetate in Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Finlândia, v.85, n.9, p. 3161-3168, set. 2000.

QAISI, A. M.; TUTUNJI, M. F.; SAHOURI, C. A. Determination of metformina in human plasma using normal phase high performance liquid chromatography. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Riyadh, n.14, v.2, p.108-114, ago. 2006.

RAMALHO, A. C. R.; LIMA, M. L. Insulina e antidiabéticos orais. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.817-821.

REIS, R.M.; SILVA A.C.J.S.; NAVARRO P.A.A.S.; SA M.F.S.; E FERRIANI R.A.; Síndrome dos Ovarios Policisticos. In: FERRIANI R.A. **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. São Paulo. Conexão Brasil,2004, p. 27-48

ROTTERDAM ESHRE/ASRM. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and longterm health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS)-consensus workshop group. **Human Reproduction**, Rotterdam, v.19, n.1, p.41-47, abr. 2003.

ROWAN, J. A.; HAGUE, W. M.; GAO, W.; BATTIN, M. R.; MOORE, M. P.; MIG TRIAL INVESTIGATORS. Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes. **New England Journal Medicine**, Massachusetts, v.358, n.19, p.2003-2015, mar. 2008.

SAKATE, M. Relação dose-efeito. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.137-141.

SAMBOL, N. C.; BROOKES, L. G.; CHIANG, J.; GOODMAN, A. M.; LIN, E. T.; LIU, C. Y.; BENET, L. Z. Food intake and dosage level, but not tablet vs solution dosage form, affect absorption of Metformin HCl in man. **British Journal of Clinical Pharmacology**, Londres, v.42, n.4, p.510-512, 1996.

SILVA, A. A.; VERED, L.; KAPRIEL, D.; ROLA, S. Metformin Therapy in Obese Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome and Impaired Glucose Tolerance: Amelioration of Exaggerated Adrenal Response to Adrenocorticotropin with Reduction of Insulinemia/Insulin Resistance. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Filadelfia, v.87, n.4, p.1555-1559, abr. 2002.

SILVA, P. Metabolismo das drogas. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006a. p.73-82.

SILVA, P. Concentração plasmática das drogas. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006b. p.61-71.

SILVA, P. Biodisponibilidade das drogas. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006c. p.53-56.

SRINIVASAN, S.; AMBLER, G. R.; BAUR, L. A.; GARNETT, S. P.; TEPISA, M.; YAP, F.; GLENN, M. W.; COWELL, C. T. Randomized controlled trial of metformin for obesity and insulin resistance in children and adolescents - improvement in body composition and fasting insulin. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Filadelfia, v.91, n.6, p.2074- 2080, abr. 2006.

STORPIRTIS, S.; GAI, M. N.; CAMPOS, D. R.; GONÇALVES, J. E. Administração de medicamentos em doses múltiplas. In: \_\_\_\_\_. **Farmacocinética básica e aplicada**. São Paulo: Guanabara, 2011. p.98-130.

TARLATZIS, B.; FAUSER, B. C. M.; LEGRO, R. S.; NORMAN, R. J.; HOEGER, K.; PASQUALI, R.; FRANKS, R. *et al.* Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, New York, v.89, n.3, p.505-520, mar. 2008.

VELAZQUEZ, E. M.; MENDONZA S.; TRACY H.; SOSA F.; GLUECK C.J.; Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hyperandrogenemia, and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. **Metabolism**, Baltimore, v.43, n.5, p.647-654, maio 1994.

VERMEIRE, E.; HEARNshaw, H.; ROYEN, V.; DENEKENS, J. Patient adherence to treatment: three decades of research. A comprehensive review. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, Oxford, v.26, n.5, p.331-342, jan. 2001.

WANG, Y.; TANG, Y.; GU, J.; FAWCETT, J. P.; BAI, X. Rapid and sensitive liquid chromatography tandem mass spectrometric method for the quantitation of metformin in human plasma. **Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, Amsterdam, v.808, n.2, p.215-219, set. 2004.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. BMI classification. Disponível em: <[http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)>. Acesso em: 24 set. 2011.

