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

DANIELA MIARELLI CARVALHO

**Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da
fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes
mellitus gestacional**

**Ribeirão Preto
2019**

DANIELA MIARELLI CARVALHO

**Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da
fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes
mellitus gestacional**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia –
Biologia da Reprodução

Orientadora: Profa Dra Elaine Christine Dantas Moisés

Ribeirão Preto
2019

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

Carvalho, Daniela Miarelli

Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional

125 p.: il; 30 cm.

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

Orientador: Moisés, Elaine Christine Dantas.

Palavras chave: 1. Fluoxetina 2. Norfluoxetina 3. Enantiômeros 4. Farmacocinética 5. Gestação 6. Transferência placentária 7. Diabetes mellitus gestacional

FOLHA DE APROVAÇÃO

Daniela Miarelli Carvalho

Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional

Dissertação de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Ginecologia e Obstetrícia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico aos meus pais, pelo apoio e incentivo constante de sempre ir atrás da minha realização profissional.

Aos meus sempre especiais irmãos por acreditarem em mim e estarem sempre ao meu lado.

A minha orientadora, Profa Dra Elaine Christine Dantas Moisés, pela oportunidade desta realização, pela paciência, compreensão e aprendizado.

Agradecimento Especial

À Prof. Dra. Vera Lucia Lanchote, pela colaboração, pela disponibilidade e pela oportunidade de aprendizado.

Ao meu amigo e colega de pós graduação Glauco, sempre disponível para colaborar e compartilhar todo seu conhecimento, um obrigado mais que especial!!

AGRADECIMENTOS.

Aos funcionários da Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto pelo comprometimento e competência com as pacientes.

As pacientes que participaram desta pesquisa, pela confiança e amizade, tenho enorme carinho por cada uma de vocês.

A Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FAEPA) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

CARVALHO, DM. **Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional.**

2019 125 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A prevalência global de diabetes mellitus gestacional (DMG) é de 16% aproximadamente. O diagnóstico ocorre entre 24 e 28 semanas de gestação, causada por algum grau de intolerância à glicose, a maioria destes casos se resolve após o parto. Gestantes portadoras de DMG podem ser de 2 a 4 vezes mais suscetíveis a depressão ante e pós-parto. Fluoxetina é o medicamento da classe dos inibidores seletivos de receptação da serotonina mais prescrito para tratamento da depressão em gestantes.

Avaliar a influência do DMG sobre a farmacocinética e o metabolismo enantiosseletivo da fluoxetina em gestantes portadoras de DMG.

Foram avaliadas dez gestantes portadoras de DMG. Todas receberam dose única de 20 mg de fluoxetina via oral em duas ocasiões distintas. Após a administração do fármaco na primeira ocasião foram coletadas amostras seriadas de 10 mL de sangue materno para avaliação da concentração dos enantiômeros da fluoxetina nos tempos de zero, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 168, 336, 504 e 672 horas. No dia do parto, após receber a medicação, foram coletadas amostra sanguíneas materna no momento do nascimento, sangue de vasos umbilicais e espaço intervilo, para avaliação de transferência placentária do fármaco.

Os dados apresentados são a comparação de dez gestantes com diagnóstico de DMG e dez controles. As medianas dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros (R)-(-)- e (S)-(+)-fluoxetina do grupo controle foram, respectivamente: $AUC^{0-\infty}$ 180,94 vs 96,22 ng.h/mL e dos enantiômeros (R)-(-)- e (S)-(+)-fluoxetina do grupo DMG: $AUC^{0-6\infty}$ 197,93 vs 109,62. As medianas dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros (R)-(-)- e (S)-(+)-norfluoxetina do grupo controle foram, respectivamente: $AUC^{0-\infty}$ 943,70 vs 500,33 ng.h/mL e dos enantiômeros (R)-(-)- e (S)-(+)-norfluoxetina do grupo DMG: $AUC^{0-\infty}$ 600,39 vs 96,83 ng.h/mL.

As medianas das relações entre os compartimentos maternos e fetais para os enantiômeros (R)-(-) e (S)-(+)-fluoxetina do grupo controle foram, respectivamente: relação espaço intervilo/materna 1,28 vs 1,30; relação veia umbilical/espaço intervilo 0,27 vs 0,39 e do grupo DMG foram: relação espaço intervilo/materna 0,84 vs 0,80; relação espaço intervilo/materna 0,33 vs 0,47 respectivamente.

Foi observada diferença estatística na transferência placentária do enantiômero (R)-(-)-norfluoxetina em ambos os grupos analisados, nas relações espaço intervilo/materna e veia umbilical/espaço intervilo.

Palavras-chave: fluoxetina, norfluoxetina, enantiômeros, farmacocinética, gestação, transferência placentária, diabetes melitus gestacional.

ABSTRACT

CARVALHO, DM. **Pharmacokinetic study and analysis of the transplacental distribution of fluoxetine and its metabolite in pregnant women with gestational diabetes mellitus.** 2019 125 f. Thesis (Ph.D.) - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Overall prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) is approximately 16%. Diagnosis occurs between 24 and 28 weeks of gestation, caused by some degree of glucose intolerance, most of these cases resolve after delivery. Pregnant women with GDM can be 2 to 4 times more susceptible to antepartum and postpartum depression. Fluoxetine is the medicine of the SSRI class most prescribed for the treatment of depression in pregnant women.

Evaluate the influence of GDM on the pharmacokinetics and enantioselective metabolism of fluoxetine in pregnant women with GDM.

Ten pregnant women carrying with GDM were evaluated. All patients received a single oral 20 mg fluoxetine dose on two separate occasions. After the administration of the drug on the first occasion, serial samples of 10 mL of maternal blood were collected to evaluate the concentration of the enantiomers of fluoxetine at times of zero, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 168, 336, 504 and 672 hours. On the day of delivery, after receiving the medication, maternal blood samples were collected at the time of birth, umbilical blood vessels and intervillous space e for evaluation of placental transfer of the drug.

The data presented are the comparison ten pregnant women without and ten pregnant women with GDM. Median the pharmacokinetic parameters the (R)-(-)- and (S)-(+)-fluoxetine enantiomers the control group were, respectively: $AUC^{0-\infty}$ 180.94 vs 96.22 ng.h/ml and (R)-(-) enantiomers and (S)-(+)-fluoxetine from the GDM group: $AUC^{0-\infty}$ 197.93 vs 109,62. Median of the pharmacokinetic parameters the (R)-(-)- and (S)-(+)-norfluoxetine enantiomers the control group were: $AUC^{0-\infty}$ 943.70 vs 500.33 ng.h mL and (R)-(-) and (S)-(+)-norfluoxetine from the GDM group: $AUC^{0-\infty}$ 600.39 vs 96.83 ng.h / ml.

Medians maternal and fetal compartments the (R)-(-) and (S)-(+)-fluoxetine enantiomers the control group were, respectively: intervillous / maternal space ratio 1.28 vs 1.30; umbilical vein / intervillous space ratio 0.27 vs 0.39 and the GDM group were: intervillous / maternal space ratio 0.84 vs 0.80; umbilical vein / intervillous space ratio 0.33 vs 0.47 respectively.

Statistical difference was observed the placental transfer the enantiomer (R)-(-)-norfluoxetine in both groups analyzed the intervillous space/ maternal and umbilical vein / intervillous space relations.

Keywords: fluoxetine, norfluoxetine, enantiomers, pharmacokinetics, pregnancy, placental transfer, gestational diabetes mellitus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas dos enantiômeros (S)-(+), (R)-(-)-fluoxetina e (S)-(+), (R)-(-)-norfluoxetina. *Centro Quiral (adaptado de Bueno J.S. et al. 2011)(29)..... 28

Figura 2. Cálculo amostral do “Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes mellitus gestacional”..... 38

Figura 3: Curva de concentração plasmática versus tempo dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina das gestantes do grupo controle (à direita) e do grupo DMG (à esquerda). Os dados estão apresentados como mediana e intervalo interquartil. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetina, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetina, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetina, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetina..... 50

Figura 4: Box-plot da AUC, C_{max}, CL, V_d da (R)-(-)-Fluoxetina: (R)-(-)-FLX, (R)-(-)-Norfluoxetina: (R)-(-)-NorFLX, (S)-(+)-Fluoxetina: (S)-(+)-FLX, (S)-(+)-Norfluoxetina: (S)-(+)-NorFLX. Valores de p obtidos por “Kruskal-Wallis rank-sum” e ajuste post-hoc com dunn-bonferroni..... 52

Figura 5: Box-plot das razões de concentrações fetal-materno entre os grupos controle e DMG. Os dados estão apresentados como: mediana e intervalo interquartil. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros empregados para análise de farmacocinética. _____	43
Tabela 2: Comparação dos dados clínicos das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG) _____	46
Tabela 3: Comparação dos dados laboratoriais das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG). _____	47
Tabela 4: Comparação dos dados dos neonatos filhos de mulheres saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG). _____	48
Tabela 5: Comparação dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina (FLX) e norfluoxetina (NorFLX) das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG). após dose única oral de fluoxetina 20 mg. _____	51
Tabela 6: Comparação das razões de transferência placentária dos enantiômeros da fluoxetina (FLX) e norfluoxetina (NorFLX) das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG) após dose única oral de fluoxetina 20 mg. _____	54

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Aprovação do departamento de ginecologia e obstetrícia _____ 73

ANEXO B – Aprovação do comitê de ética e pesquisa _____ 74

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido	76
APÊNDICE B – Características individuais das gestantes investigadas.	78
APÊNDICE C – Parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados para a avaliação da normalidade dos sistemas/órgãos hematológico, renal, hepático e endócrino.	79
APÊNDICE D – Características dos recém-nascidos das gestantes investigadas.	81
APÊNDICE E – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Fluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.	82
APÊNDICE F – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Fluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.	83
APÊNDICE G – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.	84
APÊNDICE H – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.	85
APÊNDICE I – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Fluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.	85
APÊNDICE J – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Fluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.	87
APÊNDICE K – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.	88
APÊNDICE L – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.	89
APÊNDICE M – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.	89
APÊNDICE N – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.	92

APÊNDICE O – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	94
APÊNDICE P – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	95
APÊNDICE Q – Gráficos individuais das concentrações versus o tempo para (S)-(+)-FLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	96
APÊNDICE R – Gráficos individuais das concentrações versus o tempo para (R)-(-)-FLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	97
APÊNDICE S : Gráficos individuais das concentrações versus o tempo para (S)-(+)-NorFLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	98
APÊNDICE T : Gráficos individuais das concentrações versus o tempo para (R)-(-)-NorFLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica. _____	99
APÊNDICE U : – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto. _____	100
APÊNDICE V – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto. _____	101
APÊNDICE W – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto. _____	102
APÊNDICE X – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto. _____	103
APÊNDICE Y – Artigo Original _____	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEP: Comitê de ética em pesquisa

CYP: Citocromo P450

DGO: Departamento de ginecologia e obstetrícia

EPR: Erro padrão relativo

F/M: Relação Feto/Materna

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

FLX: fluoxetina

NorFLX: norfluoxetina

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

HDL: Lipoproteína de alta densidade

HMOs: Oligossacarídeos do leite humano

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência

IC 95%: Intervalo de confiança 95%

IMC: Índice de massa corporal

ISR: Inibidores seletivos de recaptção

ISRS: Inibidores seletivos de receptação da serotonina

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

MAO: Monoaminoxidase

MRM: Monitoramento de reações múltiplas

MS/MS: Espectrometria de massas

P-gp: Glicoproteína-P

SNC: Sistema nervoso central

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

UPC: Unidade de pesquisa clínica

v/v: volume/volume

LISTA DE SÍMBOLOS

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

Cl creatinina: *Clearance* de creatinina

Cl/f: *Clearance* total aparente

C_{max}: Concentração plasmática máxima

K_{el}: Constante de velocidade de eliminação

K_a: Constante absorção

t_½: Meia-vida de eliminação

α: constante de velocidade de absorção

β: constante de velocidade de eliminação rápida

T_{max}: Tempo para alcançar Concentração plasmática máxima

Vd/f: Volume de distribuição aparente

®: Marca registrada

™: Trademark

5-HT: 5-hidroxitriptamina, Serotonina

(R)-(-): Enantiômero (R)-(-)

(S)-(+): Enantiômero (S)-(+)

[M + H]⁺: íons protonados

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. Introdução	22
1.1 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL	23
1.1.1 Prevalência	23
1.1.2 Fisiopatologia	23
1.1.3 Diagnóstico	24
1.2 DEPRESSÃO E DIABETES MELLITUS GESTACIONAL	24
1.2.1 Caracterização e bioquímica da depressão	24
1.2.2 Prevalência e associação com DMG	26
1.2.3 Tratamento medicamentoso na gestação	27
1.3 FLUOXETINA	27
1.3.1 Caracterização farmacológica	27
1.3.2 Enantiosseletividade da fluoxetina	28
1.3.3 Metabolismo da fluoxetina	28
1.3.4 Farmacocinética e Farmacodinâmica da fluoxetina e norfluoxetina	29
1.3.5 Farmacocinética de drogas na gestação	30
1.4 TRANSFERÊNCIA PLACENTÁRIA	31
2. Justificativa	32
3. Objetivos	34
3.1 GERAL	35
3.2 ESPECÍFICOS	35
4. Casuísticas e Métodos	36
4.1 CASUÍSTICA	37
4.1.1 Aspectos éticos do projeto	37
4.1.2 Seleção de pacientes	37
4.1.3 Cálculo amostral	37
4.1.4 Critérios	38
4.1.4.1 Critérios de inclusão	38
4.1.4.2 Critérios de exclusão	38
4.1.4.3 Critério de descontinuidade	38
4.1.5 Tipo de estudo	38
4.2 MÉTODO	39
4.2.1. Dados epidemiológicos	39
4.2.2 Coleta de amostras biológicas	40
4.2.3 Sistema de coleta do sangue materno, sangue em vasos umbilicais e espaço interviloso	41
4.2.4 Método de análise para determinação dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina em plasma	41
4.2.4.1 Reagentes	41
4.2.4.2 Solução padrão	41
4.2.4.3 Análise cromatográfica	42
4.2.4.4 Preparo das amostras (Plasma)	42

4.2.4 Análise farmacocinética e estatística	43
4.2.4.1 Análise farmacocinética	43
4.2.4.2 Análise estatística	44
5. Resultados	45
5.1 CARACTERÍSTICAS MATERNAS E DOS NEONATOS	46
5.2 FARMACOCINÉTICA DA FLUOXETINA E NORFLUOXETINA	48
5.3 TRANSFÊRENCIA PLACENTÁRIA ENANTIÔMEROS DA FLX E NORFLX	53
6. Discussão	56
6.1 CARACTERÍSTICAS DA CASUÍSTICA	57
6.2 FARMACOCINÉTICA DOS ENANTIÔMEROS DA FLU E NORFLU	58
6.3 ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS DIFERENTES COMPARTIMENTOS MATERNOS E FETAIS DOS ENANTIÔMEROS DA FLX E NORFLX	60
7. Conclusões	62
Anexos	72
Apêndices	75

1.1 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

1.1.1 Prevalência

A prevalência global de diabetes mellitus gestacional (DMG) é de 16% aproximadamente (PACE et al., 2018; WOODY et al., 2017). DMG tem uma prevalência em ascensão paralela ao Diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), podendo chegar até 25% das gestações dependendo do critério diagnóstico e da etnia (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019). Geralmente o DMG se resolve após o nascimento da criança, embora ainda tenha riscos para mãe. Pelo menos até 40% das gestantes portadoras de DMG são diagnosticadas pré-diabéticas no início pós-parto (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019; BENHALIMA et al., 2016; GILBERT et al., 2019).

DMG tem sido considerado o problema metabólico mais comum durante a gestação (GILBERT et al., 2019).

1.1.2 Fisiopatologia

O aumento dos hormônios reguladores da insulina como o lactogênico placentário, cortisol, estrógeno, progesterona e prolactina explicam a fisiopatologia do DMG. Podem ser causados pelo estresse fisiológico, ocorrido normalmente pela própria gestação e outros fatores genéticos ou ambientais (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019; BRASIL, 2012). Eventos estressantes neste período podem estar associados com altos níveis de cortisol, outro fator que atua diretamente no aumento da glicose, assim como sintomas depressivos também podem estar ligados ao desenvolvimento da DMG (GILBERT et al., 2019; HINKLE et al., 2016).

Existem alguns fatores de risco para DMG, entre os mais comuns estão; sobrepeso, gestação acima de 35 anos, ganho excessivo de peso durante a gestação, excesso de gordura corporal, histórico familiar, crescimento excessivo do feto, ovário policístico, baixa estatura (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019).

Ganho excessivo de peso é muito frequente durante a gestação, está diretamente relacionado a DMG e isso se deve principalmente ao estilo de vida da gestante, alto consumo de gordura, especialmente a saturada, trans e colesterol, fatores que corroboram para desenvolvimento desta doença, reforçando ainda mais o risco de uma evolução para DM2 (GILBERT et al., 2019; HORSCH et al., 2018). Alta ingestão de açúcar, baixa ingestão de frutas e vegetais, estão diretamente ligados ao aumento da glicose (GILBERT et al., 2019). Atividade física é importante na prevenção do DMG, diminui a resistência a insulina, consequentemente reduz o risco de DM2. O stress também tem um papel importante para o desenvolvimento de DMG, através do aumento da glicose (GILBERT et al., 2019; HORSCH et al., 2016).

Todos estes fatores podem ser controlados com uma dieta saudável ou atividade física, resultado melhor ainda se pudermos associar os dois, como tratamento ou prevenção (GILBERT et al., 2019).

1.1.3 Diagnóstico

O diagnóstico ocorre entre 24 e 28 semanas de gestação, causada por algum grau de intolerância à glicose, a maioria destes casos se resolve após o parto.

Existe uma chance de 70% de recorrência da doença dessas pacientes diagnosticadas com DMG e o risco maior é que esta evolua para diabetes mellitus tipo 2 com risco aumentado para desenvolver doenças cardiovasculares (GILBERT et al., 2019; HORSCH et al., 2018).

Na primeira consulta do pré-natal é solicitada a glicemia de jejum, sendo o resultado ≥ 126 mg/dl, a paciente está pré-diabética, segue para uma segunda glicemia de jejum, se o resultado for > 92 mg/dl e ≤ 126 mg/dl o diagnóstico é que esta gestante é portadora de DMG, se for < 92 mg/dl, a paciente deve ser reavaliada no segundo trimestre de gestação (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019).

A DMG pode ter um impacto negativo na vida desta mãe e de seu filho, deixando claro a necessidade de mudar o estilo de vida, que se apresenta como fator de risco, dieta, atividade física e bem-estar social (GILBERT et al., 2019; HORSCH et al., 2018).

Estudos apontam que crianças abaixo de 2 anos de idade, filhos de mães portadoras de DMG podem ter problemas de comportamental e emocional, pelo menos 20% são afetadas, podendo até desenvolver psicopatologias na idade escolar (KRZECZKOWSKI et al., 2019). As mediações neuronais se desenvolvem durante o pré-natal e a exposição do feto a doença materna DMG, aumentam os riscos de desordens psiquiátricas na vida de seu filho (KRZECZKOWSKI et al., 2019).

Existem fatores associados ao desenvolvimento ou agravamento do DMG, como por exemplo para uma depressão, ante ou pós-parto, o índice aponta que 12% destas gestantes apresentam depressão (PACE et al., 2018; WOODY et al., 2017).

1.2 DEPRESSÃO E DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

1.2.1 Caracterização e bioquímica da depressão

Serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), é uma indolamina, produto da hidroxilação e carboxilação do aminoácido L-triptofano pela enzima triptofano hidroxilase, sendo quimicamente designada como: L-Triptofano-L-5OH Triptofano-5-OH Triptamina (LAZAROU; POMERANZ; COREY, 1998).

Depois de ser sintetizada a partir do triptofano, fica armazenada dentro de vesículas para ser liberada na fenda sináptica quando ocorrer um estímulo deste neurônio. O transportador 5-HT está localizado na porção terminal do axônio e no corpo do neurônio serotoninérgico, havendo vários subtipos, com destaque para o envolvimento do 5-HT_{1A} na fisiopatologia de transtornos da ansiedade (GROSS; HEN, 2004; SPINDELEGGGER et al., 2009a).

Quando a serotonina é liberada de seus terminais na fenda sináptica, se liga aos seus receptores localizados tanto na fibra pré quanto na pós-sináptica. Os principais circuitos que este transmissor são: ativação dos receptores pós-sinápticos resultando na transdução do sinal estimulatório do neurônio sequencial; Ligação aos receptores pré-sinápticos do neurônio, a partir do qual foi liberada, fornecendo feedback e regulando a plasticidade do mesmo; Recaptação para dentro do neurônio pré-sináptico através de seu transportador, sendo então reciclada, retornando a célula à sua condição de descanso, para futuramente ser novamente liberada ou decomposta pela monoaminoxidase e excretada na urina. Utilizando-se deste mecanismo, evita-se a superestimulação dos receptores.

Essa proteína age como inibidor e modulador na conduta geral e psíquica do ser humano, influenciando quase todas as funções cerebrais por inibir ou estimular o sistema gaba (GILMAN, 2005). É considerado um neurotransmissor do sistema nervoso central (SNC). Atua na regulação fisiológica de diferentes funções do corpo humano, alterando o sono, o apetite, o humor, o comportamento sexual e também ajudando a controlar os músculos lisos do coração e da via gastrointestinal (SAHU; WANG; LEE, 2009). Portanto, falhas nestas etapas de produção, liberação e/ou ação de serotonina, através de seus receptores, podem desencadear distúrbios relacionados com o humor. Essa hipótese ainda é exaustivamente estudada. Outros estudos apontam a inflamassoma NLRP3 com um fundamental desempenho na fisiopatologia da depressão, sendo encontrada ativa em pacientes com depressão (DU et al., 2016b).

Depressão em mulheres está associada aos hormônios reprodutivos, dados que explicam o índice ser mais alto em mães jovens (PACE et al., 2018), aumentando consideravelmente o risco de depressão pós-parto (DPP), alguns dos sintomas mais comuns são: mau humor, perda de apetite, dificuldade para dormir, podem ocorrer outros (PACE et al., 2018).

Senão tratada pode levar a outras doenças como ansiedade, sintomas obsessivos compulsivos, conduzindo ao agravamento do quadro (MAK et al., 2018a), podendo afetar o relacionamento mãe-filho e até prejudicar o aleitamento materno. Essas crianças podem também apresentar vários problemas de desenvolvimento cognitivo, comportamentais e físicos (MAK et al., 2018b).

Depressão pós-parto pode ocorrer devido a vários fatores, entre eles destacamos o aumento da ingestão de comida e a falta de atividade física (GILBERT et al., 2019; STAIANO et al., 2016). Fatores biológicos também corroboram com essa associação, como a hiperatividade do sistema nervoso e hipotalâmico, processos inflamatórios, fatores externos, hábitos alimentares não saudáveis, obesidade, situação socioeconômica, estresse crônico, relacionamentos difíceis, gravidez indesejada, parceiros não ideais (PACE et al., 2018).

