

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**FERNANDA CRISTINA SILVA DE OLIVEIRA**

**USO DA AMITRIPTILINA E A IMPORTÂNCIA DA SUA SUBSTITUIÇÃO PELA  
FLUOXETINA DURANTE A PREENHEZ: EFEITOS REPRODUTIVOS,  
GESTACIONAIS E NO DESENVOLVIMENTO DA PROLE**

Alfenas/MG

2018

**FERNANDA CRISTINA SILVA DE OLIVEIRA**

**USO DA AMITRIPTILINA E A IMPORTÂNCIA DA SUA SUBSTITUIÇÃO PELA  
FLUOXETINA DURANTE A PREENHEZ: EFEITOS REPRODUTIVOS,  
GESTACIONAIS E NO DESENVOLVIMENTO DA PROLE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas-MG como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde. Área de concentração: Fisiopatologia  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Andréa Mollica do Amarante Paffaro

Alfenas/MG

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central - Sede

O48u Oliveira, Fernanda Cristina Silva de  
Uso da amitriptilina e a importância da sua substituição pela fluoxetina durante a prenhez: efeitos reprodutivos, gestacionais e no desenvolvimento da prole. / Fernanda Cristina Silva de Oliveira – Alfenas/MG, 2018.  
113 f.: il. -

Orientadora: Andréa Mollica do Amarante Paffaro.  
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -  
Universidade Federal de Alfenas, 2018.  
Bibliografia.

1. Antidepressivos. 2. Prenhez - Camundongo. 3. Comportamento Materno. 4. Placenta. I. Paffaro, Andréa Mollica do Amarante. II. Título.

CDD-573.67

FERNANDA CRISTINA SILVA DE OLIVEIRA

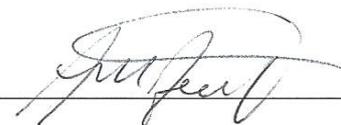
“USO DA AMITRIPTILINA E A IMPORTÂNCIA DA SUA SUBSTITUIÇÃO PELA  
FLUOXETINA DURANTE A PRENHEZ: EFEITOS REPRODUTIVOS, GESTACIONAIS  
E NO DESENVOLVIMENTO DA PROLE”

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a  
Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de Mestre  
em Biociências Aplicadas à Saúde pela  
Universidade Federal de Alfenas . Área de  
concentração: Fisiopatologia

Aprovado em: 09/03/18

Profa. Dra. Andréa Mollica do Amarante Paffaro  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG  
– UNIFAL-MG

Assinatura:



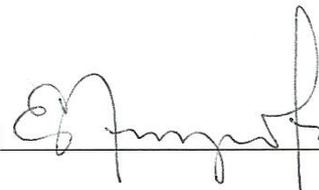
Profa. Dra. Silvia Graciela Ruginsk Leitão  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG  
– UNIFAL-MG

Assinatura:



Profa. Dra. Estela Bevilacqua  
Instituição: Universidade de São Paulo  
USP- SP

Assinatura:



## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a **Deus**, por estar sempre ao meu lado me amparando nos momentos difíceis, à minha frente guiando e orientando meus caminhos e atrás de mim me protegendo de todo mal;

Aos meus pais, que estiveram sempre ao meu lado, acreditaram em mim e por isso me permitiram chegar aonde eu cheguei. Obrigada por me deixar realizar o sonho de estudar fora, de me formar e me especializar. Obrigada por todo apoio, e ainda me desculpa pelos momentos de ausência. Vocês permitiram que isso tudo se tornasse realidade.

Às minhas irmãs, por sempre entenderem o motivo da minha ausência, mas mesmo assim não me deixaram de participar de suas vidas em momento algum. Tenham certeza de que eu sempre estarei aqui por vocês.

Ao meu namorado e companheiro Maurício, por sempre me ouvir e estar ao meu lado me dando apoio em cada uma das vezes em que eu pensei em desistir de tudo. Obrigada por ser meu alicerce durante essa jornada!

À minha orientadora, Andrea por todos esses anos de ensinamentos e conhecimentos compartilhados. Obrigada pelas vezes em que fez o papel de psicóloga nos momentos de crise e por me deixar louca em busca de uma estrela significativa! rs. Foram anos muito bem proveitosos ao seu lado!

Às minhas amigas mestrandas, Glícia e Elaine, pelo companheirismo e apoio de sempre. Obrigada por cada momento de diversão e dificuldade que passamos juntas, eles foram importantes para que esses anos fossem intensos.

Às minhas “braço direito”, Lydía e Letícia por cada fim de semana compartilhado no laboratório, por cada ajuda realizada durante esses anos e principalmente pela companhia em cada 5 minutos de comportamento! rs.

Ao meu amigo Délcio, por cada sorriso que me tirou em dias fáceis e difíceis. Obrigada por tornar meus dias mais leves e divertidos.

À minha amiga de casa Carol, pela ajuda emocional quando tudo começou! Obrigada por cada café da tarde ouvindo desabafos e por esses dois anos de convivência.

A minha amiga e parceira de laboratório Vitória, pela companhia e parceria que me vez nos momentos bons e ruins.

Aos amigos e colegas do LABAInt pela companhia e conversas no laboratório.

Aos professores, em especial a Silvia Ruginsk, Valdemar Jr. e Fabrício Avelar pela disponibilidade em ajudar no desenvolvimento deste trabalho.

As assistentes Neusa e Isabel, pelo cuidado e carinho oferecido todos esses anos.

E finalmente, cada camundongo que ofereceu sua vida para o desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

A depressão é descrita como uma das patologias que mais atinge pessoas, sendo as mulheres mais susceptíveis, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). O desenvolvimento da depressão durante a gestação pode acarretar prejuízos tanto para as mulheres quanto para seus descendentes, sendo necessário um tratamento medicamentoso para a gestante. Entretanto, pouco se sabe a respeito de uma gestação frente ao uso de fármacos antidepressivos. Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar o uso da amitriptilina (AMT), durante a fase reprodutiva e todo o período de prenhez em camundongos, assim como a prática da substituição deste fármaco pela fluoxetina (FLX), no final do período embrionário e seus possíveis efeitos na gestação, no pós-natal e no desenvolvimento da prole. Com este intuito, fêmeas Swiss foram tratadas com AMT (20mg/Kg) 10 dias antes e durante o acasalamento, via gavagem orogástrica e divididas em dois grupos. No primeiro, a AMT foi mantida durante toda a prenhez e no segundo ocorreu a substituição pela FLX (10mg/Kg), no 14º dia de gestação (ddg). No Controle, as fêmeas foram tratadas com a solução de carboximetilcelulose a 1%. Durante a prenhez, foi acompanhado peso e ingestão materna e no 18º ddg algumas fêmeas foram eutanasiadas para análise gestacional e placentária. Em outro conjunto de fêmeas, a gestação foi à termo, a prole foi normalizada em 6 filhotes (3 machos/3 fêmeas) para avaliação do comportamento materno, análise do desenvolvimento da prole durante 30 dias de vida e testes análise de depressão e ansiedade na prole jovem. Os resultados apresentaram uma dificuldade de prenhez de 52,95% nas mães tratadas, além de um aumento significativo na taxa de natimortos e morte neonatal, no tratamento com a AMT. O peso das mães tratadas com AMT e AMT+FLX mostraram diferença significativa nos últimos dias de gestação, não alterando o peso e o de crescimento intrauterino. A placenta do grupo AMT apresentou alterações evidentes como: o aumento da área do espongiotrofoblasto, redução do labirinto, presença de edema e áreas em degeneração, no entanto essas alterações foram amenizadas no grupo AMT+FLX. Não foi constatado nenhuma anormalidade na prole, porém, na puberdade, os filhotes do grupo AMT apresentaram-se menores no peso e tamanho. No entanto, a distância anus/genital (DAG) das fêmeas aumentou. Houve um atraso na erupção dos incisivos em ambos tratamentos. O cuidado materno não apresentou diferenças frente a utilização dos fármacos, juntamente com os testes de ansiedade e depressão na prole. Em conclusão, os dados apontam que o tratamento com AMT reduz a chance de uma gestação, apresenta alterações placentárias, e aumenta o número de natimortos e morte neonatal, remetendo a um quadro semelhante a doenças hipertensivas.

No entanto, a troca pela FLX ameniza estes problemas. A AMT ainda está associada a uma diminuição de peso e tamanho da prole e uma suspeita de masculinização dos filhotes fêmeas. Entretanto, nenhum dos tratamentos parece interferir no comportamento materno, ou nos padrões de depressão e ansiedade da prole. Dentro destes achados, pode-se constatar que a substituição da AMT pela FLX parece ser a melhor conduta.

**Palavras-chave:** antidepressivo; gestação de camundongo; comportamento materno; comportamento da prole jovem, placenta.

## ABSTRACT

The depression have been described as the most pathology that affects people, and the women are the main victims of the illness, according to the World Health Organization (WHO). The depression development during the pregnancy can cause harm to the women and their descendants, therefore in some cases the drug treatment is necessary. However, there are few studies about the pregnancy with use the antidepressant medicines. Because this, the goal of this study is evaluate the amitriptyline (AMT), during the reproductive stage and pregnancy period in mouse, just like the substitution practice by fluoxetine (FLX), in the end of germinal period and possible effects in pregnancy, in after birth and in offspring development. Swiss Female mice were treated with AMT (20 mg/Kg) 10 days and during mating, via orogastric gavage and divided in two experimental groups. In first AMT was sustained during all pregnancy and second group was realized the substitution of AMT by FLX (10 mg/Kg) on the 14<sup>th</sup> pregnancy day (PD). In the control group, female were treated with medicine's eluent solution, Carboxymethyl cellulose 1%. During the pregnancy, it were accompanied the weight and maternal ingestion and on 18<sup>th</sup> PD some females were euthanized for gestational and placental analysis. In other female group, the gestation was at term, the offspring were normalized in 6 puppies (3 males / 3 female) for maternal behavior evaluation, offspring development analysis on first 30 life days, when were realized depression and anxiety analysis tests. In the results, it occurred a reduction of 52,95% in the pregnancy rate for treated mothers, besides an increase in the stillbirth rate and newborn death, in the treatment with the AMT. The mothers treated weight with AMT and AMT+FLX, showed significant difference on last pregnancy days, the weight and Intrauterine growth restriction (IURG) weren't changed. The AMT group placentae showed evident differences: spongiotrophoblast increase, labyrinthotrophoblast decrease, edema presence and degeneration areas. This effects were softened in AMT+FLX group. It wasn't verified offspring teratogenic problem, but on the puberty the AMT group puppies, showed weight and size smaller. However, female anus/genital distance (AGD) increased. It was observed, rupture of the incisors delay in both treatments. The maternal care didn't show significant differences with medicines using, together with the young offspring anxiety and depression tests. In conclusion, data points out that treatment with drugs decrease pregnancy chance. The AMT treatment causes important placental changes, besides of increase stillbirth number and newborn death, that looks like the preeclampsia frame. However, the change by FLX looks like to soften this problems. AMT still is associated a weight and

offspring size decrease and female puppies masculinization. But, treatments aren't sound of to intervene in maternal behavior, or young offspring depression and anxiety patterns. Within these findings, can be verified that clinical practice AMT by FLX substitution sounds of to be the best medicine management.

**Key-words:** antidepressant; mouse pregnancy; maternal behavior; young offspring behavior, placenta.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Armazenamentos dos animais no biotério observação da rolha vaginal. ....	21
Figura 2 -	Linha do tempo e delineamento experimental. ....	24
Figura 4 -	Morfometria placentária. ....	27
Figura 5 -	Marcação nos filhotes para realização dos testes de desenvolvimento físico e reflexos neurológicos. ....	29
Figura 6 -	Análise dos parâmetros físicos de desenvolvimento. ....	30
Figura 7 -	Testes de desenvolvimento neurológico. ....	32
Figura 8 -	Representação esquemática dos parâmetros de comportamento materno e não materno em roedores. ....	33
Figura 9 -	Representação dos aparatos utilizados para cada teste de comportamento na prole adulta. ....	35
Figura 10 -	Gráficos representando a porcentagem de rolhas obtidas em cada um dos grupos analisados. ....	39
Figura 11 -	Gráfico da análise de ingestão alimentar durante a prenhez e ganho de peso antes e durante a gestação. ....	40
Figura 12 -	Gráficos da análise da concentração de proteína na urina de fêmeas prenhes. ..	41
Figura 13 -	Fotos e gráficos da análise gestacional no 18º ddg. ....	42
Figura 14 -	Morfologia placentária. ....	44
Figura 15 -	Morfometria das populações celulares da placenta no 18º ddg. ....	45
Figura 16 -	Gráficos da análise da prole. ....	46
Figura 17 -	Análise de desenvolvimento físico de filhotes ao longo do primeiro mês de vida. ....	47
Figura 18 -	Ganho de peso dos filhotes ao longo do primeiro mês de vida. ....	49
Figura 19 -	Crescimentos naso/anal, naso/caudal e anus/genital de filhotes de mães submetidas aos tratamentos e controles. ....	51
Figura 20 -	Análise do desenvolvimento de reflexo neurológico dos filhotes ao longo do primeiro mês de vida. ....	52
Figura 21 -	Gráfico com as análises de comportamento materno. ....	53
Figura 22 -	Gráficos dos parâmetros individuais de comportamento materno. ....	54
Figura 23 -	Gráficos dos parâmetros individuais de comportamento não materno. ....	54

Figura 24 - Gráficos da análise do tempo estático em segundos (s) dos filhotes no teste de nado forçado. ....	55
Figura 25 - Gráficos da análise do teste de campo aberto em filhotes. ....	56
Figura 26 - Gráficos do comportamento no teste de campo aberto. ....	57
Figura 27 - Gráfico demonstrando as médias da taxa de entrada nos braços abertos e fechados do teste de Labirinto em Cruz Elevado. ....	58
Figura 28 - Gráfico representando as médias do tempo (segundos) de permanência nos braços do LCE. ....	58

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Número de animais utilizados em cada grupo experimental.....	21
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AMT</b>	- Amitriptilina
<b>ANOVA</b>	- Análise de Variância
<b>AO</b>	- Abertura de Olho
<b>AP</b>	- Aparecimento de Pelo
<b>AP</b>	- Agarramento Palmar
<b>ATC</b>	- Antidepressivo Tricíclico
<b>AV</b>	- Abertura de Vagina
<b>CTG</b>	- Células Trofoblásticas Gigantes
<b>CM</b>	- Comportamento Materno
<b>CNM</b>	- Comportamento Não Materno
<b>DA</b>	- Dopamina
<b>DAG</b>	- Distância anus/genital
<b>ddg</b>	- dia de gestação
<b>DO</b>	- Descolamento de Orelha
<b>dpn</b>	- dia pós nascimento
<b>DPM</b>	- Disforia Pré-Menstrual
<b>DT</b>	- Decida de Testículo
<b>FDA</b>	- Food and Drugs Administration
<b>FLX</b>	- Fluoxetina
<b>g</b>	- gramas
<b>GN</b>	- Geotaxia Negativa
<b>IUGR</b>	- Intrauterine growth restriction
<b>IMAOS</b>	- Inibidores de monoaminoxidase
<b>IRSN</b>	- Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina-Norepinefrina
<b>ISRS</b>	- Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
<b>Kg</b>	- Kilograma
<b>LCE</b>	- Labirinto em Cruz Elevado
<b>NE</b>	- Norepinefrina

<b>mg</b>	- miligrama
<b>OMS</b>	- Organização Mundial da Saúde
<b>QT</b>	- Taquiarritmia Cardíaca Congênita
<b>RE</b>	- Reflexo de Endireitamento
<b>RII</b>	-Rompimento do Incisivo Inferior
<b>RIS</b>	-Rompimento do Incisivo Superior
<b>SN</b>	- Sistema Nervoso
<b>TOC</b>	- Transtorno Obsessivo Compulsivo
<b>TPM</b>	- Tensão Pré-Menstrual
<b>5HT</b>	- Serotonina
<b>µm</b>	- micrômetro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>10</b>
2.1 ANTIDEPRESSIVOS .....	11
<b>2.1.1 Antidepressivo Tricíclico (Amitriptilina) .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1.2 Inibidores Seletivos De Recaptação De Serotonina (Fluoxetina) .....</b>	<b>13</b>
2.2 USO DE ANTIDEPRESSIVOS NA GESTAÇÃO.....	14
<b>3 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>18</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
4.1 OBJETIVOS GERAIS .....	19
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
5.1 ANIMAIS .....	20
5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	21
5.3 TRATAMENTO COM OS FÁRMACOS .....	22
5.5 ANÁLISE GESTACIONAL, COLETA E FIXAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO .....	25
5.6 EFICIÊNCIA PLACENTÁRIA .....	25
5.7 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO .....	25
5.8 COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA (HE) .....	26
5.9 ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DA PLACENTA .....	26
5.10 DOSAGEM DE PROTEÍNA URINÁRIA POR MÉTODO COLORIMÉTRICO	27
5.11 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROLÓGICO DA PROLE	28
<b>5.11.1 Testes de desenvolvimento físico .....</b>	<b>29</b>
<b>5.11.2 Testes de desenvolvimento neurológico .....</b>	<b>31</b>
5.12 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO .....	32
5.13 ANÁLISE DE COMPORTAMENTO DA PROLE ADULTA .....	33
<b>5.13.1 Labirinto em Cruz Elevado .....</b>	<b>34</b>

<b>5.13.2 Nado forçado</b> .....	<b>35</b>
<b>5.13.3 Campo aberto</b> .....	<b>36</b>
5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICAS .....	37
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
6.1 ANÁLISE DA FERTILIDADE .....	38
6.2 PESO DA FÊMEA ANTES E DURANTE A GESTAÇÃO .....	39
6.3 ANÁLISE DA PROTEINÚRIA DURANTE A GESTAÇÃO .....	40
6.4 ANÁLISE GESTACIONAL .....	41
6.5 MORFOLOGIA E MORFOMETRIA PLACENTÁRIA.....	43
6.6 ANÁLISE DA PROLE.....	45
6.7 TESTES DE DESENVOLVIMENTO FÍSICO DA PROLE .....	46
6.8 ANÁLISE DO GANHO DE PESO DOS FILHOTES .....	48
6.9 ANÁLISE DO CRESCIMENTO DA PROLE.....	49
<b>6.9.1 Crescimento naso/anal</b> .....	<b>49</b>
<b>6.9.2 Crescimento naso/caudal</b> .....	<b>50</b>
<b>6.9.3 Crescimento anus/genital</b> .....	<b>50</b>
6.10 TESTES DE DESENVOLVIMENTO NEUROLÓGICO DA PROLE.....	52
6.11 CUIDADO MATERNO .....	53
6.12 ANÁLISE COMPORTAMENTAL DA PROLE.....	55
<b>6.12.1 Nado Forçado</b> .....	<b>55</b>
<b>6.12.2 Campo Aberto</b> .....	<b>55</b>
<b>6.12.3 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)</b> .....	<b>57</b>
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	<b>70</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>86</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo é caracterizado por um distúrbio afetivo que atinge muitas pessoas no mundo e o estresse pode ser um dos fatores que desencadeia esta patologia. A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que entre 2005 e 2015, o número de pessoas que sofrem dessa patologia aumentou 18%, o que pode estar associado ao estresse contemporâneo. A OMS estima ainda que a depressão pode afetar entre 10 a 15% da população em geral, e aponta sua maior prevalência entre as mulheres.

Durante o período gestacional, o organismo feminino sofre uma série de alterações físicas, metabólicas e psicológicas, deixando a mulher mais propensa a manifestações depressivas. Estima-se que essa patologia pode variar entre 15 e 23% das mulheres grávidas, e o desenvolvimento desta doença na gestação representa um quadro mais delicado, podendo aumentar os riscos tanto para a mãe quanto para seus descendentes. Visando amenizar as complicações geradas pela depressão, as gestantes devem ser diagnosticadas e acompanhadas clinicamente durante a gravidez e período do puerpério. Existem algumas terapias alternativas para o tratamento da depressão, no entanto muitas vezes estas gestantes necessitam de uma intervenção medicamentosa com fármacos antidepressivos.

A literatura apresenta muitos dados controversos a respeito das consequências da utilização dos antidepressivos na gestação, assim como muito pouco é descrito a respeito de mulheres que engravidam fazendo o uso desta classe de medicamentos e seus efeitos adversos na mãe e no neonato. Esta escassez de dados pode estar associada à impossibilidade ética de averiguar o efeito de um determinado medicamento em caráter experimental, o que leva à utilização de modelos de experimentação animal como ratos e camundongos.

A administração de antidepressivos durante a prenhez de camundongos pode auxiliar na obtenção de resultados de um possível efeito do tratamento no comportamento materno, no desenvolvimento físico e neurológico dos filhotes ou até mesmo no comportamento da prole adulta, podendo assim contribuir com novos conhecimentos para a pesquisa associada ao atendimento clínico de pacientes. Este princípio norteia os objetivos deste trabalho.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A depressão, como já descrita por DeBatista (2014) e O'Donnell e Shelton (2011), consiste em uma doença caracterizada por sintomas relacionados a variação de humor, perda de interesse por atividades habituais, mudanças de comportamento e pensamentos pessimistas que acabam afetando o cotidiano do doente, acarretando em transtornos no sono e no apetite, déficits na cognição e perda de energia. Tal patologia afeta milhões de pessoas no mundo durante alguma fase da vida, segundo Lohoff e Rickels (2008) e as mulheres são as principais vítimas deste transtorno (SILVA, 2015).

O desenvolvimento da depressão decorre de um conjunto de fatores, sendo o estresse um dos grandes precursores dessa doença. Segundo Post (1992) e Vogt (2016), a maioria dos episódios depressivos em pacientes diagnosticados com depressão estão associados à ocorrência de fatores estressantes, que levam a alterações no hipocampo e na regulação do humor (JOCA, PADOVAN, GUIMARÃES, 2003). Neste contexto, existem duas hipóteses que explicam a fisiopatologia da depressão, sugerindo alterações químicas no cérebro do indivíduo deprimido: a hipótese monoaminérgica e a neurotrófica. A hipótese monoaminérgica da depressão está relacionada com a deficiência na quantidade ou na função das monoaminas: serotonina (5-HT), norepinefrina (NE) e dopamina (DA), a qual pode induzir sintomas depressivos (DEBATISTA, 2014). Já a hipótese neurotrófica sugere uma redução de fatores de crescimento e indução da atrofia celular no hipocampo e outras estruturas do sistema límbico (BASTOS, 2011). Além deste panorama, parece existir a possibilidade de uma predisposição genética à doença, responsável pelas alterações fisiológicas desencadeadoras da patologia no indivíduo (DEBATISTA, 2014).

Além do transtorno depressivo que pode afetar homens e mulheres, existem ainda dois quadros mais delicados dessa enfermidade, a depressão gestacional e a depressão pós-parto. Esses dois tipos de depressão acabam sendo mais preocupantes, devido às constantes alterações físicas e psicológicas características destes períodos, as quais podem agravar o estado depressivo da mulher (FALCONE, et al., 2005).

A depressão durante a gestação e lactação é uma condição relativamente comum associada a efeitos prejudiciais, tanto no âmbito familiar quanto social, no mundo todo

(HORWITZ, et al, 2007). A depressão gestacional configura um quadro que pode ser nocivo tanto para gestante quanto para seus filhos, sendo associada a funções feto/placentárias diminuídas, diminuição do crescimento fetal e complicações neonatais, como pré-eclâmpsia e parto prematuro (MARROUN, 2015). Além disso, Field (2004) afirma que a depressão pré-natal também está associada a alterações fisiológicas na prole e mudanças no seu desenvolvimento neurológico, podendo acarretar mudanças comportamentais futuras. Cooper et al. (2007) estima que essa patologia possa incidir sobre 10-15% das mulheres em idade reprodutiva, as quais muitas vezes necessitam de um acompanhamento clínico para diagnóstico e tratamento (HENEGHAN, et al, 1998).

A depressão gestacional ou pós-natal pode provocar mudanças no cuidado que a mãe possui perante sua própria gestação, o puerpério e o seu desempenho frente às necessidades do recém-nascido. As fêmeas, nos mamíferos, desempenham um cuidado especial à prole, denominado cuidado materno, o qual é regulado por fatores hormonais, visando a sobrevivência e o melhor desenvolvimento dos filhotes (MANN, 2006). Em roedores, por exemplo, é imprescindível o cuidado que a mãe tem com seus filhotes, principalmente nas duas primeiras semanas de vida. As ratas lambem os filhotes para limpar as vias respiratórias e também os carregam para o ninho após o parto (NEVES, 2013). Segundo este autor, ratos lambidos ao nascimento se tornam adultos mais tranquilos e menos estressados. Diante desses aspectos, condições externas podem levar a desregulação hormonal, acarretando na mudança do cuidado com a prole (SCHULKIN, 2013). Além disso, estudos mostram que a depressão pós-parto pode estar diretamente associada a problemas no desenvolvimento afetivo, social e cognitivo da criança (CUMMINGS DAVIES, 1994; DODGE, 1990; FIELD, 1998).

## 2.1 ANTIDEPRESSIVOS

Atualmente, no mercado farmacêutico encontra-se uma gama de antidepressivos prescritos para ansiedade e depressão. Tais medicamentos tornaram-se eficazes no início da segunda metade da década de 50, com o desenvolvimento dos antidepressivos inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) e dos antidepressivos tricíclicos (ATCs), sendo

bastante utilizados ainda na atualidade (MIRANDA e OLIVEIRA, 2002). Outros tipos de antidepressivos foram sendo desenvolvidos com o passar dos anos e atualmente estes medicamentos são divididos em cinco classes: antidepressivos tricíclicos (ATCs), inibidores seletivos de receptação de serotonina (ISRSs), inibidores seletivos da receptação de serotonina-norepinefrina (IRSNs) inibidores de monoaminoxidase (IMAOs) e os antidepressivos atípicos (SLATTERY et al., 2004).

O foco deste trabalho, no entanto, é direcionado à duas classes principais desses antidepressivos, o grupo dos ATCs e dos ISRSs. No grupo dos ATCs foi destacada neste estudo a amitriptilina (AMT), devido à ausência de estudos associados a esta droga, juntamente com o risco aumentado de mulheres poderem engravidar utilizando o medicamento, uma vez que ele tem sido prescrito para controle da tensão pré-menstrual (TPM), segundo Tagavi (1999), além das associações entre o uso desta droga com a pré-eclâmpsia (PALMSTEN, et al., 2013). No grupo dos ISRSs, este trabalho destacou a fluoxetina (FLX), uma vez que esta droga é comumente prescrita para gestantes (SALARI, 2016).

### **2.1.1 Antidepressivo Tricíclico (Amitriptilina)**

Os ATCs possuem uma estrutura química que consiste em três anéis, incluindo dois anéis aromáticos fixados a um anel de ciclo-heptano (NADAL-VICENS, CHYUNG e TURNER, 2009). Essa classe constitui o primeiro grupo de fármacos a ser descoberto para o tratamento da depressão. No final da década de 1940, foi desenvolvido o primeiro agente tricíclico, a imipramina, para o uso em pacientes psicóticos e, coincidentemente, foi constatado que o fármaco exercia efeitos inesperados sobre o humor, agindo como antidepressivo. A partir de então, foram desenvolvidos novos fármacos desta classe: amitriptilina, desipramina, nortriptilina e a clomipramina (MIRANDA e OLIVEIRA, 2002).