WIERNSPERGER, N. F.; BAILEY, C. J.; The antihyperglycaemic effect of metformin: therapeutic and cellular mechanisms. **Drugs**, New York-USA, v.58 n.1, p.31-39, jan. 1999.

WILKINSON, G. R. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution and elimination. In: **Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Chicago, McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2001. p.3-29.

WYSOWSKI, D. K.; ARMSTRONG, G.; GOVERNALE, L. Rapid increase in the use of oral antidiabetic drugs in the United States, 1990-2001. **Diabetes Care**, Alexandria-USA, v.26, n.6, p.1852-1855, jun. 2003.

YILMAZ, M.; KARAKOC, A.; TÖRÜNER, F. B.; ÇAKIR, N.; TIRAS, B.; AYVAZ, G.; ARSLAN, M. The effects of rosiglitazone and metformin on menstrual cyclicity and hirsutism in polycystic ovary syndrome. **Gynecological Endocrinology**, Carnforth, v.21, n.3, p.154-60, jan. 2005.

ZHOU, G.; MYERS, R.; LI, Y. C.; SHEN, X.; FENYK-MELODY, J.; WU, M.; VENTRE, J.; DOEBBER, T.; FUJII, N.; MUSI, N. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. **The Journal of Clinical Investigation**, New Jersey, v.108, v.8, p.1167-1175, out. 2001.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE 1 - TERMO DE RECRUTAMENTO

Você está sendo convidado a participar de um processo de recrutamento de pacientes para pesquisa clínica. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos deste processo sejam esclarecidos.

O abaixo assinado, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário de um processo de recrutamento para um estudo controle terapêutico sob a responsabilidade da Dr.<sup>a</sup> Naura Tonin Angonese, CRM 12916, com o objetivo de realizar a MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA METFORMINA EM OVÁRIOS POLICÍSTICOS: COMPARAÇÃO ENTRE DOSE DE 1000MG E 1500MG DIA.

Está ciente que:

I - A sua participação neste processo de recrutamento tem como objetivo avaliar suas condições de saúde para possível participação em um projeto de pesquisa clínica.

II – Será submetido a avaliação médica. Caso clinicamente for compatível com Síndrome de Ovários Policísticos, no julgo médico, será submetida aos seguintes exames laboratoriais, por coleta sanguínea: FSH, LH, prolactina e testosterona sérica e sulfato de dehidroepiandrosterona. Será também submetida a exame de ecografia pélvica ou transvaginal.

Os exames serão custeados pelo pesquisador, não havendo custos diretos para sua realização. Não é de responsabilidade do pesquisador deslocamento, ou outros custos de manutenção da voluntária durante o recrutamento.

Após o resultado dos exames os mesmos serão disponibilizado para o voluntário, não sendo de responsabilidade do pesquisador tratar doenças não relacionado ao grupo de pesquisa.

III - Obteve todas as informações necessárias para decidir conscientemente sobre participação no referido processo.

IV - Tem a liberdade de desistir ou interromper a participação no processo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e que esta desistência não implicará em qualquer penalidade.

V - Os resultados obtidos durante o processo serão mantidos em sigilo. Você terá acesso e copia do resultado dos exames. Sua identidade será protegida através de código de identificação.



VI - Caso seja selecionado para participar do estudo, você fará uma nova entrevista antes do início do estudo onde será explicado detalhadamente todo o processo do estudo. Neste caso, você deverá assinar um outro termo denominado termo de consentimento livre e esclarecido antes da administração da medicação.

---

Assinatura do voluntário

---

Assinatura da pessoa responsável pelo atendimento

Toledo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## **APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado a participar de um Estudo para comparar o efeito terapêutico de duas doses diferente de Metformina em tratamento de Ovários Policísticos. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Cloridrato de Metformina é indicado no tratamento de diabetes e também de pacientes que apresentem múltiplos cisto ovarianos.