1.2.2 Prevalência e associação com DMG

Recente estudo, relata que até 2020 a depressão será a segunda maior causa de doenças e a mais frequente em gestantes (GAO et al., 2017a). Gestação é um período no qual as mulheres estão mais suscetíveis a desenvolver depressão (YOUN et al., 2017a). O índice de depressão pós parto é de 10-15%, segundo estudos realizados recentemente (FISHER et al., 2016a), podendo chegar até 33% dependendo dos lugares pesquisados, das culturas e dos critérios diagnósticos (SPINDELEGGGER et al., 2009a; YOUN et al., 2017a).

A depressão quando não tratada acarreta vários efeitos adversos para a mãe e a criança, entre os mais comuns estão, aborto espontâneo, prematuridade, baixo apgar, atraso no desenvolvimento, baixo peso ao nascer (GAO et al., 2017a).

O índice de gestantes portadoras de DMG é por volta de 12%, fator que pode causar riscos de problemas adversos à saúde desta gestante, como por exemplo, ansiedade, fator que piora a qualidade de vida desta paciente e corrobora para o desenvolvimento da depressão (SCHMIDT et al., 2019).

A relação entre DMG e depressão ainda não estão claras, no entanto, um estilo de vida com estresse alto pode ser considerado um fator de risco para o desenvolvimento da depressão, pré ou pós parto. Sabe-se que mais de 15% das gestantes portadoras de DMG, desenvolve depressão (ARAFA; DONG, 2019).

Estudos afirmam que depressão e diabetes estão associadas e sugerem que o contrario pode ocorrer (PACE et al., 2018). Porém a relação entre DMG e depressão não tem sido estudada afundo, portanto, essa associação não esta clara, mas sabe-se que o risco desta gestante desenvolver depressão pós parto é elevada (PACE et al., 2018).

DMG tem sido associada com redução de atividades psicossociais das gestantes, sendo assim estas pacientes podem ser de 2 a 4 vezes mais suscetíveis a depressão ante e pós-parto. Cerca de um terço dessas gestantes portadoras de DMG tem sido diagnosticada com depressão (GILBERT et al., 2019).

A sociedade Americana de Diabetes recomenda triar as gestantes portadoras de DMG para uma possível depressão, afim de ações intervencionistas preventivas durante a gestação (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019; PACE et al., 2018).

1.2.3 Tratamento medicamentoso na gestação

O uso de antidepressivos na gestação é de aproximadamente 3,9-12,8% (KOREN; ORNOY, 2018b; MAK et al., 2018a), outros estudos apontam que esse índice pode chegar a 23% (WESTIN et al., 2017a).

Estudos recentes realizados nos Estados Unidos da América apontam que aproximadamente 3,4% das gestantes diagnosticadas com depressão são tratadas com os inibidores seletivos de receptação da serotonina (ISRS), classe de antidepressivos mais prescrita para tratamento durante a gestação, esse índice deixa claro que nem todas as gestantes diagnosticadas são tratadas farmacologicamente (KOREN; ORNOY, 2018b).

1.3 FLUOXETINA

Fluoxetina é o medicamento da classe dos ISRS mais prescrito para tratamento da depressão em gestantes, por ser considerado seguro e eficaz para as gestantes depressivas, devendo-se avaliar o risco benefício dessa prescrição no primeiro trimestre de gestação, o médico deve ser cauteloso ao prescrever (DU et al., 2016b; GAO et al., 2017a).

1.3.1 Caracterização farmacológica

A fluoxetina é um antidepressivo do tipo amina, quimicamente designado como N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)phenoxy]propano-1-amina, cuja fórmula molecular é $C_{17}H_{18}F_3NO$, que foi lançado em 1980 (PUBCHEM, 2005a). Na forma de Fluoxetina hidrocloreto é designado como N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)phenoxy]propano-1-amina hidrocloreto, cuja fórmula molecular é $C_{17}H_{19}ClF_3NO$ (PUBCHEM, 2005b).

Figura 1: Estruturas químicas dos enantiômeros (S)-(+), (R)-(-)-fluoxetina e (S)-(+), (R)-(-)-norfluoxetina. *Centro Quiral (adaptado de Bueno J.S. et al. 2011)(BUENO; SILVA; QUEIROZ, 2011)

Por sua característica altamente seletiva para inibição de recaptação de 5-HT, aumentando a atividade da serotonina no cérebro, deu origem a uma nova classe terapêutica chamada inibidores seletivos de receptação da serotonina (ISRS) de baixa toxicidade (HIEMKE; HÄRTTER, 2000; SOMMI; CRISMON; BOWDEN, [s.d.]). Oferece maior segurança na prescrição de medicamento para depressão na população em geral e em gestantes em decorrência de sua maior eficácia, menor taxa de efeitos adversos e margem de segurança maior, em comparação às classes de antidepressivos tricíclicos e inibidores de monoaminoxidase (NONACS; COHEN, 2002).

1.3.2 Enantiosseletividade da fluoxetina

A mistura de dois enantiômeros é denominada mistura racêmica. Os enantiômeros são designados como S e R de uma droga quiral, sendo um (+) e outro (-). A fluoxetina atua terapeuticamente como racemato, sendo constituída por enantiômeros S e R. Os dois enantiômeros da fluoxetina apresentam potência semelhante no bloqueio de recaptação da serotonina, porém ou são metabolizados pelas mesmas enzimas em diferentes velocidades ou por enzimas diferentes (DEVANE, 1999a; DEVANE; BOULTON, 2002; MCCONATHY; OWENS, 2003). Observa-se que o (S)-(+)-NorFLX do seu metabólito ativo norfluoxetina (NorFLX) é 20 vezes mais potente que o (R)-(-)-enantiômero, tanto *in vitro* como *in vivo* (FULLER et al., 1992; WONG; FULLER; ROBERTSON, 1990).

Neste contexto, considera-se que diferentes respostas clínicas podem estar relacionadas a diferenças na concentração e ação individual de cada enantiômero tanto da FLX quanto da NorFLX (EAP et al., 2001a; MARGOLIS et al., 2000; RING et al., 2001b).

1.3.3 Metabolismo da fluoxetina

Enzimas que metabolizam os fármacos são encontradas no fígado, trato gastrointestinal, pulmões e rins. Essas isoenzimas são chamadas de CYP do citocromo P450, são divididas em três famílias principais (CYP1, CYP2 e CYP3), sendo estas específicas envolvidas no metabolismo hepático da maioria dos medicamentos.

O composto original da fluoxetina (FLX) sofre *N*-desmetilação, produzindo o metabólito ativo norfluoxetina (NorFLX), prolongando sua ação biológica (ALTAMURA; MORO; PERCUDANI, 1994a; DEVANE, 1999a; FULLER et al., 1992).

Este composto é uma mistura racêmica de S e R isômeros (50:50), sendo os isômeros (S)-(+)-FLX, (R)-(-)-FLX e (S)-(+)-NorFLX os agrupamentos que mais contribuem para a potência clínica da fluoxetina (FULLER et al., 1992; HENRY et al., 2005; WONG et al., 1993). Avaliando-se separadamente as vias metabólicas dos isômeros, ressalta-se que os (S)-(+)-

isômeros são metabolizados pelo CYP 2D6 (EAP et al., 2001b; FJORDSIDE et al., 1999; RING et al., 2001a) e os (R)-(-)-isômeros pelos 2D6 e 2C9 (SCORDO et al., 2005). Durante a gestação, o principal CYP2D6, responsável por metabolizar a fluoxetina, encontra-se induzido. (TASNIF; MORADO; HEBERT, 2016)

A FLX é altamente metabolizada, sendo 75% excretada na urina e 10% nas fezes, em um período de 30 dias. Cerca de 11% de fluoxetina¹⁴C foi eliminada em sua forma inalterada, 7% como norfluoxetina e 7 e 8% foi eliminada na forma conjugada de FLX e NorFLX, respectivamente mais que 20% foram excretadas como ácido hipúrico. Extrapolando o período de tempo observado até o infinito, sugere-se que 95% da dose administrada seguem estas vias de metabolização e eliminação (BERGSTROM ET AL, 1988; DEVANE, 1999a).

1.3.4 Farmacocinética e Farmacodinâmica da fluoxetina e norfluoxetina

A Fluoxetina por via oral é bem absorvida quando administrada em jejum. Na presença de alimentos diminui a taxa, mas não a extensão da absorção (ALTAMURA; MORO; PERCUDANI, 1994a; BERGSTROM ET AL, 1988; DEVANE, 1999a). Bergstrom et al. (1988b)(BERGSTROM ET AL, 1988) administrou, em voluntários sadios, cápsula e solução oral de fluoxetina, ambos em dose única e não encontrou diferenças nas áreas sob as curvas de concentração plasmática *versus* tempo (AUC), concentração plasmática máxima (C_{max}) e tempo da concentração máxima (T_{max}) entre as duas formulações. Durante a gestação ocorrem várias mudanças no organismo materno, uma delas pode estar relacionada com a absorção de fármacos administrados neste período. Fármacos administrados por via oral, metabolizados no intestino, que tem sua motilidade alterada na gestação, pode afetar a biodisponibilidade oral (TASNIF; MORADO; HEBERT, 2016)

Entretanto a FLX possui uma alta biodisponibilidade.

O contrário foi observado em estudos com ratos e cachorros, em que a biodisponibilidade foi de 38% (CACCIA et al., 1990) e 72% (BERGSTROM ET AL, 1988), respectivamente. Em humanos não gestantes, o pico da concentração máxima plasmática (C_{max}) de 15 a 55 ng/mL ocorre entre 6 a 8 horas após administração de dose única de 40 mg de FLX (DEVANE, 1999a), estando 94,5% da concentração biodisponível ligada às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina e α -1-glicoproteína ácida (MÅRTENSSON et al., 1989a). O composto original FLX atinge a concentração do estado de equilíbrio entre 23 dias (EAP et al., 2001b; SIT et al., 2010).

O volume de distribuição (Vd) da FLX é em média 25 L/Kg, podendo variar de 12 à 42 L/Kg. Este alto valor de Vd e lipossolubilidade, característicos de fármacos que atuam no sistema nervoso central, permitem que altas concentrações de FLX e seu metabólito sejam alcançadas no fluido cerebrospinal. Consequentemente, durante a terapia crônica, a

concentração plasmática e do fluido cerebrospinal se correlacionam ($r=0,53-0,88$) com uma razão de 0,034 para FLX e 0,017 para NorFLX (MÅRTENSSON et al., 1989a).

Volume de distribuição elevado aliado a um lento processo de eliminação contribuem para uma meia-vida de eliminação longa, sendo de 1 a 6 dias (média 1,9 dias) para a FLX e de 7-15 dias para seu metabólito NorFLX (FULLER et al., 1992; LUNDMARK; REIS; BENGTSSON, 2001). Em tratamento crônico, a FLX e seu metabólito NorFLX se acumulam, contribuindo para o aumento progressivo da meia-vida de eliminação para 4 a 5 semanas ou até mais (BERGSTROM et al., 1988).

Comparando-se a administração em doses múltiplas de 60 mg/dia com dose única de 20 mg/dia, observou-se maior concentração plasmática, porém sem relação direta nem com a eficácia do tratamento da depressão nem com os efeitos adversos (BEASLEY; BOSOMWORTH; WERNICKE, 1990; DEVANE, 1999a). Quando administrada em doses múltiplas em uso crônico, observa-se diminuição do *clearance* de 35,5 para 10,8 L/hr, sugerindo que uma ou mais enzimas que metabolizam a fluoxetina saturam devido às suas altas concentrações (BEASLEY; BOSOMWORTH; WERNICKE, 1990; DEVANE, 1999a).

Dados farmacológicos em relação à disposição cinética da fluoxetina e de seu metabólito ativo, durante a gestação e no período pós-parto, são limitados na literatura (HEIKKINEN, 2003; KIM et al., 2006a).

1.3.5 Farmacocinética de drogas na gestação

Durante a gestação ocorrem diversas modificações fisiológicas no organismo materno que objetivam acomodar o crescimento e desenvolvimento fetal e garantir a própria segurança materna. Tais mudanças podem afetar direta ou indiretamente a farmacocinética das drogas utilizadas neste período, como a absorção, concentração plasmática máxima, tempo de concentração plasmática máxima da droga, ligação com proteínas plasmáticas, volume de distribuição e o *clearance* das mesmas (STIKA; FREDERIKSEN, 2007). Algumas dessas mudanças e seus efeitos sob a farmacocinética de drogas são relatadas a seguir.

O metabolismo hepático das drogas durante a gestação pode estar aumentado, diminuído ou permanecer inalterado, dependendo da droga e de sua via de metabolização, afetando assim o *clearance* de eliminação.

O nível de estradiol é 100 vezes maior que em mulheres não grávidas (BUSTER; ABRAHAM, 1975; DEVROEY et al., 1990). Por sua vez, a progesterona passa de concentrações de 30-40ng/ml para níveis de 100-200ng/ml durante a gestação (SCHNEIDER; DAVIES; HONOUR, 1993; TULCHINSKY; HOBEL, 1973). Estas alterações hormonais podem afetar diretamente o metabolismo de diversas drogas.

Algumas enzimas do sistema hepático citocromo P-450 (CYP) são estimuladas pelo estrogênio/progesterona, tendo por resultado taxa metabólica mais elevada e,

consequentemente, maior velocidade de eliminação de drogas, necessitando aumento de dose administrada para obter efeito farmacológico adequado. Por outro lado, algumas isoenzimas possuem suas funções inibidas ou competidas pela progesterona e/ou pelo estradiol, prejudicando sua eliminação durante a gestação (ANDERSON, 2005a; HEIKKINEN, 2003; KIM et al., 2006a; TANAKA; HISAWA, 1999).

O fluxo sanguíneo nos rins aumenta em torno de 50% durante a gestação, com consequente aumento das taxas de filtração glomerular (GFR) e do *clearance* de insulina e creatinina. Essa alteração inicia-se a partir da sexta semana de gestação e progride até o início do terceiro trimestre (DAVISON; HYTTEN, 1974), quando começa a declinar até o parto. Por outro lado, o processo de reabsorção tubular, parece não se alterar (DAVISON; HYTTEN, 1975).

Como a excreção renal depende diretamente da taxa de filtração glomerular, da secreção tubular ativa e da reabsorção tubular, o aumento da razão de filtração glomerular eleva o *clearance* de drogas de excreção predominantemente renal, podendo ocasionar redução da concentração plasmática de muitos agentes, embora esporadicamente necessite de aumento de dosagem para manutenção do efeito clínico.

1.4 TRANSFERÊNCIA PLACENTÁRIA

A Placenta entre outras funções, atua como uma barreira protegendo o conceito de drogas ou produtos químicos administrados à mãe. Mas, pode também atuar como via transportadora de drogas para tratamento fetal (STIKA; FREDERIKSEN, 2007).

A pressão arterial materna injeta fluxo sanguíneo pulsátil, através das artérias espiraladas do endométrio, no espaço intervilloso localizado na porção superficial da placenta. A partir daí banha o vilo coriônico e transfere nutrientes, gases e produtos metabólicos para o feto.

A placenta humana é classificada como hemocoreal, devido ao contato direto do sangue materno com a membrana coriônica fetal, que determina o que é transferido para o feto, por difusão passiva. Este transporte depende de alguns fatores como massa molecular, solubilidade lipídica, grau de ionização dos componentes da droga e presença ou não de transportadores (STIKA; FREDERIKSEN, 2007).

Todos os antidepressivos da classe dos ISRS atravessam a barreira, possivelmente devido a alterações farmacocinéticas e farmacogenéticas que alterando a farmacodinâmica do medicamento, podendo assim alterar a ação do medicamento e comprometer a efetividade do tratamento durante a gestação (KOREN; ORNOY, 2018b).

Avaliando-se os trabalhos descritos na literatura e conhecendo-se a elevada frequência de quadros depressivos durante o ciclo gravídico-puerperal, torna-se evidente a necessidade do estudo da farmacocinética dos fármacos antidepressivos utilizados em gestantes.

Considerando-se o DMG como uma doença com prevalência em ascensão, com possibilidade de concomitância de seu diagnóstico ao de depressão, associado ao fato de sua comprovada influência sobre sistemas enzimáticos, justifica-se a realização da farmacocinética em gestantes portadoras de DMG.

3.1 GERAL

Avaliar a influência do DMG sobre a farmacocinética e o metabolismo enantiosseletivo da fluoxetina e de seu principal metabólito ativo norfluoxetina, em gestantes portadoras de DMG.

3.2 ESPECÍFICOS

- Descrever os parâmetros farmacocinéticos da fluoxetina e da NorFLX em gestantes com DMG em comparação com gestantes saudáveis
- Avaliar a taxa de transferência placentária da fluoxetina e da NorFLX em gestantes com DMG em comparação com gestantes não diabéticas

4.1 CASUÍSTICA

4.1.1 Aspectos éticos do projeto

O projeto de pesquisa **“Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes mellitus gestacional”** foi cadastrado, analisado e APROVADO na Unidade de Pesquisa Clínica, submetido, analisado e APROVADO pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo em sua 357ª Reunião Ordinária realizada em 03/12/2012, processo HCRP nº 14806/2012 (Anexo A), foi submetido um adendo ao projeto (Anexo B) e APROVADO pelo mesmo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (Anexo C). APROVADO pelo Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da mesma instituição - DGO-HCFMRP-USP (Anexo D).

Todas as pacientes que foram submetidas a qualquer tipo de intervenção foram informadas, de forma clara e objetiva, com palavras simples, sobre os protocolos de pesquisa a serem executados, dando-se seguimento aos mesmos apenas com a anuência espontânea da paciente ao projeto. Foram obtidos os Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo E) de todas as pacientes que participarem do estudo no momento da internação hospitalar. Foi garantida a liberdade dos sujeitos da pesquisa em recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma.

4.1.2 Seleção de pacientes

A casuística foi composta de dez gestantes que apresentavam diagnóstico de DMG (GRUPO DMG) que estavam em seguimento no Ambulatório de Gestação de Alto Risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do HCFMRP-USP e dez pacientes sem comorbidades sistêmicas e anormalidades fetais como grupo controle. A seleção foi aleatória e sem randomização. As gestantes não foram pareadas, porém com características semelhantes. O momento, a indicação e a via da resolução da gravidez foram determinadas de acordo com os protocolos assistenciais do DGO-HCFMRP-USP.

4.1.3 Cálculo amostral

O estudo foi planejado através da comparação da variável contínua *Clearance* aparente entre pares de sujeitos, segundo estimativa feita com o auxílio do Software *Power and Sample Size Calculation Program*®. Dados de literatura indicam que a diferença desta variável é considerada como distribuição normal com um desvio padrão 222,69. Se a real diferença na média de pares combinados for de 243,92 (diferença esperada entre as médias do *Clearance*

aparente de 50%), teremos de estudar nove pares de indivíduos para ser capaz de rejeitar a hipótese zero, com poder de teste de 0,8. A probabilidade do Erro Tipo I associado a esta hipótese é de 0,05.

Figura 2. Cálculo amostral do “Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes mellitus gestacional”.

4.1.4 Critérios

4.1.4.1 Critérios de inclusão

- Gestantes que estivessem em seguimento no Ambulatório de Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do HCFMRP-USP;
- Gravidez única no terceiro trimestre;

4.1.4.2 Critérios de exclusão

- Resolução de parto decorrente de urgência / emergência obstétrica;
- Presença de doenças maternas que influenciassem na farmacocinética de fármacos;
- Uso crônico de medicação (exceto polivitamínicos);
- Alteração nos exames subsidiários do pré-natal;

4.1.4.3 Critério de descontinuidade

- Pacientes que desistiram de sua participação ao longo do estudo.
- Gestantes que necessitaram receber medicamentos que poderiam interferir na farmacocinética da FLX.

4.1.5 Tipo de estudo

Estudo analítico, tipo experimental controlado, não randomizado.

4.2 MÉTODO

4.2.1. Dados epidemiológicos

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

Para a avaliação antropométrica foram obtidos os seguintes parâmetros:

- Peso corporal (quilogramas);
- Estatura (metros);
- Índice de massa corporal (Kg/m^2).

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

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

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

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

Esse índice, pela relação entre peso e altura, fornece dados mais precisos de alterações da massa corporal. Os valores considerados normais do IMC, para o período não gestacional, são de 19 a 24 kg/m^2 para mulheres (THOMAS; MCKAY; CUTLIP, 1976). A avaliação do estado nutricional da gestante através do IMC utilizará a Curva de Atalah que foi padronizada para a população chilena considerando o IMC e a idade gestacional. Este autor classificou o estado nutricional nas categorias descritas a seguir:

- Baixo Peso (BP): $\text{IMC} \leq$ aos valores expostos na faixa correspondente a baixo peso;
- Adequado (A): IMC estiver compreendido na faixa de valores expostos na coluna correspondente a adequado;
- Sobrepeso (SP): IMC estiver compreendido na faixa de valores expostos na coluna correspondente a sobrepeso;
- Obesidade (O): $\text{IMC} \geq$ aos valores expostos na coluna correspondente a obesidade.

A função de filtração glomerular foi avaliada pelo cálculo do *clearance* de creatinina (Ccr), estimado pela fórmula proposta por Cockcroft e Gault (1976)(WILHELM; KALE-PRADHAN, 2011):

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

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

Foram obtidas ainda as indicações de resolução da gravidez por parto cesárea, as alterações macroscópicas placentárias e os dados de sexo, peso, estatura e Índice de Apgar referentes aos recém-nascidos.

4.2.2 Coleta de amostras biológicas

As pacientes que forem selecionadas e concordaram em participar do estudo receberam dose única via oral 20 mg de fluoxetina em duas ocasiões distintas. O primeiro momento ocorrerá no início do 3º trimestre de gestação (a partir de 32 semanas de idade gestacional) e o segundo será no dia do parto.

Na primeira ocasião, as pacientes foram internadas na Unidade de Pesquisa Clínica para a coleta das primeiras 12 horas após de administração do fármaco. As coletas de amostras sanguíneas posteriores foram realizadas durante os retornos de pré-natal realizados pelas pacientes, evitando-se alterar a rotina diária das gestantes.

Antes da administração do fármaco, foi coletada uma amostra de sangue materno (10 mL) por punção única de veia periférica, sendo 5 mL para avaliação de hemoglobina, hematócrito, plaquetas, glicemia, funções renal e hepática, albumina, proteínas totais e α 1glicoproteína ácida. Justifica-se a realização desses exames pela influência dos respectivos órgãos / sistemas avaliados na farmacocinética da fluoxetina e seu metabólito ativo.

O acesso venoso foi mantido com escalpe salinizado para a coleta das amostras sanguíneas nas primeiras 12 horas pós-administração de 20 mg de fluoxetina via oral. Amostras seriadas de 4 mL de sangue materno foram coletadas para avaliação da concentração dos enantiômeros da fluoxetina nos tempos de zero, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 168, 336, 504 e 672 horas, para posterior realização de curva de concentração plasmática em função do tempo e determinação das curvas de absorção, distribuição e eliminação do fármaco.

No dia da resolução da gestação, foi administrada nova dose de 20 mg de fluoxetina via oral, sendo realizada coleta de uma amostra sanguínea materna no momento do nascimento e de sangue de vasos umbilicais e espaço intervilo, para avaliação de transferência placentária do fármaco.