O mecanismo de ação dos ATCs consiste em uma potente inibição da recaptação das monoaminas (principalmente NE e 5-HT) da fenda sináptica, por meio do bloqueio de seus transportadores, afetando a recaptação da DA em menor escala (MORENO,

MORENO E SOARES, 1999). Sendo assim, a AMT age inibindo a reabsorção da NE e da 5HT em neurônios adrenérgicos e serotoninérgicos, potencializando ou prolongando a atividade neuronal (NADAL-VICENS, CHYUNG e TURNER, 2009). Por meio desse mecanismo, a AMT desempenha funções ansiolítica (controle da ansiedade) e calmante. Esse medicamento é recomendado principalmente para o tratamento da depressão, entretanto, podem ser incluídas outras aplicações, como tratamento de distúrbios de dor, enurese noturna e insônia, controle da síndrome de hiperatividade com déficit de atenção e enxaqueca (DEBATISTA, 2014; GONÇALVES, et al 2016; GUARDIOLA, 1999). Além dessas aplicações, a AMT também pode ser utilizada para controle da TPM, de acordo com Tagavi (1990). Esta prática clínica é justificada por meio de pesquisas que comprovam que características depressivas também podem ser associadas a sintomas recorrentes do período pré-menstrual (MOGHADAM, et al., 2016).

Apesar de sua ampla prescrição, alguns efeitos adversos podem ser encontrados na utilização deste fármaco, uma vez que os ATCs possuem capacidade de ligação a diversos receptores, além de seus alvos terapêuticos. De acordo com Nadal-Vicens, Chyung e Turner (2009), o efeito adverso mais grave é o que envolve o sistema cardiovascular, podendo ocasionar o bloqueio atrioventricular de primeiro grau, associado a um risco aumentado de fibrilação atrial (CHENG, 2009). Além disso, os efeitos mais comuns são derivados da atuação exercida pelos ATCs como antagonistas aos receptores muscarínicos (colinérgicos), histamínicos, adrenérgicos e dopamínicos. Os principais sintomas adversos encontrados são: náusea, vômitos, anorexia, boca seca, visão turva, confusão, taquicardia e retenção urinária (DEBATISTA, 2014). Frente aos benefícios e efeitos adversos encontrados na utilização da AMT, é preocupante o tratamento de mulheres em idade reprodutiva com este medicamento, uma vez que seus efeitos não são claros durante a gestação (BULA DO CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA, 2014).

### **2.1.2 Inibidores Seletivos De Recaptação De Serotonina (Fluoxetina)**

Os ISRSs foram desenvolvidos em 1987 e revolucionaram o tratamento da depressão, tornando-se os agentes de primeira linha para o tratamento dessa patologia (NADAL-VICENS, CHYUNG e TURNER, 2009). O primeiro fármaco constituinte dessa classe foi a FLX, porém outras drogas importantes fazem parte dessa classe de antidepressivos como: o citalopram, a fluvoxamina, a paroxetina, a sertralina e o escitalopram. Os ISRSs possuem uma via de ação parecida aos ATCs, porém essa classe é mais seletiva para transportadores de 5HT. O mecanismo de ação consiste, principalmente, na inibição da recaptação de serotonina, resultando na potencialização da neurotransmissão serotoninérgica. No entanto, em doses mais altas, esse fármaco perde essa seletividade e podendo inibir também a NE (MIRANDA e OLIVEIRA, 2002).

Dos medicamentos pertencentes à classe dos ISRSs, a FLX é a mais indicada ao tratamento da depressão e ansiedade, entretanto ela também pode ser prescrita para o tratamento de transtorno obsessivo compulsivo (TOC), bulimia nervosa e disforia pré-menstrual (DPM), uma variante da TPM mais intensa e severa (BORUE; SHARMA; HUDAK, 2015; CHENIAUX, 2006; MAREMMANI, 1996). Mesmo com a semelhança no mecanismo de ação com os ATCs, os ISRSs são mais utilizados por apresentarem um número bem menor de efeitos adversos, segundo DeBatista (2014), sendo o mais grave deles a síndrome da 5HT, resultante da estimulação excessiva de receptores serotoninérgicos, que pode causar rigidez muscular, mudanças do estado mental e dos sinais vitais (NADAL-VICENS, CHYUNG e TURNER, 2009).

## 2.2 USO DE ANTIDEPRESSIVOS NA GESTAÇÃO

De maneira geral, o uso de medicamentos deve ser evitado durante a gestação (ANDRADE, et al. 2004; OSÓRIO DE CASTRO, PAUMGARTTEN e SILVER, 20014; RAMOS, et al. 2008). Terapias alternativas, costumam ser uma alternativa consideradas naturais e apresentam algum sucesso por não possuírem efeitos adversos importantes. Neste grupo são encontradas, por exemplo, as psicoterapias, terapias hormonais, acupuntura e prática de atividades físicas (FALCONE, 2005). No entanto, em casos mais graves, um tratamento medicamentoso é necessário, uma vez que os efeitos da depressão

podem ser mais nocivos para o desenvolvimento da criança e para o bem-estar materno, do que possíveis efeitos controversos da medicação, o que deve ser levado em consideração (IBIAPINA, et al, 2010).

Para que haja segurança no consumo de medicamentos durante a gestação, foi desenvolvida uma tabela classificatória do risco da utilização de drogas medicamentosas, mundialmente considerada e divulgada pela US Drugs And Foods Administration (FDA) desde a década de 80. De acordo com o FDA, foram determinadas cinco principais categorias de risco para o uso de medicamentos na gestação: A, B, C, D e X, sendo a A é a mais segura e X a não recomendada por apresentar altos riscos. O FDA, no decorrer dos anos, vem atualizando a classificação dos diferentes fármacos de acordo com pesquisas que comprovem sua atividade em humanos e em outras espécies animais. De acordo com a bula da AMT e da FLX (Anexo B e C), ambos os medicamentos são classificados na categoria de risco C, ou seja, correspondem ao grupo que possui estudos em animais demonstrando que podem exercer efeitos adversos (teratogênicos ou embriotóxicos), mas que, no entanto, não existem estudos suficientes em mulheres para comprovação destes dados, e ainda existem controvérsias.

De acordo com a literatura, muitos estudos apontam que a classe de antidepressivos mais indicada para mulheres no período gestacional é a dos ISRSs, dando destaque à FLX (CARVALHO, et al. 2016; SALARI, 2016), embora a bula do medicamento descreva que o uso deve ser feito apenas em casos graves da doença, quando a patologia materna apresente maiores riscos ao feto em desenvolvimento do que o medicamento propriamente dito.

A FLX tem a capacidade de atravessar a barreira placentária e entrar na corrente sanguínea fetal (CROEN, et al. 2011). Um estudo realizado por Salari et al. (2016) mostrou que esse medicamento não provoca alterações teratogênicas no embrião em desenvolvimento. Entretanto, há evidências de que o uso de ISRS por gestantes pode aumentar os riscos de deficiência cardíaca e pulmonar no feto, levando a hipertensão, além de parto prematuro e baixo peso ao nascer (ALWAN E FRIEDMAN, 2009). De acordo com a bula do medicamento, uma meta-análise sugere que a FLX possui um risco potencial de defeitos cardiovasculares em bebês de mulheres expostas a esse medicamento durante o primeiro trimestre da gravidez, comparado aos bebês de mulheres que não foram expostas a medicação.

Além disso, outros estudos revelaram que o uso de ISRS no período gestacional parece acarretar em um atraso no desenvolvimento motor da criança, além de um possível aumento do risco de autismo e hiperatividade (CASPER, 2015). Segundo Croen et al. (2011), bebês de mães que fizeram o uso do antidepressivo ISRS durante o primeiro trimestre gestacional tiveram um aumento duas vezes maior na incidência de autismo, quando comparados aos bebês de mães controle. Por outro lado, os riscos da depressão podem prevalecer sobre os riscos do uso de algum medicamento frente ao desenvolvimento do bebê. Sendo assim, a decisão do tratamento mais seguro e adequado cabe à equipe multidisciplinar.

Outro grupo de fármacos utilizados para o tratamento da depressão em gestantes é da classe ATC. Estudos recentes indicaram que o uso de ATCs para o tratamento da depressão durante a gestação pode provocar alterações nos canais iônicos de sódio e potássio, produzindo alterações de genes que codificam proteínas de membrana levando a distúrbios letais do ritmo cardíaco (NOGUEIRA, 2010). Esta alteração acarreta uma taquiarritmia cardíaca congênita grave, conhecida como síndrome do QT longo (FUKUSHIMA, 2016). Além de estar associada a problemas cardíacos, algumas drogas pertencentes a esta classe de antidepressivos têm sido descritas como possíveis causas de aumento nos casos de pré-eclâmpsia (PALMSTEM, et al. 2013). Apesar destas evidências quanto ao uso dos ATCs, Abdul-Aziz et al. (2012) descrevem que os efeitos do estresse na gestação podem ser amenizados com a utilização de AMT, minimizando também os efeitos do estresse materno sobre o desenvolvimento da prole.

De acordo com práticas clínicas, a AMT e a FLX podem ser utilizadas não apenas para o tratamento da depressão, mas também para outros fins, como enxaqueca, TPM e TOC, conforme já mencionado. Dentro deste contexto, temos observado que estes medicamentos podem ser utilizados por mulheres durante o período reprodutivo e não existe nada descrito sobre as consequências de uma gravidez inicial durante o uso destas medicações. Este quadro torna-se preocupante, uma vez que uma grande parcela de gestantes inicia o pré-natal após o período recomendado (ANVERSA, et al. 2012), aumentando o risco de uma gravidez sob a utilização do medicamento e muitas vezes a manutenção desta medicação pela gestante, durante as primeiras semanas gestacionais.

Frente a isso, parâmetros de desenvolvimento morfológico e neuropsicomotor da prole de camundongos nos primeiros dias de vida, estabelecidos na literatura (CASTRO, et al. 2000; CASTRO 2006; CALVINO-NUNES, DOMINGUEZ-DEL-TORO, 2014;

CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007), podem sofrer alterações devido ao uso dos medicamentos. Dentro deste contexto, no entanto, muito pouco é descrito a respeito da FLX, não havendo relatos sobre a ação da AMT sobre estas variáveis.

Outro aspecto que merece atenção é que a depressão gestacional ou pós-natal pode alterar o cuidado da mãe perante sua própria gestação, o puerpério e o seu desempenho frente às necessidades do recém-nascido. No entanto, esse cuidado com a prole também pode ser alterado quando a mãe está sob efeito de alguma medicação (VERONESI, et al. 2017), assim como parece receber influências devido a um tratamento materno realizado ainda durante o período de gestação (VILELA, 2011). Em relação a este aspecto, nada existe descrito sobre o efeito da AMT.

### 3 JUSTIFICATIVA

A pertinência deste trabalho está diretamente associada a carência de estudos no que diz respeito da possibilidade de uma gestação sob efeito de fármacos antidepressivos e suas possíveis correlações clínicas posteriores, uma vez que estes medicamentos têm sido cada vez mais utilizados por mulheres jovens na fase reprodutiva.

Dentro deste contexto, consideramos que muitas mulheres podem engravidar sob efeito de medicamentos, a respeito dos quais ainda não existem estudos suficientes que comprovem algum risco efetivo para a gestação e para a criança. Desta forma, estas mães podem manter esta medicação durante grande parte do período embrionário, até que iniciem um pré-natal adequado para a que medicação possa ser substituída.

Além disso, a conduta de substituição dos ATC por um ISRS também precisa ser melhor averiguada, uma vez que esta substituição costuma ser realizada durante o pré-natal com o período embrionário muitas vezes já concluído.

Apesar destas ocorrências serem bastante relatadas na prática clínica, existem poucos dados científicos que avaliem o risco desta conduta relacionada a gestação, sendo mais escassos ainda estudos que descrevam os efeitos do uso de medicações antidepressivas no comportamento materno e frente a possíveis consequências no desenvolvimento pós-natal, na puberdade ou na vida adulta.

Com o intuito de elucidar alguns aspectos relatados na clínica médica, este trabalho foi delineado tentando mimetizar um quadro clínico da utilização da AMT e a conduta de substituição deste fármaco pela FLX durante a gestação, realizado em um modelo experimental de camundongos devido a similitude placentárias e de interações materno fetais entre ambas as espécies.

## 4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão descritos abaixo.

### 4.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o uso da AMT durante todo o período de prenhez em camundongos, assim como a prática da substituição desse fármaco pela FLX no final do período embrionário e seus possíveis efeitos na gestação, no período pós-natal e no desenvolvimento da prole.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar possíveis efeitos decorrentes dos tratamentos com AMT e AMT+FLX, durante a fase reprodutiva e o período gestacional de camundongos:

- a) Na fertilidade;
- b) No ganho de peso materno;
- c) No tamanho e peso da ninhada;
- d) No número de natimortos;
- e) Na morfologia placentária;
- f) Nos parâmetros de cuidado materno;
- g) Nos parâmetros de desenvolvimento físico e neurológico da prole;
- h) Nos padrões de ansiedade e depressão da prole adulta.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram realizados no Biotério do Laboratório de Biologia Animal Integrativa (LABAInt) do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento (BioCD) do Instituto de Ciência Biomédicas (ICB) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEUA), com protocolo de nº 49/2016.

### 5.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 60 fêmeas de camundongos Swiss com idade entre 8 e 16 semanas, 60 filhotes e 10 machos da mesma linhagem para acasalamento. Tanto as fêmeas quanto os machos foram provenientes do Biotério Central da UNIFAL-MG e alocados no Biotério do Laboratório de Biologia Animal Integrativa (LABAInt) do Departamento de Biologia Celular. Os animais foram mantidos acondicionados em estantes ventiladas (Figura 1A), em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas e temperatura em torno de 22°C, em regime *ad-libidum* de água e ração granulada durante todo o período experimental (Figura 1B). O acasalamento foi realizado pelo método de harém na proporção fêmea:macho de 3:1. A manhã em que foi constatada a presença do tampão vaginal (Figura 1A) foi considerada como o 1º dia de gestação (ddg).



Figura 1 - Armazenamentos dos animais no biotério observação da rolha vaginal.

Fonte: Da autora.

Nota: **A.** Estantes ventiladas para acomodação das gaiolas dos camundongos. **B.** Constatação da rolha vaginal, considerado 1º dia de gestação (ddg).

**Quadro 1 – Número de animais utilizados em cada grupo experimental.**

TESTE EXPERIMENTAL	N EXPERIMENTAL - FÊMEAS	N EXPERIMENTAL - FILHOTES
COMPORTAMENTO MATERNO	Controle - 10 AMT- 10 FLX - 10	-
COMPORTAMENTO PROLE JOVEM	-	Controle - 10 AMT - 10 AMT+FLX - 10
DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROLÓGICO DA PROLE	Controle - 5 AMT- 5 FLX - 5	Controle - 10 AMT - 10 AMT+FLX - 10
MORFOLOGIA PLACENTÁRIA	Controle - 5 AMT- 5 FLX - 5	-
TOTAL	60	60

Fonte: Da autora.

## 5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Neste estudo foram realizados três grupos experimentais, sendo eles: (1) Grupo Controle - as fêmeas virgens foram tratadas via gavagem apenas com solução de carboximetilcelulose diluída em água a 1% durante o período experimental, sem a presença de nenhuma droga (n=15); (2) Grupo AMT - as fêmeas obtiveram tratamento por 10 dias consecutivos com o antidepressivo tricíclico, AMT, numa dose diária de 20mg/kg, sendo na sequência destinadas ao acasalamento e tratadas com o mesmo fármaco até o final da prenhez (n=15); (3) Grupo AMT+FLX- as fêmeas também foram tratadas com AMT por 10 dias, inclusive durante o acasalamento e o tratamento foi mantido até o 10º ddg, quando foi substituído pelo antidepressivo ISRS, FLX, numa dose diária de 10mg/kg, até o final da gestação (n=15) ou até o 18º ddg quando então foram eutanasiadas (Figura 2). Essa substituição foi realizada de maneira gradativa, ou seja, diminuindo o volume da AMT (1/2; 1/3 dose) e aumentando o da FLX (1/3; 1/2; dose inteira) por dia. Sendo assim, a diminuição iniciou-se no 10º ddg e se completou no 14º ddg. Ambos os medicamentos foram retirados de forma gradativa após o parto (1/2 dose no primeiro dia pós-parto e 1/3 da dose no segundo dia pós-parto). Cada um dos grupos foi submetido aos mesmos procedimentos, a distribuição dos animais utilizados em cada grupo está descrita na Tabela 1 e o delineamento experimental desse trabalho está representado na Figura 2, sendo descrito nos itens subsequentes.

### 5.3 TRATAMENTO COM OS FÁRMACOS

A AMT foi ministrada via gavagem oragástrica numa dosagem de 20mg/Kg/dia e a FLX numa dose de 10mg/Kg/dia para cada animal. A AMT foi diluída em carboximetilcelulose a 1%, enquanto a FLX, foi diluída em salina a 0,9%. O carboximetilcelulose, consiste em um polímero em pó, solúvel em água, muito usado na farmacologia por ter características inertes. Já a solução salina, também não apresenta diferenças significativas quando comparadas a um grupo controle (ZAVAN, 2011). A solução mãe foi preparada na concentração de 5mg/mL para AMT (5mg do fármaco para cada 1mL de carboximetilcelulose) e de 4mg/mL para FLX (4mg do fármaco para cada 1mL de salina), ambas as drogas foram armazenadas na geladeira até o momento do uso. Considerando a média de peso das fêmeas sendo 30g, cada fêmea recebeu um volume de

120 $\mu$ L de AMT ou 150 $\mu$ L de FLX. Tal tratamento foi realizado todos os dias às 16h, sendo este um horário em que os camundongos não costumam estar em alta atividade, não sendo necessário jejum prévio.

**LINHA DO TEMPO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

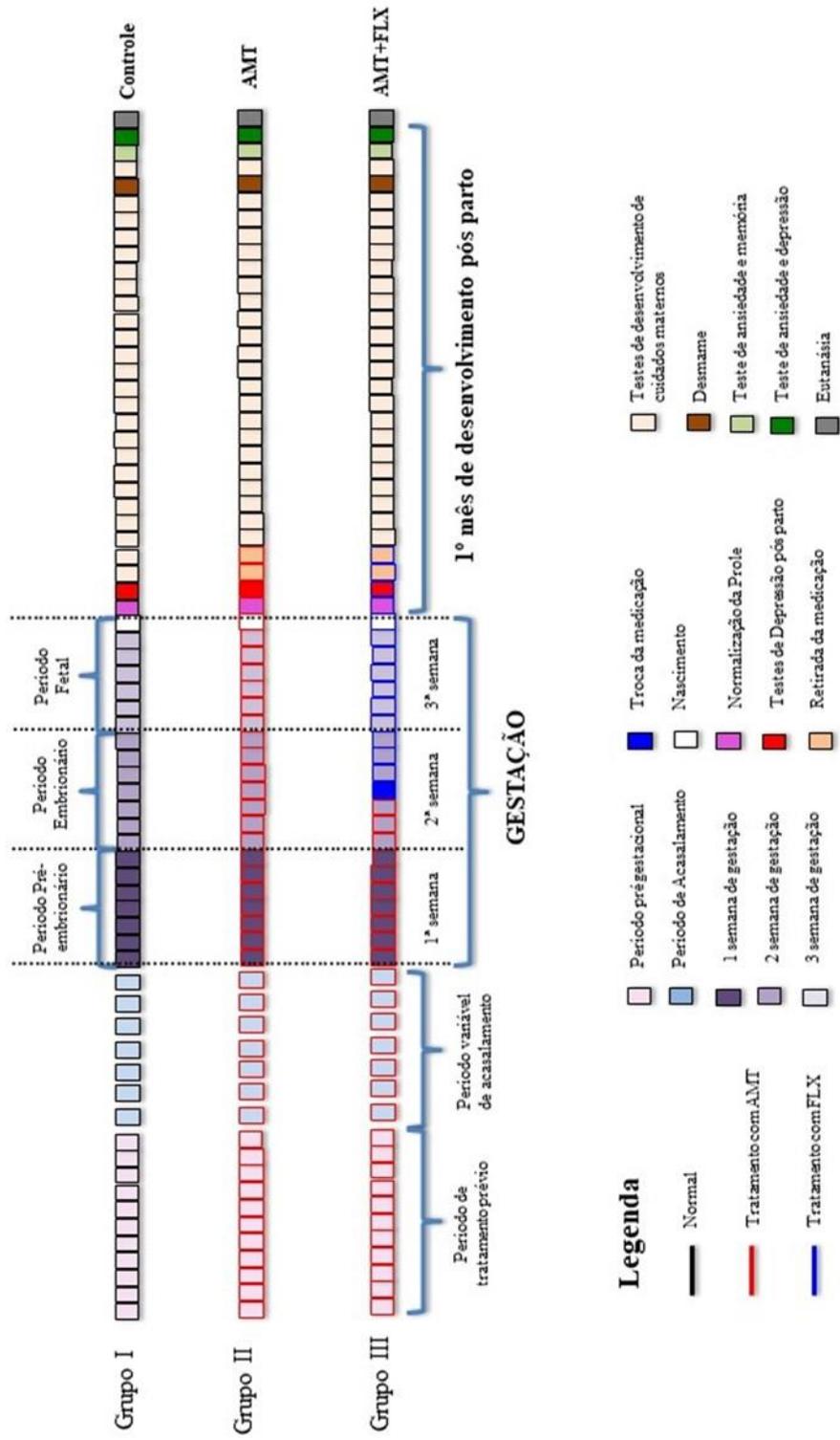


Figura 2 – Linha do tempo e delineamento experimental.  
Fonte: da autora.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE

Após 10 dias de tratamento, as fêmeas do grupo Controle e do grupo AMT foram destinadas ao acasalamento. Dentre estas, foi computada a porcentagem de fêmeas prenhes e não prenhes durante o período de acasalamento e confeccionada uma curva de sobrevivência para mensurar uma possível dificuldade gestacional no grupo tratado.

#### 5.5 ANÁLISE GESTACIONAL, COLETA E FIXAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO

No 18º dia de gestação (ddg), as fêmeas prenhes foram eutanasiadas por inalação de Isoflurano, e os cornos uterinos foram expostos, por meio da laparotomia. Foram computados o número de sítios de implantação e o número de reabsorções e hemorragias, quando presentes.

Os sítios de implantação foram individualizados e abertos, sendo os fetos e as placentas separados, pesados e medidos. As placentas foram selecionadas em seu maior eixo, no sentido longitudinal e fixadas em paraformaldeído 4% por 3 horas.

#### 5.6 EFICIÊNCIA PLACENTÁRIA

A eficiência placentária foi calculada dividindo o peso fetal pelo peso de sua placenta, de maneira a obter assim uma razão da proporção de placenta necessária para a manutenção do feto.

#### 5.7 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Depois de fixado o material biológico coletado, o mesmo foi lavado em água corrente e mantido em álcool 70% “*overnight*”. No dia seguinte, o material foi desidratado por uma bateria crescente de etanol (90%, 95%, Absoluto I, II e III), imerso durante 30 minutos em cada solução e diafanizado com dois banhos consecutivos de Xilol durante 15 minutos cada., sendo embebido em parafina, contendo DMSO (Histosec - MerckChemical Co, SP, BR), diluída 1:1 com xilol durante 1 hora na estufa a 60°C, e embebidos mais duas vezes em parafina pura durante 30 minutos cada, a 60°C. O material foi então incluído em formas de alumínio contendo parafina pura mantida à temperatura ambiente por 24 horas, após ser devidamente identificado com seu número de processamento. Cortes de 5-7 µm de espessura foram obtidos em um micrótomo rotativo (Leica RM 2135) e coletados em lâminas histológicas revestidas com poli-L-lisina a 1% (Sigma-St.Louis/EUA, cód. P8920) e posteriormente corados.

#### 5.8 COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA (HE)

As lâminas contendo os cortes histológicos foram desparafinizadas em dois banhos consecutivos em Xilol durante 20 minutos cada e banhadas para hidratação em concentrações decrescentes de etanol: absoluto (3 banhos), 95%, 90% e 70%, durante 5 minutos por banho. A coloração foi realizada por imersão em Hematoxilina de Harris por 20 a 30 segundos, lavadas durante 1 minuto em água corrente e rapidamente em água destilada para retirar o excesso do corante. Em sequência, as lâminas receberam um banho de Eosina durante, aproximadamente, 30 segundos. Em seguida, as mesmas foram desidratadas em uma bateria crescente de etanol: 70%, 90%, 95%, absoluto (3 banhos), durante 5 minutos cada banho. Por fim, foram imersas em Xilol duas vezes, durante 5 minutos por vez, e o bálsamo do Canadá foi utilizado para fixação das lamínulas sobre os cortes, de modo a se tornarem permanentes.

#### 5.9 ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DA PLACENTA

As placentas de 18º ddg das mães dos grupos Controle, AMT e AMT+FLX foram analisadas morfológica e morfometricamente. As placentas foram fotografadas panoramicamente, no aumento de 4x e, a partir das imagens obtidas, foram medidos os seguintes parâmetros: área total, área de labirinto e espongiotrofoblasto, e número de ilhas de espongiotrofoblasto (Figura 3). É importante ressaltar que as placentas incluídas foram divididas ao meio em seu maior eixo, visto que os cortes das placentas foram obtidos de forma semi-seriada e dispostos em lâminas numeradas.

As análises morfométricas foram executadas, por meio do sistema de captura de imagens acoplado ao microscópio óptico, com o auxílio do Programa Nis Elements e do Programa AmScope MU1000 – Still and Live Image Microscop Digital Camera (Editing and Measuring Software).



Figura 3 - Morfometria placentária.

Fonte: Da autora.

Nota: Medidas realizadas na placenta neste trabalho. Análise da área total (em vermelho), medida da área de espongiotrofoblasto (em preto), medida da área do labirintotrofoblasto, (em amarelo) subtraindo as áreas das ilhas, medida, quantificação e diferenciação das ilhas de espongiotrofoblasto (em azul). Ilha de espongiotrofoblasto compostas por células produtoras de hormônios (\*). Ilha de espongiotrofoblasto compostas por células de glicogênio (#). Ilha de espongiotrofoblasto mistas (&).

## 5.10 DOSAGEM DE PROTEÍNA URINÁRIA POR MÉTODO COLORIMÉTRICO

As dosagens da proteinúria foram realizadas pela técnica de Bradford. Para tanto, foi utilizada uma curva padrão à base de albumina bovina nas concentrações de 15,625 a 1000  $\mu\text{g/mL}$  (7 pontos). A cada 10  $\mu\text{L}$  de amostra ou padrão foram adicionados 300  $\mu\text{L}$  do corante reagente. A leitura foi realizada após 5 minutos de incubação em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm. Utilizou-se água destilada mais o corante para a obtenção do poço branco e normalização dos valores da curva padrão e amostras.

#### 5.10 PADRONIZAÇÃO DA PROLE

Ao 1º dia pós-nascimento (dpn), os filhotes foram pesados e padronizados em seis animais por prole, sendo preferencialmente, três machos e três fêmeas. Tais filhotes foram selecionados aleatoriamente de forma que o único requisito para escolha foi a observação da presença de leite materno no abdômen do animal. Tal observação foi sugerida por Chorilli et al. (2007), de modo que os animais que mamam mais possuem maior chance de sobrevivência.