Atualmente se usa a Metformina na dose de 500mg a cada 8 horas e o objetivo do presente estudo e verificar se na dose de 1cp a cada 12 horas a medicação terá o mesmo efeito terapêutico para o tratamento de múltiplos cistos nos ovários;

### **1. OBJETIVOS DO ESTUDO**

Monitorar o efeito terapêutico da Metformina nas doses de 1500 e 1000mg/dia em pacientes com Síndrome de Ovários Policísticos.

### **2. PROCEDIMENTOS COM OS VOLUNTÁRIOS**

Você será submetido a um tratamento com Metformina por 3 meses na dose de 1500 ou 1000mg, que será escolhida a dose de forma aleatória. Antes do início do uso da medicação você passará por avaliação física e realizará exames de sangue e ecografia pélvica ou transvaginal.

Você será receberá a medicação e será orientado se irá usá-la no café da manhã, almoço e janta, ou se irá usar no café da manhã e janta.

No dia de iniciar o tratamento, você será submetido a 3 coletas de sangue: 1 hora antes do início do tratamento, 8 horas após a primeira dose e 1 hora antes da próxima dose do medicamento

A cada 15 dias, será agendado um retorno para nova coleta sanguínea.

Após o termino dos 3 meses novamente será realizado avaliação física, exames de sangue e de laboratório.

### **3. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

Durante o uso da Metformina pode-se sentir: ânsia de vomito, diarreia, dificuldade para fazer a digestão, gases intestinais, diminuição do apetite e perda de peso

Durante a realização do estudo você será submetido a vários exames e coletas sanguíneas. No local da coleta de sangue, pode aparecer uma mancha roxa após a retirada da agulha, mas em geral o próprio organismo elimina esta mancha.

Durante o estudo você realizará ecografia transvaginal, o que poderá provocar desconforto ou constrangimento.

Se os desconfortos forem persistente você será novamente avaliado pelo médico.

### **4. BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES**

A sua participação neste estudo visa tratar por 3 meses a Síndrome de ovários policísticos, sendo que a resposta terapêutica é individualizada e não é assegurada a melhora clínica desejada.

### **5. FORMA DE ASSISTÊNCIA**

Você estará sob supervisão de uma equipe incluindo, médico, enfermeira, farmacêutico e técnico de enfermagem durante todo o período do estudo.

### **6. PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador ou a um membro da equipe, sem necessidade de qualquer explicação.

É importante que você obtenha todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido estudo.

Independente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo poderá ser interrompida, em função: da ocorrência de eventos adversos; da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo; do não cumprimento das normas estabelecidas ou de qualquer outro motivo que, a critério médico, seja de interesse de seu próprio bem estar ou dos demais participantes e da suspensão do estudo como um todo.

Você será informado sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo, e será prestado qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

## 7. GARANTIA DE SIGILO E PRIVACIDADE

Os registros que possam lhe identificar serão mantidos em sigilo, sendo a divulgação da presente pesquisa, restrita ao dados dela coletado, e conclusões, mantendo a privacidade, ética e sigilo quando a identidade dos participantes.

Eu declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após, tive nova oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo e sobre o estudo recebendo explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidido a participar do Estudo.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu também estou certificando que toda informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Ao assinar este Termo de Consentimento estou autorizando o acesso às minhas informações, conforme explicitado anteriormente.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter participando deste Estudo.

O abaixo-assinado, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG n.º \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário nesta pesquisa, de responsabilidade da Dra Naura Tonin Angonese;

CONTROLE INTERNO		N.º do Voluntário _____			
NOME		DATA		Assinatura	
TESTEMUNHA		DATA		Assinatura	
MÉDICO		DATA		Assinatura	

**Obs. Favor rubricar todas as paginas do TCLE.**

**TELEFONES PARA CONTATO**

**Investigadora Responsável: Dr.ª Naura Tonin Angonese: (45) 8805 53 21**

**Clinica Plena 3055-2969**

**Hospital HCO: (45) 3379-7700**

**CEP/UFPR:**