4.2.3 Sistema de coleta do sangue materno, sangue em vasos umbilicais e espaço intervilo

Após o nascimento da criança, amostras do sangue de artéria umbilical, veia umbilical, e de espaço intervilo, segundo técnica descrita por Camelo Jr et al. (1995)(CAMELO JÚNIOR et al., 1995), foram coletadas em seringa não heparinizada, para determinar as concentrações dos enantiômeros da FLX e analisar a taxa de transferência placentária do fármaco.

Após o material coletado, as amostras de sangue foram centrifugadas a 2800 g por 10 minutos e coletados os plasmas de cada uma. Os plasmas foram armazenados em tubo seco de plástico e congelados sob temperatura de -70 °C, sendo posteriormente encaminhados ao laboratório de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para dosagem da concentração plasmática dos enantiômeros da FLX e NorFLX.

4.2.4 Método de análise para determinação dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina em plasma

As concentrações dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina em plasma foram avaliadas por um método de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) previamente desenvolvido e validado conforme as normas da ANVISA (CARVALHO et al., 2019b).

4.2.4.1 Reagentes

O cloridrato de fluoxetina (98% TRC, Toronto, Canadá), norfluoxetina (TRC, Toronto, Canadá) e o tartarato de metoprolol (97%, Sigma, St. Louis, MO, USA), foram obtidos como mistura racêmica e os enantiômeros, (S)-(+)-fluoxetina e (S)-(+)-norfluoxetina (TRC, Toronto, Canadá) foram obtidos separados. Os solventes, etanol (Panreac, Barcelona, Espanha), hexano (Panreac, Barcelona, Espanha), álcool isoamílico (Fisher Scientific), e metanol (Panreac, JT Baker, Xalostoc, Mexico) foram obtidos como grau HPLC. O acetato de amônio e o hidróxido de sódio (JT Baker, Xalostoc, Mexico) foram obtidos como grau analítico.

4.2.4.2 Solução padrão

A solução estoque FLX e NorFLX foram preparadas na concentração de 1mg para cada enantiômero por mL de metanol e posteriormente diluída nas concentrações de 0,2 a 400 ng para cada enantiômero de FLX e NorFLX por mL de metanol. A solução de metoprolol, usada como padrão interno (PI), foi preparada na concentração de 0,4 µg/mL de metanol e

posteriormente diluída em uma concentração de 8 ng/mL de metanol. Todas essas soluções foram estocadas a -20°C.

4.2.4.3 Análise cromatográfica

O sistema de detecção por espectrometria de massas (MS/MS) foi composto por bomba gradiente binária Waters 1525 μ , injetor automático 2777, forno de coluna TCM/CHM e espectrômetro de massas triplo quadrupolo XEVO TQ-S, todos da Waters (Milford, EUA) equipado com interface de ionização por eletronebulização operando no modo íon positivo. As temperaturas da fonte de dessolvatação foram mantidas a 150 e 350°C, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização na vazão de 900 L/h. O gás argônio foi utilizado como gás de colisão na pressão de aproximadamente $1,68 \times 10^{-3}$ mbar. A voltagem do cone foi mantida em 25 V para os enantiômeros da FLX, NorFLX e para o PI. A energia de colisão foi de 7 eV para os enantiômeros da FLX e 3 eV para os enantiômeros da NorFLX. As condições de otimização do MS/MS foram obtidas por infusão direta das soluções padrão preparadas na fase móvel, na vazão de 10 mL/min.

As determinações foram executadas no modo MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas). Os íons protonados $[M + H]^+$ e seus respectivos íons produtos foram monitorados nas transições 310>44 para os enantiômeros da FLX, 296>134 para os enantiômeros da NorFLX e 268>116 para o PI. A aquisição e a quantificação dos dados foram realizadas utilizando o programa MassLynx versão 4.1 (Micromass, Manchester, Reino Unido) também usado para registrar e integrar os picos.

A separação dos enantiômeros da FLX e NorFLX ocorreram em coluna *Astec Chirobiotic*® V 25 cm x 4,6 mm, 5 μ m (Supelco, Bellefonte, PA), com uma pré-coluna *CN Lichospher*® 100 4 x 4 mm e partículas de 5 μ m, (Merck, Darmstadt, Germany). A coluna foi mantida a 23°C. A fase móvel consistiu de etanol: acetato de amônio 15 mM (85:15 v/v), eluindo a um fluxo de 0,8 mL/min.

4.2.4.4 Preparo das amostras (Plasma)

A extração líquido-líquido ocorreu em tubos falcon plástico utilizando-se 500 μ L de plasma, 25 μ L da solução de metoprolol (8 ng/mL; padrão interno), 200 μ L de solução aquosa de NaOH 2M e 6 mL de hexano: álcool isoamílico (99:1 v/v). Após 30 min. de agitação horizontal ($\pm$ 300 ciclos/min.) e 20 min. de centrifugação a 3000 g, o extrato orgânico foi transferido para um tubo falcon plástico e concentrado até a secura. O resíduo reconstituído em 90 μ L de etanol: acetato de amônio 15mM (85:15 v/v), do qual 50 μ L foi injetado para análise cromatográfica.

4.2.4 Análise farmacocinética e estatística

4.2.4.1 Análise farmacocinética

A análise farmacocinética foi conduzida individualmente empregando modelo bi-compartimental com absorção, distribuição e eliminação de primeira ordem no programa Phoenix WinNonlin®, versão, 6.3.0.393 (Pharsight Corp, Certara L.P.).

Os resumos estatísticos dos dados de concentração plasmática pelo tempo, dos parâmetros farmacocinéticos e das medidas de transferência placentária dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina nos grupos controle e diabetes mellitus gestacional (DMG) foram obtidos empregando o programa R (a language and environment for statistical computing) versão 3.4.4 (Tabela 1).

A enantiosseletividade e a influência da diabetes mellitus gestacional nos parâmetros farmacocinéticos e nas medidas de transferência placentária foram avaliadas por comparações múltiplas não paramétricas com teste de “Kruskal-Wallis rank-sum” e ajuste post-hoc com dunn-bonferroni assumindo significância de 5% e poder do teste de 80%, também empregando o programa R versão 3.4.4.

Tabela 1: Parâmetros empregados para análise de farmacocinética.

Parâmetros	Unidade	Descrição	Equação
C_{max}	ng/mL	concentração plasmática máxima	dados obtidos
t_{1/2} β	h	meia-vida de eliminação	gráfico log c vs t
t_{1/2} α	h	meia-vida de absorção	gráfico log c vs t
kel	h ⁻¹	constante de velocidade de eliminação	$0,693 / t_{1/2} \beta$
ka	h ⁻¹	Constante de velocidade da absorção	$0,698 / t_{1/2} \alpha$
AUC^{0-∞}	ng.min/mL	área sob curva concentração plasmática vs tempo	trapézios
CL/F	L/h	<i>clearance</i> aparente	dose / AUC ^{0-∞}
CL/F/Kg	L/h/Kg	<i>clearance</i> aparente por quilo de peso corporal	CL/F / kg
Vd/F	L	volume de distribuição aparente	CL/F / β
Vd/F/kg	L/Kg	volume de distribuição aparente por quilo de peso corporal	Vd/F / Kg

c vs t: concentração *versus* tempo

4.2.4.2 Análise estatística

Os testes estatísticos dos parâmetros farmacocinéticos e das medidas de transferência placentária obtidos para as gestantes saudáveis e gestantes com DMG foram obtidos no programa R version 3.4.4 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria).

A influência da diabetes gestacional na farmacocinética e transferência placentária foi avaliada por teste de Mann-whitney conduzido no programa R.

Em todos os testes estatísticos o nível de significância foi fixado em 5%.

O método foi desenvolvido e validado em plasma humano com aplicação em estudo de disposição cinética de dose única em parturientes saudáveis (70).

Foram avaliados os parâmetros: seletividade, efeito residual, efeito matriz, limite de quantificação, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade e serão validados de acordo com as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (71).

5.1 CARACTERÍSTICAS MATERNAS E DOS NEONATOS

Foram investigadas dez gestantes saudáveis e dez gestantes portadoras de DMG, não havendo diferença estatística em relação à faixa etária, idade gestacional de inclusão no estudo e de dados antropométricos (tabela 2).

Tabela 2: Comparação dos dados clínicos das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG)

Parâmetros	Grupo Controle (n =10)	Grupo DMG (n =10)
Idade (anos)	30,5 ^a (21,75-38,25)	32,00 ^a (29,50 – 37,25)
Idade gestacional (dias)	236,5 ^b (224,75-243,50)	224,00 ^b (217,75 – 231,25)
Peso (kg)	74,42 ^c (69,17-79,25)	81,67 ^c (66,25 – 87,72)
Estatutura (m)	1,60 ^d (1,55-1,67)	1,59 ^d (1,56 - 1,65)
IMC² (kg/m ²)	29,00 ^e (25,00-32,00)	30,00 ^e (28,00 - 35,00)

Dados apresentados como mediana e intervalo interquartil; IMC²: Índice de Massa Corporal

a, b, c, d, e: p > 0,05 entre os grupos por wilcoxon

As gestantes realizaram pré-natal de maneira satisfatória, segundo critérios do Ministério da Saúde. A avaliação laboratorial de pré-natal foi considerada dentro dos padrões da normalidade.

Foram realizados exames laboratoriais para a avaliação da normalidade funcional dos sistemas/órgãos hematológico, renal, hepático e endócrino, pela influência dos mesmos na farmacocinética da fluoxetina e norfluoxetina (tabela 3).

Tabela 3: Comparação dos dados laboratoriais das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG).

Parâmetros	Grupo Controle (n =10)	Grupo DMG (n =10)
Uréia (mg/dL)	17,00 (14,25-18,00)	13,00 (11,00-13,99)
Creatinina (mg/dL)	0,60 (0,57-0,66)	0,54 (0,50-0,58)
Alanino aminotransferase (U/L)	9,90 (8,67-17,52)	11,09 (8,10-15,00)
Aspartato aminotransferase (U/L)	13,00 (10,75-16,87)	15,00 (12,80-15,60)
Bilirrubina total (mg/dL)	0,32 (0,24-0,37)	0,40 (0,26-0,62)
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,08 (0,05-0,10)	0,11 (0,09-0,17)
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,23 (0,19-0,28)	0,30 (0,20-0,46)
Proteínas totais (g/dL)	6,40 (6,20-6,60)	6,10 (5,80-6,40)
Albumina (g/dL)	3,90 (3,82-3,92)	3,65 (3,60-3,80)
α1 glicoproteína ácida (mg/dL)	56,00 (49,05-61,20)	50,15 (45,08-62,80)
γ GT (U/L)	16,00 (13,00-23,25)	13,00 (10,00-13,00)
Fosfatase alcalina (U/L)	307,00 (288,00-316,50)	248,00 (192,00-266,00)
Hemoglobina (g/dL)	12,30 (11,80-12,80)	11,30 (10,70-12,40)
Hematócrito (%)	36,00 (35,00-38,00)	34,00 (32,00-36,00)
Plaquetas ($10^3/\mu$L)	219,00 (185,00-228,00)	229,00 (188,00-269,00)
Hemoglobina glicosilada (%)	5,55 (5,10-6,03)	5,15 (4,57-5,25)
Glicemia (mg/dL)	87,00 (85,00-91,50)	74,00 (72,00-84,00)

Dados apresentados como mediana e intervalo interquartil. A diferença entre os grupos de todos os exames bioquímicos possuem $p > 0,05$ por wilcoxon

Nenhum recém-nascido apresentou doenças diagnosticadas ao nascer. Todos os recém-nascidos apresentaram Índice de Apgar maior que 7 no 1º minuto e 5º minuto, caracterizando bem-estar ao nascer. Todos os recém-nascidos apresentaram evolução favorável no período pós-natal e receberam alta hospitalar no mesmo momento da alta materna. Nenhuma das placentas apresentou alterações macroscópicas relevantes (tabela 4).

Tabela 4: Comparação dos dados dos neonatos filhos de mulheres saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG).

Parâmetros	Grupo Controle (n =10)	Grupo DMG (n =10)
Peso do recém-nascido (g)	3330,00 ^a (3190,00-3443,75)	3255,00 ^a (2975,00-3477,50)
Estatura (cm)	49,50 ^b (49,00-50,75)	48,75 ^b (47,63-49,88)
Peso da placenta (g)	515,00 ^c (482,50-660,00)	507,50 ^c (505,00-545,00)
Índice de Apgar	9,50 ^d (9,00-10,00)	9,00 ^d (8,00-9,00)

Dados apresentados como mediana e intervalo interquartil. a, b, c, d: $p > 0,05$ entre os grupos por wilcoxon

Durante as 12 horas de internação na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC), para coleta de amostras seriadas de sangue, os parâmetros hemodinâmicos das gestantes foram monitorados através do registro da pressão arterial sistólica e diastólica de 4 em 4 horas. Todas as pacientes realizaram o exame de cardiotocografia, para monitorar a frequência cardíaca fetal. Todos os fetos encontraram-se ativos e reativos.

5.2 FARMACOCINÉTICA DA FLUOXETINA E NORFLUOXETINA

A farmacocinética da fluoxetina e norfluoxetina foi avaliada em dez gestantes portadora de DMG e comparada com as dez gestantes sem DMG (Tabela 5).

As curvas de concentração plasmática *versus* tempo após administração oral de, fluoxetina 20 mg, dose única, estão apresentadas na figura 3. Os parâmetros farmacocinéticos estão na tabela 4.

Área sob a curva (AUC) apresentou os seguintes valores expressos em mediana, grupo DMG foram (R)-(-)-FLX 197,93 ng·h/mL e (S)-(+)-FLX 109,62 ng·h/mL versus (R)-(-)-FLX 180,94 ng·h/mL e (S)-(+)-FLX 96,22 ng·h/mL do grupo controle e (R)-(-)-NorFLX 500,33

ng·h/mL (S)-(+)-NorFLX 942,70 ng·h/mL grupo DMG versus (R)-(-)-NorFLX 600,39 ng·h/mL (S)-(+)-NorFLX 960,83 ng·h/mL grupo controle.

As medianas dos valores de concentração plasmática máxima (C_{max}) do grupo DMG foram (R)-(-)-FLX 8,07 ng/mL e (S)-(+)-FLX 9,42 ng/mL versus (R)-(-)-FLX 5,99 ng/mL e (S)-(+)-FLX 5,81 ng/mL do grupo controle e para os enantiômeros do metabólito (R)-(-)-NorFLX 3,08 ng/mL (S)-(+)-NorFLX 7,48 ng/mL grupo DMG versus (R)-(-)-NorFLX 3,41 ng/mL (S)-(+)-NorFLX 6,29 ng/mL grupo controle. Medianas do tempo máximo (T_{max}) foram, grupo DMG foram (R)-(-)-FLX 2,37 h e (S)-(+)-FLX 1,72 h versus (R)-(-)-FLX 3,78 h e (S)-(+)-FLX 2,27 h grupo controle e para (R)-(-)-NorFLX 10,95 h (S)-(+)-NorFLX 10,68 h grupo DMG versus (R)-(-)-NorFLX 20,60 h (S)-(+)-NorFLX 13,66 h grupo controle. Medianas de meia vida de eliminação (T_{1/2}) foram, (R)-(-)-FLX 27,06 h e (S)-(+)-FLX 18,41 h versus (R)-(-)-FLX 26,74 h e (S)-(+)-FLX 17,21 h grupo DMG e controle respectivamente e (R)-(-)-NorFLX 152,04 h (S)-(+)-NorFLX 90,55 h versus (R)-(-)-NorFLX 99,55 h (S)-(+)-NorFLX 83,48 h grupo DMG e controle respectivamente (Tabela 5).

O clearance (CL/F) do grupo DMG foi (R)-(-)-FLX 50,79 L/h e (S)-(+)-FLX 91,63 L/h versus (R)-(-)-FLX 5,99 L/h e (S)-(+)-FLX 5,81 L/h grupo controle e os valores para o parâmetro volume aparente de distribuição (V_d/F) foram, grupo DMG (R)-(-)-FLX 1695,15 L/Kg e (S)-(+)-FLX 1564,90 L versus (R)-(-)-FLX 1787,81 L e (S)-(+)-FLX 1533,18 L, valores expresso em mediana.

A figura 5 apresenta o box-plot da Área sob a curva de zero a infinito (AUC), concentração plasmática máxima (C_{max}), clearance (CL), e Volume de distribuição (V_d) dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina.

Figura 3: Curva de concentração plasmática *versus* tempo dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina das gestantes do grupo controle (à direita) e do grupo DMG (à esquerda). Os dados estão apresentados como mediana e intervalo interquartil. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetina, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetina, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetina, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetina.

Tabela 5: Comparação dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina (FLX) e norfluoxetina (NorFLX) das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG). após dose única oral de fluoxetina 20 mg.

	Grupo Controle (n =10)				Grupo DMG (n =10)			
	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)- NorFLX	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX
Ka (hr ⁻¹)	0,33 (0,24-0,55)	0,37 (0,18-0,52)	--	--	0,38 (0,24-0,58)	0,48 (0,38-0,55)	--	--
AUC (ng·h/mL)	180,94 (108,57-254,03)	96,22 (49,61-160,94)	500,33 (482,78-1063,96)	942,70 (802,81-1172,15)	197,93 (139,27-254,41)	109,62 (85,75-293,70)	600,39 (423,08-648,18)	960,83 (495,88-1250,82)
Kel (hr ⁻¹)	0,026 (0,021-0,037)	0,040 (0,037-0,058+)	0,007 (0,005-0,008)	0,008 (0,005-0,096)	0,026 (0,023-0,034)	0,039 (0,027-0,053)	0,005 (0,004-0,008)	0,008 (0,006-0,009)
t1/2 (hr)	26,74 (18,64-32,29)	17,21 (11,97-18,76)	99,55 (82,87-143,85)	83,48 (72,30-131,57)	27,06 (20,79-29,76)	18,41 (13,06-25,81)	152,04 (83,15-201,08)	90,55 (75,13-118,74)
CL/F (L/h)	56,65 (39,45-92,71)	103,95 (62,28-217,94)	--	--	50,78 (39,58 - 71,96)	91,63 (39,44 - 116,96)	--	--
Cmax (ng/mL)	5,81 (5,12-8,25)	5,99 (4,93-10,26)	3,41 ^a (3,13-3,68)	6,29 ^a (5,80-7,39)	8,07 (7,44-8,72)	9,42 (7,56-11,96)	3,08 ^b (2,08-4,22)	7,48 ^b (4,03-8,84)
Tmax (h)	3,78 (2,52-4,94)	2,27 (1,91-2,93)	20,60 ^c (14,74-23,10)	13,66 (7,69-20,81)	2,37 (1,38-2,81)	1,72 (0,91-2,49)	10,95 ^c (9,61-11,71)	10,68 (8,16-25,93)
Vd/F (L)	1787,81 (1552,43-1925,23)	1533,18 (1296,74-2233,72)	--	--	1695,15 (1440,18-2338,19)	1564,90 (1130,57-1760,14)	--	--
AUC (R/S)	1,68 (1,41 - 2,21)		0,62 (0,48 - 0,68)		1,58 (0,85 - 1,81)		0,66 (0,55 - 0,87)	
	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)- NorFLX	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX
AUC $\left(\frac{\text{NorFLX}}{\text{FLX}}\right)$	2,93 (2,31-5,19)		8,78 (6,07-16,17)		3,25 (1,98-5,01)		8,92 (2,66-14,24)	

Os dados estão apresentados como: mediana e intervalo interquartil. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetina, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetina, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetina, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetina. ^ap = 0,031, ^bp = 0,035, ^cp = 0,029, ^a, ^b, ^c obtidos por “Kruskal-Wallis rank-sum” e ajuste post-hoc com dunn-bonferroni

Figura 4: Box-plot da AUC, Cmax, CL, Vd da (R)-(-)-Fluoxetina: (R)-(-)-FLX, (R)-(-)-Norfluoxetina: (R)-(-)-NorFLX, (S)-(+)-Fluoxetina: (S)-(+)-FLX, (S)-(+)-Norfluoxetina: (S)-(+)-NorFLX. Valores de p obtidos por "Kruskal-Wallis rank-sum" e ajuste post-hoc com dunn-bonferroni.

^ap= 0,031 para os enantiômeros da NorFLX do grupo controle

^bp= 0,035 para os enantiômeros da NorFLX do grupo DMG

5.3 TRANSFÊRENCIA PLACENTÁRIA ENANTIÔMEROS DA FLX E NORFLX

Na tabela 6 estão demonstradas as relações entre os compartimentos materno fetal em dez gestantes do grupo DMG em comparação com as gestantes do grupo controle .

As medianas das razões veia umbilical/espaco intervilo foram 0,27 para enantiômero (R)-(-)-FLX 0,39 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,28 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,35 para o enantiômero (S)-(+)-NorFLX, grupo controle e foram 0,33 para enantiômero (R)-(-)-FLX 0,47 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,10 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,48 para o enantiômero (S)-(+)-NorFLX, grupo DMG (Tabela 5). No compartimento espaco intervilo/veia materna foram observadas razões de 1,28 para o (R)-(-)-FLX 1,30 para o (S)-(+)-FLX grupo controle; 0,84 para o (R)-(-)-FLX 0,80 para o (S)-(+)-FLX grupo DMG; 1,06 para o (R)-(-)-NorFLX 2,86 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo controle e 2,61 para o (R)-(-)-NorFLX 2,12 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo DMG.

As razões avaliadas da artéria umbilical/veia umbilical mostraram valores de 0,86 para o (R)-(-)-FLX e 0,74 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,87 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 1,00 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo controle já no grupo DMG os valores apresentados foram 0,71 para o (R)-(-)-FLX e 0,68 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,73 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,82 para o (S)-(+)-NorFLX.

As relações EIV/VM apresentaram diferença estatística para o R-(-)-NorFLX e as relações VU/EIV apresentaram diferença estatística para o R-(-)-NorFLX, na comparação dos grupos (Tabela 6 e Figura 5).

Tabela 6: Comparação das razões de transferência placentária dos enantiômeros da fluoxetina (FLX) e norfluoxetina (NorFLX) das gestantes saudáveis (grupo controle) em relação às gestantes portadoras de Diabetes Mellitus Gestacional (grupo DMG) após dose única oral de fluoxetina 20 mg.