#### 5.11 ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROLÓGICO DA PROLE

As gaiolas contendo a mãe com os filhotes foram observadas diariamente em busca de qualquer alteração visível na mãe e na prole, sendo a morte neonatal computada até o 5ºdpn.

A partir do segundo dia de vida, esses filhotes foram submetidos a análises de parâmetros físicos e neurológicos durante um período de trinta dias, até que todos os parâmetros fossem avaliados. Para tais observações, os filhotes foram marcados diariamente com caneta permanente nas patas de modo de fossem identificados (Figura 4).

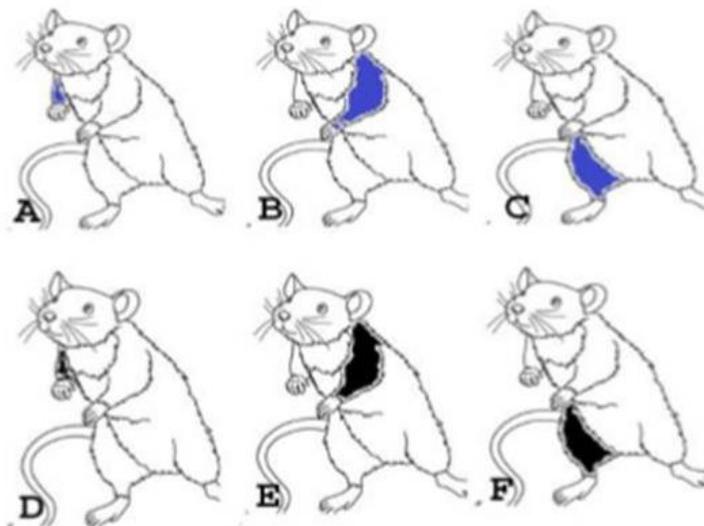


Figura 4 - Marcação nos filhotes para realização dos testes de desenvolvimento físico e reflexos neurológicos.

Fonte: Greco, G. M. Z., 2017.

Nota: **A, B, C**: marcação em azul das fêmeas sendo 1, 2 e 3, respectivamente. **D, E, F**: marcação em preto dos machos, sendo 1, 2 e 3, respectivamente.

### 5.11.1 Testes de desenvolvimento físico

Os testes foram realizados a cada dois dias sempre no mesmo horário (entre 15 e 16 horas) até o 29º dpn, em sala isolada no interior do biotério de experimentação do LABAInt. Durante o primeiro mês de vida foi observado os seguintes parâmetros (Figura 5):

- a) Descolamento de orelha;
- b) Aparecimento de pelo;
- c) Abertura do olho;
- d) Rompimento do dente incisivo superior e inferior;
- e) Descida dos testículos e abertura da vagina.

A presença ou ausência de cada parâmetro observado foi registrado a cada dia do animal e o até que todos os filhotes tivessem os aspectos positivos, de acordo com metodologia descrita por Castro et al. (2000). Foi registrado ainda, o crescimento do animal, com medidas do peso, distâncias naso/caudal, naso/anal e anus/genital.

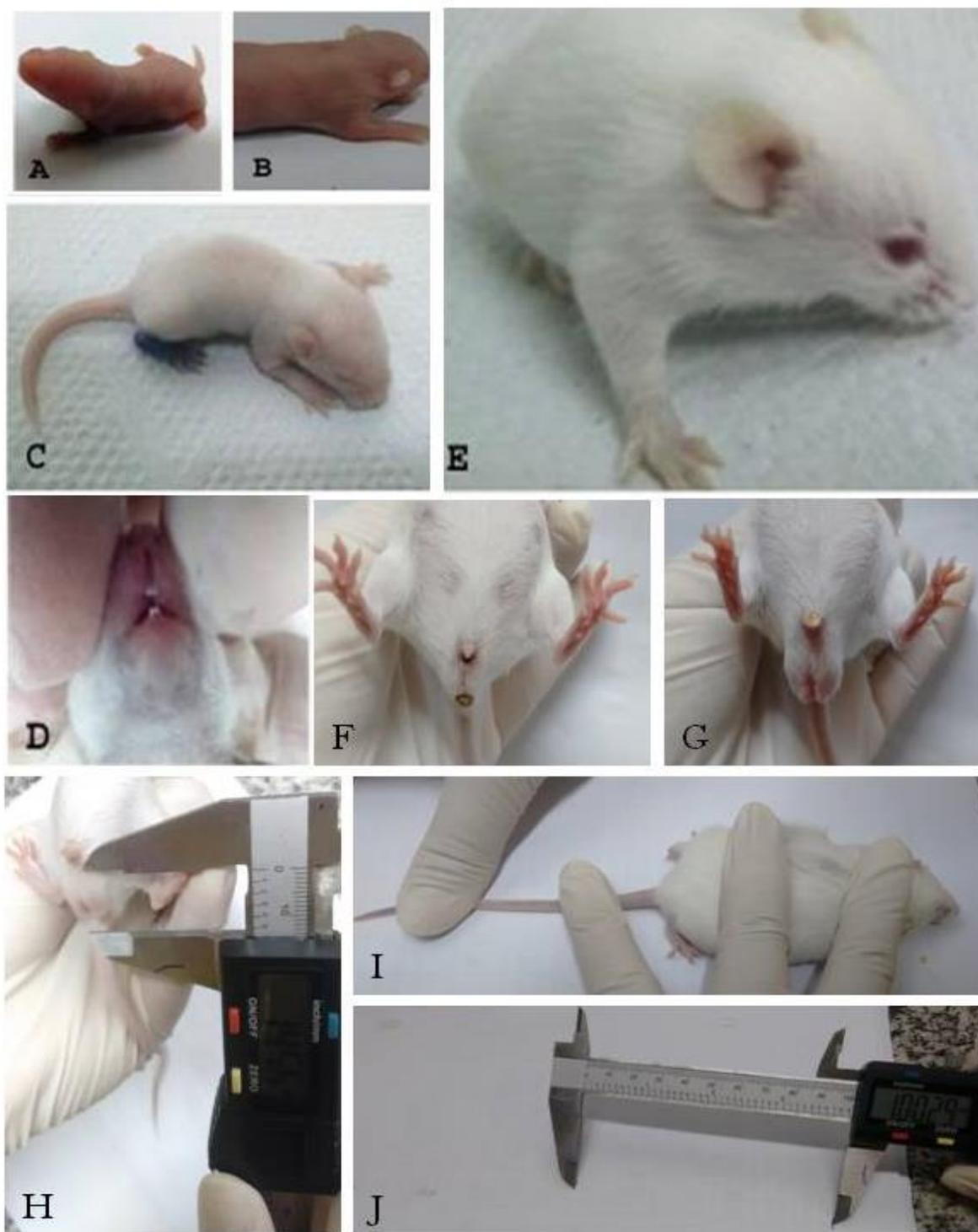


Figura 5 - Análise dos parâmetros físicos de desenvolvimento.

Fonte: Da autora.

Nota: **A.** Primeiro dia pós-nascimento. **B.** Descolamento de orelha. **C.** Aparecimento de pelos. **D.** Rompimento de incisivos inferior e superior. **E.** Abertura de Olho **F.** Abertura de Vagina. **G.** Descida de testículos. **H.** Medida da distância ânus/genital. **I.** Posição do animal para medidas naso/caudal e naso/anal. **J.** Medidas realizadas com paquímetro digital MARBEG.

### 5.11.2 Testes de desenvolvimento neurológico

Os mesmos filhotes utilizados para análise do desenvolvimento físico foram avaliados segundo aspectos dos reflexos neurológicos baseado nos trabalhos de Davydov et al. (2015) e Castro (2006). Para cada análise foi realizado os seguintes testes (Figura 6):

- a) Geotaxia negativa: Foi utilizada uma rampa com superfície antiderrapante e ângulo de 30°. Cada filhote foi posicionado sobre a rampa com a cabeça voltada para a parte mais baixa e durante 60 segundos observou-se a capacidade do animal em se virar de forma que a cabeça ficasse na posição voltada para a parte mais alta.
- b) Reflexo de endireitamento: Cada filhote foi posicionado na posição de decúbito dorsal em uma superfície plana e observou-se durante 30 segundos a capacidade do mesmo posicionar ao decúbito ventral.
- c) Agarramento palmar: Foi colocado um objeto fino na palma das patas dianteiras do filhote e observou-se a presença de resposta de agarrar ou não o objeto.
- d) Sobressalto auditivo: O animal foi exposto a um som alto e estridente de intensidade controlada e observou-se a sua percepção ao som, causando um sobressalto no animal. O sobressalto indica início da atividade auditiva do animal.

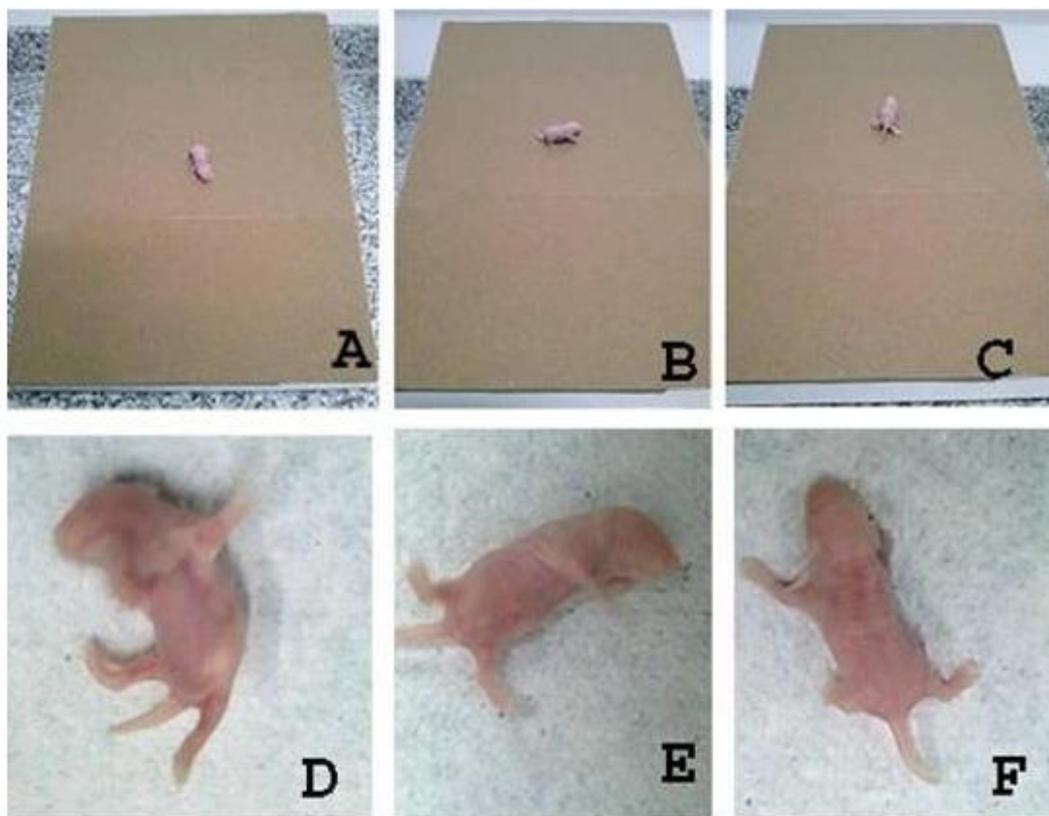


Figura 6 - Testes de desenvolvimento neurológico.

Fonte: Greco, G. Z., 2016.

Nota: **A, B, C.** Animal realizando teste de geotaxia negativa, no qual ao se virar 180° para o lado de cima da rampa o teste é considerado positivo. **D, E, F.** Animal realizando teste de reflexo de endireitamento, no qual ao se posicionar na posição decubito ventral, no tempo estipulado, o teste é considerado positivo.

## 5.12 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO

A análise do comportamento materno foi realizada em 2 períodos diários, do 2º ao 8º dia de lactação, em sessões de 90 minutos de observação. As observações foram feitas em horários regulares, uma às 8h e a outra às 15h. Em cada período de observação, o comportamento materno foi registrado a cada 3 minutos, totalizando 30 observações por sessão x 2 sessões por dia = 60 observações/fêmea/dia. Para tal avaliação foram registrados parâmetros associados ao comportamento materno e não materno (Figura 7), listados a seguir:

Comportamento materno:

- a) Fêmea sobre os filhotes em posição arqueada ou cifose;

- b) Fêmea sobre os filhotes em posição não arqueada;
- c) Fêmea lambendo os filhotes;
- d) Fêmea em posição passiva, ou seja, deitada de lado amamentando os filhotes;
- e) Fêmea forrageando;
- f) Fêmea em *self-grooming* na região das mamas.

Comportamento não materno:

- a) Fêmea se alimentando ou tomando água;
- b) Fêmea explorando o ambiente longe dos filhotes;
- c) Fêmea não explorando, ou seja, sem contato com os filhotes ou dormindo;
- d) Fêmea em *self-grooming*.

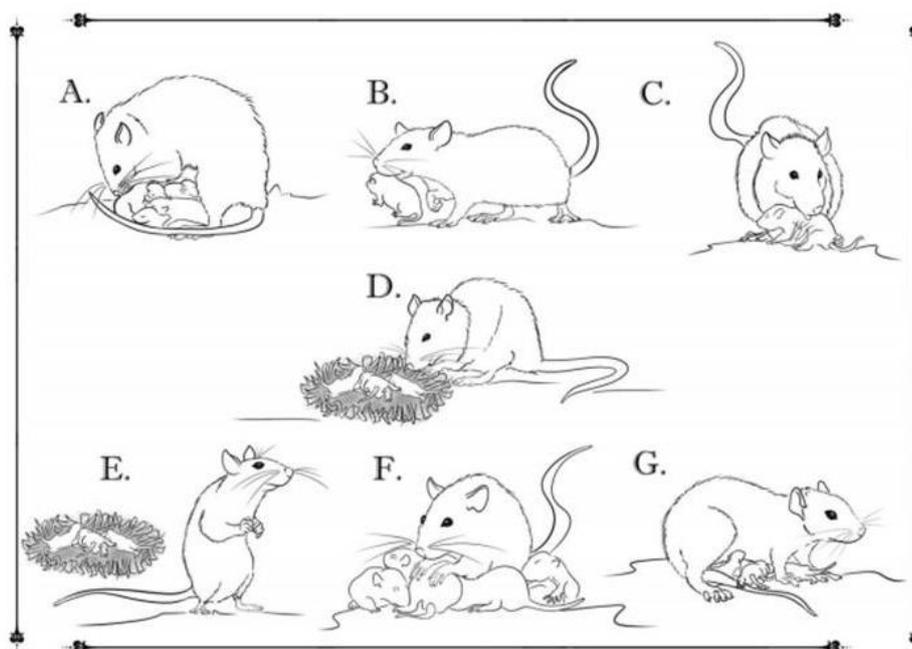


Figura 7 - Representação esquemática dos parâmetros de comportamento materno e não materno em roedores.

Fonte: Veronesi, V. B., 2016.

Nota: **A.** Posição arqueada; **B.** Carregando os filhotes; **C.** Lambendo os filhotes; **D.** Forrageando; **E.** Explorando; **F.** Agrupando os filhotes; **G.** Sobre os filhotes.

### 5.13 ANÁLISE DE COMPORTAMENTO DA PROLE ADULTA

Foi realizado o estudo do comportamento de dois filhotes de cada uma das proles (1 macho e 1 fêmea) de cada um dos grupos experimentais, com intuito de averiguar o estado de ansiedade (labirinto em cruz), depressão (nado forçado) e atividade locomotora (campo aberto). Todos os testes foram realizados no período entre 9:00 e 11:00 da manhã em uma sala isolada de qualquer tipo de som, odor e temperatura externa.

### **5.13.1 Labirinto em Cruz Elevado**

Uma fêmea e um macho de cada prole no período entre 30 e 32 dias de vida foram submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado, com o intuito de averiguar seu estado de ansiedade. Tal metodologia foi desenvolvida por File (2001) e adaptada por Carobrez e Bertoglio (2005) e consiste na utilização de um aparato de madeira em forma de cruz constituído por dois braços abertos e dois fechados por uma parede lateral de 16 cm de altura. Cada um dos braços do aparato possui medida de 27 cm de comprimento e são interligados por uma plataforma de 6 cm<sup>2</sup> (Figura 58).



Figura 8 - Representação dos aparatos utilizados para cada teste de comportamento na prole adulta.

Fonte: Da autora.

Nota: **A.** Labirinto em Cruz Elevado (LCE). **B.** Cilindro contendo água (Nado Forçado). **C.** Campo Aberto.

Anteriormente ao teste, os filhotes adultos foram transferidos para uma sala isolada durante 30 minutos para ambientação. Cada animal foi colocado na plataforma central do aparato voltado para um dos braços fechados e a movimentação do animal foi acompanhada por uma filmagem de 5 minutos de duração. A partir dos vídeos obtidos, foram registradas a frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e fechados.

### 5.13.2 Nado forçado

Os mesmos animais utilizados no teste de labirinto em cruz foram submetidos a um segundo teste, o nado forçado, com o intuito de avaliar o seu comportamento depressivo, de acordo com o modelo desenvolvido por Porsolt, Bertin e Jalfre (1977). Esse teste consiste na observação da atividade exercida pelo camundongo em um recipiente contendo água a uma temperatura de 30°C (Figura 8B). A água deve estar numa altura que não permita que tanto a cauda quanto as patas do animal encostem-se ao fundo do recipiente, além de não possibilitar o acesso à borda, de maneira que facilite a fuga do animal. Cada camundongo permaneceu dentro da água durante 6 minutos, sendo que o primeiro minuto foi dispensado e o restante foi contabilizado o tempo total da atividade do animal entre boiar e nadar.

Esse teste indica um possível estado de depressão no animal quando ocorre um aumento do tempo em que os filhotes permaneceram estáticos, ou seja, quando deixam de lutar pela própria sobrevivência.

### **5.13.3 Campo aberto**

Para a realização do teste de campo aberto foi utilizada uma plataforma circular delimitada por uma parede de acetato acrílico, com o piso dividido em quadrantes dos quais 8 deles se encontram junto à parede do aparato e são considerados periféricos e outros 4 denominados centrais (Figura 8C). Tal teste avalia a atividade exercida pelo animal dentro do aparato sendo registrada a atividade exploratória, a tendência em preferir a periferia ao centro do aparato e o número de vezes em que o animal explora o ambiente na posição vertical (*Readings*). Cada animal foi colocado no centro do campo e filmado durante 5 minutos. A partir dos vídeos, foi registrado o número de cruzamentos na periferia, o número de cruzamentos no centro, número total de cruzamentos e o número de *Readings*.

Esse teste tem como finalidade a avaliação da atividade locomotora e exploratória do animal, sendo assim, a atividade no centro do aparato pode ser relacionada ao grau de medo do animal, enquanto que o comportamento na periferia reflete a atividade normal do camundongo (PRUT e BELZUNG, 2003). Uma vez avaliado seu comportamento, uma baixa atividade motora indica uma reação de medo do animal.

## 5.14 ANÁLISE ESTATÍSTICAS

Para a análise dos dados obtidos neste trabalho foi utilizado o programa estatístico Graphpad Prism 6. Primeiramente, os valores foram analisados quanto a sua normalidade, utilizando-se Shapiro-Wilk normality-test. Quando comprovada a normalidade, os valores seguiam para testes específicos para a distribuição normal, e o contrário também foi feito.

Em relação às análises de ganho de peso e cuidado materno, foi utilizada a Análise de Variância Two-way (ANOVA Two-way), visto haver dois fatores atuando na variável resposta (tempo e tratamento), seguido do Pós-teste de comparações múltiplas Bonferroni.

Para todo o restante das análises aqui apresentadas, onde apenas um fator (Tratamento) afetava a variável resposta, foi utilizado teste de Análise de Variância One-way (ANOVA One-way), para dados com comportamento paramétrico e teste de comparação Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de múltiplas comparações de Dunnet, para valores que não se adequavam ao padrão normal. Para todos os testes e parâmetros, os dados foram considerados estatisticamente diferentes quando  $p \leq 0,05$ . Os valores foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM).

Para a análise da função de sobrevivência da resistência a prenhez, foi utilizado o programa **R** Core Team (2016), R: Uma linguagem e ambiente para informática estatística, além do teste de *longrank* para confirmação da diferença estatística das curvas e o modelo Cox para quantificar a significância.

Para a análise da concentração de proteinúria, foi feita uma tabela de correlação para classificação de concentrações positiva ou negativa e fraca, forte ou moderada.

## 6 RESULTADOS

Para realização deste trabalho, foram utilizadas 120 fêmeas das quais foram destinadas aos três grupos experimentais em estudos: Controle, AMT e AMT+FLX. Desta maneira, foi possível obter resultados referentes ao controle da fertilidade, ganho de peso gestacional, avaliação da concentração de proteinúria, a morfologia e morfometria placentária, assim como o cuidado materno e a avaliação dos padrões de desenvolvimento da prole e traços de ansiedade e depressão na prole adulta. Tais resultados estão descritos em detalhes a seguir.

### 6.1 ANÁLISE DA FERTILIDADE

Durante o acasalamento dos animais, foi evidenciado uma redução final de 12,92% na taxa de prenhez das fêmeas previamente tratadas com AMT (Figura 9A). Durante um período de 10 dias, foi possível verificar que o tempo até a prenhez das fêmeas tratadas com AMT foi maior que o tempo até a prenhez do grupo controle. Por meio do teste *logrank*, foi possível concluir que as duas curvas de sobrevivência são estatisticamente diferentes (Figura 9B), ou seja, o tempo que as fêmeas tratadas demoram a ficarem prenhes é significativamente maior do que o tempo das fêmeas do grupo controle (Estatística do teste de *longrank* = 7,5;  $p = 0,0062$ ).

Além disso, foi quantificado o quanto o tratamento reduz o risco de prenhez por meio do modelo de Cox (razão de riscos = 0,4705;  $p = 0,0167$ ). Sendo assim, é possível perceber que o tratamento mostra uma dificuldade de prenhez de 52,95%.

Apesar da redução do número de fêmeas prenhes, todas as que apresentaram tampão vaginal tiveram a prenhez confirmada na eutanásia ou com o nascimento da prole.

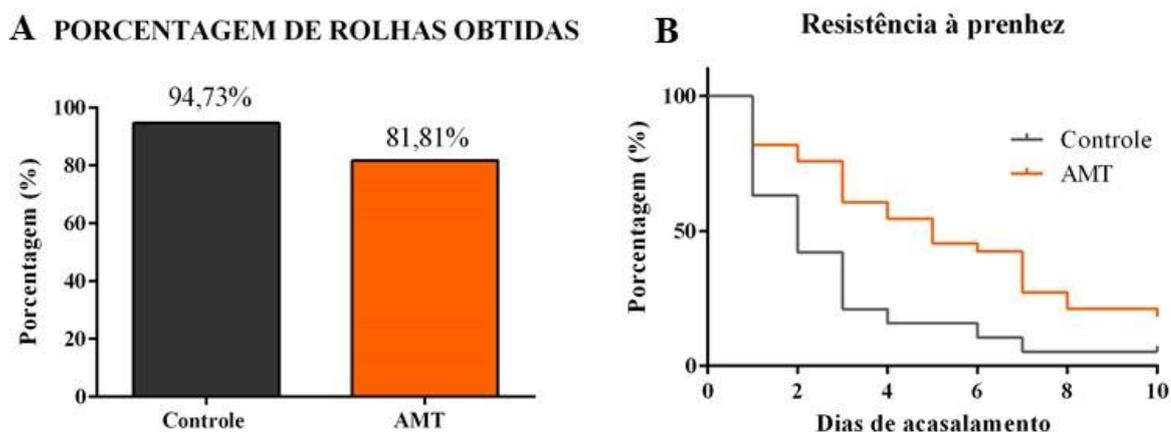


Figura 9 - Gráficos representando a porcentagem de rolhas obtidas em cada um dos grupos analisados.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Gráfico representando o total de rolhas obtidas no grupo Controle e no grupo AMT (B) Função de sobrevivência da resistência à prenhez entre os grupos controle e AMT.

## 6.2 PESO DA FÊMEA ANTES E DURANTE A GESTAÇÃO

Segundo os dados deste trabalho, o ganho de peso das fêmeas antes do acasalamento não apresentou alteração entre o grupo Controle e AMT (Figura 10B). Assim como, o consumo alimentar das fêmeas tratadas com AMT e AMT+FLX quando comparadas ao grupo Controle (Figura 10A).

Nos últimos dias de gestação, foi constatado que o fator tratamento ( $F_{2,493} = 32,02$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{18, 493} = 442,1$ ;  $p < 0,0001$ ) influenciaram significativamente no peso das fêmeas tratadas, a partir do 17º dia de gestação (ddg), sem interação entre eles (Figura 10 C).

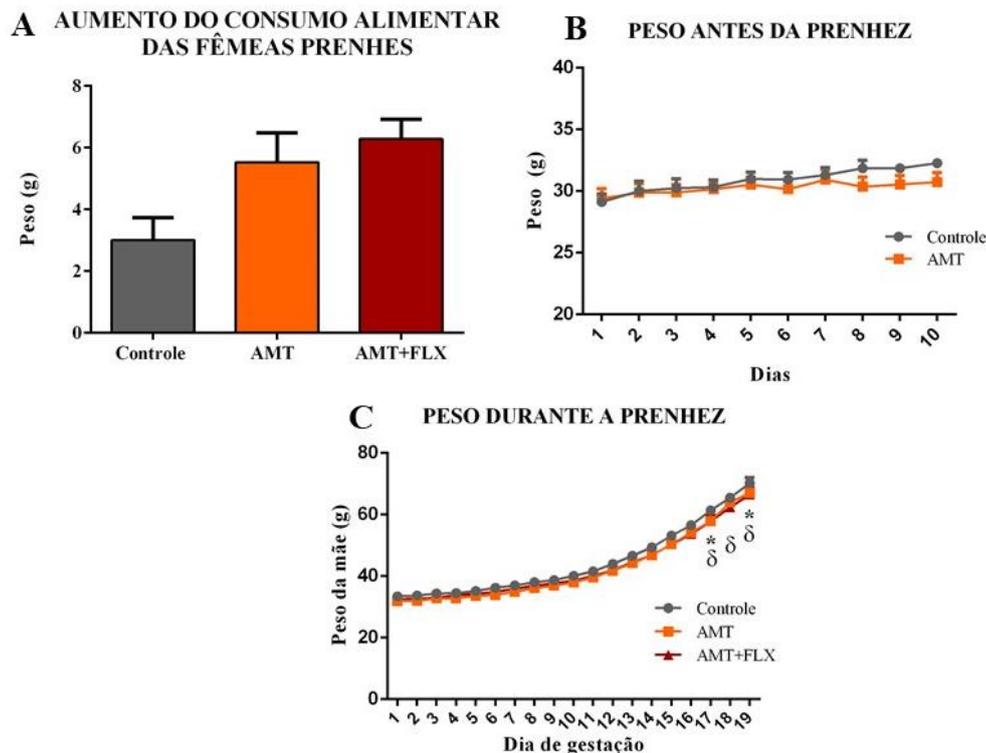


Figura 10 - Gráfico da análise de ingestão alimentar durante a prenhez e ganho de peso antes e durante a gestação.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Análise do consumo alimentar das fêmeas durante a prenhez. (B) Peso em gramas (g) das fêmeas tratadas antes da gestação. (C) Ganho de peso em gramas (g), das fêmeas durante a gestação. \*  $p \leq 0,05$  Controle vs. AMT (17 e 19ddg) e  $\delta p \leq 0,05$  Controle vs. AMT+FLX (17, 18 e 19ddg). *Two-way* ANOVA e pós-teste Bonferroni (média $\pm$ SEM)

### 6.3 ANÁLISE DA PROTEINÚRIA DURANTE A GESTAÇÃO

Baseando-se na análise das fêmeas prenhes a partir do 15º ddg, foi possível observar as concentrações da proteinúria em cada um dos grupos AMT ( $r = 0,1130$ , positiva/fraca), AMT+FLX ( $r = 0,09$ , positiva/fraca) e controle ( $r = 0,2586$ , positiva/fraca). No entanto, não foram evidenciadas diferenças estatísticas entre essas concentrações, provavelmente devido ao baixo  $n$  experimental dos grupos tratados (Figura 11).

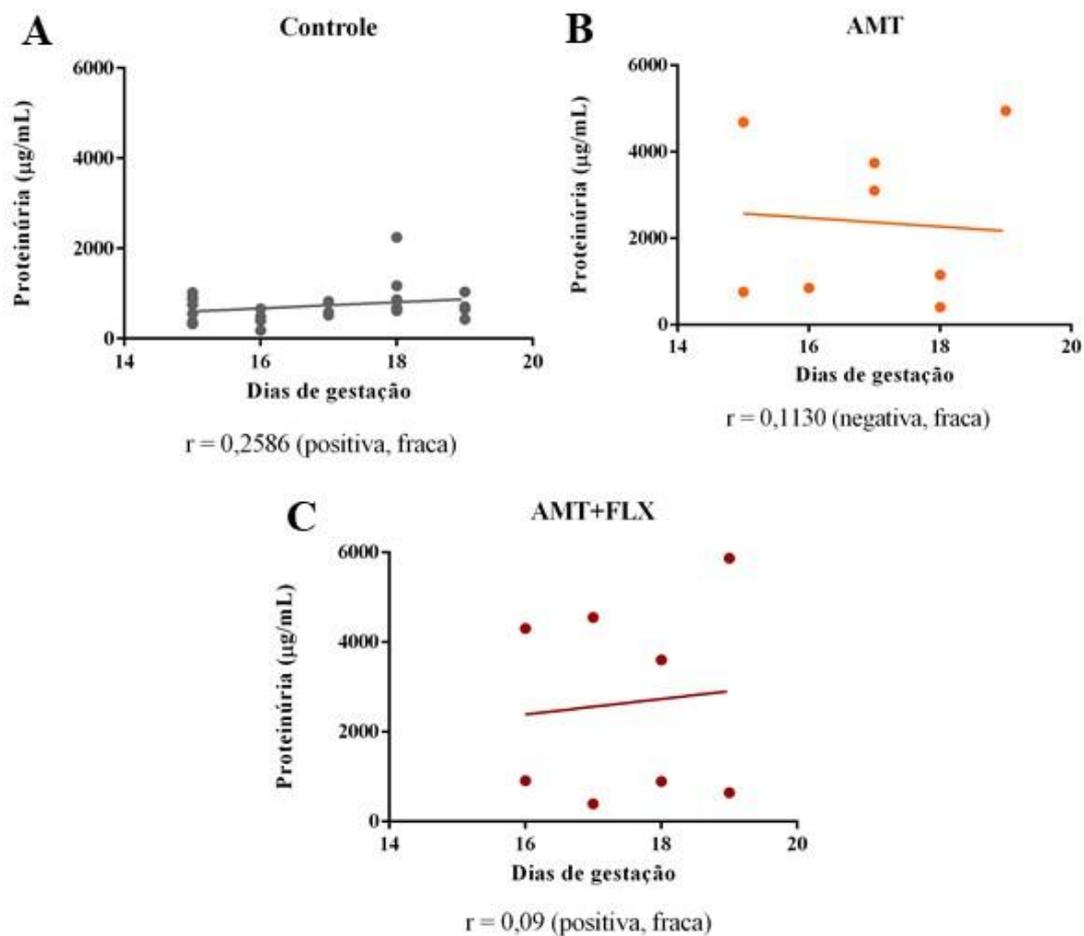


Figura 11 - Gráficos da análise da concentração de proteína na urina de fêmeas prenhes.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Controle. (B) Fêmeas tratadas com Amitriptilina (AMT). (C) Fêmeas tratadas com Fluoxetina (FLX).

#### 6.4 ANÁLISE GESTACIONAL

A gestação foi interrompida no 18º ddg e, após laparotomia, foram expostos os cornos uterinos com os fetos em desenvolvimento (Figura 12A). A avaliação dos cornos uterinos de ambos os tratamentos, não apresentou existência de reabsorções ou hemorragias de maneira significativa, quando comparadas ao grupo controle.

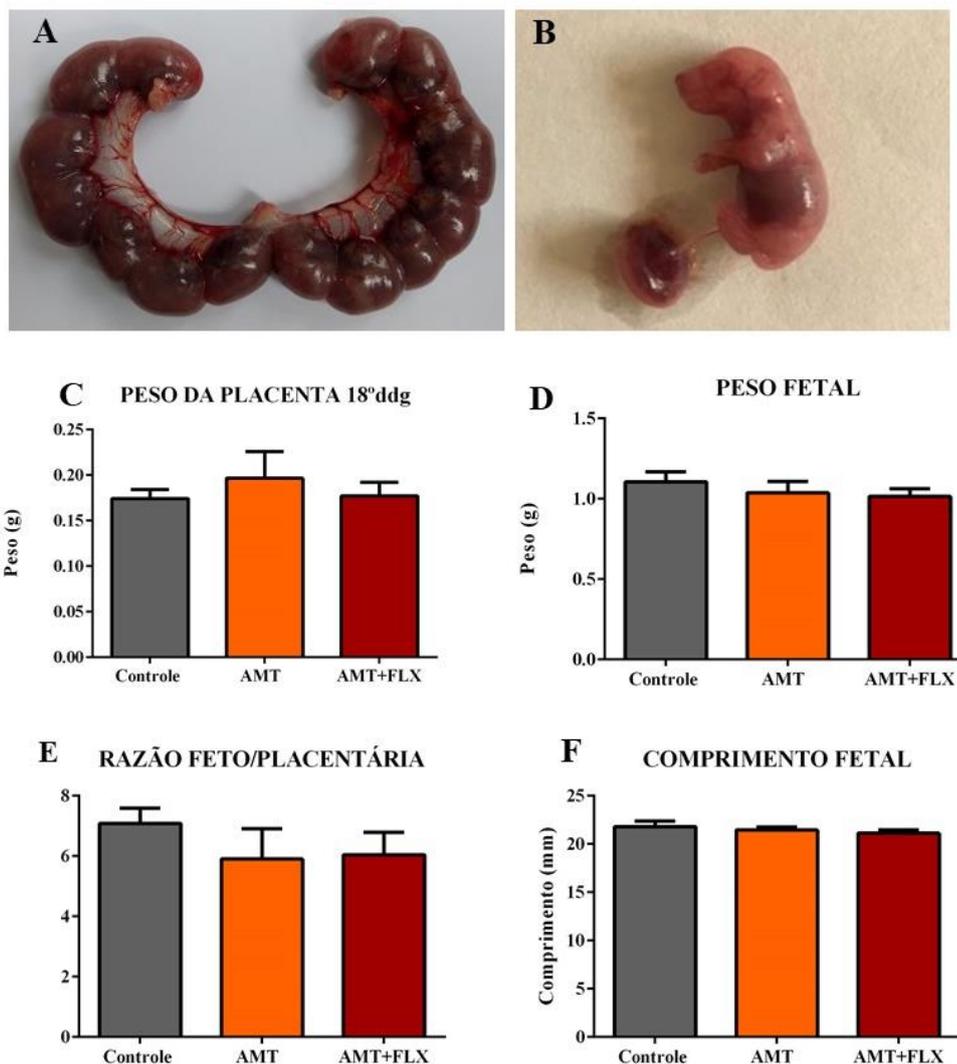


Figura 12 - Fotos e gráficos da análise gestacional no 18º ddg.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Cornos uterinos. (B) Feto e placenta. (C) Média do peso (g) das placentas de cada fêmea laparotomizada. (D) Média da razão feto/placentária. (E) Média do peso (g) fetal. (F) Média do comprimento (mm) fetal. Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunnet (média±SEM).

Após a abertura dos sítios de desenvolvimento, as placentas e os fetos foram individualizados e avaliados em sua morfologia, não sendo evidenciadas alterações que apontassem qualquer tipo de teratologia fetal ou placentária macroscópicas (Figura 12B). Além disso, não foi constatada diferença significativa no peso e comprimento céfalo-caudal fetal ou no peso placentário, assim como na razão feto/placentária (Figura 12C-F).

## 6.5 MORFOLOGIA E MORFOMETRIA PLACENTÁRIA

A análise histológica e morfométrica da placenta, apontou alterações importantes (Figura 13). As placentas de 18<sup>o</sup> ddg procedentes de fêmeas do grupo controle apresentavam características e proporções normais, no entanto, ao serem avaliadas as placentas dos grupos AMT e AMT+FLX, foi notória uma diferença nas proporções das camadas placentárias (Figura 13A-C; figura 14). Nestas placentas, foi observada não apenas uma proporção aumentada da região do espongiotrofoblasto, como também uma maior desorganização dos limites desta camada, se entremeando as trabéculas do labirinto (Figura 13 A-C). Estas alterações morfológicas aparentam ser ainda mais intensas para o grupo tratado com AMT durante toda a gestação, se comparado com o grupo de AMT+FLX (Figuras 13 B-C). Quando avaliada a morfometria dessas placentas, pode-se observar que há numericamente uma redução da camada do labirinto e um aumento da área de espongiotrofoblasto nos animais do grupo AMT (Figura 14).

Na região de interposição entre os tecidos maternos e fetais onde normalmente encontramos os corpos celulares de CTGs (células trofoblásticas gigantes), em algumas placentas foram observadas grandes áreas contendo um tecido amorfo entremeado a fragmentos celulares acidófilos (Figura 13 D-E), principalmente nas placentas dos grupos tratados.

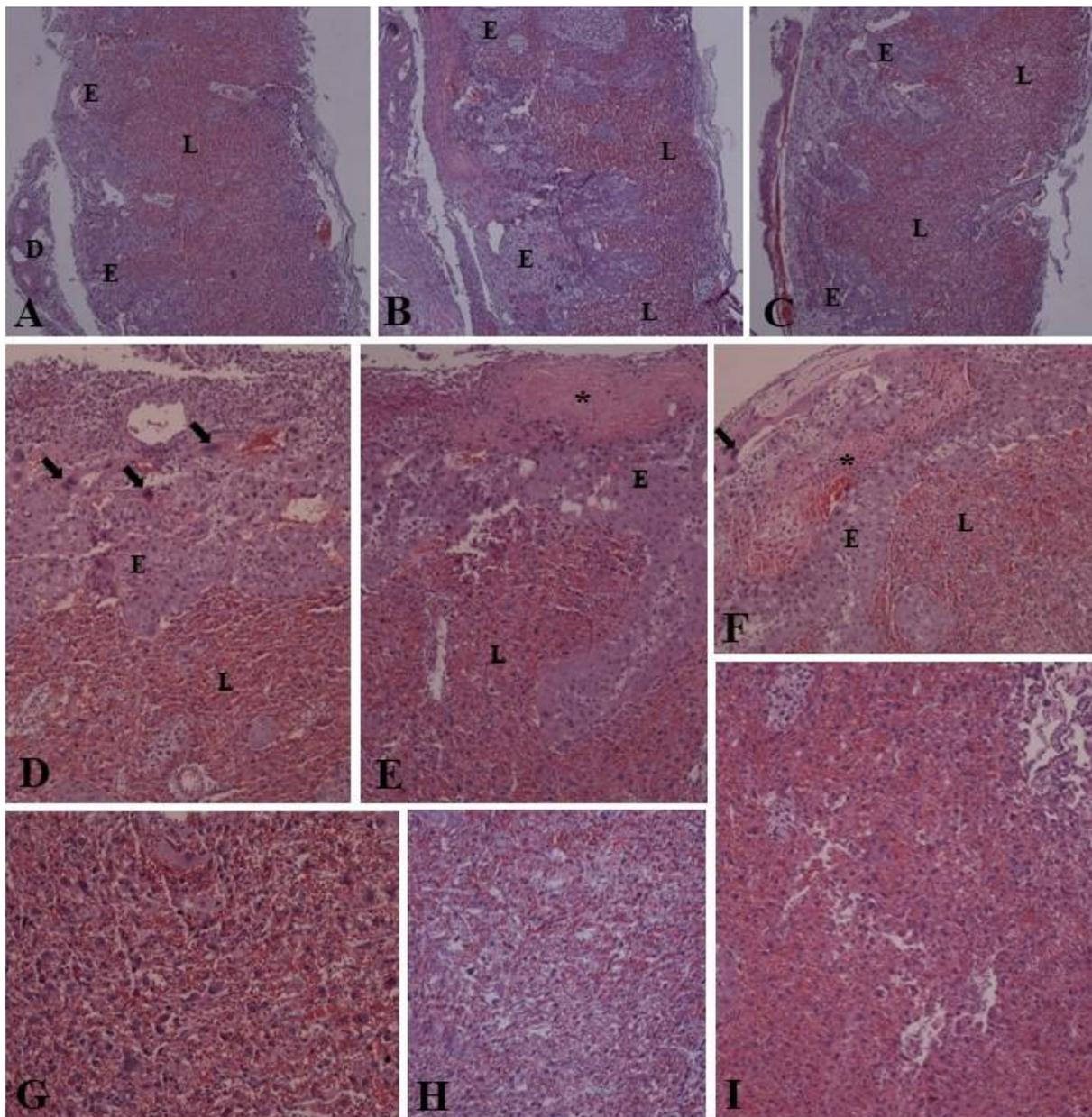


Figura 13 - Morfologia placentária.

Fonte: Da autora.

Nota: (A-C) Correspondem ao corte de placenta dos grupos: Controle, AMT e AMT+FLX, respectivamente, demonstrando um aumento da área do espongiotrofoblasto (E), principalmente no grupo AMT, acompanhado de uma redução do labirintotrofoblasto (L) e uma desorganização estrutural dessas camadas. (D) Detalhe de um corte longitudinal das camadas celulares de uma placenta controle, CTGs (setas), decídua (D). (E-F) Áreas de tecido amorfo (\*), encontradas na placenta tratada com AMT e AMT+FLX evidente na área juncional próximo as CTGs. (G) Detalhe da camada do Labirintotrofoblasto de uma placenta controle. (H-I) Região do labirintotrofoblasto da placenta tratada com AMT e AMT+FLX respectivamente onde podemos evidenciar área edematosas, sendo mais evidentes no grupo AMT+FLX. Aumentos A-C (40x); D-F, H-I (100x); G (200x).

Na camada do labirintotrofoblasto, foi encontrada uma trama complexa de células trofoblásticas situadas entre trabéculas de sangue materno e vasos sanguíneos fetais. Entremeadas a estas traves do labirinto, nas placentas controles, podiam ser visualizados alguns grupos de células poligonais, esparsos, distribuídos aleatoriamente, que correspondem às inclusões trofoblásticas. Nas placentas provenientes de animais submetidos ao tratamento com os antidepressivos, ocorreu um aumento destas áreas de inclusões trofoblásticas e foram detectadas áreas alteradas contendo indícios de edema entre as traves do labirinto (Figura 13 G-H).

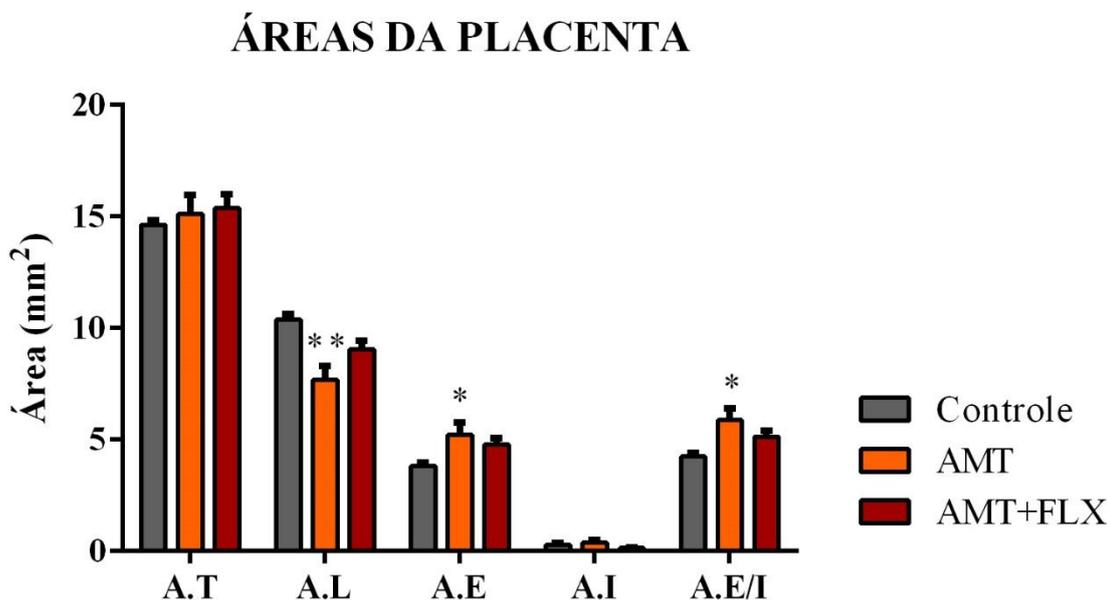


Figura 14 - Morfometria das populações celulares da placenta no 18º ddg.

Fonte: Da autora.

Nota: A.T: média da área total dos cortes transversais de placenta; A.L: média área da camada do labirintotrofoblasto; A.E: média da área da camada do espongiotrofoblasto. A.I: média da área ocupada pelas ilhas do espongiotrofoblasto. AE/I média da soma das áreas de espongiotrofoblasto mais as ilhas em conjunto. Teste Kruskal-Wallis, pós teste de Dunnet,  $p \leq 0,05$ , média  $\pm$ SEM

## 6.6 ANÁLISE DA PROLE

Ao nascimento, os filhotes foram contabilizados e constatou-se que o número de filhotes por ninhada não variou de forma significativa entre os três grupos avaliados neste trabalho (Figura 15A), assim como a média do peso dos filhotes nascidos vivos (Figura 15B).

No entanto, foi encontrado um alto índice de natimortos na prole de mães tratadas com AMT, chegando a 10% de mortalidade no nascimento dos filhotes, enquanto que o grupo AMT+FLX essa taxa foi de apenas 1% de mortalidade e o grupo controle não apresentou nenhum filhote natimorto (Figura 15C). Outro dado importante foi a constatação de um aumento significativo de morte neonatal até o 5º dia pós nascimento (dpn), verificando-se um índice de 27% dos filhotes nascidos vivos no grupo AMT e 11,4% no grupo AMT+FLX, efeito este ilustrado na curva de análise de sobrevivência (Figura 15D).

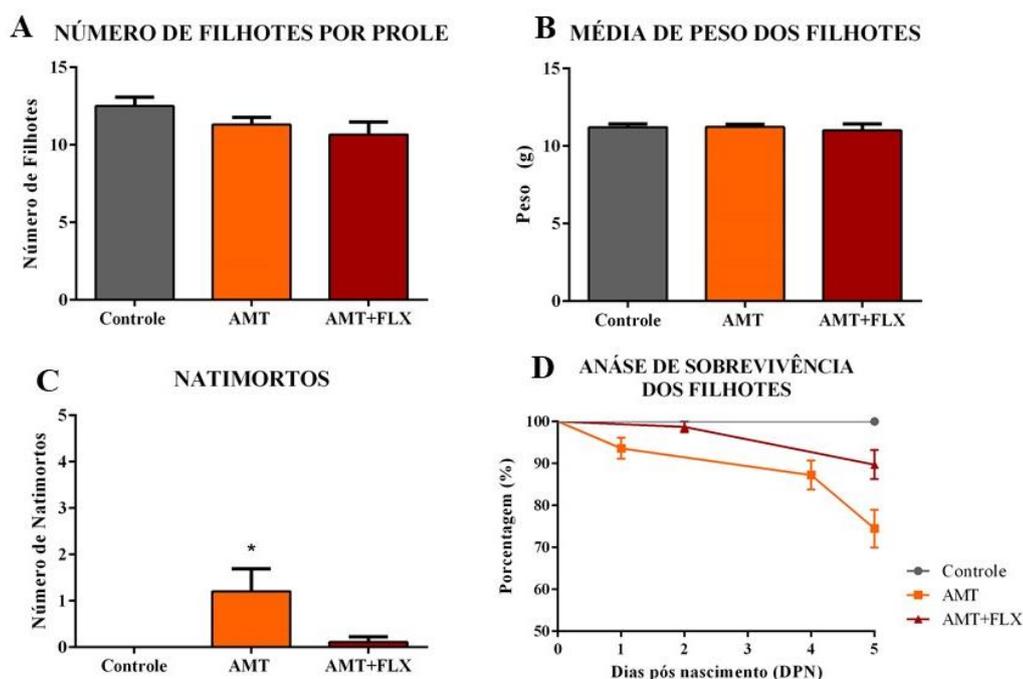


Figura 15 - Gráficos da análise da prole.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Média do número de filhotes nascidos por prole. (B) Média do peso dos filhotes por prole. (C) Média de natimortos. (D) Função de sobrevivência da morte neonatal.

\*  $p \leq 0,05$ . Kruskal – Wallis, pós-teste de Dunnet e ANOVA One-way, pós-teste de Bonferroni (média $\pm$ SEM).

## 6.7 TESTES DE DESENVOLVIMENTO FÍSICO DA PROLE

De acordo com o protocolo experimental estabelecido neste trabalho, a maioria dos parâmetros físicos, avaliados na prole, não mostrou sofrer influência direta do tratamento materno. Porém, o grupo AMT+FLX apresentou uma precoce abertura de vagina (AV), quando comparado ao grupo tratado apenas com AMT (Figura 16A).

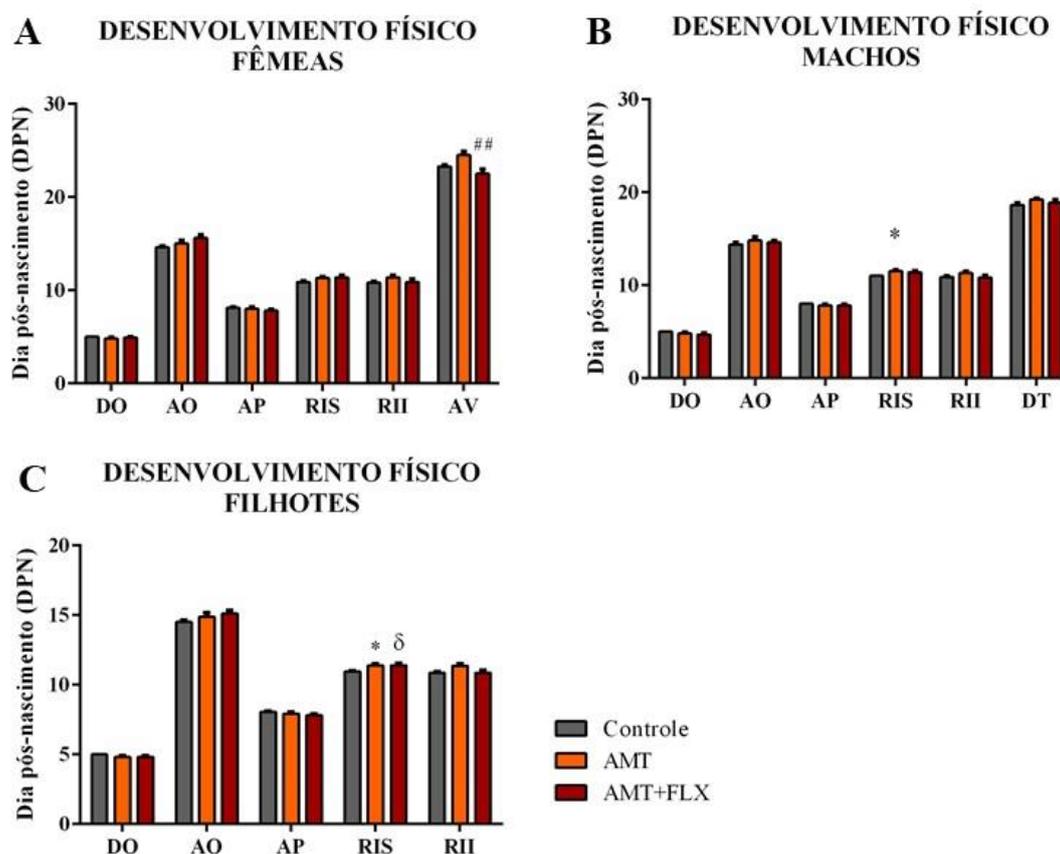


Figura 16 - Análise de desenvolvimento físico de filhotes ao longo do primeiro mês de vida.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Análise do desenvolvimento físico de filhotes fêmeas de mães tratadas e controles. (B) Análise do desenvolvimento físico de filhotes machos de mães tratadas e controles (C) Análise do desenvolvimento físico de filhotes de ambos os sexos de mães tratadas e controles. \*p < 0,05 (Controle vs. AMT); δ p < 0,05 (Controle vs. AMT+FLX); ## p < 0,01 (AMT vs. AMT+FLX). DO: descolamento de orelha; AO: abertura de olho; AP: aparecimento de pelo; RIS: rompimento de incisivo superior; RII: rompimento de incisivo inferior; AV: abertura de vagina; DT: descida dos testículos. ANOVA *One-way* e pós teste de Kruskal Wallis (média ± SEM).

Além disso, o rompimento do incisivo superior (RIS) mostrou um atraso significativo em machos e, quando avaliados em ambos os sexos, tanto no grupo AMT, quanto no AMT+FLX, quando comparados ao controle (Figura 16A-B).

Os demais parâmetros analisados, como: descolamento de orelhas (DO), abertura de olhos (AO), aparecimento de pelos (AP), rompimento do incisivo inferior (RII) e descida de testículos (DT), não apresentaram diferenças significativas nos testes executados (Figura 16).

## 6.8 ANÁLISE DO GANHO DE PESO DOS FILHOTES

Em relação ao ganho de peso dos filhotes, ao longo do primeiro mês de vida, em fêmeas foi observado alteração significativa entre o 20 e 23 dpn. Nesta análise, foi constatado que o fator tratamento ( $F_{2, 270} = 10,52$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{9, 270} = 1287$ ;  $p < 0,001$ ) influenciaram o ganho de peso. Assim, o ganho de peso se mostrou menor no 20° e 23° dpn, quando comparado os dois grupos tratados (AMT e AMT+FLX) e no 23° dpn, quando comparados o grupo AMT e o controle (Figura 17A). Em machos, o fator tratamento ( $F_{2, 270} = 13,81$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{9, 270} = 2114$ ;  $p < 0,001$ ) também foram significativos no ganho de peso, no 23° e 26° dpn, tanto entre os grupos tratados, quanto entre o grupo AMT e controle (Figura 17B). Quando analisados ambos os sexos, essa diferença foi intensificada, e o fator tratamento ( $F_{2, 270} = 19,78$ ;  $p < 0,0001$ ) e tempo ( $F_{9, 270} = 2795$ ;  $p < 0,001$ ) influenciaram no ganho de peso, porém a interação entre eles não teve influência sobre tal aspecto (Figura 17C).