	Grupo Controle (n =10)				Grupo DMG (n =10)			
	(R)-(-)-FLX	(S)-(+)-FLX	(R)-(-)-NorFLX	(S)-(+)-NorFLX	(R)-(-)-FLX	(S)-(+)-FLX	(R)-(-)-NorFLX	(S)-(+)-NorFLX
AU/VU	0,86 (0,70-1,04)	0,74 (0,71-1,01)	0,87 (0,76-1,01)	1,00 (0,79-1,10)	0,71 (0,46-0,98)	0,68 (0,40-0,86)	0,73 (0,63-1,57)	0,82 (0,71-1,10)
EIV/M	1,28 (1,14-1,38)	1,30 (1,05-1,33)	1,06 ^{ab} (0,93-1,14)	2,86 ^a (2,52-3,69)	0,84 (0,61-1,34)	0,80 (0,54-1,19)	2,61 ^b (1,43-4,06)	2,12 (1,70-3,27)
VU/EIV	0,27 (0,19-0,30)	0,39 (0,30-0,39)	0,28 (0,21-0,38)	0,35 (0,27-0,40)	0,33 (0,26-0,35)	0,47 (0,32-0,52)	0,10 ^c (0,06-0,30)	0,48 ^c (0,31-0,59)
VU/M	0,33 (0,28-0,36)	0,44 (0,30-0,48)	0,36 (0,28-0,43)	0,38 (0,25-0,48)	0,29 (0,19-0,36)	0,37 (0,22-0,49)	0,48 (0,11-0,63)	0,35 (0,18-0,56)

Os dados estão expressos como mediana e intervalo interquartil. AU/VU: Artéria umbilical/Veia Umbilical; EIV/M: Espaço intervilo/Veia Materna; VU/EIV: Veia umbilical/Espaço intervilo; VU/M: Veia umbilical/Veia Materna.

a = 0,000; enantosseletividade com maior passagem do (S)-(+)-NorFLX

b = 0,023; concentração maior do enantiômero R-(-)-NorFLX em ambos os grupos

c = 0,017; enantosseletividade na transferência da mãe para a via de entrada do feto com passagem maior do (S)-(+)-NorFLX

a, b, c obtidos por "Kruskal-Wallis rank-sum" e ajuste post-hoc com dunn- bonferroni.

Considerando a e c, sugere enantosseletividade com maior passagem de S-(+)-NorFLX independente da ação metabólica do DMG

Figura 5: Box-plot das razões de concentrações fetal-materno entre os grupos controle e DMG. Os dados estão apresentados como: mediana e intervalo interquartil.

a = 0,000; enantosseletividade com maior passagem do (S)-(+)-NorFLX

b = 0,023; concentração maior do enantiômero R-(-)-NorFLX em ambos os grupos

c = 0,017; enantosseletividade na transferência da mãe para a via de entrada do feto com passagem maior do (S)-(+)-NorFLX

a, b, c obtidos por "Kruskal-Wallis rank-sum" e ajuste post-hoc com dunn- bonferroni.

Considerando a e c, sugere enantosseletividade com maior passagem de S-(+)-NorFLX independente da ação metabólica do DMG

Gestação é um período no qual as mulheres estão mais suscetíveis a desenvolver depressão (YOUN et al., 2017a). O índice de depressão pós parto é de 10-15% (FISHER et al., 2016a).

Quando não tratada adequadamente, a depressão pode acarretar em vários efeitos adversos para a mãe e a criança, entre os mais comuns estão, aborto espontâneo, prematuridade, baixo Apgar, atraso no desenvolvimento, baixo peso ao nascer (GAO et al., 2017a).

DMG tem sido considerado o problema metabólico mais comum durante a gestação (GILBERT et al., 2019), esta doença associa-se a mudanças no estilo de vida ocorrido nas últimas décadas, agregando-se atividades menos saudáveis e redução de atividades psicossociais. Por sua vez, esse comportamento também está associado ao aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de depressão em duas a quatro vezes (ARAFA; DONG, 2019).

O uso de antidepressivos na gestação é de aproximadamente 3,9-12,8% (KOREN; ORNOY, 2018b; MAK et al., 2018a), outros estudos apontam que esse índice pode chegar a 23% (WESTIN et al., 2017a). Aproximadamente 3,4% das gestantes diagnosticadas com depressão são tratadas com os inibidores seletivos de receptação da serotonina (ISRS) (KOREN; ORNOY, 2018b). Os antidepressivos da classe dos ISRS atravessam a barreira placentária, podendo assim comprometer a efetividade do tratamento durante a gestação (KOREN; ORNOY, 2018b).

Durante a gestação ocorrem diversas mudanças no organismo materno como a absorção, concentração plasmática máxima, tempo de concentração plasmática máxima da droga, ligação com proteínas plasmáticas, volume de distribuição e o *clearance* podendo alterar os parâmetros cinéticos dos medicamentos (STIKA; FREDERIKSEN, 2007).

A elevada frequência de quadros depressivos durante o ciclo gravídico-puerperal, associado à prevalência em ascensão DMG, demonstra a necessidade de estudos de cinética de antidepressivos com gestantes e análise de fatores que podem influenciar em mudanças na posologias destes fármacos.

6.1 CARACTERÍSTICAS DA CASUÍSTICA

Participaram deste estudo dez gestantes portadoras de DMG em comparação com 10 gestantes sem comorbidades, para avaliar se o DMG influencia na farmacocinética e na distribuição transplacentária da FLX e NorFLX.

No período gestacional entre 32 e 34 semanas de gestação, as pacientes devem apresentar IMC no máximo 28,40 Kg/m² para ser classificadas nutricionalmente como adequado (104,105). As gestantes do grupo controle apresentaram média de IMCs de 29,00

Kg/m², enquanto as do grupo DMG de 30,00 Kg/m², sendo ambos os grupos classificados como sobrepeso. Ambos os grupos mostraram resultados das avaliações laboratoriais de funções orgânicas dentro dos padrões de normalidade e não apresentaram diferenças entre si nesse quesito (Tabela 3). Esses dados são relevantes para avaliar a farmacocinética de medicamentos, pois podem alterar todo o metabolismo do fármaco, através de alterações nas enzimas do CYP.

Os grupos são homogêneos, portanto os achados farmacocinéticos estão atribuídos a fatores intrínsecos dos enantiômeros e diferenças metabólicas.

6.2 FARMACOCINÉTICA DOS ENANTIÔMEROS DA FLUOXETINA E NORFLUOXETINA

FLX é fármaco racemato constituída por dois enantiômeros S-(+)-FLX e R-(-)-FLX, denominando-a como uma droga quiral, seu metabólito ativo também é constituído pelos mesmos enantiômeros o S-(+)-NorFLX e R-(-)-NorFLX. Os dois enantiômeros da fluoxetina apresentam potência semelhante no bloqueio de recaptação da serotonina, enquanto o (S)-(+)-NorFLX pode ser até 20 vezes mais potente que o R-(-)-NorFLX (FULLER et al., 1992; WONG; FULLER; ROBERTSON, 1990). FLX é um fármaco de alta biodisponibilidade (90%), altamente ligado a proteínas plasmáticas (94.5%) (MÅRTENSSON et al., 1989a).

Em não gestantes, a biodisponibilidade da FLX é aproximadamente a 90% (PEREZ-CABALLERO et al., 2014a), o clearance aparente (CL/F), 36-50 L/h, e o volume de distribuição aparente (Vd/F), 12-43 L/Kg (ALTAMURA; MORO; PERCUDANI, 1994a), sugerindo uma extensa distribuição para os órgãos (ARONOFF et al., 1984a; LEMBERGER et al., 1987b). Cerca de 11% da dose de FLX é excretada na urina em sua forma inalterada (DEVANE, 1999a).

O Vd e CL podem sofrer alterações devido às mudanças fisiológicas durante a gestação. O Vd/F pode estar aumentado em até 50%, devido ao aumento do volume plasmático e a presença de mais um compartimento, fetal. A perfusão sanguínea útero-placentária atinge 36 a 42 L/h a termo, sendo 80% segue para a placenta e 20% para o miométrio. O volume corporal aumenta cerca de 8 L, 60% é distribuído entre a placenta, feto e LA e 40% para os tecidos maternos (ANDERSON, 2005a; FRISHMAN; ELKAYAM; ARONOW, 2012a).

A razão entre a AUC da R-(-)-NorFLX / R-(-)-FLX (Controle: 2,93 vs DMG: 3,25) e a razão entre AUC da S-(+)-NorFLX / S-(+)-FLX (Controle: 8,78 vs DMG: 8,92) (tabela 5) não são diferentes entre os grupos, portanto não houve influência da diabetes gestacional na razão metabólica NorFLX/FLX em gestantes.

Não há diferenças no K_a , K_{el} , $t_{1/2}$, CL/f , Vd/f , AUC e C_{max} de ambos enantiômeros da fluoxetina e da norfluoxetina entre os grupos. Embora há diferença no valor da mediana do CL/f , Vd/f , AUC e C_{max} entre os grupos, há uma grande variabilidade interindividual nesses parâmetros em ambos os grupos (figura 4 e tabela 5) que impede a identificação de diferenças.

Assim como em grávidas saudáveis (CARVALHO et al., 2019b), observamos diferença entre o C_{max} da R-(-)-NorFLX (8,07 ng/mL) e S-(+)-NorFLX (9,42 ng/mL) (tabela 4 e figura 3) nas gestantes com DMG. Os demais parâmetros das gestantes portadoras de DMG não apresentaram enantiosseletividade. Apesar de não haver diferença estatística entre a AUC dos enantiômeros da (S)-(+)-FLX e (R)-(-)-FLX em ambos os grupos, 96,22 vs 180,94 ng.h/mL, para o grupo controle e 109,62 vs 197,93 ng.h/mL para o grupo DMG respectivamente, podemos observar uma tendência de maiores concentrações plasmáticas da (R)-(-)-FLX e da (S)-(+)-NorFLX em relação aos antípodas ao se observar o perfil das concentrações plasmáticas pelo tempo (Figura 3).

O estudo de Kim et al. (2006)(KIM et al., 2006a) relata razões de AUC da (S)-(+)-FLX ÷ AUC da (R)-(-)-FLX próximas a 2, ou seja, com evidência de maiores concentrações plasmáticas da (S)-(+)-FLX, enquanto no presente estudo não observa-se diferenças entre a AUC dos enantiômeros da FLX em ambos os grupos (tabela 4 e figura 4). No entanto, embora não haja diferença estatística, no presente estudo a mediana da AUC da (R)-(-)-FLX são aproximadamente 1,68 vezes maiores que seu antípoda em ambos os grupos (tabela 4). No entanto, os dados de Kim et al. (2006)(KIM et al., 2006a) são de gestantes tratadas com 20 mg/dia de FLX, em regime de dose múltipla.

Estudos relatam que o (S)-(+)-FLX é metabolizado preferencialmente pelo CYP2D6 (EAP et al., 2001b; FJORDSIDE et al., 1999; RING et al., 2001a) e o (R)-(-)-FLX pelo CYP2D6 e CYP2C9 (SCORDO et al., 2005). Logo, as maiores concentrações plasmáticas do enantiômero (S)-(+)-FLX observadas nos estudos de doses múltiplas podem decorrer do fato da FLX agir como inibidor do CYP2D6 e não do CYP2C9 (FJORDSIDE et al., 1999; RING et al., 2001b; SCORDO et al., 2005).

No presente estudo, embora a AUC da (S)-(+)-NorFLX não seja estatisticamente diferente da (R)-(-)-NorFLX, em ambos os grupos, os valores da mediana da AUC da (S)-(+)-NorFLX são aproximadamente 1,61 vezes maiores (tabela 4). Ademais os valores de C_{max} da (S)-(+)-NorFLX são maiores que da (R)-(-)-NorFLX, em ambos os grupos (tabela 4). Pode-se então inferir que a (S)-(+)-FLX é preferencialmente metabolizado a NorFLX do que a (R)-(-)-FLX. As razões de AUC da (R)-(-)-NorFLX ÷ AUC da (S)-(+)-NorFLX no presente estudo são, 0,62 e 0,66 nos grupo controle e DMG respectivamente (Tabela 5), dados semelhantes ao relatado por Kim et al. (2006)(KIM et al., 2006a) com administração de doses múltiplas de FLX.

Exceto pelo T_{max} , os parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina e norfluoxetina não apresentam diferenças entre gestantes saudáveis (grupo controle) (CARVALHO et al., 2019b) e gestantes com DMG (grupo DMG), possivelmente devido o grupo DMG ter sido formado por gestantes com a diabetes gestacional bem controlada e pela grande variabilidade interindividual nos dois grupos (figura 3).

O estudo realizado por Little (1999)(LITTLE, 1999) aponta que há uma diminuição da meia-vida de eliminação para a maioria dos fármacos durante a gestação devido ao aumento do CL, o que provavelmente também ocorreu para a fluoxetina em ambos os grupos, pois a literatura relata meia-vida de eliminação de aproximadamente 1-4 dias para a FLX em não gestantes (ALTAMURA; MORO; PERCUDANI, 1994a), enquanto no presente estudo foram encontrados 17,21 e 26,74 h, respectivamente para os enantiômeros (S)-(+)-FLX e (R)-(-)-FLX (menos que 1dia) Tabela 4.

6.3 ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS DIFERENTES COMPARTIMENTOS MATERNOS E FETAIS DOS ENANTIÔMEROS DA FLX E NORFLX

Avaliando-se os dados maternos e neonatais que pudessem interferir na taxa de transferência placentária (como análise bioquímica, peso placentário, peso ao nascer), considera-se que os grupos foram homogêneos entre si e, portanto, não apresentou fatores que pudessem interferir diretamente na avaliação da taxa de transferência da FLX e NorFLX (Tabelas 3 e 4). Análises macroscópicas foram realizadas nas placentas, não sendo detectadas alterações significativas em ambos os grupos investigados que pudessem comprometer o transporte de medicamentos por esta via.

A evolução no pós natal dos recém-nascidos ocorreu de maneira satisfatória, demonstrada por Índices de Apgar dentro dos padrões de normalidade, demonstrando a segurança da posologia do fármaco utilizada no estudo (dose única de 20mg fluoxetina) e ausência de efeitos adversos para os fetos / neonatos (Tabela 4).

As medianas das razões veia umbilical/espaco intervilo foram 0,27 para enantiômero (R)-(-)-FLX 0,39 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,28 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,35 para o enantiômero (S)-(+)-NorFLX, grupo controle e foram 0,33 para enantiômero (R)-(-)-FLX 0,47 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,10 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,48 para o enantiômero (S)-(+)-NorFLX, grupo DMG, indicando que a taxa de transferência placentária, neste modelo de estudo, é baixa.(Tabela 5). Apesar de baixa houve maior passagem do (S)-(+)-NorFLX do que (R)-(-)-NorFLX no grupo DMG (tabela 6).

No compartimento espaco intervilo/veia materna foram observadas razões de 1,28 para o (R)-(-)-FLX 1,30 para o (S)-(+)-FLX grupo controle; 0,84 para o (R)-(-)-FLX, 0,80 para o (S)-(+)-FLX grupo DMG; 1,06 para o (R)-(-)-NorFLX, 2,86 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo

controle e 2,61 para o (R)-(-)-NorFLX 2,12 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo DMG. Observou-se maior razão de espaço intervilo / veia materna para o (S)-(+)-NorFLX no grupo controle. .

Observou-se proximidade nas concentrações da FLX na veia materna e no espaço intervilo (Figura 5), o que é explicado pelo espaço intervilo ser uma região contínua da veia materna, localizado no sinciotrofoblasto, mas houve maiores concentrações do metabólito, tanto no grupo controle como no grupo DMG. Maiores concentrações da NorFLX podem se justificar porque fármacos de meia vida longa como NorFLX (7-15 dias) podem se acumular no sistema fetal (EWING et al., 2015) porque o feto elimina substâncias principalmente por difusão de volta ao compartimento materno, no entanto a maioria dos metabólitos é mais polar do que a substância inalterada e é menos capaz de atravessar a membrana levando a acúmulo do metabólito nos compartimentos fetais (DUARTE et al., 2011; LOEBSTEIN; KOREN, 2002).

Para avaliar o metabolismo fetal, as razões avaliadas foram artéria umbilical/veia umbilical, com valores de 0,86 para o (R)-(-)-FLX e 0,74 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,87 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 1,00 para o (S)-(+)-NorFLX, grupo controle já no grupo DMG os valores apresentados foram 0,71 para o (R)-(-)-FLX e 0,68 para o enantiômero (S)-(+)-FLX; 0,73 para enantiômero (R)-(-)-NorFLX e 0,82 para o (S)-(+)-NorFLX. As razões artéria/veia umbilical foram próximas a 1,00, para os enantiômeros (R)-(-)- e (S)-(+)-FLX e (R)-(-)- e (S)-(+)-NorFLX em ambos os grupos analisados, demonstrando não haver metabolismo fetal provavelmente pela imaturidade dos sistemas metabólicos (MOISES et al., 2015).

As relações EIV/M apresentaram diferença estatística para o R-(-)-NorFLX na comparação dos grupos (Tabela 6 e Figura 5). Possivelmente pela também maior concentrações plasmáticas da (S)-(+)-NorFLX materna e não pela permeação enantiosseletiva ao compartimento fetal.

- O diabetes mellitus gestacional não influenciou a farmacocinética dos enantiômeros FLX e NorFLX após uma dose oral única de 20 mg de FLX racêmico em mulheres grávidas (idade gestacional entre 32 a 34 semanas).
- A transferência placentária (veia umbilical / veia materna) dos enantiômeros FLX e NorFLX é relativamente baixa.
- A transferência de enantiômero R-(-)-NorFLX ocorre preferencialmente na relação espaço intervilo/veia materna em mulheres saudáveis e do enantiômero S-(+)-NorFLX na relação veia umbilical/espaço intervilo no grupo de gestantes com DMG. No entanto, sem impacto clínico fetal, considerando que os valores absolutos são baixos.

ALTAMURA, A. C.; MORO, A. R.; PERCUDANI, M. Clinical pharmacokinetics of fluoxetine. **Clinical pharmacokinetics**, v. 26, n. 3, p. 201–14, mar. 1994a.

ALTAMURA, A. C.; MORO, A. R.; PERCUDANI, M. Clinical Pharmacokinetics of Fluoxetine. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 26, n. 3, p. 201–214, 1 mar. 1994b.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diabetes Care. **The Journal of clinical applied research and education**, v. 42, n. Supplement 1, 2019.

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

ANDERSON, G. D. Pregnancy-Induced Changes in Pharmacokinetics. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 10, p. 989–1008, 1 out. 2005b.

ARAFA, A.; DONG, J.-Y. Gestational diabetes and risk of postpartum depressive symptoms: A meta-analysis of cohort studies. **Journal of Affective Disorders**, v. 253, p. 312–316, 15 jun. 2019.

ARONOFF, G. R. et al. Fluoxetine kinetics and protein binding in normal and impaired renal function. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 36, n. 1, p. 138–44, jul. 1984a.

ARONOFF, G. R. et al. Fluoxetine kinetics and protein binding in normal and impaired renal function. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 36, n. 1, p. 138–144, jul. 1984b.

ASSOCIATION, A. D. 14. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. **Diabetes Care**, v. 42, n. Supplement 1, p. S165–S172, 1 jan. 2019.

BEASLEY, C. M.; BOSOMWORTH, J. C.; WERNICKE, J. F. Fluoxetine: relationships among dose, response, adverse events, and plasma concentrations in the treatment of depression. **Psychopharmacology bulletin**, v. 26, n. 1, p. 18–24, jan. 1990.

BENHALIMA, K. et al. Glucose Intolerance after a Recent History of Gestational Diabetes Based on the 2013 WHO Criteria. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0157272, 10 jun. 2016.

BERGSTROM ET AL, R. F. Relative bioequivalence of a fluoxetine oral solution versus the marketed capsule. **Pharm. Res.**, v. 7, n. 3, p. 158, 1988.

BERGSTROM, R. F. et al. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: a review. **The British journal of psychiatry. Supplement**, n. 3, p. 47–50, set. 1988.

BRASIL, M. D. S. **Atenção ao pré-natal de baixo risco**. [s.l.: s.n.].

BUENO, J. S.; SILVA, B. J. G.; QUEIROZ, M. E. C. Enantioselective analysis of fluoxetine and norfluoxetine in plasma samples by protein precipitation and liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 7, p. 1221–1228, jul. 2011.

BUSTER, J. E.; ABRAHAM, G. E. The applications of steroid hormone radioimmunoassays to clinical obstetrics. **Obstetrics and gynecology**, v. 46, n. 4, p. 489–99, out. 1975.

CACCIA, S. et al. Influence of dose and route of administration on the kinetics of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine in the rat. **Psychopharmacology**, v. 100, n. 4, p. 509–14, jan. 1990.

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

CARVALHO, D. M. et al. Analysis of Fluoxetine and Norfluoxetine Enantiomers in Human Plasma and Amniotic Fluid by LC-MS / MS and Its Application to Clinical Pharmacokinetics in Pregnant Women. **Journal of Research Analytica**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2017.

CARVALHO, D. M. et al. Pharmacokinetics and Transplacental Transfer of Fluoxetine Enantiomers and Their Metabolites in Pregnant Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 4, p. 1003–1008, abr. 2019a.

CARVALHO, D. M. et al. Pharmacokinetics and Transplacental Transfer of Fluoxetine Enantiomers and Their Metabolites in Pregnant Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 4, p. 1003–1008, 29 abr. 2019b.

DAVISON, J. M.; HYTTEN, F. E. Glomerular filtration during and after pregnancy. **The Journal of obstetrics and gynaecology of the British Commonwealth**, v. 81, n. 8, p. 588–95, ago. 1974.

DAVISON, J. M.; HYTTEN, F. E. The effect of pregnancy on the renal handling of glucose. **British journal of obstetrics and gynaecology**, v. 82, n. 5, p. 374–81, maio 1975.

DEVANE, C. L. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 19, n. 4, p. 443–66, ago. 1999a.

DEVANE, C. L. Metabolism and Pharmacokinetics of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 19, n. 4, p. 443–466, 1 ago. 1999b.

DEVANE, C. L.; BOULTON, D. W. Great expectations in stereochemistry: focus on antidepressants. **CNS spectrums**, v. 7, n. 4 Suppl 1, p. 28–33, abr. 2002.

DEVROEY, P. et al. Placental production of estradiol and progesterone after oocyte donation in patients with primary ovarian failure. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 162, n. 1, p. 66–70, jan. 1990.

DU, R.-H. et al. Fluoxetine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation: Implication in Depression. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 9, 20 abr. 2016a.

DU, R.-H. et al. Fluoxetine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation: Implication in Depression. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 9, set. 2016b.

DUARTE, L. DE B. et al. Distribution of Bupivacaine Enantiomers and Lidocaine and Its Metabolite in the Placental Intervillous Space and in the Different Maternal and Fetal Compartments in Term Pregnant Women. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 51, n. 2, p. 212–217, 2011.

EAP, C. B. et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 330–4, jun. 2001a.

EAP, C. B. et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 330–4, jun. 2001b.

EWING, G. et al. Placental transfer of antidepressant medications: implications for postnatal adaptation syndrome. **Clinical pharmacokinetics**, v. 54, n. 4, p. 359–70, abr. 2015.

FISHER, S. D. et al. Factors associated with onset timing, symptoms, and severity of depression identified in the postpartum period. **Journal of Affective Disorders**, v. 203, p. 111–120, 1 out. 2016a.

FISHER, S. D. et al. Factors associated with onset timing, symptoms, and severity of depression identified in the postpartum period. **Journal of Affective Disorders**, v. 203, p. 111–120, 1 out. 2016b.

FJORDSIDE, L. et al. The stereoselective metabolism of fluoxetine in poor and extensive metabolizers of sparteine. **Pharmacogenetics**, v. 9, n. 1, p. 55–60, fev. 1999.

FRISHMAN, W. H.; ELKAYAM, U.; ARONOW, W. S. Cardiovascular drugs in pregnancy. **Cardiology clinics**, v. 30, n. 3, p. 463–91, ago. 2012a.

FRISHMAN, W. H.; ELKAYAM, U.; ARONOW, W. S. Cardiovascular Drugs in Pregnancy. **Cardiology Clinics**, Cardiovascular Disease in Pregnancy. v. 30, n. 3, p. 463–491, 1 ago. 2012b.

FULLER, R. W. et al. Comparison of norfluoxetine enantiomers as serotonin uptake inhibitors in vivo. **Neuropharmacology**, v. 31, n. 10, p. 997–1000, out. 1992.

GAO, S. et al. Fluoxetine and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 10, p. 2134, 2017a.

GAO, S. et al. Fluoxetine and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 10, p. 2134–2147, out. 2017b.

GILBERT, L. et al. How diet, physical activity and psychosocial well-being interact in women with gestational diabetes mellitus: an integrative review. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 19, n. 1, p. 60, 7 dez. 2019.

GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

GROSS, C.; HEN, R. The developmental origins of anxiety. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 5, n. 7, p. 545–52, jul. 2004.

HEIKKINEN, T. Pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine in pregnancy and lactation. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 73, n. 4, p. 330–337, abr. 2003.

HENRY, M. E. et al. A comparison of brain and serum pharmacokinetics of R-fluoxetine and racemic fluoxetine: A 19-F MRS study. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 8, p. 1576–83, ago. 2005.

HIEMKE, C.; HÄRTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacology & therapeutics**, v. 85, n. 1, p. 11–28, jan. 2000.

HINKLE, S. N. et al. A longitudinal study of depression and gestational diabetes in pregnancy and the postpartum period. **Diabetologia**, v. 59, n. 12, p. 2594–2602, 19 dez. 2016.

HORSCH, A. et al. Stress exposure and psychological stress responses are related to glucose concentrations during pregnancy. **British Journal of Health Psychology**, v. 21, n. 3, p. 712–729, set. 2016.

HORSCH, A. et al. Improving cardiometabolic and mental health in women with gestational diabetes mellitus and their offspring: study protocol for *MySweetHeart Trial* , a randomised controlled trial. **BMJ Open**, v. 8, n. 2, p. e020462, 27 fev. 2018.

KIM, J. et al. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. **British journal of clinical pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 155–63, fev. 2006a.

KIM, J. et al. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 155–163, fev. 2006b.

KOREN, G.; ORNOY, A. Clinical implications of selective serotonin reuptake inhibitors-selective serotonin norepinephrine reuptake inhibitors pharmacogenetics during pregnancy and lactation. **Pharmacogenomics**, v. 19, n. 14, p. 1139–1145, 14 ago. 2018a.

KOREN, G.; ORNOY, A. Clinical implications of selective serotonin reuptake inhibitors-selective serotonin norepinephrine reuptake inhibitors pharmacogenetics during pregnancy and lactation. **Pharmacogenomics**, v. 19, n. 14, p. 1139–1145, 1 set. 2018b.

KRZECZKOWSKI, J. E. et al. Maternal Metabolic Complications in Pregnancy and Offspring Behavior Problems at 2 Years of Age. **Maternal and Child Health Journal**, p. 1–10, 2 jan. 2019.

LAZAROU, J.; POMERANZ, B. H.; COREY, P. N. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 279, n. 15, p. 1200–5, 15 abr. 1998.

LEMBERGER, L. et al. Fluoxetine, pharmacology and physiologic disposition. **International Journal of Obesity**, v. 11 Suppl 3, p. 157–161, 1987a.

LEMBERGER, L. et al. Fluoxetine, pharmacology and physiologic disposition. **International journal of obesity**, v. 11 Suppl 3, p. 157–61, jan. 1987b.

LITTLE, B. B. Pharmacokinetics during pregnancy: evidence-based maternal dose formulation. **Obstetrics and gynecology**, v. 93, n. 5 Pt 2, p. 858–68, maio 1999.

LOEBSTEIN, R.; KOREN, G. Clinical Relevance of Therapeutic Drug Monitoring During Pregnancy. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 24, n. 1, p. 15–22, fev. 2002.

LOUGHHEAD, A. M. et al. Antidepressants in Amniotic Fluid: Another Route of Fetal Exposure. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 1, p. 145–147, 1 jan. 2006.

LUNDMARK, J.; REIS, M.; BENGTSSON, F. Serum concentrations of fluoxetine in the clinical treatment setting. **Therapeutic drug monitoring**, v. 23, n. 2, p. 139–47, abr. 2001.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, 6 set. 2018a.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, 6 set. 2018b.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, v. 32, n. 3, p. e427–e431, 1 jun. 2019.

MARGOLIS, J. M. et al. (R)-, (S)-, and Racemic Fluoxetine N-Demethylation by Human Cytochrome P450 Enzymes. **Drug Metab. Dispos.**, v. 28, n. 10, p. 1187–1191, 1 out. 2000.

MÅRTENSSON, B. et al. Fluoxetine treatment of depression. Clinical effects, drug concentrations and monoamine metabolites and N-terminally extended substance P in cerebrospinal fluid. **Acta psychiatrica Scandinavica**, v. 79, n. 6, p. 586–96, jun. 1989a.

MÅRTENSSON, B. et al. Fluoxetine treatment of depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 79, n. 6, p. 586–596, jun. 1989b.

MCCONATHY, J.; OWENS, M. J. Stereochemistry in Drug Action. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 5, n. 2, p. 70–73, abr. 2003.

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

NONACS, R.; COHEN, L. S. Depression during pregnancy: diagnosis and treatment options. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 63 Suppl 7, p. 24–30, jan. 2002.

OLIVIER, B.; VAN OORSCHOT, R. 5-HT1B receptors and aggression: A review. **European Journal of Pharmacology**, The Neuropsychopharmacology of Aggression and Addiction. v. 526, n. 1, p. 207–217, 5 dez. 2005.

PACE, R. et al. Association between gestational diabetes mellitus and depression in parents: a retrospective cohort study. **Clinical Epidemiology**, v. Volume 10, p. 1827–1838, dez. 2018.

PEREZ-CABALLERO, L. et al. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development. **Expert opinion on drug discovery**, v. 9, n. 5, p. 567–78, maio 2014a.

PEREZ-CABALLERO, L. et al. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 9, n. 5, p. 567–578, 1 maio 2014b.

PUBCHEM. **Fluoxetine - Compound Summary (CID 3386)**. Disponível em: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3386#x27>>. Acesso em: 3 out. 2012a.

PUBCHEM. **Fluoxetine - Compound Summary (CID 62857)**. Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=62857&loc=ec_rcs>. Acesso em: 3 out. 2012b.

RING, B. J. et al. Identification of the human cytochromes p450 responsible for in vitro formation of R- and S-norfluoxetine. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 297, n. 3, p. 1044–50, jun. 2001a.

RING, B. J. et al. Identification of the Human Cytochromes P450 Responsible for in Vitro Formation of R- and S-Norfluoxetine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 297, n. 3, p. 1044–1050, 1 jun. 2001b.

SAHU, P. K.; WANG, C.-H.; LEE, S.-L. Interaction of serotonin and fluoxetine: toward understanding the importance of the chirality of fluoxetine (S form and R form). **The journal of physical chemistry. B**, v. 113, n. 43, p. 14529–35, 29 out. 2009.

SCHMIDT, C. B. et al. Diabetes distress is associated with adverse pregnancy outcomes in women with gestational diabetes: a prospective cohort study. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 19, n. 1, p. 223, 3 jul. 2019.

SCHNEIDER, M. A.; DAVIES, M. C.; HONOUR, J. W. The timing of placental competence in pregnancy after oocyte donation. **Fertility and sterility**, v. 59, n. 5, p. 1059–64, maio 1993.

SCORDO, M. G. et al. Influence of CYP2C9, 2C19 and 2D6 genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 97, n. 5, p. 296–301, nov. 2005.

SIT, D. et al. Disposition of chiral and racemic fluoxetine and norfluoxetine across childbearing. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 30, n. 4, p. 381–6, ago. 2010.

SOMMI, R. W.; CRISMON, M. L.; BOWDEN, C. L. Fluoxetine: a serotonin-specific, second-generation antidepressant. **Pharmacotherapy**, v. 7, n. 1, p. 1–15, [s.d.].

SPINDELEGGGER, C. et al. Influence of escitalopram treatment on 5-HT 1A receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 11, p. 1040–50, nov. 2009a.

SPINDELEGGGER, C. et al. Influence of escitalopram treatment on 5-HT 1A receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders. **Molecular Psychiatry**, v. 14, n. 11, p. 1040–1050, nov. 2009b.

STAIANO, A. E. et al. Physical activity, mental health, and weight gain in a longitudinal observational cohort of nonobese young adults. **Obesity**, v. 24, n. 9, p. 1969–1975, set. 2016.

STIKA, C. S.; FREDERIKSEN, M. C. Drug Therapy in Pregnant and Nursing Women. In: **Principles of Clinical Pharmacology**. [s.l.: s.n.]. p. 339–356.

TANAKA, E.; HISAWA, S. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with psychoactive drugs: antidepressants and antipsychotics and the cytochrome P450 system. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, v. 24, n. 1, p. 7–16, fev. 1999.

TASNIF, Y.; MORADO, J.; HEBERT, M. F. Pregnancy-Related Pharmacokinetic Changes. **CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS**, v. 100, n. 1, p. 53–62, 2016.

THOMAS, A. E.; MCKAY, D. A.; CUTLIP, M. B. A nomograph method for assessing body weight. **The American journal of clinical nutrition**, v. 29, n. 3, p. 302–4, mar. 1976.

TULCHINSKY, D.; HOBEL, C. J. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estriol, progesterone, and 17 alpha-hydroxyprogesterone in human pregnancy. 3. Early normal pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 117, n. 7, p. 884–93, 1 dez. 1973.

WESTIN, A. A. et al. Selective serotonin reuptake inhibitors and venlafaxine in pregnancy: Changes in drug disposition. **PloS one**, v. 12, n. 7, p. e0181082, 2017a.

WESTIN, A. A. et al. Selective serotonin reuptake inhibitors and venlafaxine in pregnancy: Changes in drug disposition. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, 14 jul. 2017b.

WILHELM, S. M.; KALE-PRADHAN, P. B. Estimating creatinine clearance: a meta-analysis. **Pharmacotherapy**, v. 31, n. 7, p. 658–64, jul. 2011.

WONG, D. T. et al. Norfluoxetine enantiomers as inhibitors of serotonin uptake in rat brain. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 8, n. 4, p. 337–44, jun. 1993.

WONG, D. T.; FULLER, R. W.; ROBERTSON, D. W. Fluoxetine and its two enantiomers as selective serotonin uptake inhibitors. **Acta pharmaceutica Nordica**, v. 2, n. 3, p. 171–80, jan. 1990.

WOODY, C. A. et al. A systematic review and meta-regression of the prevalence and incidence of perinatal depression. **Journal of affective disorders**, v. 219, p. 86–92, set. 2017.

YOUN, H. et al. Obstetric risk factors for depression during the postpartum period in South Korea: a nationwide study. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 102, p. 15–20, 1 nov. 2017a.

YOUN, H. et al. Obstetric risk factors for depression during the postpartum period in South Korea: a nationwide study. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 102, p. 15–20, 1 nov. 2017b.

ANEXO A - Aprovação do departamento de ginecologia e obstetrícia

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 01 de novembro de 2012.

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Elaine Christine Dantas Moisés

Prezada Professora,

O projeto intitulado "Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadorasde diabetes mellitusgestacional", protocolado sob nº 386 de sua autoria foi analisado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia.

Informamos que o projeto foi APROVADO no dia 01/11/12 para ser desenvolvido em nosso Departamento, devendo ser enviado à Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto para análise, antes do início da coleta de dados.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Antônio Alberto Nogueira
Presidente da Comissão de Pesquisa do Departamento de
Ginecologia e Obstetrícia – FMRP-USP

ANEXO B – Aprovação do comitê de ética e pesquisa

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

Ribeirão Preto, 05 de dezembro de 2012

Ofício nº 4306/2012
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 14806/2012

Prezadas Pesquisadoras,

O trabalho intitulado **"ESTUDO FARMACOCINÉTICO E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TRANSPLENTÁRIA DA FLUOXETINA E SEU METABÓLITO EM GESTANTES PORTADORAS DE DIABETES MELLITUS GESTACIONAL"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 357ª Reunião Ordinária realizada em 03/12/2012, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (ICH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

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

Atenciosamente.

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

Ilustríssimas Senhoras

DANIELA MIARELLI CARVALHO

PROFª DRª ELAINE CHRISTINE DANTAS MOISÉS (Orientadora)

Depto. de Ginecologia e Obstetria

Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 – Ribeirão Preto – SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
PWA-00002733; IRB-00002186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título do estudo: Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional.

Nome da Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo–HCFMRP-USP -
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Nome completo da paciente: _____

Registro da paciente na instituição: _____

Pesquisadores: Orientadora: Profa Dra Elaine Christine Dantas Moisés
– (16) 3602-2587
Pós-graduanda: Daniela Miarelli Carvalho (FMRP-USP)
– (16) 3602-2583/98126-6663

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente Termo de Consentimento Pós-informado tem a finalidade de convidá-la a participar do estudo “**Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional**” e de solicitar a sua autorização para a administração de medicamentos, realização de procedimentos e exames complementares, conforme texto a seguir:

A senhora, se encontra sob seguimento de pré-natal em um dos ambulatórios de Gestação de Alto Risco do Setor de Obstetrícia do Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), onde será internada no momento oportuno para o parto de seu (sua) filho (a) pela via mais adequada.

Alguns remédios utilizados podem ser permanecer por um tempo maior ou menor no organismo da mulher durante a gravidez e podem ou não atravessar a placenta. O objetivo deste trabalho é avaliar a quantidade de fluoxetina, medicamento utilizado durante a gestação para tratamento de depressão, no seu organismo e se é transferido para o (a) seu (sua) filho (a) através da placenta. O estudo pretende verificar a influência que a gravidez e o diabetes *mellitus* podem causar nas ações deste remédio. Para isso, iremos comparar a passagem pela placenta da fluoxetina em parturientes portadoras ou não de diabetes *mellitus* gestacional.

Caso você concorde em participar desta pesquisa, nós iremos colher uma amostra de sangue da veia do seu braço para realização de exames que avaliam a função de órgãos do seu corpo, relacionados com as ações deste medicamento. Posteriormente, iremos administrar um comprimido de 20 mg de fluoxetina via oral (pela boca), e realizar coletas de amostras de urina (3 mL) e de sangue (medida de uma colher de sopa) da veia do seu braço em tempos predeterminados por 672 horas (28 dias) para dosagem do agente citado, sendo as primeiras 12 horas realizadas de maneira sequencial com a senhora internada, e as demais coletas em retornos ambulatoriais após 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21 e 28 dias.

No dia do seu parto, será administrada outra dose 20 mg de fluoxetina e coletadas amostras do sangue do cordão umbilical, após nascimento do seu filho (a) e saída da placenta, para dosar a quantidade deste medicamento presente na criança, além de amostras de líquido amniótico. Serão coletadas amostras de urina e leite materno 24 horas após a ingestão do remédio.

Os únicos inconvenientes desta pesquisa serão a permanência no hospital nas primeiras 12 horas, a necessidade de comparecimento nos retornos agendados e as picadas da agulha para a coleta das amostras. A pesquisa não interferirá na conduta clínica a ser conduzida no caso da senhora e não ocasionará riscos adicionais à senhora e ao (à) seu (sua) filho (a), uma vez que doses únicas e baixas de fluoxetina apresentarão concentrações no sangue abaixo de algum efeito terapêutico e/ou adverso observável.

Eu me comprometo a identificar os dados coletados a respeito da senhora de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso os seus registros serão identificadas por meio do número do seu prontuário médico. A senhora me passará todos os dados de como posso lhe encontrar e garanto fornecer as informações de seu interesse. Agradeço a colaboração, colocando-me à disposição para os esclarecimentos que se fizerem necessário.

Atenciosamente,

Daniela Miarelli Carvalho

HCFMRP-USP, Av. Bandeirantes, 3900, Telefone (16) 3602-2583/8126-6663

Certificado de Consentimento

Eu, _____
_____, Prontuário: _____, moradora na rua _____, nº _____, bairro _____, cidade _____, telefone _____, abaixo assinado, declaro que os objetivos e detalhes deste estudo foram explicados a mim. Eu entendo que não sou obrigada a participar do estudo e que posso desistir de continuar nele a qualquer momento, sem que isso prejudique meu atendimento médico. Meu nome não será utilizado nos documentos deste estudo e a confidencialidade dos meus registros médico garantida.

Tendo recebido as informações acima, concordo em participar do estudo “Estudo farmacocinético e análise da distribuição transplacentária da fluoxetina e seu metabólito em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional” e estou ciente da liberdade de me expressar durante o mesmo, favorável ou contrariamente aos procedimentos e de desistir do estudo em qualquer fase do mesmo.

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

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Assinatura da paciente

Assinatura do responsável legal (se aplicável)

APÊNDICE B – Características individuais das gestantes investigadas.

Tabela I – Características individuais das dez gestantes grupo Controle

Gestantes	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	IG durante a coleta (s;d)	IG no dia do parto (s;d)	Medicamentos Associados
1	30	28	34s	40s6d	1,2
2	18	32	34s6d	41s	1,2
3	36	32	37s	40s5d	2
4	40	28	34s	38s3d	1,2
5	19	22	35s	40s	1,2
6	31	30	31s	40s6d	1,2
7	30	24	32s4d	40s	1,2,3
8	34	24	31s1d	39s1d	1,2
9	40	32	32s	38s	1,2
10	19	34	35s1d	38s5d	1,2

IMC: índice de massa corporal; IG: idade gestacional (s: semanas; d: dias); fármacos associados:
1: ácido fólico; 2: sulfato ferroso; 3: Espiramicina

Tabela I – Características individuais das dez gestantes do grupo DMG

Gestantes	Idade (anos)	IMC (kg/m ²)	IG durante a coleta (s;d)	IG no dia do parto (s;d)	Medicamentos Associados
1	38	25	35s1d	37s1d	1,2
2	31	28	31s6d	40s	1,2
3	33	28	31s	39s2d	1,2,4
4	18	38	31s3d	38s4d	1,2
5	38	35	32s1d	38s6d	1,2
6	35	26	29s5d	39s	1,2,4
7	43	35	33s	38s5d	1,2
8	26	29	33s1d	39s4d	1,2
9	31	31	30s4d	39	1,2
10	29	39	34s3d	39s1d	1,2

IMC: índice de massa corporal; IG: idade gestacional (s: semanas; d: dias); fármacos associados:
1: ácido fólico; 2: sulfato ferroso; 3: Espiramicina; 4: INPH

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

Tabela II – Dados bioquímicos individuais das dez gestantes grupo controle

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ureia (mg/dL)	11,00	-	13,00	20,00	13,00	7,00	12,00	17,00	9,00	13,99
Creatinina (mg/dL)	0,61	-	0,58	0,45	0,54	0,59	0,50	0,42	0,55	0,50
Clearance creatinina	161,69	-	154,32	174,46	171,95	157,91	198,82	193,33	172,04	130,69
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,40	-	1,10	0,79	0,62	0,50	0,23	0,26	0,26	0,35
Bilirrubina Direta(mg/dL)	0,10	-	0,19	0,18	0,17	0,11	0,08	0,06	0,09	0,11
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0,30	-	0,91	0,61	0,46	0,39	0,15	0,20	0,17	0,25
TGO/AST (U/L)	20,20	-	12,20	15,00	12,80	17,90	14,70	10,60	15,60	11,09
TGP/ALT (U/L)	8,10	-	4,50	10,80	17,50	15,00	15,10	7,90	11,60	15,24
Albumina (g/dL)	3,60	-	3,50	4,10	3,90	3,60	3,70	3,60	3,80	3,65
Glicemia (mg/dL)	82,00	-	74,00	89,00	68,00	91,00	84,00	72,00	74,00	71,00
Hb glicosilada (%)	-	-	5,70	5,10	4,50	5,20	5,40	4,60	5,20	4,50
Gama-GT (mg/dL)	10,00	-	13,00	13,00	12,00	10,00	13,00	6,00	4,20	16,00
Alfa1-glicoproteína ácida(mg/dL)	45,70	-	31,60	59,60	45,00	45,10	72,40	74,30	54,60	-
Fosfatase Alcalina (U/L)	266,00	-	267,00	192,00	264,00	246,00	176,00	157,00	248,00	384
Proteínas totais(g/dL)	5,80	-	6,00	7,50	6,70	5,80	6,40	6,10	6,40	5,72
Hemoglobina (g/dL)	11,30	8,60	10,60	13,30	13,00	12,40	10,70	10,90	12,10	-
Hematócrito (%)	34,00	26,00	32,00	40,00	38,00	36,00	31,00	32,00	35,00	-
Plaquetas (x10 ³ /μL)	196,00	269,00	188,00	343,00	167,00	246,00	283,00	130,00	229,00	-

Tabela II – Dados bioquímicos individuais das dez gestantes do grupo DMG

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ureia (mg/dL)	15,00	18,00	26,00	13,00	14,00	13,00	23,00	16,00	18,00	18,00
Creatinina (mg/dL)	0,65	0,57	0,97	0,57	0,61	0,55	0,59	0,66	0,67	0,53
Clearance creatinina	115,88	142,79	103,53	254,95	165,52	133,76	172,74	171,08	144,53	120,43
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,25	0,33	0,38	0,30	0,35	0,24	0,23	0,40	0,20	0,43
Bilirrubina Direta(mg/dL)	0,09	0,08	0,12	0,08	0,06	0,05	0,05	0,10	0,05	0,13
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0,16	0,25	0,26	0,21	0,29	0,19	0,19	0,30	0,16	0,30
TGO/AST (U/L)	25,20	8,30	19,50	11,60	9,20	10,60	9,20	8,50	4,80	35,00
TGP/ALT (U/L)	23,90	9,20	18,10	11,80	12,80	13,20	9,30	13,20	10,40	38,00
Albumina (g/dL)	3,60	3,90	3,90	4,00	-	4,00	3,90	3,50	3,90	-
Glicemia (mg/dL)	99,00	83,00	92,00	86,00	88,00	75,00	107,00	85,00	85,00	90,00
Hb glicosilada (%)	6,70	5,80	6,20	4,90	5,40	5,50	6,10	5,60	5,00	4,90
Gama-GT (mg/dL)	36,00	14,00	94,00	8,00	-	14,00	19,00	18,00	10,00	-
Alfa1-glicoproteína ácida(mg/dL)	53,60	64,10	44,50	-	-	68,10	56,00	58,30	39,80	-
Fosfatase Alcalina (U/L)	737,00	311,00	322,00	-	-	206,00	290,00	307,00	286,00	-
Proteínas totais(g/dL)	6,20	6,30	6,40	6,90	5,90	6,50	6,70	6,60	5,50	-
Hemoglobina (g/dL)	11,50	12,50	14,70	11,50	12,30	12,80	13,60	12,00	11,80	-
Hematócrito (%)	35,00	38,00	46,00	36,00	36,00	37,00	40,00	35,00	33,00	-
Plaquetas (x10 ³ /μL)	214,00	185,00	219,00	228,00	181,00	161,00	219,00	342,00	251,00	-

APÊNDICE D – Características dos recém-nascidos das gestantes investigadas.