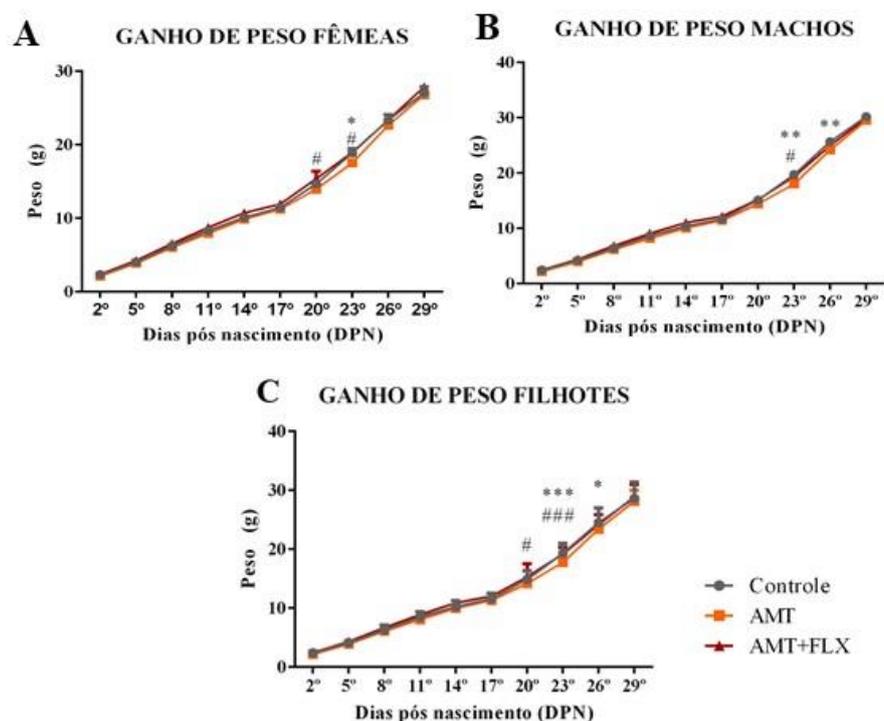


Figura 17 - Ganho de peso dos filhotes ao longo do primeiro mês de vida.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Análise do ganho de peso de filhotes fêmeas; (B) Análise do ganho de peso de filhotes machos; (C) Análise do ganho de peso de filhotes de ambos os sexos. ANOVA Two-Way e Bonferroni e ANOVA One-way e pós teste de Kruskal Wallis (média  $\pm$  SEM). \* $p < 0,05$  (Controle vs. AMT); #  $p < 0,05$  (AMT vs. AMT+FLX); \*\*  $p < 0,01$  (Controle vs. AMT); \*\*\* $p < 0,001$  (Controle vs. AMT); ###  $p < 0,001$  (AMT vs. AMT+FLX).

## 6.9 ANÁLISE DO CRESCIMENTO DA PROLE

Durante os primeiros 30 dias os filhotes foram submetidos às medidas de crescimento naso/anal, naso/caudal e anus/genital descritas a seguir.

### 6.9.1 Crescimento naso/anal

Em relação ao crescimento naso/anal dos filhotes, durante o primeiro mês de vida, as análises dos dados mostraram que houve diferença significativa em fêmeas, machos e

ambos os sexos (Figura 18). Nas fêmeas, o fator tratamento ( $F_{2, 270} = 12,19$ ;  $p < ,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{9, 270} = 1210$ ;  $p < 0,0001$ ) influenciaram significativamente no crescimento naso/anal a partir do 8º dpn, apresentando diferença entre os grupos tratados (8º, 29º dpn), entre o grupo AMT e controle (8º e 14º dpn) e entre o grupo AMT+FLX e o controle (apenas no 14º dpn). No entanto, a interação entre esses fatores não influenciou nesse crescimento (Figura 18A).

Em filhotes do sexo masculino, o fator tratamento ( $F_{2, 270} = 22,90$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{9, 270} = 1648$ ;  $p < 0,0001$ ) tiveram influência no crescimento naso/anal, sem interação entre eles, gerando um menor crescimento nos dias 14, 20 e 29 em animais do grupo AMT e no dia 29 nos animais do grupo AMT+FLX (Figura 18B).

Quando analisados os valores sem considerar o sexo dos filhotes, o fator tratamento ( $F_{2, 570} = 33,36$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{4, 570} = 2798$ ;  $p < 0,0001$ ) apresentaram diferenças acentuadas nos dias 8, 14, 17, 20 e 29, sendo apresentadas nos três grupos avaliados (Figura 18C).

### **6.9.2 Crescimento naso/caudal**

Os dados de crescimento naso/caudal de filhotes fêmeas e machos não mostraram nenhuma diferença significativa entre os grupos tratados e controle (Figura 18D-E). No entanto, quando avaliados independentes do sexo, o fator tratamento ( $F_{2, 570} = 22,05$ ;  $p < 0,0001$ ) e o fator tempo ( $F_{9, 270} = 4918$ ;  $p < 0,0001$ ) apresentaram influências no crescimento dos filhotes, sem interação entre eles. Nos dias 23, 26 e 29, houve um menor crescimento dos filhotes procedentes das não tratadas com AMT, comparadas às mães controles (Figura 18F).

### **6.9.3 Crescimento anus/genital**

Os valores referentes à análise anus/genital, apresentaram significância estatística principalmente nos filhotes fêmeas, demonstrando provavelmente, uma alteração ligada

ao sexo, no qual o fator tratamento ( $F 2, 270 = 11,06$ ;  $p < 0,0001$ ), tempo ( $F 9, 270 = 67,1$ ;  $p < 0,0001$ ) e a interação ( $F 18, 270 = 7,357$ ;  $p < 0,0001$ ) entre eles, influenciaram nesse crescimento. Essa significância ocorreu de maneira evidente, principalmente nos últimos dias avaliados 23, 26 e 29, entre os grupos AMT e controle e AMT e o grupo em que o medicamento foi substituído pela FLX, não ocorrendo diferença entre AMT+FLX e o controle (Figura 18G).

Nos filhotes do sexo machos, houve interferência do fator tratamento ( $F 9, 270 = 3,518$ ;  $p = 0,0310$ ) e fator tempo ( $F 9, 270 = 1376$ ;  $p < 0,0001$ ), pontualmente no 26º dpn, quando comparados os machos de mães do grupo AMT+FLX e controle (Figura 18H).

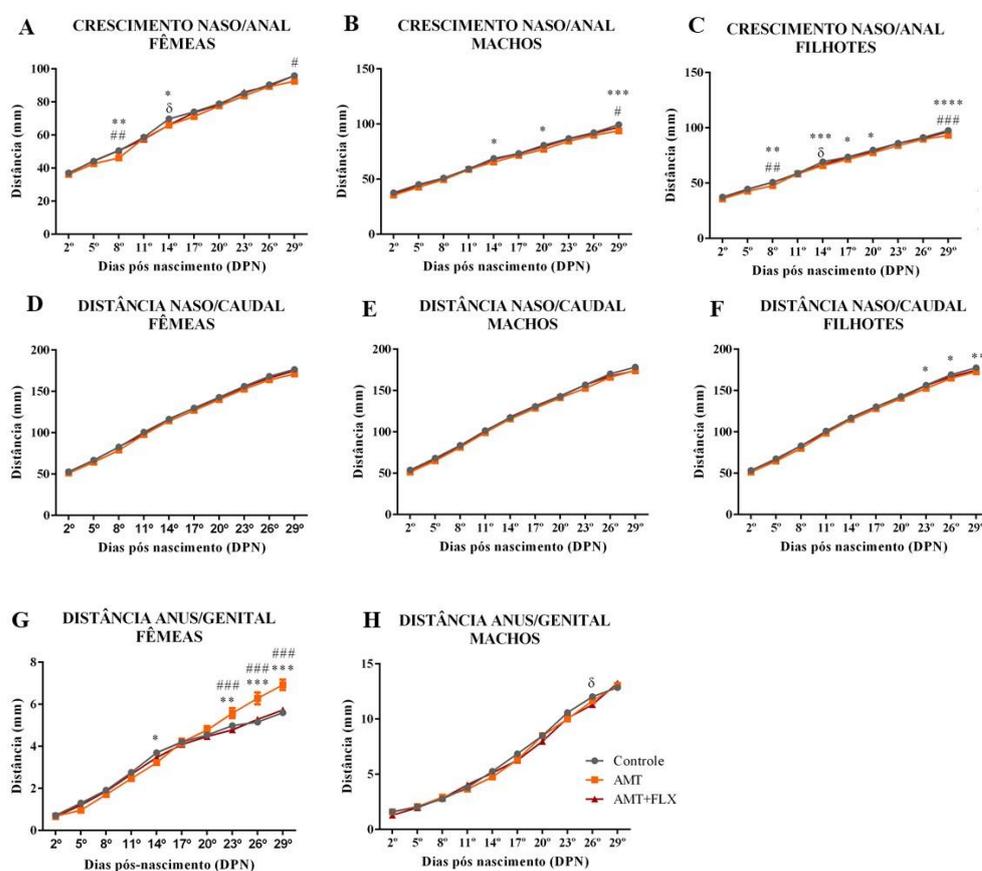


Figura 18 - Crescimentos naso/anal, naso/caudal e anus/genital de filhotes de mães submetidas aos tratamentos e controles.

Fonte: Da autora.

Nota: (A-C) Crescimentos naso/anal de filhotes fêmeas, machos e de ambos os sexos, respectivamente, durante 30 dias pós nascimento; (D-F) Crescimento naso/caudal de filhotes fêmeas, machos e de ambos os sexos ao longo do primeiro mês pós-nascimento; (G-I) Crescimento anus/genital de filhotes fêmeas, machos e de ambos os sexos, respectivamente, longo do primeiro mês pós-nascimento; ANOVATwo-Way seguido de Bonferroni; \* $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,0001$  (Controle vs. AMT); # $p \leq 0,05$ ; ##  $p < 0,01$ ; ###  $p < 0,0001$  (AMT vs. AMT+FLX);  $\delta p \leq 0,05$  (Controle vs. AMT+FLX); (média  $\pm$  SEM).

## 6.10 TESTES DE DESENVOLVIMENTO NEUROLÓGICO DA PROLE

Os valores provenientes dos testes de desenvolvimento neurológico não apresentaram diferenças entre os grupos tratados e o controle, para os filhotes do sexo feminino (Figura 19A). No entanto, os filhotes machos mostraram um atraso na geotaxia negativa (GO) (Figura 20B). O parâmetro de agarramento palmar foi relevante apenas quando considerados ambos os sexos (Figura 19C). Os outros testes realizados, reflexo de endireitamento (RE) e sobressalto auditivo (SA), não apresentaram diferenças significativas (Figura 19).

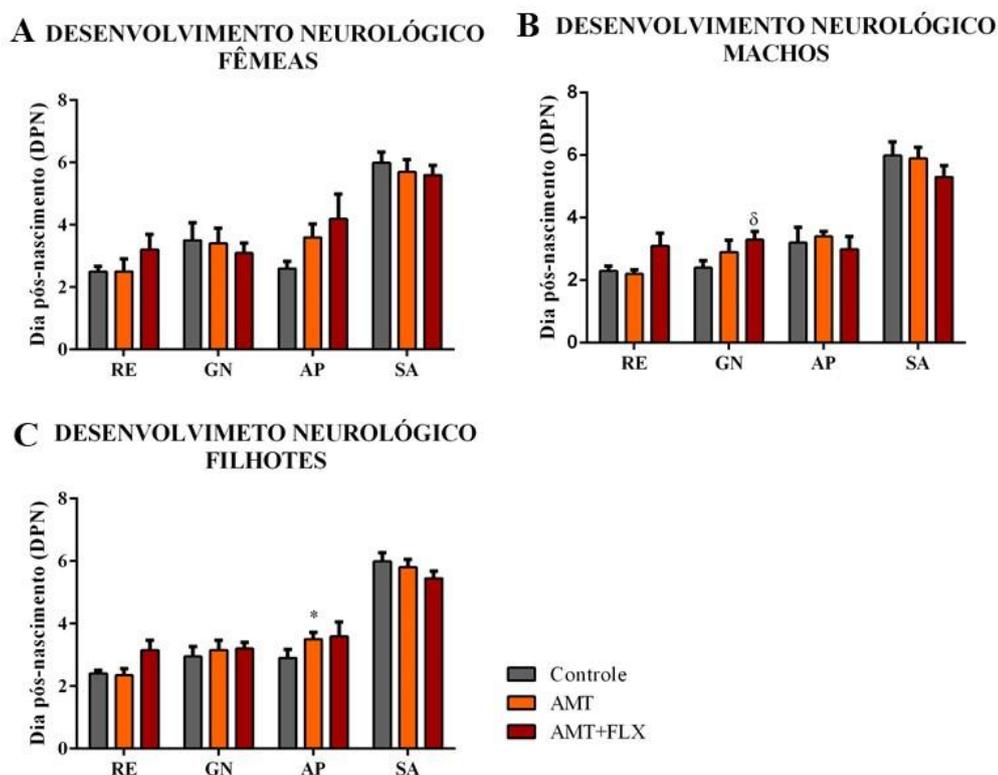


Figura 19 - Análise do desenvolvimento de reflexo neurológico dos filhotes ao longo do primeiro mês de vida.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Análise do desenvolvimento de reflexo neurológico de filhotes fêmeas de mães tratadas e controles. (B) Análise do desenvolvimento de reflexo neurológico de filhotes machos de mães tratadas e controles. (C) Análise do desenvolvimento de reflexo neurológico de filhotes de ambos os sexos de mães tratadas e controles. \*p < 0,05 (Controle vs. AMT); δ p < 0,05 (Controle vs. AMT+FLX). RE: reflexo de endireitamento; GN: geotaxia negativa; AP: agarramento palmar; SA: sobressalto auditivo. ANOVA One-way e pós teste de Bonferroni (média ± SEM).

## 6.11 CUIDADO MATERNO

A análise da relação pós-parto entre as mães e sua prole, mostraram que não houve diferença significativa no comportamento materno total (CM) ou comportamento não materno total (CNM), entre as mães dos grupos controle e tratados (Figuras 20-21).

Quando foram avaliados cada um dos parâmetros maternos, (lambendo os filhotes, posição arqueada, posição sobre os filhotes, posição passiva, forrageando, *self-grooming* de mamas) ou não maternos (comendo, explorando, não explorando e *self-grooming* não materno) individualmente, não existiram diferenças estatísticas importantes (Figura 21-22).

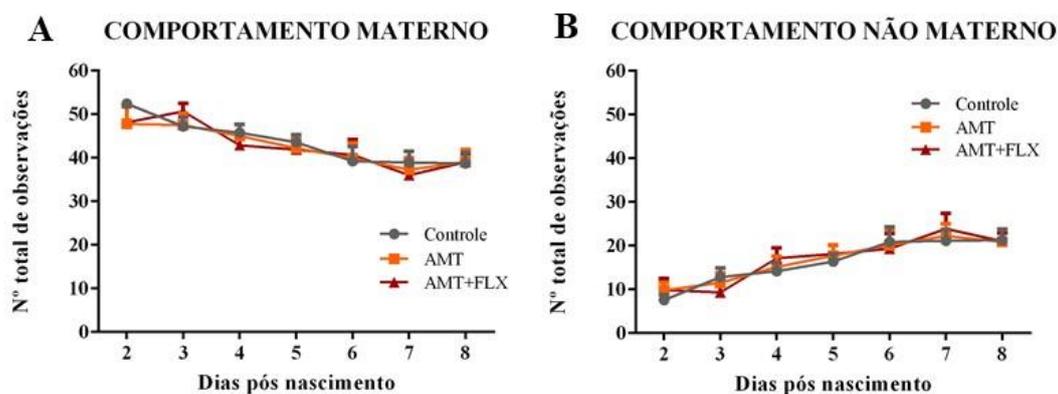


Figura 20 - Gráfico com as análises de comportamento materno.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Comportamento total materno. (B) Comportamento total não materno. ANOVA Two-way seguindo de pós teste de Bonferroni (média±SEM).

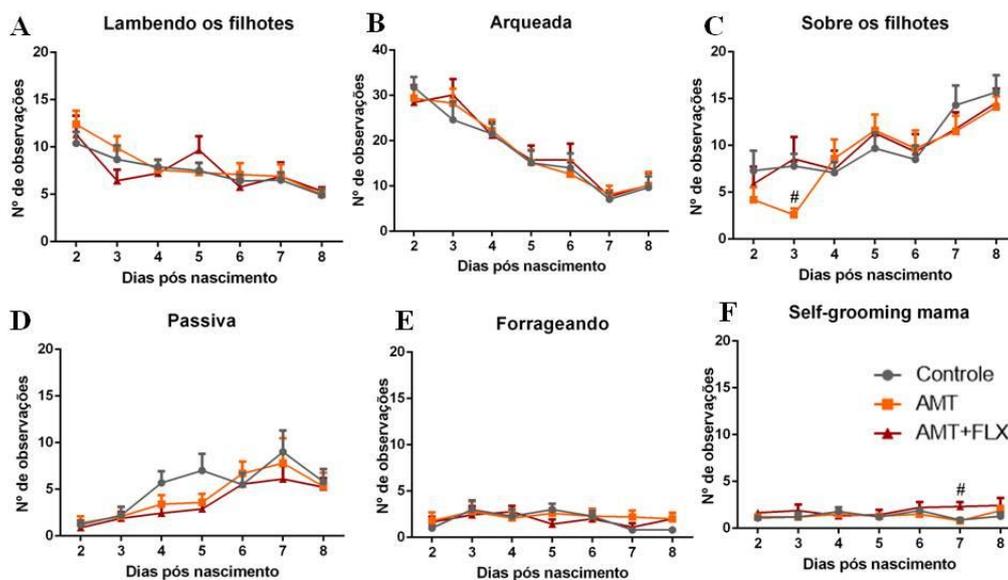


Figura 21 - Gráficos dos parâmetros individuais de comportamento materno.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Lambendo; (B) Arqueada; (C) Sobre os filhotes; (D) Passiva; (E) Forrageando; (F) self-grooming de mamas. Teste ANOVA Two-way seguido de teste de Bonferroni; média $\pm$ SEM; # $p < 0,05$  (AMT vs. AMT+FLX).

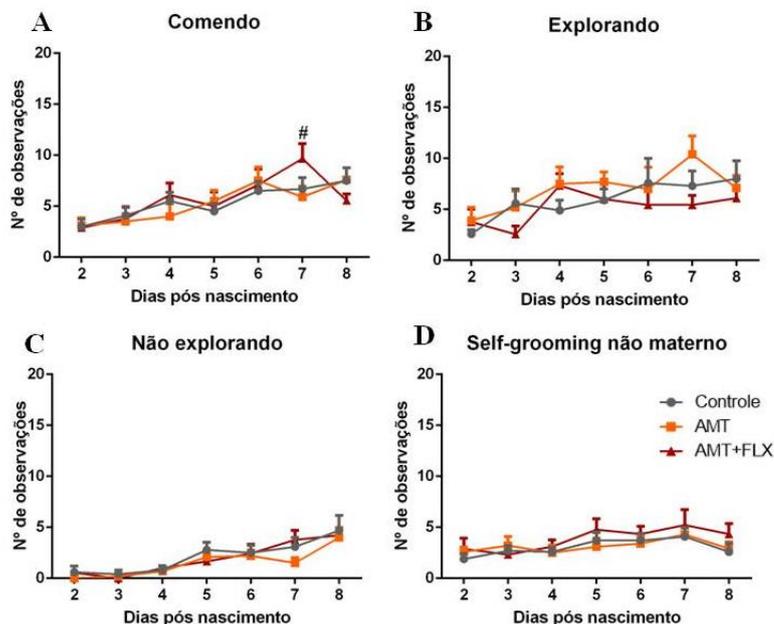


Figura 22- Gráficos dos parâmetros individuais de comportamento não materno

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Comendo; (B) Explorando; (C) Não explorando; (D) Self-grooming. # $p < 0,05$  (AMT vs. AMT+FLX). ANOVA Two-way seguido de teste de Bonferroni (média $\pm$ SEM).

## 6.12 ANÁLISE COMPORTAMENTAL DA PROLE

Em torno dos 30 dias pós-parto, os filhotes jovens foram avaliados em busca de traços de depressão e ansiedade, por meio dos testes de nado forçado, labirinto em cruz elevado e campo aberto.

### 6.12.1 Nado Forçado

Os resultados obtidos por meio deste teste não apresentaram diferenças significativas, sugerindo assim, que os filhotes de mães tratadas e controles não apresentaram característica semelhante à depressão (Figura 23).

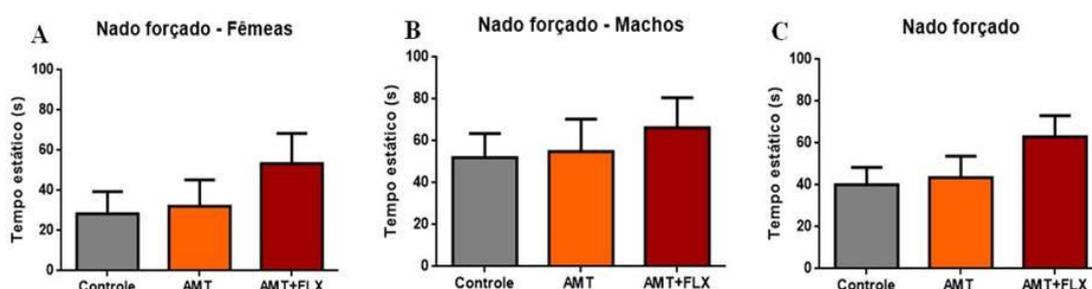


Figura 23 - Gráficos da análise do tempo estático em segundos (s) dos filhotes no teste de nado forçado.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Tempo estáticos das fêmeas. (B) Tempo estático dos machos. (C) Tempo estático de ambos os sexos. Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunnet, (média±SEM).

### 6.12.2 Campo Aberto

A análise do teste de campo aberto não apresentou diferenças significativas na exploração do ambiente tanto nas fêmeas quanto nos machos (Figura 24), ou quando analisados ambos os sexos (Figura 25).

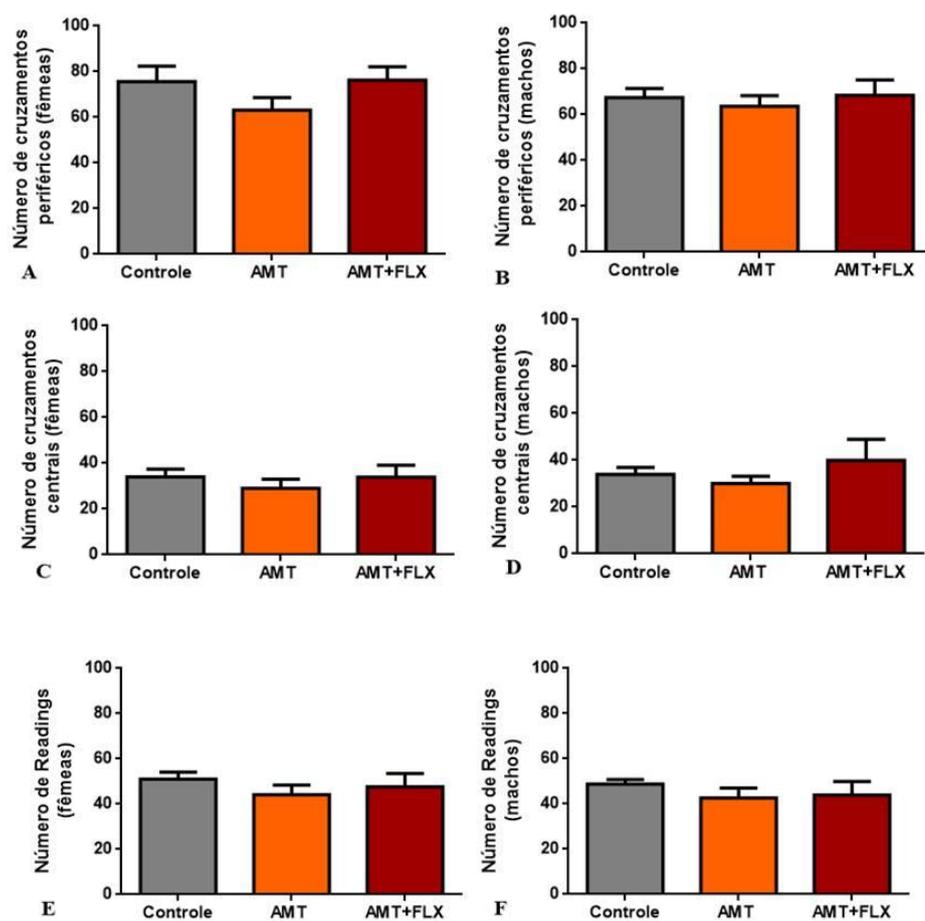


Figura 24 - Gráficos da análise do teste de campo aberto em filhotes.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Número de cruzamentos periféricos (fêmeas) (B) Número de cruzamentos periféricos (machos) (C) Número de cruzamentos centrais (fêmeas) (D) Número de cruzamentos centrais (machos). (E) Número de Readings (fêmeas) (F) Número de Readings (machos). ANOVA *Two-way* seguido de pós-teste de Bonferroni (média±SEM).

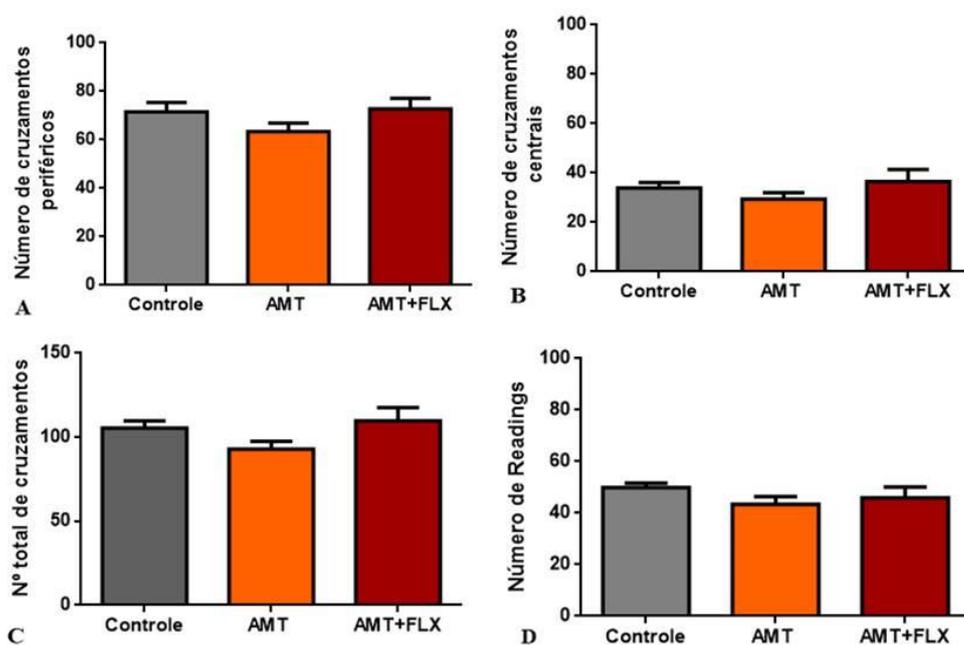


Figura 25 - Gráficos do comportamento no teste de campo aberto.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Número de cruzamentos periféricos. (B) Número de cruzamentos centrais. (C) Número de cruzamentos total. (D) Número de Readings. Teste One-way, pós teste de Bonferroni; média±SEM.