Tabela III - Características individuais dos recém-nascidos das dez gestantes grupo controle

Gestantes	Peso do RN (kg)	Estatura (cm)	Peso da placenta (g)	Apgar (1/5 minutos)
1	3,81	53,50	855	9/10
2	3,00	47,00	500	9/10
3	3,35	49,50	600	9/9
4	2,40	45,00	420	10/10
5	3,30	51,50	750	10/10
6	3,20	50,00	430	9/10
7	3,22	49,00	430	10/10
8	3,18	50,00	495	9/10
9	3,30	48,00	550	10/10
10	3,10	49,50	490	10/10

Tabela III - Características individuais dos recém-nascidos das dez gestantes grupo DMG

Gestantes	Peso do RN (kg)	Estatura (cm)	Peso da placenta (g)	Apgar (1/5 minutos)
1	2,99	46,5	500	9/9
2	2,92	48	510	10/10
3	3,49	52	635	10/10
4	3,26	48,5	505	3/6
5	3,90	51	555	8/10
6	2,70	46,5	490	9/10
7	3,25	49,5	505	8/10
8	3,90	50	605	8/9
9	3,44	49	515	9/10
10	2,97	47,5	505	9/10

APÊNDICE G – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.

Tabela VI – Valores individuais das concentrações plasmática *versus* tempo do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina

(S)-(+)-Norfluoxetina (ng/mL)	Gestante 1	Gestante 2	Gestante 3	Gestante 4	Gestante 5	Gestante 6	Gestante 7	Gestante 8	Gestante 9	Gestante 10
T2	1,84	0,04	2,65	1,52	6,39	3,38	4,13	1,30	3,45	0,18
T3	3,43	0,11	3,02	3,01	10,56	4,82	10,36	2,07	5,90	0,14
T4	3,92	0,33	3,89	3,59	8,60	5,79	12,46	2,77	6,12	0,12
T5	5,34	0,84	5,62	4,58	8,11	-	15,33	2,95	5,32	-
T6	5,47	1,38	5,32	4,13	8,85	4,77	12,78	2,60	8,19	0,16
T7	4,94	1,47	5,54	5,42	7,82	5,76	14,26	2,98	7,18	0,15
T8	5,45	1,65	5,90	4,46	5,99	5,97	14,20	3,19	4,55	0,16
T10	5,82	1,73	6,76	3,62	7,53	7,27	10,91	4,12	4,55	0,06
T12	5,03	1,62	6,13	5,11	7,33	8,26	10,97	3,64	5,89	0,09
T24	4,74	2,18	6,39	5,33	8,40	4,87	9,15	5,08	5,11	0,17
T48	4,42	3,04	4,22	5,02	5,82	5,69	5,33	5,89	3,63	0,04
T72	3,21	2,75	5,15	5,63	4,68	4,23	4,07	5,59	3,19	0,10
T96	2,92	2,94	5,27	4,00	3,87	4,61	3,34	4,83	1,90	0,14
T168	1,39	1,90	3,66	3,13	2,00	2,50	1,04	4,26	0,48	0,05
T336	0,28	0,98	-	0,86	0,33	0,53	-	2,57	0,09	0,09
T504	-	0,28	-	0,35	-	0,12	-	1,79	-	-
T672	-	0,13	-	-	-	-	-	0,60	-	-

APÊNDICE H – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo controle.

Tabela VII – Valores individuais das concentrações plasmática *versus* tempo do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina

(R)-(-)- Norfluoxetina (ng/mL)	Gestante 1	Gestante 2	Gestante 3	Gestante 4	Gestante 5	Gestante 6	Gestante 7	Gestante 8	Gestante 9	Gestante 10
T2	0,66	0,04	0,69	0,66	2,57	2,02	1,45	0,83	1,11	0,98
T3	1,32	0,12	0,82	1,39	4,25	2,91	4,14	1,29	2,07	2,21
T4	1,58	0,38	1,21	1,62	3,50	3,35	5,27	1,65	2,15	2,17
T5	2,30	1,04	1,95	2,07	3,13	-	7,17	1,69	2,12	3,47
T6	2,47	1,75	1,88	1,87	3,52	2,51	6,49	1,51	3,20	1,59
T7	2,32	1,86	1,92	2,44	3,13	3,04	7,60	1,64	2,78	1,12
T8	2,65	2,07	2,04	2,07	2,30	3,02	7,97	1,74	1,81	2,91
T10	2,93	1,96	2,19	1,68	3,13	3,61	6,59	2,22	1,84	4,90
T12	2,63	1,66	1,99	2,24	2,94	4,07	6,75	2,00	2,76	1,86
T24	2,71	1,86	2,55	2,56	3,66	2,59	7,48	2,75	2,73	3,09
T48	3,04	2,01	1,89	2,35	2,70	2,94	5,72	3,29	2,09	3,63
T72	2,37	1,75	2,44	2,81	2,48	2,41	5,51	3,26	1,73	3,61
T96	2,20	1,69	2,53	1,87	1,99	2,18	5,44	2,90	0,97	2,36
T168	1,09	0,83	1,75	1,41	1,02	1,26	3,15	2,69	0,22	1,42
T336	0,21	0,26	-	0,20	0,18	0,22	0,96	1,59	-	0,26
T504	-	0,08	-	0,10	-	-	0,27	1,14	-	0,33
T672	-	0,14	-	-	-	-	0,11	0,41	-	-

APÊNDICE I – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Fluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.

Tabela IV – Valores individuais das concentrações plasmática *versus* tempo do enantiômero (S)-(+)-Fluoxetina

(S)-(+)- Fluoxetina (ng/mL)	Gestante 1	Gestante 2	Gestante 3	Gestante 4	Gestante 5	Gestante 6	Gestante 7	Gestante 8	Gestante 9	Gestante 10
T2	11,16	11,84	6,71	2,19	8,13	19,96	11,86	8,27	7,10	4,38
T3	11,91	8,96	6,92	3,15	7,03	15,26	10,12	7,35	4,41	8,88
T4	9,85	5,55	3,55	2,29	5,44	13,33	14,21	5,92	4,26	8,16
T5	10,22	5,21	4,08	2,42	5,22	12,23	8,92	6,49	3,50	6,32
T6	8,24	4,32	3,39	1,83	3,60	10,93	9,14	5,63	3,15	5,80
T7	8,38	3,70	3,38	1,35	3,14	10,69	7,51	4,77	1,50	5,47
T8	7,67	2,95	2,75	1,25	2,25	9,49	8,07	3,46	2,80	3,47
T10	7,58	2,62	1,97	0,66	1,85	9,61	7,96	3,64	2,28	3,90
T12	4,83	2,36	1,71	0,53	1,87	9,22	6,94	3,27	2,27	3,16
T24	-	-	1,15	0,20	0,71	7,89	5,90	1,32	1,13	1,94
T48	2,26	0,13	0,30	0,09	0,19	8,56	4,93	0,41	0,42	0,72
T72	1,20	0,03	0,07	-	0,05	7,14	3,94	0,12	0,12	0,33
T96	0,94	-	-	-	-	6,34	4,45	0,05	0,05	-
T168	0,09	-	-	-	-	4,21	3,62	-	-	0,02
T336	-	-	-	-	-	1,92	2,09	-	-	-
T504	-	-	-	-	-	0,77	1,06	-	-	-
T672	-	-	-	-	-	0,34	0,63	-	-	-

APÊNDICE K – Dados individuais do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.

Tabela VI – Valores individuais das concentrações plasmática *versus* tempo do enantiômero (S)-(+)-Norfluoxetina

(S)-(+)-Norfluoxetina (ng/mL)	Gestante 1	Gestante 2	Gestante 3	Gestante 4	Gestante 5	Gestante 6	Gestante 7	Gestante 8	Gestante 9	Gestante 10
T2	1,79	8,14	4,00	3,25	4,88	0,26	0,07	3,99	3,94	1,43
T3	2,65	11,50	6,93	7,69	7,20	0,26	0,05	4,77	3,83	3,46
T4	2,93	9,05	4,59	8,38	8,16	0,35	0,32	5,56	3,69	3,12
T5	3,77	11,17	6,37	11,03	9,81	0,24	0,31	6,74	3,24	4,41
T6	3,38	11,44	6,54	10,74	7,52	0,25	0,37	7,65	3,67	6,24
T7	4,23	11,21	6,72	9,24	8,15	0,21	0,25	8,19	1,84	4,24
T8	4,14	10,68	5,62	10,58	5,29	0,19	0,16	6,25	3,44	3,54
T10	4,69	11,07	5,19	8,32	6,02	0,26	0,15	8,40	3,67	4,38
T12	4,17	11,72	6,56	9,24	8,56	0,42	0,18	7,23	4,01	3,33
T24	-	-	8,11	7,14	8,43	1,01	0,17	6,41	3,62	2,80
T48	5,36	6,97	7,47	4,80	7,70	1,18	0,20	5,87	4,10	2,13
T72	5,24	6,17	5,67	3,34	5,97	0,96	0,21	4,30	3,18	1,41
T96	7,35	4,15	4,99	2,62	4,63	0,83	0,33	4,44	2,58	1,42
T168	2,46	2,51	3,35	0,95	2,66	0,91	0,59	2,47	1,43	0,75
T336	0,70	0,52	1,32	0,14	0,57	0,41	0,42	1,23	0,36	0,12
T504	-	0,09	0,31	0,09	0,11	0,25	0,37	0,33	0,09	0,29
T672	-	-	0,06	0,12	-	-	0,26	0,10	0,20	0,17

APÊNDICE L – Dados individuais do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina após a ingestão oral, de dose única 20 mg fluoxetina racêmica nas dez gestantes do grupo DMG.

Tabela VII – Valores individuais das concentrações plasmática *versus* tempo do enantiômero (R)-(-)-Norfluoxetina

(R)-(-)- Norfluoxetina (ng/mL)	Gestante 1	Gestante 2	Gestante 3	Gestante 4	Gestante 5	Gestante 6	Gestante 7	Gestante 8	Gestante 9	Gestante 10
T2	1,42	4,72	1,11	1,14	2,26	1,84	0,65	1,68	2,31	0,51
T3	2,23	3,87	1,03	3,08	3,58	1,86	0,79	2,28	2,18	1,58
T4	2,20	4,79	1,08	3,26	3,95	1,63	1,35	2,52	1,99	2,01
T5	2,57	4,62	0,65	4,30	4,91	1,93	1,07	3,23	1,57	2,29
T6	2,21	4,63	0,93	4,23	3,65	1,72	1,52	3,99	1,88	3,14
T7	2,23	4,65	0,41	4,30	4,00	1,69	1,30	4,00	0,97	2,06
T8	2,19	4,62	0,66	4,43	2,46	1,56	1,30	3,11	1,55	2,03
T10	2,65	5,04	2,38	3,80	2,80	1,57	1,38	4,39	1,83	2,32
T12	2,08	-	1,21	3,91	3,76	1,47	1,29	3,51	1,78	1,67
T24	-	4,16	0,66	3,61	4,55	1,68	1,01	3,79	1,80	2,12
T48	2,19	3,82	0,95	3,06	4,46	2,75	0,94	3,94	2,19	1,90
T72	1,73	2,63	1,02	2,25	3,75	2,18	0,80	3,18	1,80	1,52
T96	2,74	1,39	1,13	1,90	2,82	1,96	1,01	3,58	1,43	1,37
T168	0,38	0,26	0,83	0,92	1,73	1,00	0,71	2,11	0,83	1,21
T336	0,08	-	0,78	0,19	0,45	0,56	0,15	1,24	0,31	0,68
T504			0,40	0,09			0,30	0,48	0,06	0,33
T672			1,06	0,12				0,24		-

APÊNDICE M – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

Tabela VIII – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (S)-(+)-fluoxetina

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	3,13	6,82	6,05	5,94	11,40	11,53	2,11	11,77	4,95	4,92
T_{max} (h)	3,01	8,18	1,86	4,17	1,39	0,81	2,70	2,35	2,04	2,20
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	40,42	377,19	94,64	148,15	97,81	165,20	21,03	351,22	38,66	77,20
K_a (h ⁻¹)	0,45	0,15	0,11	0,36	0,63	0,16	0,39	0,63	0,23	0,54
T_{1/2α} (h)	1,54	4,66	6,45	1,94	1,10	4,29	1,78	1,09	3,01	1,27
K_{el} (h ⁻¹)	0,09	0,01	0,04	0,04	0,06	0,04	0,05	0,03	0,10	0,04
t_{1/2β} (h)	8,07	48,08	19,04	17,19	11,38	17,22	13,74	25,35	7,24	19,92
Vd/f (L)	2365,82	1559,88	1837,41	1481,93	1235,00	1165,79	4399,20	974,52	1506,48	2666,65
Vd/f/Kg (L/Kg)	31,15	18,37	25,20	22,28	19,00	16,10	57,47	14,31	18,80	33,27
Cl/f (L/h)	247,41	26,51	105,66	67,50	102,24	60,53	475,41	28,47	258,67	129,53
Cl/f/Kg (L/h/Kg)	3,26	0,31	1,45	1,02	1,57	0,84	6,21	0,42	3,23	1,62

Tabela IX – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero da (R)-(-)-Fluoxetina

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	4,53	5,09	5,94	6,24	8,93	9,38	5,19	10,79	5,68	3,61
T_{max} (h)	5,08	9,14	4,51	5,44	1,61	1,94	4,41	2,83	3,16	2,41
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	124,50	233,86	209,24	265,18	152,65	260,75	103,26	476,64	84,85	85,95
K_a (h ⁻¹)	0,30	0,13	0,11	0,25	0,78	0,76	0,24	0,56	0,36	0,50
T_{1/2α} (h)	2,33	5,37	6,13	2,76	0,89	0,92	2,91	1,23	1,93	1,39
K_{el} (h ⁻¹)	0,04	0,02	0,02	0,02	0,04	0,03	0,04	0,02	0,04	0,02
t_{1/2β} (h)	17,53	42,38	32,84	30,66	18,93	24,72	17,59	36,28	18,55	28,77
Vd/f (L)	1817,67	1928,47	1915,52	1545,92	1571,97	1283,89	1757,95	1047,84	1997,19	4131,66
Vd/f/Kg (L/Kg)	23,93	22,71	26,28	23,25	24,18	17,73	22,96	15,39	24,92	51,55
Cl/f (L/h)	80,32	42,76	47,79	37,71	65,51	38,35	96,84	20,98	117,86	116,35
Cl/f/Kg (L/h/Kg)	1,06	0,50	0,66	0,57	1,01	0,53	1,27	0,31	1,47	1,45

APÊNDICE N – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

Tabela X – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (S)-(+)-fluoxetina

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	11,52	16,37	7,15	2,82	8,12	26,97	12,10	8,74	10,10	7,37
T_{max} (h)	2,48	0,81	1,63	2,55	1,82	0,67	2,49	1,20	0,69	3,17
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	344,44	102,35	83,00	29,16	76,85	2033,88	1837,25	116,89	94,01	141,49
K_a (h ⁻¹)	0,47	0,56	0,60	0,41	0,49	0,51	0,22	0,18	0,63	0,37
T_{1/2α} (h)	1,47	1,25	1,15	1,70	1,40	1,35	3,16	3,75	1,10	1,86
K_{el} (h ⁻¹)	0,03	0,07	0,05	0,03	0,06	0,01	0,00	0,05	0,05	0,03
t_{1/2β} (h)	26,95	9,54	12,74	22,39	12,08	137,87	207,16	14,04	15,39	21,42
Vd/f (L)	1047,53	970,80	1797,34	5055,27	1545,35	955,78	1584,44	1379,67	1977,12	1648,56
Vd/f/Kg (L/Kg)	16,75	15,35	22,61	50,10	18,43	16,10	17,80	16,44	26,27	15,28
Cl/f (L/h)	29,03	97,70	120,49	342,90	130,12	4,92	5,44	85,55	106,37	70,68
Cl/f/Kg (L/h/Kg)	0,46	1,54	1,52	3,40	1,55	0,08	0,06	1,02	1,41	0,65

Tabela XI – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero da (R)-(-)-Fluoxetina

Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	8,12	13,28	7,71	3,34	8,02	15,69	8,86	7,35	8,30	6,88
T_{max} (h)	2,74	0,77	1,89	4,12	2,01	1,21	2,82	3,04	0,97	2,80
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	266,07	183,76	219,42	61,43	132,31	378,62	315,63	212,09	135,39	150,91
K_a (h ⁻¹)	0,49	0,21	0,70	0,18	0,61	0,39	0,36	0,13	0,83	0,31
T_{1/2α} (h)	1,42	3,24	0,99	3,93	1,14	1,77	1,93	5,20	0,84	2,25
K_{el} (h ⁻¹)	0,02	0,04	0,02	0,03	0,04	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02
t_{1/2β} (h)	28,47	18,88	27,99	19,82	18,46	35,13	45,16	23,70	26,12	30,18
Vd/f (L)	1436,08	1174,16	1715,50	3026,07	1674,80	1213,19	1836,06	1452,48	2505,56	2586,76
Vd/f/Kg (L/Kg)	22,96	18,56	21,58	29,99	19,97	20,44	20,63	17,31	33,30	23,98
Cl/f (L/h)	37,58	54,42	45,57	162,79	75,58	26,41	31,68	47,15	73,86	66,27
Cl/f/Kg (L/h/Kg)	0,60	0,86	0,57	1,61	0,90	0,45	0,36	0,56	0,98	0,61

APÊNDICE O – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

Tabela XII – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (S)-(+)-norfluoxetina

Gestante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	5,72	3,25	6,42	6,22	8,65	7,39	12,72	5,80	6,29	
T_{max} (h)	13,66	49,90	17,17	20,81	4,61	13,64	7,69	33,10	7,26	
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	689,93	802,81	1794,1	1172,1	942,70	996,34	888,78	2171,3	520,39	
K_{el} (h ⁻¹)	0,009	0,005	0,004	0,006	0,010	0,008	0,016	0,003	0,013	
T_{1/2β} (h)	73,43	131,57	181,41	115,21	72,30	83,48	42,75	235,42	52,06	

Tabela XIII – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (R)-(-)-norfluoxetina

Gestante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	3,53	2,06	2,57	3,10	3,64	3,69	8,00	3,29	3,23	3,73
T_{max} (h)	23,18	21,65	25,96	22,86	5,69	10,71	16,35	32,16	14,21	19,55
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	477,53	498,55	1179,1	502,09	451,28	498,58	1338,1	1360,3	246,12	718,42
K_{el} (h ⁻¹)	0,009	0,005	0,002	0,007	0,008	0,008	0,007	0,003	0,017	0,006
T_{1/2β} (h)	75,99	152,13	299,61	95,15	81,87	85,85	103,94	263,11	41,69	119,00

APÊNDICE P – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

Tabela XIV – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (S)-(+)-norfluoxetina

Gestante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	7,90	11,08	7,69	9,23	9,16	1,03	0,91	7,27	4,20	3,97
T_{max} (h)	30,60	6,31	11,91	7,90	10,20	43,93	65,38	11,15	5,30	8,95
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	1250,48	1250,93	1384,50	775,33	1146,33	385,82	460,82	1338,35	601,09	330,55
K_{el} (h ⁻¹)	0,008	0,009	0,006	0,013	0,009	0,003	0,002	0,006	0,007	0,014
T_{1/2β} (h)	85,62	73,72	116,24	52,46	79,36	226,23	302,07	119,58	95,47	51,07

Tabela XV – Dados individuais dos parâmetros farmacocinéticos do enantiômero (R)-(-)-norfluoxetina

Gestante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros Farmacocinéticos										
C_{max} (ng/mL)	3,91	5,33	1,33	4,23	4,69	2,08	1,26	4,19	2,09	2,24
T_{max} (h)	18,49	9,87	9,52	11,24	11,81	7,15	10,67	17,00	1,31	11,41
AUC^{0-∞} (ng.h/mL)	402,63	649,62	620,04	484,43	738,79	643,85	402,38	1144,86	401,74	580,73
K_{el} (h ⁻¹)	0,012	0,009	0,002	0,010	0,007	0,003	0,003	0,004	0,005	0,004
T_{1/2β} (h)	57,02	77,31	317,34	71,21	100,65	209,10	214,61	177,01	132,64	171,43

APÊNDICE Q – Gráficos individuais das concentrações *versus* o tempo para (S)-(+)-FLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

APÊNDICE R – Gráficos individuais das concentrações *versus* o tempo para (R)-(-)-FLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

APÊNDICE S: Gráficos individuais das concentrações *versus* o tempo para (S)-(+)-NorFLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

APÊNDICE T: Gráficos individuais das concentrações *versus* o tempo para (R)-(-)-NorFLX das dez gestantes do grupo controle e grupo DMG tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica.

APÊNDICE U: – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto.

Tabela XVI – Dados individuais das relações materno e fetais dos enantiômeros da fluoxetina

(S)-(+)-Fluoxetina												(R)-(-)-Fluoxetina									
Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Compartimentos Materno-Fetais																					
Veia umbilical/ Veia materna	0,52	0,58	0,48	0,31	0,31	0,48	0,26	0,43	0,44	-		0,33	0,51	0,27	0,28	0,30	0,39	0,24	0,34	0,36	-
Veia umbilical/ Espaço intervilo	0,39	0,39	0,37	0,30	0,41	0,13	0,20	0,42	0,39	-		0,27	0,27	0,19	0,21	0,39	0,10	0,19	0,30	0,34	-
Espaço intervilo/ Veia materna	0,86	1,01	0,64	0,71	0,74	0,36	1,13	1,13	0,71	-		1,20	1,88	1,38	1,30	0,77	3,71	1,28	1,14	1,06	-
Artéria umbilical/ Veia umbilical	1,33	1,46	1,30	1,05	0,76	3,67	1,30	1,01	1,12	-		0,86	1,04	0,70	0,92	0,67	0,37	1,10	1,08	0,77	-

APÊNDICE V – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo controle, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto.

Tabela XVII – Dados individuais das relações materno e fetais dos enantiômeros da norfluoxetina

(S)-(+)-Norfluoxetina											(R)-(-)-Norfluoxetina									
Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Compartimentos Materno-Fetais																				
Veia umbilical/ Veia materna	0,37	0,50	0,23	0,30	0,24	0,94	0,14	0,42	0,39	1,19	0,32	0,44	0,20	0,28	0,28	0,47	0,13	0,39	0,32	0,45
Veia umbilical/ Espaço intervilo	0,36	0,34	0,25	0,38	0,33	0,22	0,17	0,44	0,40	0,81	0,27	0,29	0,19	0,26	0,38	0,19	0,15	0,37	0,27	1,27
Espaço intervilo/ Veia materna	2,79	2,92	3,93	2,62	2,99	4,65	5,80	2,28	2,49	1,24	1,16	1,54	1,06	1,09	0,74	2,53	0,89	1,06	1,16	0,35
Artéria umbilical/ Veia umbilical	1,04	1,08	0,75	0,64	0,86	1,18	1,11	0,96	0,76	3,91	1,06	1,01	0,76	0,70	0,80	0,88	1,38	0,87	1,06	-

APÊNDICE W – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da fluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto.

Tabela XVIII – Dados individuais das relações materno e fetais dos enantiômeros da fluoxetina

(S)-(+)-Fluoxetina											(R)-(-)-Fluoxetina									
Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Compartimentos Materno-Fetais																				
Veia umbilical/ Veia materna	0,37	-	0,21	0,01	0,56	0,49	0,27	0,44	0,22	0,83	0,34	1,00	0,14	0,02	0,37	0,29	0,26	0,29	0,17	0,46
Veia umbilical/ Espaço intervilo	0,31	-	0,52	0,32	0,25	0,61	0,51	0,47	0,35	0,58	0,25	0,13	0,34	0,33	0,17	0,36	0,41	0,33	0,28	0,35
Espaço intervilo/ Veia materna	1,19	-	0,41	0,04	2,24	0,80	0,54	0,93	0,64	1,44	1,35	7,50	0,42	0,05	2,23	0,81	0,65	0,87	0,60	1,31
Artéria umbilical/ Veia umbilical	0,40	-	0,46	1,00	1,01	0,86	0,68	0,73	0,26	0,26	0,42	5,00	0,60	1,11	0,99	0,93	0,73	0,69	0,31	0,31

APÊNDICE X – Dados individuais das razões feto-mãe dos enantiômeros da norfluoxetina das dez gestantes do grupo DMG, tratadas com dose única, oral de 20mg de fluoxetina racêmica no momento do parto.

Tabela XIX – Dados individuais das relações materno e fetais dos enantiômeros da norfluoxetina

(S)-(+)-Norfluoxetina											(R)-(-)-Norfluoxetina									
Gestantes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Compartimentos Materno-Fetais																				
Veia umbilical/ Veia materna	0,35	-	0,08	0,01	0,30	0,57	0,56	0,35	0,18	1,06	0,24	-	0,26	0,02	0,32	0,42	0,29	0,29	0,15	2,81
Veia umbilical/ Espaço intervilo	0,29	0,53	0,21	1,50	0,20	0,61	0,53	0,42	0,35	1,23	0,22	-	0,59	0,64	0,18	0,48	0,45	0,36	0,25	2,17
Espaço intervilo/ Veia materna	1,21	3,00	0,37	0,01	1,50	0,93	1,06	0,82	0,52	0,81	1,11	5,00	0,45	0,03	1,72	0,88	0,65	0,81	0,58	1,30
Artéria umbilical/ Veia umbilical	0,71	3,13	1,40	0,73	1,16	0,89	0,92	0,74	0,28	0,58	0,47	-	1,00	0,78	1,09	0,88	0,67	0,76	0,28	0,60

APÊNDICE Y – Artigo Original**Pharmacokinetics and transplacental distribution of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers in pregnant women with gestational diabetes mellitus**

Daniela Miarelli Carvalho^a, MS; Dr. Glauco Henrique Balthazar Nardotto^b, Ph.D.; Gabriela Campos de Oliveira Filgueira^a, Ph.D.; Geraldo Duarte^a, Ph.D.; Ricardo Carvalho Cavalli^a, Ph.D.; Vera Lucia Lanchote^b, Ph.D.; Elaine Christine Dantas Moisés^a, Ph.D.

^aDepartment of Obstetrics and Gynecology, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

^bDepartment of Clinical, Toxicologic and Bromatologic Analyses, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

Glauco Nardotto: ORCID: 0000-0001-7024-4252

Autor of correspondence:

Elaine Christine Dantas Moisés

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia FMRP-USP, 8^o floor, Avenida Bandeirantes, 3900, Campus da USP, Ribeirão Preto, SP, Brazil, Postal code: 14049-900, Tel: +55-16-3602-2587, Fax: +55-16-3633-0946, e-mail: elainemoises@fmrp.usp.br

Keywords:

fluoxetine, norfluoxetine, enantiomers, pharmacokinetics, pregnancy, placental transfer

Abstract

Twelve percent of pregnant women with depression also have gestational diabetes mellitus (GDM). Considering fluoxetine is the most commonly prescribed class of selective serotonin receptor inhibitors for depression treatment in pregnant women, the aim of the present study was evaluating the influence of GDM on pharmacokinetics and transplacental distribution of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers during pregnancy.

Ten healthy pregnant women and ten with GDM were included. In the third trimester of gestation, they received a single oral dose of 20 mg fluoxetine, and blood samples were collected from 0 to 672 hours. On the day of delivery, after another single oral dose of 20 mg fluoxetine, blood samples of maternal, umbilical vessels and intervillous space were collected at birth to placental transfer evaluation.

The area under the plasma over time curve (AUC) of (R)-(-)- and (S)-(+)-fluoxetine of the control group were, respectively: 80.94 vs 96.22 ng·h/mL and of DMG group were 197.93 vs 109.62 ng·h/mL. The AUC of (R)-(-)- and (S)-(+)-norfluoxetine of control group were, respectively: 943.70 vs 500.33 ng·h/mL and of GDM group were 600.39 vs 96.83 ng·h/mL.

The ratios intervillous space / maternal vein, umbilical vein / intervillous space of (R)-(-)- and (S)-(+)-fluoxetine were, respectively: 1.28 vs 1.30, and 0.27 vs 0.39 for control group and 0.84 vs 0.80 and 0.33 vs 0.47 for GDM group.

The GDM did not influence the pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers. Enantioselectivity was not observed, and the placental transfer of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers is also low in gestational diabetes.

Introduction

The overall prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) is $\approx 16\%$ (PACE et al., 2018; WOODY et al., 2017). GDM has a rising prevalence parallel to Type 2 Diabetes mellitus, reaching up to 25% of pregnancies depending on the diagnostic criteria and ethnicity (ASSOCIATION, 2019). GDM has been considered the most common metabolic problem during pregnancy (GILBERT et al., 2019).

There are some risk factors for GDM, among the most common being; overweight, gestation over 35 years old, excessive weight gain during pregnancy, excess body fat, family history, fetal overgrowth, polycystic ovary, short stature (ASSOCIATION, 2019). All of these factors can be controlled with a healthy diet or physical activity, even better if we can combine both as treatment or prevention (GILBERT et al., 2019). The diagnosis occurs between 24 and 28 weeks of gestation, caused by some degree of glucose intolerance, most of these cases resolve after delivery.

Pregnancy is a period when women are most susceptible to developing depression (YOUNG et al., 2017b). Postpartum depression rate is 10-15%, according to recent studies (FISHER et al., 2016b), up to 33% depending on the places surveyed, the cultures and the diagnostic criteria (SPINDELEGGER et al., 2009b; YOUNG et al., 2017b).

Untreated depression causes several adverse effects for both mother and child, the most common being spontaneous abortion, prematurity, low apgar, developmental delay, low birth weight (GAO et al., 2017b). The use of antidepressants in pregnancy is $\approx 3.9\text{-}12.8\%$ (KOREN; ORNOY, 2018a; MAK et al., 2019), other studies indicate that this rate can reach 23% (WESTIN et al., 2017b), besides that

Fluoxetine is the serotonin reuptake inhibitors antidepressant most commonly prescribed for the treatment of depression in pregnant women because it is considered safe and effective, however, it is still advisable to consider the risks with caution (DU et al., 2016a; GAO et al., 2017b).

Considering that, the presence of FLX and NorFLX in the amniotic fluid was previously reported (LOUGHHEAD et al., 2006) and that 12% of pregnant women with depression also have GDM (PACE et al., 2018; WOODY et al., 2017). The aim of the present study is evaluating the influence of GDM on pharmacokinetics and transplacental distribution of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers.

Methods

Clinical trial

This study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital of the Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo (HCFMRP-USP) (Approval No. 14806/2012). All patients Attended the Obstetrics Outpatient Clinic of the Department of Gynecology and Obstetrics of HCFMRP-USP and they gave spontaneous consent by signing the informed consent form.

The sample consisted of 10 pregnant women without maternal and fetal comorbidities (control group)(CARVALHO et al., 2019a) and 10 pregnant women with gestational diabetes (DMG group). The time, indication, and mode of delivery were determined according to the care protocols of the institution. Anthropometric data of the pregnant women and their newborns (table 1) and the clinical data of the pregnant women (table 2) were recorded.

At third trimester of gestation (gestational age of 32–34 weeks), All pregnant women received a single oral dose of 20 mg racemic fluoxetine (FLX) and serial blood samples were collected at times 0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 168, 336, 504 and 672 hours. Later, on the day of delivery, all pregnant received a new single oral dose of 20 mg FLX at least 2 hours earlier the delivery and during the delivery, one sample of maternal blood, umbilical vein blood, intervillous space blood, and amniotic fluid were collected from each patient at the latency time presented in Table 3. The way of delivery was decided solely based on the care protocols of the institution. All blood samples were centrifuged ($1.800 \times g$, 20 min) and the plasma and amniotic fluid stored at -80°C until the analysis. The amniotic fluid were also stored at -80°C until the analysis.

Enantioselective analysis of FLX and NorFLX in plasma

The concentrations of FLX and NorFLX in maternal, umbilical vein and intervillous space plasma were determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry as previously described(CARVALHO et al., 2017). Calibration curves were constructed in the concentration of 0.04–20 ng of FLX/mL plasma and of 0.05–10 ng of NorFLX/mL plasma. The coefficients of variation for intra-assay and interassay precision and the standard error of intra-assay and inter-assay accuracy were $< 15\%$ (CARVALHO et al., 2017).

Pharmacokinetic Analysis

The PK of fluoxetine (FLX) and norfluoxetine (NorFLX) enantiomers were analyzed using their plasma concentration over time with the software WinNonLin version 4.0 (Pharsight Corp, Mountain View, California) based on a two-compartment model for FLX and a mono-compartmental model for NorFLX, both with first-order absorption and elimination and without lag-time.

The statistical summaries of the plasma concentration and the pharmacokinetic parameters of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers for control and GDM groups were obtained using the R version 3.4.4 (a language and environment for statistical computing).

The enantioselectivity and the influence of gestational diabetes mellitus on pharmacokinetic parameters were assessed by nonparametric multiple comparisons with the Kruskal-Wallis rank-sum test and dunn-bonferroni post-hoc adjust assuming significance of 5% and power of 80%.

The concentrations ratios between maternal, umbilical, and intervillous space plasma and amniotic fluid of FLX and NorFLX enantiomers were compared between the enantiomers and groups by nonparametric multiple comparisons with the Kruskal-Wallis rank-sum test and dunn-bonferroni post-hoc adjust assuming significance of 5% and power of 80%. The statistical comparisons were performed in R version 3.4.4.

Results

No new-borns had diseases diagnosed at birth. All new-borns had Apgar Index greater than 7 at the first and 5th minutes, characterizing well-being at birth (table 1). All new-borns had good post-natal evolution and were medical released at the same time as their mother. None of the placentas showed relevant macroscopic changes.

The plasma concentration over time after a single dose oral of fluoxetine 20 mg of control and GDM groups are in figures 1 and the pharmacokinetic parameters in table 3 and figure 2.

The concentration ratios between maternal, placental and fetal vascular compartments were accessed to evaluate the distribution and fetal metabolism rate of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers (tables 4, Figure 3).

Discussion

The pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine were evaluated in ten healthy pregnant women (control group)(CARVALHO et al., 2019a) and ten pregnant women with GDM (GDM group) in order to assess whether GDM influences the pharmacokinetics and transplacental distribution of fluoxetine (FLX) and norfluoxetine (NorFLX). The raw data of control group were also used in other study(CARVALHO et al., 2019a).

FLX is a racemate drug consisting of S-(+)-FLX and R-(-)-FLX enantiomers. Its active metabolite also consist of two enantiomers: S-(+)-NorFLX and (R)-(-)-NorFLX. The two fluoxetine enantiomers have similar serotonin reuptake inhibitor potency, while (S)-(+)-NorFLX may be up to 20 times more potent than (R)-(-)-NorFLX(OLIVIER; VAN OORSCHOT, 2005; SPINDELEGGGER et al., 2009b). FLX has high bioavailable (90%) and protein bound (94.5%)(MÅRTENSSON et al., 1989b; PEREZ-CABALLERO et al., 2014b)

In nonpregnant women the bioavailability (F) of FLX is $\approx 90\%$ (PEREZ-CABALLERO et al., 2014b); protein bound, 94.5%; apparent clearance (CL/F), 36-50 L/hr; and apparent volume of distribution (Vd/F), 12-43 L/Kg(ALTAMURA; MORO; PERCUDANI, 1994b), suggesting an extensive distribution to the organs(ARONOFF et al., 1984b; LEMBERGER et al., 1987a). About 11% of the dose of FLX is excreted in the urine in its unchanged form, 7% as NorFLX and 7-8% FLX and NorFLX conjugated(DEVANE, 1999b).

Volume of distribution and clearance of drugs may change due to physiological changes during pregnancy. Vd/F may be increased by up to 50% due to increased plasma volume and the presence of the fetal compartment. The uteroplacental blood perfusion reaches 36 to 42 L/h at term, 80% going to the placenta and 20% to the myometrium. Body volume increases by about 8 L, 60% is distributed between the placenta, fetus and LA and 40% to the maternal tissues(ANDERSON, 2005b; FRISHMAN; ELKAYAM; ARONOW, 2012b)

The ratio between (R)-(-)-NorFLX / (R)-(-)-FLX AUC (Control: 2.93 vs GDM: 3.25) and the ratio between (S)-(+)-NorFLX / (S)-(+)-FLX (Control: 8.78 vs GDM: 8.92) (Table 5) are not different between groups and therefore there was no

influence of gestational diabetes on the NorFLX/FLX metabolic ratio in pregnant women.

Except for T_{max} , the pharmacokinetic parameters of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers show no differences between healthy pregnant women (control group)(CARVALHO et al., 2019a) and pregnant women with GDM (GDM group) (table 3 and figure 2). Although there is a difference in the median value of CL/F , Vd/F , AUC and C_{max} between the groups (table 3 and figure 2), there are a high interindividual variability in these parameters in both groups (Figure 2, table 4), which prevents the identification of differences.

There is also a difference between the C_{max} of (R)-(-)-NorFLX (8.07 ng / mL) and (S)-(+)-NorFLX (9.42 ng / mL) in pregnant women with gestational diabetes as well as in healthy pregnant women(CARVALHO et al., 2019a) (3.41 [(R)-(-)-NorFLX] vs 6.29 ng/mL [(S)-(+)-NorFLX]) (table 3 and figure 2). The other parameters of FLX and NorFLX enantiomers in healthy pregnant women (control group) and gestational diabetes pregnant women (GDM group) did not differs between enantiomers. Although the difference between (S)-(+)-FLX and (R)-(-)-FLX AUC medians and (S)-(+)-NorFLX and (R)-(-)-NorFLX AUC medians are ≈ 1.60 (96.22 vs 180.94 and 942.70 vs 500.33 ng·h/mL in control group and 109.62 vs 197.93 and 960.83 vs 600.39 ng·h/mL in the GDM group respectively) there was no statistical difference between the enantiomers AUC in both groups, possibly because the high interindividual variability of these compounds in pregnant women, however, observing the plasma concentration profile over time (Figure 3) it can be noticed a tendency of higher plasma concentrations of (R)-(-)-FLX and (S)-(+)-NorFLX versus their antipodes.

Kim et al., (2006)(KIM et al., 2006b) reports (S)-(+)-FLX $\div$ (R)-(-)-FLX AUC ratios close to 2 in healthy pregnant women, ie, with evidence of higher plasma concentrations of (S)-(+)-FLX, whereas in the present study no differences were observed between the AUC of the FLX enantiomers in both groups (Table 4 and Figure 4). However, although there is no statistical difference, the AUC of R-(-)-FLX median is ≈ 1.68 times higher than its antipode in both groups (Table 4). This contrast my rise because the Kim et al., (2006)(KIM et al., 2006b) data are from pregnant women treated with 20 mg of FLX daily in a multiple dose regimen.

Being the Cmax of (S)-(+)-NorFLX higher than (R)-(-)-NorFLX and, although statistically not significant, being the AUC median of (S)-(+)-NorFLX and (R)-(-)-FLX higher than their antipodes (table 3, figure 1 and 2), it is allowed to infer that, in healthy and DMG pregnant women, (S)-(+)-FLX is metabolized to NorFLX in a higher extent than (R)-(-)-FLX. Besides, in the present study, the (R)-(-)-NorFLX AUC ÷ (S)-(+)-NorFLX AUC ratios of control (healthy) and DGM groups are 0.62 and 0.66 respectively (Table 3), similar to that reported by Kim et al., (2006)(KIM et al., 2006b) with daily doses of 20 mg racemic FLX.

The intervillous space / maternal vein and Umbilical vein / intervillous space concentration ratios differs between (R)-(-)- and (S)-(+)-FLX in control group. The umbilical vein / intervillous space ratio differs between (R)-(-)- and (S)-(+)-FLX and between (R)-(-)- and (S)-(+)-NorFLX in GDM group. The intervillous space / Maternal vein ratio differs between (R)-(-)- and (S)-(+)-NorFLX in control group (table 4 and figure 3). Only the intervillous space / maternal vein ratio of (R)-(-)-NorFLX differs between control and GDM group, therefore the gestational diabetes mellitus not substantially influences the placental transfer of FLX and NorFLX enantiomers.

The Umbilical Vein / Maternal Vein ratios of FLX and NorFLX enantiomers are $\approx$ 0.3 allowing infer a low placental transfer and the umbilical artery / Umbilical vein ratios were $\approx$ 0.8 for the FLX and NorFLX enantiomers (table 4), indicating the absence of fetal metabolism corroborating previous findings(CARVALHO et al., 2019a).

In summary, the gestational diabetes mellitus did not influence the pharmacokinetics of FLX and NorFLX enantiomers following a single oral dose of 20 mg racemic FLX in pregnant women (gestational age of 32–34 weeks). The pharmacokinetics of FLX and NorFLX were not statistically different between enantiomers in healthy and GDM pregnant women possibly because the high inter-individual variability present in the samples. Like previous findings(CARVALHO et al., 2019a), the placental transfer (umbilical vein/maternal vein) of FLX and NorFLX enantiomers is low in gestational diabetes as well as in the healthy pregnant women

Data Sharing

Original data are available from the corresponding author upon request.

Declaration of Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Conflict of interest:

All authors declare do not have conflict of interest.

Funding:

São Paulo Research Foundation (FAPESP), São Paulo, Brazil, (grant number: 2013/00346-4)

References

- ALTAMURA, A. C.; MORO, A. R.; PERCUDANI, M. Clinical pharmacokinetics of fluoxetine. **Clinical pharmacokinetics**, v. 26, n. 3, p. 201–14, mar. 1994a.
- ALTAMURA, A. C.; MORO, A. R.; PERCUDANI, M. Clinical Pharmacokinetics of Fluoxetine. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 26, n. 3, p. 201–214, 1 mar. 1994b.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diabetes Care. **The Journal of clinical applied research and education**, v. 42, n. Supplement 1, 2019.
- ANDERSON, G. D. Pregnancy-induced changes in pharmacokinetics: a mechanistic-based approach. **Clinical pharmacokinetics**, v. 44, n. 10, p. 989–1008, jan. 2005a.
- ANDERSON, G. D. Pregnancy-Induced Changes in Pharmacokinetics. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 10, p. 989–1008, 1 out. 2005b.
- ARAF, A.; DONG, J.-Y. Gestational diabetes and risk of postpartum depressive symptoms: A meta-analysis of cohort studies. **Journal of Affective Disorders**, v. 253, p. 312–316, 15 jun. 2019.
- ARONOFF, G. R. et al. Fluoxetine kinetics and protein binding in normal and impaired renal function. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 36, n. 1, p. 138–44, jul. 1984a.
- ARONOFF, G. R. et al. Fluoxetine kinetics and protein binding in normal and impaired renal function. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 36, n. 1, p. 138–144, jul. 1984b.
- ASSOCIATION, A. D. 14. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. **Diabetes Care**, v. 42, n. Supplement 1, p. S165–S172, 1 jan. 2019.
- BEASLEY, C. M.; BOSOMWORTH, J. C.; WERNICKE, J. F. Fluoxetine: relationships among dose, response, adverse events, and plasma concentrations in the treatment of depression. **Psychopharmacology bulletin**, v. 26, n. 1, p. 18–24, jan. 1990.
- BENHALIMA, K. et al. Glucose Intolerance after a Recent History of Gestational Diabetes Based on the 2013 WHO Criteria. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0157272, 10 jun. 2016.
- BERGSTROM ET AL, R. F. Relative bioequivalence of a fluoxetine oral solution versus the marketed capsule. **Pharm. Res.**, v. 7, n. 3, p. 158, 1988.
- BERGSTROM, R. F. et al. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: a review. **The British journal of psychiatry. Supplement**, n. 3, p. 47–50, set. 1988.
- BRASIL, M. D. S. **Atenção ao pré-natal de baixo risco**. [s.l.: s.n.].
- BUENO, J. S.; SILVA, B. J. G.; QUEIROZ, M. E. C. Enantioselective analysis of fluoxetine and norfluoxetine in plasma samples by protein precipitation and liquid

chromatography with fluorescence detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 7, p. 1221–1228, jul. 2011.

BUSTER, J. E.; ABRAHAM, G. E. The applications of steroid hormone radioimmunoassays to clinical obstetrics. **Obstetrics and gynecology**, v. 46, n. 4, p. 489–99, out. 1975.

CACCIA, S. et al. Influence of dose and route of administration on the kinetics of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine in the rat. **Psychopharmacology**, v. 100, n. 4, p. 509–14, jan. 1990.

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

CARVALHO, D. M. et al. Analysis of Fluoxetine and Norfluoxetine Enantiomers in Human Plasma and Amniotic Fluid by LC-MS / MS and Its Application to Clinical Pharmacokinetics in Pregnant Women. **Journal of Research Analytica**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2017.

CARVALHO, D. M. et al. Pharmacokinetics and Transplacental Transfer of Fluoxetine Enantiomers and Their Metabolites in Pregnant Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 4, p. 1003–1008, abr. 2019a.

CARVALHO, D. M. et al. Pharmacokinetics and Transplacental Transfer of Fluoxetine Enantiomers and Their Metabolites in Pregnant Women. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 105, n. 4, p. 1003–1008, 29 abr. 2019b.

DAVISON, J. M.; HYTTEN, F. E. Glomerular filtration during and after pregnancy. **The Journal of obstetrics and gynaecology of the British Commonwealth**, v. 81, n. 8, p. 588–95, ago. 1974.

DAVISON, J. M.; HYTTEN, F. E. The effect of pregnancy on the renal handling of glucose. **British journal of obstetrics and gynaecology**, v. 82, n. 5, p. 374–81, maio 1975.

DEVANE, C. L. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 19, n. 4, p. 443–66, ago. 1999a.

DEVANE, C. L. Metabolism and Pharmacokinetics of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 19, n. 4, p. 443–466, 1 ago. 1999b.

DEVANE, C. L.; BOULTON, D. W. Great expectations in stereochemistry: focus on antidepressants. **CNS spectrums**, v. 7, n. 4 Suppl 1, p. 28–33, abr. 2002.

DEVROEY, P. et al. Placental production of estradiol and progesterone after oocyte donation in patients with primary ovarian failure. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 162, n. 1, p. 66–70, jan. 1990.