### 6.12.3 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Apesar do teste indicar aumento da atividade exploratória do braço aberto como medida de ansiedade, neste trabalho não foram observadas diferenças significativas no número de entradas nos braços abertos e fechados em filhotes de ambos os sexos (Figura 26), assim como no tempo de permanência em ambos os braços (Figura 27).

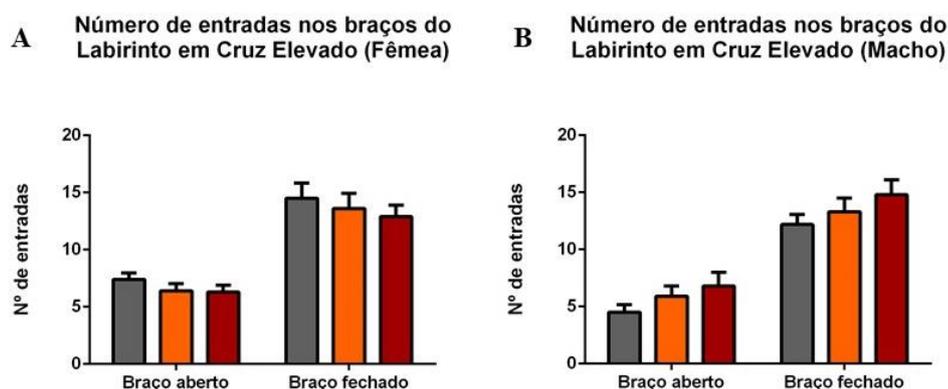


Figura 26 - Gráfico demonstrando as médias da taxa de entrada nos braços abertos e fechados do teste de Labirinto em Cruz Elevado.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Taxa média de entradas nos braços abertos e fechados de fêmeas. (B) Taxa média de entradas nos braços abertos e fechados de machos. Teste One-way/Bonferroni, ou Teste Kruskal-Wallis/Dunett; média±SEM.

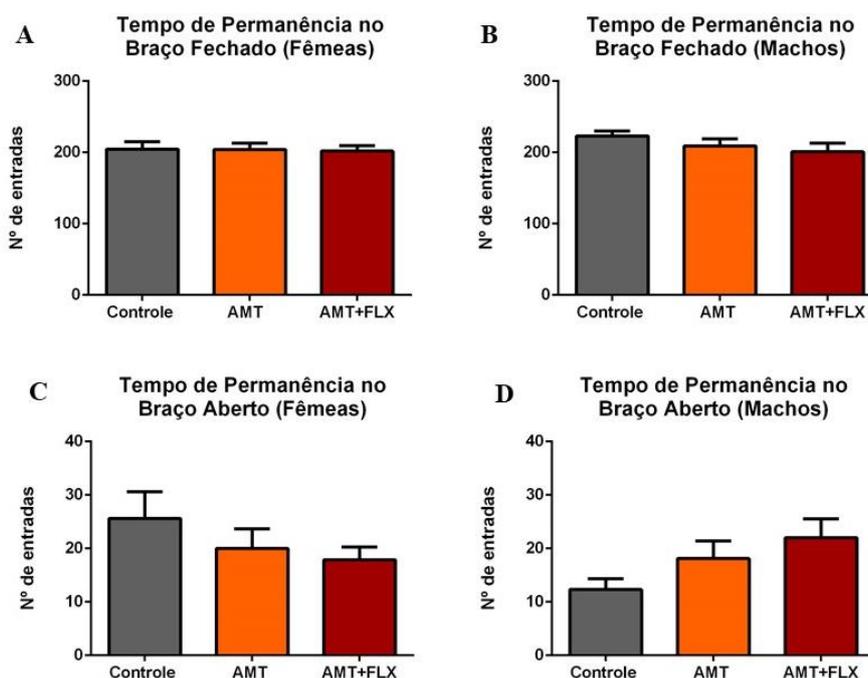


Figura 27 - Gráfico representando as médias do tempo (segundos) de permanência nos braços do LCE.

Fonte: Da autora.

Nota: (A) Média do tempo de permanência no braço fechado das fêmeas. (B) Média do tempo de permanência no braço fechado dos machos. (C) Média do tempo de permanência no braço aberto de fêmeas. (D) Média do tempo de permanência no braço aberto de machos. Teste One-way/Bonferroni, ou Teste Kruskal-Wallis/Dunett; média±SEM. \*  $p \leq 0,05$  Controle vs. AMT+FLX.

## 7 DISCUSSÃO

Para execução deste trabalho, foram utilizados dois medicamentos antidepressivos: a AMT e a FLX, com a intenção de mimetizar casos clínicos quando ocorre uma gestação sob o uso de antidepressivos ATCs e a troca desta medicação por uma outra classe desses antidepressivos, a dos ISRSs. Foi possível a visualização de possíveis alterações relacionadas ao organismo materno, ao desenvolvimento embrionário, no primeiro mês de vida dos filhotes, assim como seu comportamento na fase adulta.

Inicialmente, foi realizado um tratamento com a AMT no período de 10 dias antes do acasalamento das fêmeas, uma vez que este medicamento tem sido recomendado para tratamento da TPM (TAGAVI, 1990). Os resultados obtidos durante a fase de acasalamento dos animais, mostraram que houve uma redução na taxa de prenhez no grupo tratado com AMT. Estas fêmeas mostraram uma redução de 52,95% no sucesso do acasalamento, apresentando menor quantidade de rolhas vaginais, comparadas com o grupo controle, além de um atraso na observação das rolhas.

Um estudo realizado em camundongos também relatou alteração no sucesso reprodutivo das fêmeas quando tratadas com a paroxetina (ISRSs), apresentando uma dificuldade de 65% na taxa de prenhez. Essa redução foi associada a interrupções endócrinas, responsáveis pela reprodução tardia dessas fêmeas, e esse efeito pôde ser cessado ao dispensar a exposição ao medicamento, sugerindo então uma reversão dos efeitos negativos (GAUKLER; et al, 2015).

Frente a redução da taxa de prenhez, pode-se associar a evidência de que a AMT é capaz de induzir o aumento da produção da leptina (SCHILLING, et al. 2013). Este hormônio interfere diretamente na síntese de hormônios esteroides como o estradiol, podendo então afetar o ciclo hormonal da fêmea e sua aceitação ao macho (BRANNIAN, et al. 1999; PÉREZ-PÉREZ, et al. 2015). É descrito na literatura que o uso de medicamentos antidepressivos pode acarretar em disfunções sexuais, como diminuição da libido, problemas de excitação e ejaculação (MODELL, et al. 1997). Desta maneira, possivelmente as fêmeas tratadas antes do acasalamento podem estar sofrendo alterações comportamentais que afetam sua aceitação ao macho, acarretando na diminuição do número de rolhas e no atraso do acasalamento. Além disso, o medicamento também pode

provocar alterações no ciclo hormonal das fêmeas, portanto é necessário a realização de experimentos que verifiquem o ciclo estral das fêmeas em tratamento para comprovar a presença ou não de alterações referentes ao ciclo hormonal, uma vez que, estudos realizados por Cassila et al. (2016) apontaram que mulheres que fizeram o uso de antidepressivos durante a fase reprodutiva apresentaram uma redução na probabilidade de gestação acentuada em cada ciclo menstrual, diminuindo assim a chance de concepção durante o tratamento.

Estudos de Uzunova et al. (2004) também mostraram que os antidepressivos das classes dos ISRSs e ATCs podem aumentar os níveis de alopregnonalona, um derivado da progesterona e modelador positivo do receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA), o qual é o principal neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central, incluindo o hipotálamo. O aumento da alopregnonalona, induzido pelo antidepressivo, pode provocar uma desregulação do eixo hipotálamo-hipófise ovariano (HPO) e, como consequência, diminuir os níveis circulantes de hormônio luteinizante (LH) em ratos, resultando em menos oócitos no estro (CALOGERO, et al, 1998; UZUNOVA; et al, 2004). Além disso, a administração intravenosa de alopregnanolona em mulheres saudáveis e férteis diminuiu os níveis do hormônio folículo estimulante (FSH) e de LH, diminuindo assim as taxas de ovulação (TIMBY, et al, 2011). Desta maneira, a desregulação do HPO induzida pela alopregnonalona poderia provocar a falta de ovulação e defeitos na fase lútea, resultando na infertilidade.

Além disso, outro ponto avaliado foi o ganho de peso dessas fêmeas ao longo de todo experimento. Há evidências de que medicamentos antidepressivos podem induzir de forma variável o ganho de peso, no entanto pouco é descrito na literatura ou muitas vezes esses dados são contraditórios (SERRETI e MANDELLI, 2010). Os ATCs, por exemplo, a AMT, estão associados a um maior risco de ganho do peso quando os animais são tratados de forma aguda, de acordo com Lee et al. (2016) e Serretti e Mandelli (2010), o que pode ser justificado também pela bula do medicamento (Anexo II), a qual descreve que a AMT está associada ao aumento do apetite. No entanto, os resultados deste trabalho são os primeiros apresentados em camundongos, e demonstram que houve um menor ganho de peso e nenhuma alteração significativa na ingestão alimentar das fêmeas prenhes até o 17º ddg tratadas com AMT.

Já em relação à FLX, Serretti e Mandelli (2010) descrevem que este fármaco está associado à perda de peso do paciente, assim como de camundongos tratados com esse

medicamento numa dosagem de 10mg/kg (PINHEIRO, et al, 2017). Esta perda de peso pode estar associada ao aumento da disponibilidade de serotonina, que promove uma relação inversa com o consumo de energia, reduzindo a ingestão alimentar por meio da estimulação da saciedade (LEIBOWITZ, 1990; BLUNDELL e HALFORD, 1994). Sendo assim, a FLX é uma potente droga anorexígena durante o tratamento agudo, porém esses efeitos podem ser transitórios e o paciente voltar a ganhar peso normalmente com o tratamento a longo prazo (LEIBOWITZ, 1990). Desta maneira, supomos que um tratamento com a medicação ansiolítica pode ter efeito associado a um menor ganho de peso gestacional devido a uma possível mudança comportamental que aumenta a atividade dessas fêmeas.

As fêmeas submetidas à laparotomia no 18º ddg apresentaram sítios de desenvolvimento fetais dispostos de maneira relativamente homogênea em ambos os cornos uterinos, quando avaliados os três grupos deste estudo. Nesses cornos, foi possível visualizar com facilidade as placentas voltadas para a região do mesométrio e as artérias espiraladas com calibre aumentados, devido ao aumento de fluxo sanguíneo necessário para as trocas metabólicas indispensáveis para a manutenção fetal (AMARANTE, 1997; FELICIONNI, 2014). Não foram evidenciadas alterações morfológicas como hemorragias, redução do número de sítios de desenvolvimento ou reabsorções e estas alterações macroscópicas, são relativamente comuns frente a tratamentos com substâncias que tenham potencial teratogênico e/ou abortivo (MOREIRA, FARIA, e MOREIRA, 2007).

Os fetos e placentas também se apresentaram morfológicamente normais quando submetidos aos tratamentos com AMT ou AMT+FLX. De acordo com Coan et al. (2008), a placenta pode se adaptar a determinadas situações em uma tentativa de manter a homeostase gestacional e preservar as condições de desenvolvimento fetal. Um aumento da área placentária pode ser necessário para preservar o feto devido à alguma alteração que diminua a eficiência deste órgão, porém este tipo de alteração não foi evidenciado nos grupos experimentais deste trabalho (BROAD e KEVERNE 2011; FELICIONI, 2014).

Por outro lado, a histologia e a morfometria, das placentas de 18º ddg mostraram alterações importantes entre os grupos avaliados. As placentas procedentes de fêmeas do grupo controle, apresentavam características e proporções normais condizentes com a literatura (CROSS, 2005; FELICIONI 2014; GEORGIADES, et al. 2002; KANAI-

AZUMA et al. 1994; WATSON). A região do labirinto ocupa a maior área placentária, devido à necessidade de um grande aporte nutricional para o crescimento e ganho de peso fetal no período que antecede o parto. Esta camada, responsável pelas trocas metabólicas, encontra-se separada da porção materna por uma camada juncional, onde foram observadas as células do espongiotrofoblasto e as CTGs. As células do espongiotrofoblasto têm grande importância endócrina e proporcionalmente estão presentes em menor quantidade no final da gestação devido a senescência placentária, que é caracterizada por um declínio da produção hormonal (JOHN, 2013; KANAI-AZUMA et al 1994).

No entanto, nos grupos tratados com a AMT, a camada do labirinto muitas vezes, apresentava-se reduzida e a região do espongiotrofoblasto aumentada em relação às placentas controles, o que pode ser constatado tanto nos cortes histológicos quanto na quantificação das áreas placentárias. O aumento da proporção de espongiotrofoblasto pode estar associado a uma alteração da maturidade placentária ou a uma necessidade maior de síntese hormonal nas placentas de fêmeas tratadas com AMT.

As placentas provenientes de mães AMT+FLX também demonstraram alterações morfológicas semelhantes ao grupo AMT, porém com menor intensidade, não sendo significativas numericamente. Este fato provavelmente indica que a troca do medicamento durante o período de placentação interferiu na diferenciação morfológica deste órgão, amenizando as diferenças encontradas no grupo AMT.

De acordo Seabrook et al. (2013), a formação adequada da placenta depende da diferenciação de células-tronco trofoblásticas em subtipos de trofoblastos especializados. A disrupção de programas temporais ou moleculares que regulam a diferenciação destas células pode resultar em uma diminuição de populações celulares comprometidas com a invasão, remodelação vascular útero-placentária, metabólica ou de função endócrina anormal. Desta maneira, problemas de diferenciação placentária, como o observado neste trabalho, poderiam estar associados a um efeito da AMT na linhagem de células trofoblásticas iniciais, necessárias para a formação da placenta.

Também foram encontradas regiões de edemas nas placentas tratadas, em ambos os grupos AMT e AMT+FLX. Alterações semelhantes são descritas em placentas de ratos com pré-eclâmpsia, por Kaiser et al (2015). YI et al. (2017), em estudos com modelos de camundongos semelhantes à pré-eclâmpsia, também associa a formação de edemas na região de labirinto ao aumento da pressão arterial materna. A correlação deste achado

histológico em nosso trabalho é de grande importância, uma vez que a utilização de antidepressivos tricíclicos, como a AMT, está associada a um risco aumentado de pré-eclâmpsia, assim como outros antidepressivos que aumentam o risco de hipertensão (DE VERA; BÉRARD, 2012; PALMSTEN, et al., 2013). Este aspecto costuma ser discutido nas práticas clínicas, porém quase não são encontrados dados literários, principalmente quando o foco da pesquisa é a AMT.

É descrito que mulheres que fizeram uso do antidepressivo na segunda metade da gestação também tiveram um maior risco de hipertensão gestacional e pré-eclâmpsia (DE OCAMPO, et al, 2016). O trabalho de Palmsten et al. (2013), descreve que, dentre as classes de antidepressivos associados ao aumento de pressão arterial, os tricíclicos apresentam um maior risco de doenças hipertensivas do que os ISRSs, o que corrobora com o fato das alterações no grupo AMT+FLX serem mais sutis do que a do grupo tratado apenas com AMT.

Problemas de disfunção e de diferenciação do trofoblasto humano têm sido apontados como causas de aumento da pressão intervilar, velocidade de perfusão e desenvolvimento de hipertensão e inflamação associada a alterações placentárias e a doenças como pré-eclâmpsia e um baixo crescimento intra-uterino (IUGR) (CHISWICK, 1985; REGNAULT, et al 2002; REDMAN, et al, 2005). Os efeitos de drogas e medicamentos muitas vezes podem estar relacionados a casos de IUGR, frente ao uso de psicotrópicos do grupo dos ISRS pela gestante (DAIVDSON et al, 2009; MALM; 2012). No entanto, os resultados deste trabalho não apresentaram diferenças significativas de peso ao nascimento, assim como não houve queda do IUGR quando as fêmeas foram submetidas a AMT ou a AMT+FLX, o que nos chamou atenção.

Avaliações de tecido placentário retiradas de gestações com pré-eclâmpsia ou que apresentam aumento no IUGR, estão associadas a menores índices de fusão de citotrofoblasto, uma taxa maior de apoptose e insuficiente invasão de trofoblasto extraviloso (KREBS et al 1996; CHADDHA et al 2004; LANGBEIN, et al, 2008). Estas descrições são condizentes com as alterações morfológicas apresentadas nas placentas tratadas com AMT e AMT+FLX e podem justificar a redução da área do labirinto e a observação de tecido amorfo e núcleos picnóticos na área juncional devido ao aumento da apoptose, apesar dos nossos fetos não apresentarem diferença significativa do peso ao nascimento.

Foi relatado por Schilling et al. (2013) que a AMT pode promover o aumento das concentrações de leptina no organismo. Partindo deste pressuposto, importantes correlações podem ser realizadas entre a produção deste hormônio e as alterações aqui descritas. Diversos trabalhos da literatura relacionam a leptina diretamente a diferenciação, proliferação e mecanismos de sobrevivência do trofoblasto, além de estar associada a disfunções hormonais, síntese de fatores angiogênicos e produção de citocinas inflamatórias (CAUZAC, et al 2003; CORVINUS, et al 2008; PÉREZ-PÉREZ, et al 2013; PÉREZ-PÉREZ, et al. 2015; PÉREZ-PÉREZ 2015; SCHILLING et al; 2013; SIERRA-HONIGMANN, et al, 1998; TAKAHASHI, WAELPUT, GUISEZ, 1999). Desta maneira, um descontrole na síntese de leptina pode se relacionar a diversas patologias gestacionais como diabetes, IUGR e a pré-eclâmpsia (HAUGUEL-DE: LEPERCQ, 2001; LAPPAS, ET AL, 2005; PÉREZ-PÉREZ, 2015;).

Dentre as patologias citadas acima, a que mais chama atenção é a pré-eclâmpsia, que consiste em uma síndrome sistêmica de origem placentária que tem como características principais para diagnóstico o aumento da pressão arterial e a presença de proteinúria após a 20ª semana de gestação (YOUNG, LEVINE e KARUMANCHI, 2010; LUGER e ARNOLD, 2017). De acordo com os resultados obtidos, não foi possível comprovar se existem indícios de estar ocorrendo um aumento da proteinúria em fêmeas tratadas com ambos os fármacos, devido ao n experimental de fêmeas utilizadas no grupo tratados, sendo assim, os dados precisam ser melhor averiguados.

Por outro lado, outras implicações imediatas da disfunção placentária devido ao uso do medicamento podem incluir o parto prematuro e, em casos agudos, morte fetal e neonatal (SEABROOK et al. 2013). O grupo de fêmeas tratadas com AMT apresentou um aumento significativo de natimortos e de morte neonatal (até o 5ºdpn) e este quadro regrediu quando o tratamento com AMT foi substituído pela FLX, no final do período de desenvolvimento embrionário.

De acordo com Coan et al (2008), um fenótipo placentário é responsivo às condições ambientais e sua análise pode ajudar a prever o risco de doenças que são programadas no útero e ocorrem durante a vida adulta. Na literatura, observamos diversos trabalhos que associam a disfunção e desorganização placentária a uma contribuição para programação fisiológica da prole a longo prazo, manifestando-se como risco aumentado de hipertensão, doença cardíaca, diabetes e obesidade (BAKER; 1990; BELLAMY, et al. 2007; SARR, et al 2012; SIMMONS, 2012).

Sendo assim, é importante destacar que a síntese placentária da serotonina ocorre durante a gestação e é crucial para uma gestação saudável e um melhor desenvolvimento fetal (BONNIN, et al 2011; LAURENT, 2017). Segundo Laurent et al. (2017), várias funções durante a placentação e desenvolvimento embrionário/fetal dependem da serotonina derivada do trofoblasto. Além disso, foi descrito por Hadden et al. (2017) que o excesso de serotonina, em camundongos, induziu um aumento da morte celular nos tecidos placentários, o que condiz com nossos achados histológicos. Sendo assim, podemos destacar que o uso de medicamentos que afetam a síntese ou a sinalização da serotonina, como os antidepressivos, pode provocar efeitos adversos na placenta e consequentemente no desenvolvimento embrionário e fetal, como descrito por Laurent, et al. 2017), o que mais uma vez nos remete a mecanismos epigenéticos e consequentemente efeitos sobre a programação fetal, que poderiam ser visualizadas de maneira mais tardia.

No entanto, mesmo com todas as situações adversas encontradas na morfologia da placenta, os resultados apontam que não houve diferenças na média do número de filhotes nascidos por prole, em fêmeas tratadas com os fármacos, provavelmente devido à adaptação deste órgão. De acordo com Neves (2013), cada fêmea de camundongo pode conceber uma média de 12 filhotes com peso entre 1,5-2g, o que corrobora com os dados obtidos neste estudo. De Long et al. (2015) mostram que ratos oriundos de mães expostas à sertralina (ISRS) também não apresentaram alteração no peso ao nascimento, assim como Cohen et al. (2000), em estudos de casos clínicos, não verificaram mudança no peso de filhos nascidos de mães tratadas com FLX. Quanto às anormalidades congênitas, estudos apontam que o uso de antidepressivos, tanto da classe dos ATCs quanto dos ISRSs, parece não aumentar este risco em neonatos (ALTSHULER et al, 1996; ALWAN et al, 2007; LOUIK et al, 2007), no entanto esses dados ainda não muito controversos na literatura.

Por outro lado, um efeito negativo importante apontado no grupo tratado com AMT foi o índice significativo de natimortos e morte neonatal. Este reflexo foi evidenciado também no grupo tratado com AMT+FLX, mas bastante reduzido em comparação ao grupo tratado com AMT. A literatura descreve que distúrbios hipertensivos na gestação, incluindo hipertensão crônica, gestacional e/ou pré-eclâmpsia, apresentam alto risco de morbidade e mortalidade, tanto para a mãe quanto para o filhote (LUGER e ARNOLD, 2017). Corroborando com este fato, já foi mencionado que

disfunções placentárias podem estar diretamente associadas ao aumento da probabilidade de óbito fetal e neonatal (SEABROCK, et al. 2013). Desta maneira, este dado pode ser diretamente associado as alterações morfológicas das placentas descritas previamente, principalmente as regiões de edema encontradas no labirinto. Estas mortes representam um risco importante do uso da AMT por gestantes.

Após o nascimento, o desenvolvimento dos filhotes foi acompanhado até o 30º dpn, sendo constatado um atraso na erupção dos dentes incisivos superiores nos filhotes machos do grupo AMT, e quando considerados ambos os sexos do grupo AMT e AMT+FLX. O fato desta alteração ter sido detectada quando considerados ambos os sexos e não detectada em fêmeas, do grupo AMT, pode indicar uma diferença devido ao número da amostragem estar ampliado. O mesmo raciocínio pode ser aplicado ao tratamento com AMT+FLX, o qual apresentou significância neste parâmetro, em relação ao controle, apenas quando computados os filhotes de ambos os sexos. A influência de medicamentos da classe ISRS na dentição e odontogênese são contraditórios na literatura, e não existem dados que correlacionem antidepressivos tricíclicos a estes eventos. Quando consideramos o grupo ISRS, mais estudos são encontrados e podemos descrever, inclusive, influências diretas da FLX que poderiam estar associadas a este atraso na erupção dentária. De acordo com a literatura, o tratamento com 20mg/kg/dia de FLX durante a prenhez e lactação de ratos, acarreta alterações na amelogênese e pulpogênese, na morfogênese do periodonto de inserção e no osso alveolar, devido a alterações na modulação dos receptores de 5HT (JAEGGER, 2015; MATOS, 2011; REGUEIRA, 2013).

Outros parâmetros de desenvolvimento que devem ser discutidos são a redução de peso, principalmente a partir da puberdade (20º dpn) e a redução do crescimento, detectadas nos filhotes de mães tratadas com AMT. Já foi discutido que a redução de peso ao nascer e casos de IUGR são descritos com frequência associado ao uso da droga medicamentosa pela mãe, assim como afirma Norby et al. (2016), mas não foram encontrados dados referentes a avaliação da prole até o início da vida adulta que apresentem alterações semelhantes as descritas com relação a antidepressivos, principalmente porque a maior parte dos trabalhos não acompanham o nascimento e desenvolvimento da prole. No entanto, vale salientar que há muito tempo sabe-se que algumas patologias podem ser induzidas durante o desenvolvimento fetal e serem desenvolvidas apenas na infância ou na vida adulta, como já descrito por Godfrey e

Barker (2000) e Silveira et al. (2007), portanto acredita-se de alguma maneira o tratamento com a AMT pode estar reprogramando o metabolismo posterior da prole.

A distância anus/genital (DAG) em machos geralmente é duas vezes maior do que nas fêmeas de roedores, sendo esta medida proporcional ao peso do filhote (GALLAVAN, et al, 1999; GRAY, et al., 1999; VANDENBERG e HUGGETT, 1995). Neste estudo, a DAG dos filhotes do sexo feminino apresentou um aumento, quando comparado o tratamento com a AMT em relação ao controle no início da puberdade, mesmo sendo relatado um menor ganho de peso e um menor índice de crescimento corpóreo (distância naso/anal e naso/caudal). O aumento da distância urogenital pode ser associado a uma masculinização destes animais (DUSEK, BARTOS e SEDLACEK, 2010). Estes achados trazem novamente a suspeita do tratamento interferir na produção hormonal durante a prenhez, provavelmente pela via de indução das concentrações de leptina, ocasionada pela AMT.

Além dos parâmetros de desenvolvimento físico, os aspectos neurológicos do desenvolvimento da prole também foram avaliados, mas de maneira geral, demonstraram ser menos influenciados pelos tratamentos com os fármacos. Corroborando com estes dados, em um estudo realizado por Misri e Sivertz, (1991), no qual as mães foram expostas à um ATC durante a gestação, foi observado que as crianças apresentaram desenvolvimento neuropsicomotor normal até os três anos assim como mães que foram expostas à FLX tiveram crianças sem nenhuma mudança comportamental até os sete anos de idade (KALLEN, OLAUSSON, 2007).

O desenvolvimento neuropsicomotor adequado da prole costuma estar diretamente associado a efetividade do cuidado materno (NUMAN, 1994; BODENSTEINER; GHIRALDI; MINER, 2012). O comportamento maternal é complexo e instintivo, e consiste em uma série de cuidados que as fêmeas realizam em torno da prole no intuito de propagar a espécie, sendo determinante no seu desenvolvimento neurológico (CAMARGO, et al. 2014). Desta maneira, a negligência materna pode afetar diretamente o desenvolvimento da prole e aumentar inclusive o risco do desenvolvimento de doenças (CONNOR, et al. 2012).

A mudança deste comportamento materno sob influência de antidepressivos possuem dados literários controversos. Kyrynova et al. (2016) não observaram diferença significativa no cuidado com a prole de camundongos C57, quando as mães foram tratadas com FLX numa dose de 25mg/kg/dia, ministrada do período embrionário até 12°

dpn. Além disso, outros estudos apresentam aumento, diminuição ou nenhuma alteração (MEEK, et al, 2001; PAWLUSKI, et al, 2012; SMITH, et al, 2004) no comportamento materno de ratos e camundongos submetidos à estresse pré-natal e tratados com FLX. Com relação à AMT, não são descritos na literatura dados que apontem alterações comportamentais em mães tratadas com esse medicamento.