DU, R.-H. et al. Fluoxetine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation: Implication in Depression. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 9, 20 abr. 2016a.

DU, R.-H. et al. Fluoxetine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation: Implication in Depression. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 19, n. 9, set. 2016b.

DUARTE, L. DE B. et al. Distribution of Bupivacaine Enantiomers and Lidocaine and Its Metabolite in the Placental Intervillous Space and in the Different Maternal and Fetal Compartments in Term Pregnant Women. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 51, n. 2, p. 212–217, 2011.

EAP, C. B. et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 330–4, jun. 2001a.

EAP, C. B. et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 330–4, jun. 2001b.

EWING, G. et al. Placental transfer of antidepressant medications: implications for postnatal adaptation syndrome. **Clinical pharmacokinetics**, v. 54, n. 4, p. 359–70, abr. 2015.

FISHER, S. D. et al. Factors associated with onset timing, symptoms, and severity of depression identified in the postpartum period. **Journal of Affective Disorders**, v. 203, p. 111–120, 1 out. 2016a.

FISHER, S. D. et al. Factors associated with onset timing, symptoms, and severity of depression identified in the postpartum period. **Journal of Affective Disorders**, v. 203, p. 111–120, 1 out. 2016b.

FJORDSIDE, L. et al. The stereoselective metabolism of fluoxetine in poor and extensive metabolizers of sparteine. **Pharmacogenetics**, v. 9, n. 1, p. 55–60, fev. 1999.

FRISHMAN, W. H.; ELKAYAM, U.; ARONOW, W. S. Cardiovascular drugs in pregnancy. **Cardiology clinics**, v. 30, n. 3, p. 463–91, ago. 2012a.

FRISHMAN, W. H.; ELKAYAM, U.; ARONOW, W. S. Cardiovascular Drugs in Pregnancy. **Cardiology Clinics**, Cardiovascular Disease in Pregnancy. v. 30, n. 3, p. 463–491, 1 ago. 2012b.

FULLER, R. W. et al. Comparison of norfluoxetine enantiomers as serotonin uptake inhibitors in vivo. **Neuropharmacology**, v. 31, n. 10, p. 997–1000, out. 1992.

GAO, S. et al. Fluoxetine and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 10, p. 2134, 2017a.

GAO, S. et al. Fluoxetine and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 83, n. 10, p. 2134–2147, out. 2017b.

GILBERT, L. et al. How diet, physical activity and psychosocial well-being interact in women with gestational diabetes mellitus: an integrative review. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 19, n. 1, p. 60, 7 dez. 2019.

GILMAN, A. G. **Goodman & Gliman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

GROSS, C.; HEN, R. The developmental origins of anxiety. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 5, n. 7, p. 545–52, jul. 2004.

HEIKKINEN, T. Pharmacokinetics of fluoxetine and norfluoxetine in pregnancy and lactation. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 73, n. 4, p. 330–337, abr. 2003.

HENRY, M. E. et al. A comparison of brain and serum pharmacokinetics of R-fluoxetine and racemic fluoxetine: A 19-F MRS study. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 8, p. 1576–83, ago. 2005.

HIEMKE, C.; HÄRTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacology & therapeutics**, v. 85, n. 1, p. 11–28, jan. 2000.

HINKLE, S. N. et al. A longitudinal study of depression and gestational diabetes in pregnancy and the postpartum period. **Diabetologia**, v. 59, n. 12, p. 2594–2602, 19 dez. 2016.

HORSCH, A. et al. Stress exposure and psychological stress responses are related to glucose concentrations during pregnancy. **British Journal of Health Psychology**, v. 21, n. 3, p. 712–729, set. 2016.

HORSCH, A. et al. Improving cardiometabolic and mental health in women with gestational diabetes mellitus and their offspring: study protocol for *MySweetHeart Trial*, a randomised controlled trial. **BMJ Open**, v. 8, n. 2, p. e020462, 27 fev. 2018.

KIM, J. et al. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. **British journal of clinical pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 155–63, fev. 2006a.

KIM, J. et al. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 61, n. 2, p. 155–163, fev. 2006b.

KOREN, G.; ORNOY, A. Clinical implications of selective serotonin reuptake inhibitors-selective serotonin norepinephrine reuptake inhibitors pharmacogenetics during pregnancy and lactation. **Pharmacogenomics**, v. 19, n. 14, p. 1139–1145, 14 ago. 2018a.

KOREN, G.; ORNOY, A. Clinical implications of selective serotonin reuptake inhibitors-selective serotonin norepinephrine reuptake inhibitors pharmacogenetics during pregnancy and lactation. **Pharmacogenomics**, v. 19, n. 14, p. 1139–1145, 1 set. 2018b.

KRZECZKOWSKI, J. E. et al. Maternal Metabolic Complications in Pregnancy and Offspring Behavior Problems at 2 Years of Age. **Maternal and Child Health Journal**, p. 1–10, 2 jan. 2019.

LAZAROU, J.; POMERANZ, B. H.; COREY, P. N. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 279, n. 15, p. 1200–5, 15 abr. 1998.

LEMBERGER, L. et al. Fluoxetine, pharmacology and physiologic disposition. **International Journal of Obesity**, v. 11 Suppl 3, p. 157–161, 1987a.

LEMBERGER, L. et al. Fluoxetine, pharmacology and physiologic disposition. **International journal of obesity**, v. 11 Suppl 3, p. 157–61, jan. 1987b.

LITTLE, B. B. Pharmacokinetics during pregnancy: evidence-based maternal dose formulation. **Obstetrics and gynecology**, v. 93, n. 5 Pt 2, p. 858–68, maio 1999.

LOEBSTEIN, R.; KOREN, G. Clinical Relevance of Therapeutic Drug Monitoring During Pregnancy. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 24, n. 1, p. 15–22, fev. 2002.

LOUGHHEAD, A. M. et al. Antidepressants in Amniotic Fluid: Another Route of Fetal Exposure. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 1, p. 145–147, 1 jan. 2006.

LUNDMARK, J.; REIS, M.; BENGTSSON, F. Serum concentrations of fluoxetine in the clinical treatment setting. **Therapeutic drug monitoring**, v. 23, n. 2, p. 139–47, abr. 2001.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, 6 set. 2018a.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, 6 set. 2018b.

MAK, J. K. L. et al. Gestational diabetes and postnatal depressive symptoms: A prospective cohort study in Western China. **Women and Birth**, v. 32, n. 3, p. e427–e431, 1 jun. 2019.

MARGOLIS, J. M. et al. (R)-, (S)-, and Racemic Fluoxetine N-Demethylation by Human Cytochrome P450 Enzymes. **Drug Metab. Dispos.**, v. 28, n. 10, p. 1187–1191, 1 out. 2000.

MÅRTENSSON, B. et al. Fluoxetine treatment of depression. Clinical effects, drug concentrations and monoamine metabolites and N-terminally extended substance P in cerebrospinal fluid. **Acta psychiatrica Scandinavica**, v. 79, n. 6, p. 586–96, jun. 1989a.

MÅRTENSSON, B. et al. Fluoxetine treatment of depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 79, n. 6, p. 586–596, jun. 1989b.

MCCONATHY, J.; OWENS, M. J. Stereochemistry in Drug Action. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 5, n. 2, p. 70–73, abr. 2003.

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

NONACS, R.; COHEN, L. S. Depression during pregnancy: diagnosis and treatment options. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 63 Suppl 7, p. 24–30, jan. 2002.

OLIVIER, B.; VAN OORSCHOT, R. 5-HT_{1B} receptors and aggression: A review. **European Journal of Pharmacology**, The Neuropsychopharmacology of Aggression and Addiction. v. 526, n. 1, p. 207–217, 5 dez. 2005.

PACE, R. et al. Association between gestational diabetes mellitus and depression in parents: a retrospective cohort study. **Clinical Epidemiology**, v. Volume 10, p. 1827–1838, dez. 2018.

PEREZ-CABALLERO, L. et al. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development. **Expert opinion on drug discovery**, v. 9, n. 5, p. 567–78, maio 2014a.

PEREZ-CABALLERO, L. et al. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 9, n. 5, p. 567–578, 1 maio 2014b.

PUBCHEM. **Fluoxetine - Compound Summary (CID 3386)**. Disponível em: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3386#x27>>. Acesso em: 3 out. 2012a.

PUBCHEM. **Fluoxetine - Compound Summary (CID 62857)**. Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=62857&loc=ec_rcs>. Acesso em: 3 out. 2012b.

RING, B. J. et al. Identification of the human cytochromes p450 responsible for in vitro formation of R- and S-norfluoxetine. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 297, n. 3, p. 1044–50, jun. 2001a.

RING, B. J. et al. Identification of the Human Cytochromes P450 Responsible for in Vitro Formation of R- and S-Norfluoxetine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 297, n. 3, p. 1044–1050, 1 jun. 2001b.

SAHU, P. K.; WANG, C.-H.; LEE, S.-L. Interaction of serotonin and fluoxetine: toward understanding the importance of the chirality of fluoxetine (S form and R form). **The journal of physical chemistry. B**, v. 113, n. 43, p. 14529–35, 29 out. 2009.

SCHMIDT, C. B. et al. Diabetes distress is associated with adverse pregnancy outcomes in women with gestational diabetes: a prospective cohort study. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 19, n. 1, p. 223, 3 jul. 2019.

SCHNEIDER, M. A.; DAVIES, M. C.; HONOUR, J. W. The timing of placental competence in pregnancy after oocyte donation. **Fertility and sterility**, v. 59, n. 5, p. 1059–64, maio 1993.

SCORDO, M. G. et al. Influence of CYP2C9, 2C19 and 2D6 genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 97, n. 5, p. 296–301, nov. 2005.

SIT, D. et al. Disposition of chiral and racemic fluoxetine and norfluoxetine across childbearing. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 30, n. 4, p. 381–6, ago. 2010.

SOMMI, R. W.; CRISMON, M. L.; BOWDEN, C. L. Fluoxetine: a serotonin-specific, second-generation antidepressant. **Pharmacotherapy**, v. 7, n. 1, p. 1–15, [s.d.].

SPINDELEGGGER, C. et al. Influence of escitalopram treatment on 5-HT 1A receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 11, p. 1040–50, nov. 2009a.

SPINDELEGGGER, C. et al. Influence of escitalopram treatment on 5-HT 1A receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders. **Molecular Psychiatry**, v. 14, n. 11, p. 1040–1050, nov. 2009b.

STAIANO, A. E. et al. Physical activity, mental health, and weight gain in a longitudinal observational cohort of nonobese young adults. **Obesity**, v. 24, n. 9, p. 1969–1975, set. 2016.

STIKA, C. S.; FREDERIKSEN, M. C. Drug Therapy in Pregnant and Nursing Women. In: **Principles of Clinical Pharmacology**. [s.l.: s.n.]. p. 339–356.

TANAKA, E.; HISAWA, S. Clinically significant pharmacokinetic drug interactions with psychoactive drugs: antidepressants and antipsychotics and the cytochrome P450 system. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, v. 24, n. 1, p. 7–16, fev. 1999.

TASNIF, Y.; MORADO, J.; HEBERT, M. F. Pregnancy-Related Pharmacokinetic Changes. **CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS**, v. 100, n. 1, p. 53–62, 2016.

THOMAS, A. E.; MCKAY, D. A.; CUTLIP, M. B. A nomograph method for assessing body weight. **The American journal of clinical nutrition**, v. 29, n. 3, p. 302–4, mar. 1976.

TULCHINSKY, D.; HOBEL, C. J. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estriol, progesterone, and 17 alpha-hydroxyprogesterone in human pregnancy. 3. Early normal pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 117, n. 7, p. 884–93, 1 dez. 1973.

WESTIN, A. A. et al. Selective serotonin reuptake inhibitors and venlafaxine in pregnancy: Changes in drug disposition. **PloS one**, v. 12, n. 7, p. e0181082, 2017a.

WESTIN, A. A. et al. Selective serotonin reuptake inhibitors and venlafaxine in pregnancy: Changes in drug disposition. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, 14 jul. 2017b.

WILHELM, S. M.; KALE-PRADHAN, P. B. Estimating creatinine clearance: a meta-analysis. **Pharmacotherapy**, v. 31, n. 7, p. 658–64, jul. 2011.

WONG, D. T. et al. Norfluoxetine enantiomers as inhibitors of serotonin uptake in rat brain. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 8, n. 4, p. 337–44, jun. 1993.

WONG, D. T.; FULLER, R. W.; ROBERTSON, D. W. Fluoxetine and its two enantiomers as selective serotonin uptake inhibitors. **Acta pharmaceutica Nordica**, v. 2, n. 3, p. 171–80, jan. 1990.

WOODY, C. A. et al. A systematic review and meta-regression of the prevalence and incidence of perinatal depression. **Journal of affective disorders**, v. 219, p. 86–92, set. 2017.

YOUN, H. et al. Obstetric risk factors for depression during the postpartum period in South Korea: a nationwide study. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 102, p. 15–20, 1 nov. 2017a.

YOUN, H. et al. Obstetric risk factors for depression during the postpartum period in South Korea: a nationwide study. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 102, p. 15–20, 1 nov. 2017b.

Figure legends:

Figure 1: Plasma concentration over time curve of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers following a single oral dose of 25 mg fluoxetine in Health pregnant women (control group) and pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM group). Data presented as median and 25th-75th percentiles. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetine, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetine, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetine, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetine.

Figure 2: box-plot of the area under the plasma concentration over time curve (AUC). maximum plasma concentration (C_{max}). Apparent clearance (CL/F) and apparent volume of distribution (V_d/F) of (R)-(-)-Fluoxetine: (R)-(-)-FLX, (R)-(-)-Norfluoxetine: (R)-(-)-NorFLX, (S)-(+)-Fluoxetine: (S)-(+)-FLX, (S)-(+)-Norfluoxetine: (S)-(+)-NorFLX in health pregnant women (control group) and pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM) following a single oral dose of fluoxetine 20 mg. a: p = 0.031, b: p = 0.035. p-values assessed by Kruskal-Wallis rank-sum test with dunn-bonferroni post-hoc adjust.

Figure 3: Box-plot of placental transfer ratios of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers in health pregnant women (control group) and pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM) following a single oral dose of fluoxetine 20 mg. Data are presented as median and 25th-75th percentiles. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetine. (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetine. (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetine. (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetine. p-values assessed by Kruskal-Wallis rank-sum test with dunn-bonferroni post-hoc adjust. a: p=0.023. b: p = 0.000. c: p = 0.049. d: p = 0.048. e: p = 0.017. f: p = 0.049.

Table 1: Pregnant anthropometric data

Parameter	Control group	DMG group
Age (years)	30.5 ^a (21.75-38.25)	32.00 ^a (29.50-37.25)
Gestational age (days)	236.5 ^b (224.75-243.50)	224.00 ^b (217.75-231.25)
Weight (kg)	74.42 ^c (69.17-79.25)	81.67 ^c (66.25-87.72)
Hight (m)	1.60 ^d (1.55-1.67)	1.59 ^d (1.56-1.65)
BMI (kg/m ²)	29.00 ^e (25.00-32.00)	30.00 ^e (28.00-35.00)
New-born weight (g)	3330.00 ^f (3190.00-3443.75)	3255.00 ^f (2975.00-3477.50)
New-born height (cm)	49.50 ^g (49.00-50.75)	48.75 ^g (47.63-49.88)
Placenta weight (g)	515.00 ^h (482.50-660.00)	507.50 ^h (505.00-545.00)
Apgar index	9.50 ⁱ (9.00-10.00)	9.00 ⁱ (8.00-9.00)

Data presented as median and 25th-75th percentiles. a, b, c, d, e, f, g, h, i: $p > 0.05$

Table 2: Pregnant clinical data

Parameters	Control group	DMG group
Urea (mg/dL)	17.00 (14.25-18.00)	13.00 (11.00-13.99)
Creatinine (mg/dL)	0.60 (0.57-0.66)	0.54 (0.50-0.58)
Alanine Aminotransferase (U/L)	9.90 (8.67-17.52)	11.09 (8.10-15.00)
Aspartate aminotransferase (U/L)	13.00 (10.75-16.87)	15.00 (12.80-15.60)
Total bilirubin (mg/dL)	0.32 (0.24-0.37)	0.40 (0.26-0.62)
Direct Bilirubin (mg/dL)	0.08 (0.05-0.10)	0.11 (0.09-0.17)
Indirect Bilirubin (mg/dL)	0.23 (0.19-0.28)	0.30 (0.20-0.46)
Total proteins (g/dL)	6.40 (6.20-6.60)	6.10 (5.80-6.40)
Albumin (g/dL)	3.90 (3.82-3.92)	3.65 (3.60-3.80)
α1 acid glycoprotein (mg/dL)	56.00 (49.05-61.20)	50.15 (45.08-62.80)
gama GT (U/L)	16.00 (13.00-23.25)	13.00 (10.00-13.00)
Alkaline phosphatase (U/L)	307.00 (288.00-316.50)	248.00 (192.00-266.00)
Hemoglobin (g/dL)	12.30 (11.80-12.80)	11.30 (10.70-12.40)
Hematocrit (%)	36.00 (35.00-38.00)	34.00 (32.00-36.00)
Platelets (10 ³ /μL)	219.00 (185.00-228.00)	229.00 (188.00-269.00)
Glycosylated Hemoglobin (%)	5.55 (5.10-6.03)	5.15 (4.57-5.25)
Glycemia (mg/dL)	87.00 (85.00-91.50)	74.00 (72.00-84.00)

Data present as median and 25th-75th percentile. The difference between groups of all biochemical tests has $p > 0.05$ by wilcoxon.

Table 3: Pharmacokinetics parameters of fluoxetine (FLX) and norfluoxetine (NorFLX) enantiomers following a single oral dose of fluoxetine 20 mg in healthy pregnant women (control group) and pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM group).

	Grupo Controle				Grupo DMG			
	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX
Ka (hr ⁻¹)	0.33 (0.24-0.55)	0.37 (0.18-0.52)	--	--	0.38 (0.24-0.58)	0.48 (0.38-0.55)	--	--
AUC (ng·h/mL)	180.94 (108.57-254.03)	96.22 (49.61-160.94)	500.33 (482.78-1063.96)	942.70 (802.81-1172.15)	197.93 (139.27-254.41)	109.62 (85.75-293.70)	600.39 (423.08-648.18)	960.83 (495.88-1250.82)
Kel (hr ⁻¹)	0.026 (0.021-0.037)	0.040 (0.037-0.058)	0.007 (0.005-0.008)	0.008 (0.005-0.096)	0.026 (0.023-0.034)	0.039 (0.027-0.053)	0.005 (0.004-0.008)	0.008 (0.006-0.009)
t1/2 (hr)	26.74 (18.64-32.29)	17.21 (11.97-18.76)	99.55 (82.87-143.85)	83.48 (72.30-131.57)	27.06 (20.79-29.76)	18.41 (13.06-25.81)	152.04 (83.15-201.08)	90.55 (75.13-118.74)
CL/F (L/h)	56.65 (39.45-92.71)	103.95 (62.28-217.94)	--	--	50.78 (39.58 - 71.96)	91.63 (39.44 - 116.96)	--	--
Cmax (ng/mL)	5.81 (5.12-8.25)	5.99 (4.93-10.26)	3.41 ^a (3.13-3.68)	6.29 ^a (5.80-7.39)	8.07 (7.44-8.72)	9.42 (7.56-11.96)	3.08 ^b (2.08-4.22)	7.48 ^b (4.03-8.84)
Tmax (h)	3.78 (2.52-4.94)	2.27 (1.91-2.93)	20.60 ^c (14.74-23.10)	13.66 (7.69-20.81)	2.37 (1.38-2.81)	1.72 (0.91-2.49)	10.95 ^c (9.61-11.71)	10.68 (8.16-25.93)
Vd/F (L)	1787.81 (1552.43-1925.23)	1533.18 (1296.74-2233.72)	--	--	1695.15 (1440.18-2338.19)	1564.90 (1130.57-1760.14)	--	--
AUC (R/S)	1.68 (1.41 - 2.21)		0.62 (0.48 - 0.68)		1.58 (0.85 - 1.81)		0.66 (0.55 - 0.87)	
	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX	R-(-)-FLX	S-(+)-FLX	R-(-)-NorFLX	S-(+)-NorFLX
AUC $\left(\frac{\text{NorFLX}}{\text{FLX}}\right)$	2.93 (2.31-5.19)		8.78 (6.07-16.17)		3.25 (1.98-5.01)		8.92 (2.66-14.24)	

Data presented as median and 25th-75th percentile. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetine, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetine, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetine, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetine. ^ap = 0.031, ^bp = 0.035, ^cp = 0.029, ^{a, b, c} obtained by Kruskal-Wallis rank-sum and dunn-bonferroni post-hoc

Table 4: Placental transference ratios of fluoxetine (FLX) e norfluoxetine (NorFLX) in healthy pregnant women (control group) and pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM group) enantiomers following a single oral dose of fluoxetine 20 mg.

	Grupo Controle				Grupo DMG			
	(R)-(-)- FLX	(S)-(+)- FLX	(R)-(-)- NorFLX	(S)-(+)- NorFLX	(R)-(-)- FLX	(S)-(+)- FLX	(R)-(-)- NorFLX	(S)-(+)- NorFLX
AU/VU	0.86 (0.70-1.04)	0.74 (0.71-1.01)	0.87 (0.76-1.01)	1.00 (0.79-1.10)	0.71 (0.46-0.98)	0.68 (0.40-0.86)	0.73 (0.63-1.57)	0.82 (0.71-1.10)
EIV/M	1.28 (1.14-1.38)	1.30 (1.05-1.33)	1.06 ^{ab} (0.93-1.14)	2.86 ^a (2.52-3.69)	0.84 (0.61-1.34)	0.80 (0.54-1.19)	2.61 ^b (1.43-4.06)	2.12 (1.70-3.27)
VU/EIV	0.27 (0.19-0.30)	0.39 (0.30-0.39)	0.28 (0.21-0.38)	0.35 (0.27-0.40)	0.33 (0.26-0.35)	0.47 (0.32-0.52)	0.10 ^c (0.06-0.30)	0.48 ^c (0.31-0.59)
VU/M	0.33 (0.28-0.36)	0.44 (0.30-0.48)	0.36 (0.28-0.43)	0.38 (0.25-0.48)	0.29 (0.19-0.36)	0.37 (0.22-0.49)	0.48 (0.11-0.63)	0.35 (0.18-0.56)
Latency (minutes)	198 (154-239)							

Data expressed as median and 25th-75th percentiles. AU/VU: Umbilical Artery / Umbilical Vein; EIV/M: Intervillous space / Maternal Vein; VU/EIV: Umbilical vein / intervillous space; VU/M: Umbilical Vein / Maternal Vein. (R)-(-)-FLX: (R)-(-)-Fluoxetine, (R)-(-)-NorFLX: (R)-(-)-Norfluoxetine, (S)-(+)-FLX: (S)-(+)-Fluoxetine, (S)-(+)-NorFLX: (S)-(+)-Norfluoxetine. ^bp = 0.023; ^ap = 0.000; ^cp = 0.017. ^{a, b, c} obtained by “Kruskal-Wallis rank-sum” and dunn-bonferroni post-hoc.