Geralmente, em roedores, o comportamento materno apresenta-se acentuado nas duas primeiras semanas após o parto, e diminui conforme o crescimento dos filhotes, até que se tornem independentes (NUMAN, 1994). Sendo assim, alguns parâmetros podem apresentar diminuição significativa durante o tempo, sem que este fato esteja associado a uma influência direta de tratamentos.

De acordo com estudos realizados por Champagne (2003), o estresse pode alterar diretamente o cuidado da mãe com os filhotes por meio de alterações no sistema neuroendócrino, o qual é o responsável por regular esse comportamento. Desta forma, o tratamento com um psicotrópico frente a esta patologia, em casos graves, pode ser mais viável do que os efeitos acarretados pelo estresse ou depressão.

Nos resultados do comportamento materno, as fêmeas tratadas com os fármacos não mudaram seus cuidados com a prole, o que pode justificar também o fato de não serem observadas alterações importantes no comportamento neuropsicomotor. De acordo com Neves (2013), filhotes bem cuidados consequentemente tornam-se adultos tranquilos e menos estressados. Diante desta afirmação, foram realizados testes de comportamento na prole jovem, apresentados subsequentemente.

Em concordância com os resultados obtidos, dados levantados na literatura demonstram que a FLX não influencia no comportamento de depressão de fêmeas não estressadas quando submetidas ao teste de nado forçado, e ainda pode reduzir o comportamento depressivo quando comparadas às fêmeas sob estresse pré-natal (SALARI, 2016). Além disso, um estudo também aponta que a AMT, quando administrada antes desse mesmo teste, parece reduzir o tempo de imobilidade em comparação a animais sem nenhum tratamento, sugerindo uma atividade antidepressiva (ENGINAR, et al. 2016).

Corroborando com tais resultados, Abdul Aziz et al. (2012), demonstraram que fêmeas submetidas ao tratamento com AMT também não apresentam mudanças significativas no comportamento em campo aberto, entretanto este tratamento foi capaz de amenizar os efeitos da ansiedade quando administrado após um estresse pré-natal.

Similarmente, Rayen (2011) também descreve não observar diferença na atividade locomotora de fêmeas oriundas de mães tratadas com FLX. Não foram encontrados dados que avaliem o efeito da AMT diretamente na prole devido à utilização do fármaco pela mãe durante a prenhez.

O teste de LCE foi desenvolvido e validado como teste de ansiedade utilizando medidas fisiológicas e farmacológicas (FILE, 2001). Segundo o mesmo autor, as medidas de ansiedade são observadas conforme o número de entradas no braço aberto e o tempo gasto tanto no braço aberto quanto no braço fechado. Dados na literatura indicam que drogas que aumentam a atividade nos braços abertos, são classificadas como compostos ansiolíticos, enquanto drogas que diminuem essa atividade são ansiogênicas (GIANLORENÇO, 2009). Sendo assim, uma maior atividade no braço aberto indica uma redução do comportamento ansioso e alterações no número de entradas no braço fechado indicam efeitos não-específicos da atividade locomotora (MENARD e TREIT, 1999). Este estudo não demonstrou alterações no comportamento da prole, frente aos fármacos utilizados, ou seja, os filhotes não sofreram nenhum efeito ansiolítico ou ansiogênico quando suas mães foram submetidas aos tratamentos, o que pode ser associado não apenas a ausência do efeito da medicação neste aspecto, como também a um comportamento materno adequado mesmo após uma prenhez sob efeito da medicação.

## 8 CONCLUSÃO

De acordo com o que foi apresentado, este trabalho tem relevância pelo seu ineditismo em diferentes aspectos, uma vez que associa alterações do uso da AMT e a FLX a ocorrências negativas no organismo materno, tanto no período reprodutivo quanto prenhez, tornando evidente o risco da utilização da AMT na fase reprodutiva e durante a gestação e um possível abrandamento desses efeitos frente à troca da medicação pela FLX.

Segundo os dados avaliados nesta pesquisa, o tratamento com a AMT durante o período reprodutivo e de prenhez:

- a) Aumenta a resistência a prenhez da fêmea de camundongo;
- b) Aumenta o número de natimortos e de morte neonatal;
- c) Induz alterações na diferenciação placentária alterando a morfologia do órgão como: as proporções entre as camadas teciduais da placenta, o surgimento de edemas na região do labirinto e o aparecimento de áreas de degeneração tecidual, de maneira semelhante ao observado em quadros de doenças hipertensivas;
- d) Interfere no metabolismo, reduzindo o ganho de peso materno durante a prenhez e dos filhotes na puberdade;
- e) Atrasa a erupção dos incisivos da prole;
- f) Aumenta a distância anus/genital de fêmeas da prole;
- g) Não altera o cuidado materno;
- h) Não altera o desenvolvimento físico, neurológico e comportamental da prole.

A troca da AMT pela FLX durante a prenhez:

- a) Ameniza o número de filhotes natimortos e neonatos;
- b) Reduz o ganho de peso materno durante a prenhez;
- c) Minimiza as alterações morfológicas placentárias observadas no tratamento com AMT;
- d) Atrasa a erupção dos incisivos da prole;
- e) Não altera o cuidado materno;
- f) Não altera o desenvolvimento físico, neurológico ou comportamental da prole.

Está inerente ainda que os achados histopatológicos placentários, o aumento de natimortos e os óbitos neonatais encontrados compõem novos indícios que podem ser

associados ao uso da AMT durante a gestação com alterações semelhantes a doenças hipertensivas, o que pode embasar pesquisas futuras relacionadas ao uso deste medicamento.

## REFERÊNCIAS

ABDUL AZIZ N. H. K.; KENDALL D. A.; PARDON M. C. Prenatal exposure to chronic mild stress increases corticosterone levels in the amniotic fluid and induces cognitive deficits in female offspring, improved by treatment with the antidepressant drug amitriptyline. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam. v. 231, p.29-39. 2012.

ALWAN, S.; FRIEDMAN, J. M. Safety of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Pregnancy. **CNS Drugs**. Auckland. v. 23, n.6, p. 393-509. 2009.

ALWAN, S. et al. National Birth Defects Prevention Study. Use of selective serotonin-reuptake inhibitors in pregnancy and the risk of birth defects. **N Engl J Med**, Boston. v. 356, p. 2684-2692, 2007.

ALTSHULER L. L, et al. Pharmacologic management of psychiatric illness in pregnancy: Dilemmas and guidelines. **Am J Psychiatry**, Arlington. v. 153, p. 592-606, 1996.

ANDRADE, S. E. Prescription drug use in pregnancy. **American Journal Obstetrics and gynecology**, St. Louis. v. 191, n. 2, p.398-707, 2004.

AMARANTE, A. M. **Estudo Imunocitoquímico das catepsinas D e b em células Trofoblásticas Gigantes de Camundongos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biologia – UNICAMP. Campinas, 1997.

ANVERSA, E. T. R., et al. Qualidade do processo da assistência pré-natal: unidades básicas de saúde e unidades de Estratégia Saúde da Família em município no sul do Brasil. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 24, n.4, p.789-800, 2012.

CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA: comprimido. Responsável Dra. Conceição Regina Olmos. Campinas: Medley Indústria Farmacêutica Ltda, 2014. Bula de remédio.

BARKER, D. J. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **BMJ**, London. v.301, p.259–262, 1990.

BELLAMY, L. et al. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, London. v. 335, p. 1-12, 2007.

BLUNDELL, J. E. HALFORD, J. C. G. Regulation of nutrient supply: the brain and appetite control. **Proceedings of the Nutrition Society**, London. v. 53, p.407-418. 1994.

BODENSTEINER, K. J.; GHIRALDI, L. L.; MINER, S.S. Differential effects of short and long-term early maternal separation on subsequent maternal behavior in rats. **Behavioural brain research**, Amsterdam. v. 23, p.159-167, 2012.

BONNIN, A. et al. A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. **Nature**, Basingstoke. v. 472, n. 7343, p.347-350, 2011.

BORUE, X.; SHARMA, M.; HUDAK, R. Biological treatments for obsessive-compulsive and related disorders. **Journal of Obsessive-Compulsive and Related Disorder**, Philadelphia. v. 6, p.7-26, 2015.

BRANNIAN, J. D.; ZHAO Y.; MCELROY, M. Leptin inhibits gonadotrophin stimulated granulosa cell progesterone production by antagonizing insulin action. **Hum Reprod**, Oxford. v. 14, p.1445-8, 1999.

BROAD, K. D.; KEVERNE, E. B. Placental protection of the fetal brain during shortterm food deprivation. **PNAS**. Washington, v. 108, p.15237-15241, 2011.

CALVINO-NUNES, C.; DOMINGUEZ-DEL-TORO, E. Clonidine Treatment Delays Postnatal Motor Development and Blocks Short-Term Memory in Young Mice. **PloS One**, San Francisco. v. 9, n. 12, p.e114869, 2014.

CALOGERO, A.E. et al. The neuroactive steroid allopregnanolone suppresses hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release through a mechanism mediated by the gamma-aminobutyric acidA receptor. **Journal of endocrinology**, Bristol. v. 158, p. 121-125, jul. 1998.

CAMARGO, E. L. R. A. **Exposição perinatal de ratos ao glifosato: efeitos sobre o comportamento materno e sobre o desenvolvimento físico e neurocomportamental da prole desde o nascimento até a idade adulta**. São Paulo, 2014. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina e Zootecnia, Universidade De São Paulo, SP, 2014.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York. v. 29, p.1193-1205, 2005.

CARVALHO A. F.; et al. The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. **Psychother Psychosom**, Basel. v. 85, p.270-288. 2016.

CASPER, R. C. Use of Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants in pregnancy does carry risks, but the risks are small. **Journal of Nervous & Mental Disease**, Hagerstown. v. 203, p.167-69. 2015.

CASSILA-LENNON, M. M.; MELTZER-BRODY, S.; STEINER, A. Z. The effect of antidepressants on fertility. **American journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis. v. 215, n. 3, p.314.e1–314.e5. 2016.

CASTRO V. L.; CHIORATO, S.; PINTO, N. Relevance of developmental testing of exposure to methamidophos during gestation to its toxicology evaluation. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 118, n.1-2, p.93-102, 2000.

CASTRO, V. L. Estudo experimental em ratos da interação mãe/filhote expostos a agroquímicos. **Circular técnica- Embrapa**, Jaguariuna, p.1-7. 1º Edição, 2006.

CAUZAC, M. et al. Transduction of Leptin Growth Signals in Placental Cells is Independent of JAK-STAT Activation. **Placenta**, London. v. 24, n. 4, p.378-384, 2003.

CHADDHA, V. et al. Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency. **Semin Fetal Neonatal Med**, Amsterdam. v. 9, n. 5, p.357-69, 2004.

CHAMPAGNE, A. F. et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology and Behavior**. New York. v.79, p.359-371, 2003.

CHENG, S. et al. Long-term Outcomes in Individuals With Prolonged PR Interval or First-Degree Atrioventricular Block. **American Medical Association**. Chicago, v. 301, n. 24, 2571-2577, 2009.

CHENIAUX, E. Treatment of premenstrual dysphoria with antidepressants: review of controlled clinical trials. **J Bras Psiquiatr**. Rio de Janeiro, v. 55, n. 2, p. 142-147, 2006.

CHISWICK, M. L. Intrauterine growth retardation. **British medical journal**. London. v. 291, p. 845-848, 1985.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** Araraquara, v. 28, n.1, p.11-23, 2007.

COAN, P. M.; et al. Adaptations in placental nutrient transfer capacity to meet fetal growth demands depend on placental size in mice. **J. Physiol**, London. v. 15, n.18, p.4567-4576, 2008.

COHEN, L. S. et al. Birth Outcomes following Prenatal Exposure to Fluoxetine. **Society of Biological Psychiatry**, New York. v. 48, p.996-1000, 2000.

CONNOR, K. L. et al. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **J. Physiology**, Oxford. v. 590, n. 9, p. 2167-2180, 2012.

CORVINUS, F. M. Evidence for a Correlation between Trophoblast Invasiveness and STAT3 Activity. **American Journal of Reproductive Immunology**. Copenhagen. v. 20, n. 3, p.316-321, 2003.

CROEN, L. A.; et al. Antidepressant Use During Pregnancy and Childhood Autism Spectrum Disorders. **Arch Gen Psychiatry**, Chicago. v. 68, n. 11, p.1104-1112. 2011.

COOPER, W. O. et al. Increasing use of antidepressants in pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. New York, v. 196, p.544-544, 2007.

COHEN, L. S. et al. Birth Outcomes following Prenatal Exposure to Fluoxetine. **Society of Biological Psychiatry**. New York, v. 48, p.996-1000, 2000.

CUMMINGS, M. E. DAVIES, P. T. Maternal depression and child development. **Journal of Child Psychology and Psychiatr**, Oxford. v. 35, p.73-112. 1994.

DAVIDSON, S. et al. Effect of exposure to selective serotonin reuptake inhibitors in utero on fetal growth: potential role for the IGF-I and HPA axes. **Pediatr. Res.** New York, v. 65, n. 2, p. 236-41, 2009.

DAVYDOV, D. M. et al. Neurodevelopment and phenotype-modulating functions of S100B protein: A pilot study. **Physiology Behavior**, New York. v.140, p.188-196, 2015.

DE LONG N. E. et al. Fetal Exposure to Sertraline Hydrochloride Impairs Pancreatic  $\beta$ -Cell Development. **Endocrinology**, New York. v. 156, n. 6, p. 1952-1957. 2015.

DE OCAMPO, M. P. G, et al. Risk of gestational hypertension and preeclampsia in women who discontinued or continued antidepressant medication use during pregnancy. **Arch Womens Ment Health**, Wien, v. 19, n. 6, p.1051-1061, 2016.

DE VERA, M. A.; BÉRARD, A. Antidepressant use during pregnancy and the risk of pregnancy-induced hypertension. **Br J Clin Pharmacol**. London, v. 47, n. 2, p. 362-369. 2012.

DeBATISTA, C. Agentes antidepressivos, In: KATZUNG, B.G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2014. Cap. 30, p.521-541.

DODGE, K. A. Developmental psychopathology in children of depressed mothers. **Developmental Psychology**, New York. v. 26, p.3-6, 1990.

DUSEK, A. BARTOS, L. SEDLACEK, F. Developmental Instability of Ano-Genital Distance Index: Implications for Assessment of Prenatal Masculinization. **Developmental Psychobiology**, New York. v. 52, n. 6, p.568-73, 2010.

ENGINAR, N. et al. Learning and memory in the forced swimming test: effects of antidepressants having varying degrees of anticholinergic activity. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, Berlin. v. 398, n. 7, p.39-745, 2016.

FALCONE, V. M. et al. Atuação multiprofissional e a saúde mental de gestantes. **Rev. Saúde Pública**. São Paulo, v. 39, n. 4, p.612-8. 2005.

FELICIONI, F. **Efeitos morfológicos e de lipoperoxidação da restrição alimentar aguda durante a gestação de camundongos**. Dissertação (Mestrado em Biociências aplicada à Saúde) – UNIFAL, Alfenas, 2014.

FERREIRA, C. R.; et al. Prevalence of anxiety symptoms and depression in the third gestational trimester. **Archives of Gynecology and Obstetrics**. New York, v. 291, n. 5, p.999-1003, 2015

FIELD, T. Maternal depression effects on infants and early interventions. **Preventive Medicine**, Baltimore. v. 27, p.200-203,1998.

- FIELD, T., et al. Prenatal depression effects on the fetus and the newborn. **Infant Behavior and Development**, Norwood. v. 27, p. 216-229, 2004.
- FILE, S. E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. **Behav Brain Res**, Amsterdam. v. 125, p.151-157, 2001.
- FUKISHIMA, N. et al. A neonatal prolonged QT syndrome due to maternal use of oral tricyclic antidepressants. **European Journal of Pediatrics**, Berlin. v. 175, n. 8, p.1129-1132. 2016.
- GALLAVAN, R. H., et al. Interpreting the toxicologic significance of alterations in anogenital distance: Potential for confounding effects of progeny body weights. **Reprod. Toxicol**, Elmsford. v.13, p. 383–390, 1999.
- GAUKLER, S.M.; et al. Low-dose paroxetine exposure causes lifetime declines in male mouse body weight, reproduction and competitive ability as measured by the novel organismal performance assay. **Neurotoxicol Teratol**, New York. v. 47, p.46-53. 2015.
- GEORGIADES, P.; FERGUSON-SMITH, A. C.; BURTON, G. J. Comparative Developmental Anatomy of the Murine and Human Definitive Placentae. **Placenta**, Amsterdam. v. 23, p.3-19, 2002.
- GIANLOURENÇO, A. C. L. **Papel do sistema histaminérgico na memória emocional de camundongos expostos e reexpostos ao labirinto em cruz elevado**. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2009.
- GODFREY, K. M.; BARKER, J. K. Fetal Nutrition and adult disease. **Am J Clin Nutr**, Bethesda. v. 71, p.1344S-52S, 2000.
- GONÇALVES, A. L. **Estudo duplo-cego, randomizado, controlado com placebo e amitriptilina 25 mg para avaliar a eficácia da melatonina no tratamento preventivo da enxaqueca**. São Paulo, 2009. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de São Paulo, 2009.
- GRAY, L. E. et al. Administration of potentially antiandrogenic pesticide (procymidone, linuron, iprodione, chlozolate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. **Toxicology Industrial Health**, London. v.15, p.94–118, 1999.

GRECO, G. M. Z. **Dieta hiperproteica na gestação de camundongos e seus efeitos na mãe e no desenvolvimento inicial de filhotes**. Minas Gerais, 2017. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, MG, 2016.

HADDEN, C. et al. Serotonin transporter protects the placental cells against apoptosis in caspase 3-independent pathway. **J Cell Physiol**, New York. v. 232, n. 12, p.3520-3529, 2017.

HAUGUEL-DE, M. S.; LEPERCQ J. Placental leptin and pregnancy pathologies. **Gynecol Obstet Fertil**, Paris. v. 29, n. 7, p.534-537, 2001.

HENEGHAN, A. M. et al. Depressive Symptoms in Inner-city Mothers of Young Children: Who Is at Risk. **Pediatrics**, Elk Grove Village. v. 102, n. 6, p.1394-400, 1998.

HORWITZ S. M. et al. Prevalence, Correlates, and Persistence of Maternal Depression. **Journal of women's health**, Larchmont. v. 16, n. 7, p. 678-691. 2007.

IBIAPINA, F. L. P.; et al. Depressão pós-parto: tratamento baseado em evidências. **Rev. Feminina**, Florianópolis, v. 38, n. 3, p.161-5. 2010.

JAEGER, I. M. S. **Aspectos Morfológicos E Imunohistoquímico Da Dentinogênese E Pulpogênese Em Prole De Ratas Tratadas Com Fluoxetina Durante A Gestação E Lactação**. Pernambuco, 2015. Tese (Doutorado em Odontologia) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, PE, 2015.

JOCA, S. R.; PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Stress, depression and the hippocampus. **Rev Bras Psiquiatr**, São Paulo. v. 25, p.46-51, 2003.

JOHN, R. M. Epigenetic regulation of placental endocrine lineages and complications of pregnancy. **Biochemical Society Transactions**, London. v. 41, n. 3, p.701-709, 2013.

KAISER, S. et al. Reduced Gene Dosage of Tfap2c Impairs Trophoblast Lineage Differentiation and Alters Maternal Blood Spaces in the Mouse Placenta. **Biology of Reproduction**, New York. v. 93, n. 2, p.1-13, 2015.

KALLEN, B. A.; OLAUSSON, P. O. Maternal use of selective serotonin re-uptake inhibitors in early pregnancy and infant congenital malformations. **Birth Defects Rev Clin Mol Teratol**. Hoboken. v. 79, p.301-308, 2007.

KANAI-AZUMA, M. et al. Giant-cell transformation of trophoblast cells in mice. **Endocrine Journal**, Kyoto. v. 41, p.33-41, 1994.

KIRYNOVA, V. et al. Effects of maternal stress and perinatal fluoxetine exposure on behavioral outcomes of adults male offspring. **Neuroscience**, New York. v. 320, p.281-296. 2016.

KREBS, C. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. **Am J Obstet Gynecol**. New York, v. 175, n. 6, p.1534-42, 1996.

LANGBEIN, M. et al. Impaired cytotrophoblast cell-cell fusion is associated with reduced Syncytin and increased apoptosis in patients with placental dysfunction. **Mol Reprod Dev**, Hoboken. v. 75, n.1, p.175-83, 2008.

LAPPAS, M. et al. Release and regulation of leptin, resistin and adiponectin from human placenta, fetal membranes, and maternal adipose tissue and skeletal muscle from normal and gestational diabetes mellitus-complicated pregnancies. **J Endocrinol**, Bristol. v. 186, n. 3, p.457-465, 2005.

LARENT, L. et al. Human placenta expresses both peripheral and neuronal isoform of tryptophan hydroxylase. **Biochimie**, Paris. v. 140, p.159-165, 2017.

LEE, P. et al. A critical appraisal of the prevalence and metabolic significance of brown adipose tissue in adult humans. **Am J Physiol Endocrinol**, Bethesda. v. 299, n. 4, p.601-606, 2010.

LEIBOWITZ, S. F. The role of serotonin in eating disorders. **Drugs**, Auckland. v. 39, n. 3, p.33-48, 1990.

LOHOFF, F. W., RICKELS, K. Desvenlafaxine succinate for the treatment of major depressive disorder. **Expert Opin. Pharmacother**, London. v. 9, n. 12, p. 2129-2136, 2008.

LOUIK, C. et al. First-trimester use of selective serotonin-reuptake inhibitors and the risk of birth defects. **N Engl J Med**, Boston. v. 356, p.2675-2683, 2007.

LUGER, R., ARNOLD, J. Pregnancy, Hypertension. **StatPearls**. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430839/>> Acesso em 09 abril 2014, 2017.

MALM, H. Prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitors and infant outcome. **Ther Drug Monit**, Hagerstown. v. 34, n. 6, p.607-14, 2012.

MANN, P. E. Finasteride delays the onset of maternal behavior in primigravid rats. **Physiology Behavior**, New York. v. 88, p.333-338, 2006.

MAREMMANI, I., et al. The effectiveness of the combination fluoxetine-naltrexone in buimia nervosa. **Eur Psychiatry**, Paris. v. 11, p.322-324, 1996.

MARROUN H. E. et al. Maternal Use of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, Fetal Growth, and Risk of Adverse Birth Outcomes. **Archgen psychiatry**, Chicago. v. 69, n. 7, p.706-14, 2012.

MATOS, J. A. B. **Aspectos Morfológicos do desenvolvimento do osso alveolar de filhotes de ratas tratadas com Fluoxetina durante a gestação**. Pernambuco, 2011. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. 2011

MEEK, L. R.; et al, Effects of stress during pregnancy on maternal behavior in mice. **Physiology e behavior**, New York. v. 72, n. 4, p.473-479, 2001.

MENARD, J.; TREIT, D. Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal modelo f anxiety. **Neuroscience Biobehavior Reviews**, New York. v. 23, p.591-613, 1999.

MIRANDA-SCIPPA, A. M. A.; OLIVEIRA, I. R. Antidepressivos, In: SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 36, p. 328-344.

MISRI, S.; SIVERTZ, K. Tricyclic drugs in pregnancy and Lactation: a preliminary report. **J Psychiatry in medicine**, Los Angeles. v. 21, n. 2, p.157-171, 1991.

MODELL, J. et al. Comparative sexual side effects of bupropion, fluoxetine, paroxetine and sertraline. **Clin Pharmacol Ther**, Hoboken. v. 61, n. 4, p.476–487, 1997.

MOGHADAM, Z. B. et al. The effect of Valerian root extract on the severity of premenstrual syndrome symptoms. **J Tradit Complement Med**, Amsterdam. v. 6, n. 3, p.309-315. 2016.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev. Bras. Psiquiatria**. Rio de Janeiro, v. 21, p.24-40. 1999.

MOREIRA, C. C. L.; FARIA, M. J. S. S.; MOREIRA, C. Q. Avaliação da toxicidade e da teratogenicidade do femproporex em fetos de camundongos provenientes de pais expostos à droga durante a vida intra-uterina. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. Londrina, v.28, n.2, p.73-80, 2007.

NADAL-VICENS, M.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central, In: GOLAN, D. E. **Princípios de Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Cap. 13, p.186-202.

NEVES, S. M. P.; FILHO, J. M.; MENEZES, E. W. Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. São Paulo, 2013.

NOGUEIRA, R. G. B. et al. Síndrome do QT longo. **Estudo Biolog**, Curitiba. v.32, p.105-110, 2010.

NORBY, U. et al. Neonatal Morbidity After Maternal Use of Antidepressant Drugs During Pregnancy. **Pediatrics**, Elk Grove Village. v. 138, n.5. p. 1-12, 2016.

NUMANN, M. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. **Pediatric Supplement**, Oslo. v. 397, p 19-28, 1994.

O'DONNELL, J. M. E.; SHELTON, R. C. Drug therapy of depression and anxiety disorders. In: Brunton, L. L. (Ed.). Goodman e Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12ª edição. China, McGraw-Hill Medical, p. 397-416. 2011.

OSÓRIO DE CASTRO, C. G. S; PAUMGARTTEN, F. J. R. SILVER, L. D. O uso de medicamentos na gravidez. **Ciência e Saúde Coletiva**. Manguinhos, v. 9, n. 4, p. 987-996, 2004.

PALMSTEN, K. et al. Antidepressant use and risk for preeclampsia. **Epidemiology**, Hagerstown. v. 24, n. 5, p. 682-691, 2013.

PAWLUSKI, J. L. et al. Developmental fluoxetine exposure differentially alters central and peripheral measures of the HPA system in adolescent male and female offspring. **Neuroscience**, New York. v. 220. p.131-141, 2012.

PÉREZ-PÉREZ, A. et al. Insulin enhances leptin expression in human trophoblastic cells. **Biol Reprod**, New York. v.89, p. 1-8, 2013.

PÉREZ-PÉREZ, A. et al. Role of leptin in female reproduction. **Clin Chem Lab Med**, Berlin. v. 53, n.1, p.15-28, 2015.

PINHEIRO, I. L. et al. Neonatal fluoxetine exposure modulates serotonergic neurotransmission and disturbs inhibitory action of serotonin on food intake. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam. v. 343, p. 1-16, 2017.

PORSOLT, R. O.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Intern Pharm Ther**, Gent. v. 229, p.327-336, 1977.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam. v. 463, p.3-33, 2003.

POST, R. M. Transduction of Psychosocial Stress Into the Neurobiology of Recurrent Affective Disorder. **Am J Psychiatry**, Arlington. v. 149, n. 8. 1992.

RAMOS, W. L. Análise Do Uso De Medicamentos Durante A Gestação Em Mães De Pacientes Portadores De Malformações Fetais. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 1, n. 1, p.59-64, 2008.

RAYEN, I. et al. Fluoxetine during Development Reverses the Effects of Prenatal Stress on Depressive-Like Behavior and Hippocampal Neurogenesis in Adolescence. **Plos one**. San Francisco, v. 6, n. 9. 2011.

REDMAN, C. W.; Sargent, I. L. Latest Advances in Understanding Preeclampsia. **Science**, Washington, v. 308, p.1592-1594, 2005.

REGUEIRA, L. S. **Efeitos Da Fluoxetina Na Periodontogênese: Análise Histológica E Histomorfométrica Em Ratos**. Pernambuco, 2015. Dissertação (Mestrado em Clínica Integrada) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, PE, 2015.

REGNAUT, T. R. et al. Placental development in normal and compromised pregnancies- a review. **Placenta**, London. v. 23, p.119-129, 2002.

SALARI, A. A., et al. Fluoxetine normalizes the effects of prenatal maternal stress on depression- and anxiety-like behaviors in mouse dams and male offspring. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam. v. 311 p.354–367. 2016

SARR, O.; YANG, K.; REGNAULT, T. R. H. In utero programming of later adiposity: the role of fetal growth restriction. **Jornal of Pregnancy**, Cairo. v. 2012, p. 10. 2012.

SCHILLING, C. et al. Leptin Plasma Concentrations Increase During Antidepressant Treatment With Amitriptyline and Mirtazapine, But Not Paroxetine and Venlafaxine. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, Baltimore. v. 33, n. 1, p.99-103, 2013.

SEABROOK, J. L. et al. Role of LIN28A in mouse and human trophoblast cell differentiation. **Biol. Reprod**, New York. v. 89, n. 4, p.1-13, 2013.

SERRETI, A.; MANDELI, L. Antidepressants and body weight: a comprehensive review and meta-analysis. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, Baltimore. v. 71, n. 10, p.1259-1272, 2010.

SILVA, D. S. D, et al. Depression and suicide risk among nursing professionals: an integrative review. **Rev. esc. enferm**. São Paulo, v. 49 n.6. 2015.

SILVEIRA, P. P. et al. Developmental origins of health and disease (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre. v. 83, n. 6, p.499-504, 2007.

SIMMONS, R. A. Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. **Free radical biology and medicine**, Tarrytown. v. 26, p.701–708, 2012.

SLATTERY, D. A.; HUDSON, A. L.; NUTT, D. J. Invited review: the evolution of antidepressant mechanisms. **Fundamental Clinical Pharmacology**, Oxford. v. 18, p.124, 2004

SMITH, J. W. et al. Gestational stress induces post-partum depression-like behaviour and alters maternal care in rats. **Psycho neuro endocrinology**, Oxford. v. 29, n. 2, p.227-44, 2004

TAGHAVI, E. Premenstrual syndrome in three generations responds to antidepressants. **Aust N Z J Psychiatry**, London. v. 24, n. 2, p.276-279, 1990.

TAKAHASHI, N.; WAELPUT, W.; GUISEZ, Y. Leptin Is an Endogenous Protective Protein against the Toxicity Exerted by Tumor Necrosis Factor. **Jornal of Experimental Medicine**, New York, v. 189, p. 207-212, 1999.

TIMBY, E. et al. Allopregnanolone, a GABAA receptor agonist, decreases gonadotropin levels in women. A preliminary study. **Gynecological Endocrinology**, London. v. 27, n. 12, p.1087-1093, 2011.

UZUNOVA, V. et al. Chronic antidepressants reverse cerebrocortical allopregnanolone decline in the olfactory-bulbectomized rat. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam. v. 486, n. 1, p.31-34. 2004.

VANDENBERGH, J. G. HUGGETT, C. L. THE anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice. **Laboratory Animal Science**. Antuérpia, v. 45, p. 567–573, 1995.

VERONESI, V. B. **Influência da dipirona sódica sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas lactantes e a repercussão nos filhotes adolescentes**. Minas Gerais, 2016. 86f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, MG, 2016.

VERONESI, V. B., et al. Maternal dipyrone treatment during lactation in mice reduces maternal behavior and increases anxiety-like behavior in offspring. **Internatioal Jornal Developmental Neuroscience**, Oxford. v. 58, p.74-81, 2017.

VILELA, F. C. **Endocanabinóides Modulam Os Efeitos Inibitórios Dos Glicocorticóides Sobre As Respostas Neuroendócrinas E Comportamentais Durante A Lactação**. Minas Gerais, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Alfenas-MG, 2011.

VOGT, D. et al. The role of early adversity and recent life stress in depression severity in outpatient sample. **Journal of Psychiatric Research**, Oxford. v. 83, p.61-70, 2016.

WATSON, E. D.; CROSS, J. C. Developmental of structures and transport functions in the mouse placenta. **Physiology**, Bethesda. v. 20, p.180-193, 2005.

YI, Y. H. et al. Effects of Rapamycin on Clinical Manifestations and Blood Lipid Parameters in Different Preeclampsia-like Mouse Models. **Chin Med J (Engl)**, Beijing. v. 130, n. 9, p.1033-1041, 2017.

YOUNG, B. C., LEVINE, R. J. KARUMANCHI, S. A. Pathogenesis of Preeclampsia. **Rev. Pathol. Mech. Dis**, Palo Alto. v. 5, p.173-92, 2010.

ZAVAN, B. **Aspectos Morfofisiológicos E Comportamentais Após Inflamação Induzida Por LPS Durante A Gestação De Camundongos**. Minas Gerais, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Sociedade Brasileira de Fisiologia, Universidade Federal de Alfenas, MG, 2011.

## ANEXOS

## Anexo A – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA-UNIFAL)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
 Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG  
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-000  
 Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNIFAL



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Uso da amitriptilina durante a fase reprodutiva e na prenhez de camundongos e seus efeitos no desenvolvimento da prole", registrada com o nº 49/2016, sob a responsabilidade de Andréa Mollica do Amarante Paffaro, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS em 30/01/2017.

Finalidade	( ) Ensino ( X ) Pesquisa científica
Vigência da autorização	De 31/01/2017 a 01/03/2018
Espécie/linhagem/raça	Camundongo Swiss / heterogênico
Nº de animais	65
Sexo	8 Machos/ 57 Fêmeas
Origem	Biotério Central da UNIFAL

Alfenas, 31 de Janeiro de 2017.

  
 Prof. Dr. Leonardo Augusto de Almeida  
 Coordenador - CEUA-UNIFAL

Anexo B – Bula do Medicamento Cloridrato de Amitriptilina



# **CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA**

**Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A.**

**Comprimido**

**25mg**

**I - IDENTIFICAÇÃO DO MEDICAMENTO:****CLORIDRATO DE AMITRIPTILINA****Medicamento genérico Lei nº 9.787, de 1999****APRESENTAÇÃO**

Embalagem com 20 comprimidos de 25mg.

**VIA DE ADMINISTRAÇÃO: ORAL****USO ADULTO E PEDIÁTRICO ACIMA DE 11 ANOS****COMPOSIÇÃO**

Cada comprimido contém:

cloridrato de amitriptilina..... 25mg

excipiente q.s.p.....1 comprimido

(celulose microcristalina, amidoglicolato de sódio, dióxido de silício, fosfato de cálcio dibásico, corante laca amarelo FD&amp;C N° 05, estearato de magnésio)



## II - INFORMAÇÕES TÉCNICAS AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE:

### 1. INDICAÇÕES

O cloridrato de amitriptilina é recomendado para o tratamento da depressão em suas diversas formas e enurese noturna, na qual as causas orgânicas foram excluídas.

### 2. RESULTADOS DE EFICÁCIA

A eficácia da amitriptilina no tratamento da depressão tem sido demonstrada e comprovada por inúmeros estudos clínicos, sendo que, mesmo com a vinda de novos antidepressivos não tricíclicos, mantêm-se os índices de eficácia terapêutica e uso.

Além do tratamento da depressão, a amitriptilina tem sido administrada de forma eficaz em outras situações clínicas, como a enurese noturna.

Foi realizado um estudo terapêutico de amitriptilina *versus* placebo no tratamento de enurese noturna em 83 crianças na faixa etária de 5 a 15 anos, onde foi relatado que a taxa de cura total com o fármaco variou de 28,8% após um período de seis semanas de tratamento e no final de seis meses obteve-se a taxa de 68,89% a 53,3%, respectivamente 1.

Mishra PC et cols. Therapeutic trial of amitryptiline in the treatment of nocturnal enuresis – a controlled study. Indian Pediatrics 1980; 17 (3): 279-85.

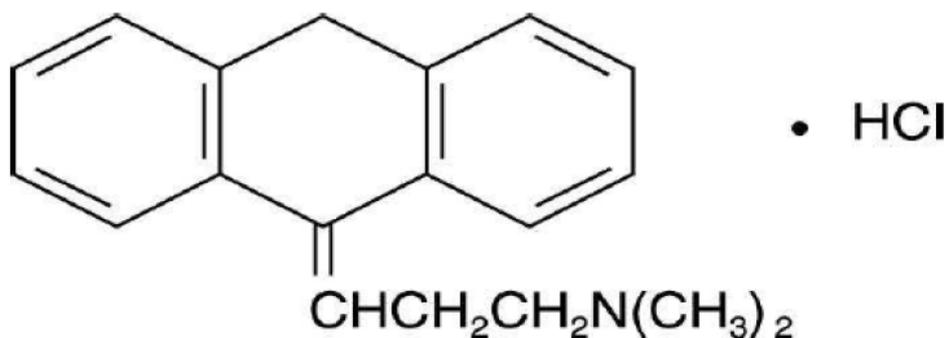
Em estudo duplo-cego com a amitriptilina em crianças com enurese, concluiu-se que a amitriptilina é bem utilizada para esta indicação. Pelo fato dos pacientes não terem completado o ciclo todo, a resposta do estudo foi expressa em número das noites sem enurese, semanalmente por um período de tratamento. O resultado do grupo da amitriptilina foi de 4,67 comparado com 3,51 do grupo placebo. Esta diferença foi altamente significativa ( $p < 0,001$ ) 2.

Lines DR. A double-blind trial of amitryptiline in enuretic children. The Medical Journal of Australia 1968; 2 (7): 307-8.

### 3. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS

O cloridrato de amitriptilina é quimicamente definido como cloridrato de 3-10,11-diidro-5-H-dibenzo [a,d] ciclohepteno-5-ilideno)-N,N-dimetil-1-propanamina. Trata-se de um composto branco cristalino, facilmente solúvel em água, cujo peso molecular é 313,87.

A fórmula empírica é  $C_{20}H_{23}N.HCl$  e a fórmula estrutural é:



#### Farmacologia

A amitriptilina inibe o mecanismo de bomba da membrana responsável pela captação da norepinefrina e serotonina nos neurônios adrenérgicos e serotonérgicos. Farmacologicamente, essa atividade pode potencializar ou prolongar a atividade neural, uma vez que a recaptção dessas aminas biogênicas é fisiologicamente importante para suprir suas ações transmissoras. Alguns acreditam que essa interferência na recaptção da norepinefrina e/ou serotonina é a base da atividade antidepressiva da amitriptilina.

#### Propriedades farmacocinéticas

A amitriptilina é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e as concentrações plasmáticas atingem ápice dentro de 6 horas após a dose oral.

#### Metabolismo



A amitriptilina sofre intenso metabolismo de primeira passagem, e é desmetilada no fígado pelas isoenzimas do citocromo P450 (CYP3A4, CYP2C9, E CYP2D6), em seu metabólito primário, nortriptilina. Outras vias de metabolização da amitriptilina incluem a hidroxilação pela CYP2D6 e a N-oxidação; a nortriptilina segue vias similares. A amitriptilina é excretada na urina, principalmente sob a forma de seus metabólitos, livres ou em forma conjugada. A amitriptilina e a nortriptilina são amplamente distribuídas por todo o corpo e são extensivamente ligadas às proteínas do plasma e teciduais. A variação da meia-vida de eliminação da amitriptilina foi estimada em cerca de 9 a 25 horas, que pode ser consideravelmente estendida em caso de sobredosagem. As concentrações plasmáticas de amitriptilina e nortriptilina podem variar amplamente entre os indivíduos e nenhuma correlação simples com uma resposta terapêutica foi estabelecida.

#### **Eliminação**

Em torno de 50 a 66% do medicamento é excretado na urina dentro de 24 horas como glicuronídeo ou sulfato conjugado de metabólitos. Uma pequena quantidade de fármaco não alterado é excretado na urina.

#### **4. CONTRAINDICAÇÕES**

A amitriptilina é contraindicada para pacientes que mostraram hipersensibilidade anterior à substância. Não deve ser ministrada simultaneamente com um inibidor da monoaminoxidase, haja vista que têm ocorrido crises hiperpiréticas, convulsões graves e mortes em pacientes que receberam antidepressivos tricíclicos e medicamentos inibidores da monoaminoxidase concomitantemente.

Quando se deseja substituir um inibidor da monoaminoxidase (IMAO) pela amitriptilina, deve-se esperar um mínimo de quatorze dias depois do IMAO ter sido interrompido. A amitriptilina deve, então, ser iniciada cautelosamente e a posologia aumentada gradativamente até ser obtida uma resposta ideal.

A amitriptilina é contraindicada para pacientes que recebem cisaprida por causa da possibilidade de reações adversas cardíacas, inclusive prolongação do intervalo QT, arritmias cardíacas e distúrbios do sistema de condução.

Este medicamento não é recomendado para uso durante a fase de recuperação aguda após infarto do miocárdio.

Veja Gravidez em advertências.

#### **5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES**

##### **Gerais**

A amitriptilina deve ser usada com cautela em pacientes com histórico de convulsão, função hepática comprometida, histórico de retenção urinária (em virtude de sua ação atropínica) ou naqueles com glaucoma de ângulo estreito ou pressão intraocular aumentada. Em pacientes com glaucoma de ângulo estreito, mesmo doses médias podem precipitar uma crise.

Foi relatada a ocorrência de um caso de arritmia fatal em um período de até 56 horas após a administração de uma superdose de amitriptilina.

Se possível, interrompa o medicamento vários dias antes das intervenções cirúrgicas não urgentes. Pacientes em uso de antidepressivos tricíclicos estão sob risco de desenvolver hipotensão ou arritmias cardíacas durante a anestesia. Podem, inclusive, potencializar os efeitos de drogas vasopressoras, que podem ser necessárias durante o procedimento.

Cautela em pacientes usuários de lentes de contato, visto que há reportes associando o uso da amitriptilina e redução do fluxo lacrimal, que pode ser suficiente para causar ressecamento da córnea.

A amitriptilina é considerada insegura para uso por pacientes portadores de porfiria (associação com crises de porfiria).

Hiperpirexia tem sido relatada quando antidepressivos tricíclicos são administrados com agentes anticolinérgicos ou medicações neurolépticas, particularmente durante o calor.

O medicamento pode comprometer o estado de alerta em alguns pacientes; por isso, deve-se evitar dirigir automóveis e fazer outras atividades cujo risco aumenta pela diminuição do estado de alerta.

##### **Doenças Cardiovasculares**

Os pacientes com distúrbios cardiovasculares devem ser observados atentamente. Os antidepressivos tricíclicos (inclusive o cloridrato de amitriptilina) têm mostrado produzir arritmia, taquicardia sinusal e prolongamento do tempo de condução, particularmente quando ministrados em doses altas. Têm sido relatados infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral com medicamentos desta classe.



#### **Doenças Endócrinas**

É necessária observação constante quando a amitriptilina é ministrada a pacientes hipertireoideanos ou que recebem medicação tireoideana.

É recomendada cautela em pacientes portadores de Diabetes Mellitus. Os antidepressivos tricíclicos podem causar alterações na glicemia. A amitriptilina, em especial, tem sido relacionada a não percepção da hipoglicemia.

#### **Doenças do Sistema Nervoso Central**

A possibilidade de suicídio nos pacientes deprimidos permanece durante o tratamento; por essa razão, os pacientes não deverão ter acesso a grandes quantidades do medicamento durante o tratamento.

Quando o cloridrato de amitriptilina é usado para tratar o componente depressivo da esquizofrenia, os sintomas psicóticos podem ser agravados. Da mesma forma, na psicose maniaco-depressiva, os pacientes deprimidos podem apresentar uma mudança para a fase maníaca. Nesses casos, delírios paranóides, com ou sem hostilidade associada, podem ser exacerbados. Em quaisquer dessas circunstâncias, pode ser aconselhável reduzir a dose da amitriptilina ou usar um antipsicótico simultaneamente.

#### **Gravidez**

##### **Categoria de risco C**

Não há estudos bem controlados em mulheres grávidas; portanto, ao administrar a medicação as pacientes grávidas ou mulheres que podem engravidar, os possíveis benefícios devem ser confrontados contra os eventuais riscos para a mãe e a criança.

**Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.**

#### **Amamentação**

A amitriptilina é detectável no leite materno. Em razão do potencial para reações adversas graves causadas pela amitriptilina em crianças, deve-se decidir entre descontinuar o medicamento ou a amamentação.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica. Informe imediatamente seu médico em caso de suspeita de gravidez.

#### **Uso em Idosos, Crianças e Outros Grupos de Risco**

**Uso Pediátrico:** em vista da falta de experiência com o uso desta substância no tratamento da depressão em crianças, o seu uso não é recomendado para pacientes deprimidos com menos de 12 anos de idade.

**Uso em Idosos:** em geral, recomendam-se as posologias mais baixas para estes pacientes. Para adolescentes e pacientes idosos que podem não tolerar doses mais altas, 50mg por dia podem ser satisfatórios. A dose diária necessária pode ser administrada em doses divididas ou como uma única dose.

**Atenção:** Este produto contém o corante amarelo de TARTRAZINA que pode causar reações de natureza alérgica, entre as quais asma brônquica, especialmente em pessoas alérgicas ao ácido acetilsalicílico.

#### **6. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS**

**Outros Antidepressivos:** a potência de cloridrato de amitriptilina é tal que a adição de outros medicamentos antidepressivos ao seu esquema geralmente não resulta qualquer benefício terapêutico adicional; ao contrário, têm sido relatadas reações indesejáveis após o uso combinado de antidepressivos com outros mecanismos de ação. Consequentemente, o uso combinado de cloridrato de amitriptilina com outros antidepressivos deveria ser realizado somente com o devido reconhecimento da possibilidade de potencialização e com amplos conhecimentos acerca da farmacologia desses medicamentos. Não há indícios de eventos adversos quando os pacientes que recebiam cloridrato de amitriptilina mudaram seu tratamento imediatamente para protriptilina ou vice-versa.

**Guanetidina:** a amitriptilina pode bloquear a ação anti-hipertensiva da guanetidina ou de compostos de ação similar.

**Agentes Anticolinérgicos/Simpatomiméticos:** quando a amitriptilina é administrada concomitantemente com agentes anticolinérgicos ou simpatomiméticos, incluindo epinefrina combinada com anestésico local, são necessários supervisão próxima e cuidadoso ajuste na posologia. Pode ocorrer íleo paralítico em pacientes que tomam antidepressivos tricíclicos em combinação com medicamentos anticolinérgicos.



Depressores do Sistema Nervoso Central: a amitriptilina pode aumentar a resposta ao álcool e os efeitos dos barbitúricos e de outros depressores do SNC. É aconselhável precaução se o paciente receber concomitantemente grande dose de etclorvinol, haja vista que foi relatado delírio transitório em pacientes que foram tratados com 1g de etclorvinol e 75-150mg de amitriptilina.

Dissulfiram: foi relatado delírio após administração concomitante de amitriptilina e dissulfiram.

Terapia por Eletrochoque: a administração concomitante de amitriptilina e terapia por eletrochoque pode aumentar os danos da terapia; por isso, este tratamento deverá ser limitado aos pacientes para os quais seja essencial.

Analgésicos: os antidepressivos tricíclicos podem aumentar o risco de tontura em pacientes que recebem tramadol.

Medicamento Metabolizado pelo Citocromo P450 2D6: o uso concomitante de antidepressivos tricíclicos com substâncias que podem inibir o citocromo P450 2D6 (por exemplo: quinidina, cimetidina) e aquelas que são substratos para P450 2D6 (vários outros antidepressivos, fenotiazinas e os antiarrítmicos Tipo 1C propafenona e flecainida) pode requerer doses mais baixas que a normalmente prescrita para qualquer antidepressivo tricíclico ou outro medicamento. Sempre que uma dessas outras medicações é retirada da terapia combinada, pode ser necessário o aumento da dose do antidepressivo tricíclico. Apesar de todos os inibidores seletivos de recaptção da serotonina (SSRIs), tais como a fluoxetina, a sertralina e a paroxetina inibirem o citocromo P450 2D6, o grau de inibição pode variar.

Síndrome da serotonina: a “síndrome da serotonina” (alterações de cognição, comportamento, função do sistema nervoso autônomo e atividade neuromuscular) foi relatada quando a amitriptilina foi administrada concomitantemente com outras substâncias que aumentam a serotonina.

Pacientes em tratamento com o medicamento não devem ingerir bebidas alcoólicas, pois pode ocorrer potencialização dos efeitos do álcool.

## 7. CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO DO MEDICAMENTO

Conservar em temperatura ambiente (entre 15 e 30° C). Proteger da luz e umidade.

Validade do medicamento: 24 meses, impressa na embalagem. Não utilize medicamento vencido.

**Número de lote, data de fabricação e validade: vide embalagem.**

**Não use medicamento com o prazo de validade vencido. Guarde-o em sua embalagem original.**

Características físicas e organolépticas: cloridrato de amitriptilina 25mg é um comprimido circular, semiabaulado e amarelo.

**Antes de usar, observar o aspecto do medicamento.**

**Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance das crianças.**

## 8. POSOLOGIA E MODO DE USAR

Considerações posológicas: deve-se administrar uma dose baixa no início do tratamento e aumentá-la gradualmente, observando cuidadosamente a resposta clínica e qualquer indício de intolerância.

### Depressão

Dose Inicial para Adultos em Ambulatório: 75mg/dia em doses fracionadas podendo ser aumentada até 150mg/dia. Os aumentos são feitos, de preferência, nas doses do início da noite e/ou na hora de deitar. O efeito sedativo é, em geral, manifestado rapidamente e a atividade antidepressiva aparece dentro de 3 a 4 dias, podendo levar até 30 dias para desenvolver-se totalmente. Um método alternativo pode ser o de iniciar o tratamento com 50 a 100mg à noite, ao deitar-se, podendo, esta dose, ser aumentada de 25 a 50mg por noite até 150mg/dia.

Dose de Manutenção para Adultos em Ambulatório: 50 a 100mg/dia, de preferência à noite em uma única dose diária. Alcançada a melhora, reduzir até a mínima dose necessária. É apropriado continuar a terapia de manutenção por três meses ou mais para reduzir a possibilidade de recidiva.

Dose para Pacientes Hospitalizados: início de 100mg/dia, gradualmente aumentados segundo a necessidade até 200mg/dia. Alguns pacientes necessitam de 300mg/dia.

Dose para Adolescentes e Idosos: Estes grupos de pacientes geralmente apresentam tolerância reduzida aos antidepressivos tricíclicos e, por isso, doses de 10 a 50mg diárias de amitriptilina podem ser mais



adequadas, administradas de forma fracionada ou em dose única diária, preferencialmente ao dormir. Metade da dose usual de manutenção geralmente é suficiente.

Uso em crianças: em razão da falta de experiência com este medicamento na terapia da depressão infantil, não se recomenda o uso para tratamento da depressão em crianças menores de 12 anos.

#### **Enurese Noturna**

Doses de 10mg a 20mg ao deitar, para crianças de 6 a 10 anos e de 25 a 50mg ao deitar para crianças a partir de 11 anos. A maioria dos pacientes responde nos primeiros dias de terapia, e nesses pacientes a melhora tende ser contínua e crescente no decorrer do período de tratamento. O tratamento contínuo geralmente é requerido para manter a resposta até ser estabelecido o controle.

As doses de cloridrato de amitriptilina recomendadas para o tratamento da enurese são baixas se comparadas com aquelas usadas no tratamento da depressão. Os ajustes posológicos devem ser feitos pelo médico de acordo com a resposta clínica do paciente.

#### **Níveis Plasmáticos**

Em virtude da ampla variação na absorção e na distribuição dos antidepressivos tricíclicos nos líquidos orgânicos, é difícil correlacionar diretamente os níveis plasmáticos e o efeito terapêutico. Entretanto, a determinação dos níveis plasmáticos pode ser útil na identificação de pacientes que apresentam efeitos tóxicos e podem ter níveis excessivamente altos, ou nos pacientes em que se suspeita falta de absorção ou não adesão ao tratamento. Os ajustes posológicos devem ser feitos de acordo com a resposta clínica do paciente e não com base nos níveis plasmáticos.

### **9. REAÇÕES ADVERSAS**

**Reações comuns** (> 1/100 e < 1/10): Xerostomia, sonolência, tontura, alteração do paladar, ganho de peso, aumento do apetite, cefaleia.

**Reações incomuns** (> 1/1.000 e < 1/100): Sintomas de Parkinson, visão turva, bradicardia, arritmia, hipotensão, impotência sexual, alucinações, tremores involuntários, micção dolorosa ou difícil, nervosismo, confusão, problemas sexuais, lentificação do trânsito intestinal, insônia, transpiração, vômitos, azia, diarreia.

**Reações raras** (> 1/10.000 e < 1.000): (todas de intensidade grave).

Síndrome serotoninérgica, zumbido, infarto do miocárdio, bloqueio cardíaco, sinais elétricos cardíacos anormais, prolongamento do intervalo QT no ECG, acidente vascular encefálico, edema testicular, aumento dos seios, descarga mamilar em mulheres não lactantes e em homens, fotosensibilidade, alergia cutânea, prurido intenso, queda de cabelos, concussão, hiperbilirrubinemia, urticária, síndrome da secreção inadequada de hormônio antidiurético, agranulocitose, distúrbios sanguíneos, ansiedade, ideação suicida, hipertensão arterial, taquicardia e palpitação.

Frequência das Reações adversas	
> 1/10 (>10%)	muito comum
> 1/100 e < 1/10 (> 1% e < 10%)	comum (frequente)
> 1/1.000 e < 1/100 (> 0,1% e < 1%)	Incomum (infrequente)
> 1/10.000 e < 1.000 (> 0,01% e < 0,1%)	rara
< 1/10.000 (< 0,01%)	muito rara

**Nota:** foram incluídas na relação que se segue algumas reações adversas que não foram relacionadas com esta substância específica; entretanto, as similaridades farmacológicas entre os antidepressivos tricíclicos requerem que cada uma dessas reações seja considerada quando a amitriptilina é administrada.

**Cardiovasculares:** hipotensão, síncope, hipertensão, taquicardia, palpitação, infarto do miocárdio, arritmias, bloqueio cardíaco, acidente vascular cerebral, alterações não específicas no ECG e alterações na condução AV.

**Relacionadas ao SNC e Neuromusculares:** estados confusionais, distúrbios de concentração, desorientação, delírios, alucinações, excitação, ansiedade, inquietação, sonolência, insônia, pesadelos, torpor, formigamento e parestesias das extremidades, neuropatia. Sintomas Causados pela Interrupção do medicamento: a interrupção abrupta do tratamento após administração prolongada pode produzir náusea, cefaléia e mal-estar. Observou-se que a redução gradual da posologia em duas semanas produz sintomas



transitórios que compreendem irritabilidade, inquietação e distúrbios do sono e dos sonhos; esses sintomas não são indicativos de dependência. Raros casos de mania ou hipomania foram relatados entre 2 a 7 dias após a interrupção da terapia crônica com os antidepressivos tricíclicos.

**Na Enurese:** as doses de cloridrato de amitriptilina recomendadas para o tratamento da enurese são baixas se comparadas com as que são utilizadas no tratamento da depressão, mesmo considerando as diferenças de idade e de peso. Conseqüentemente, as reações adversas são ainda menos frequentes do que as observadas quando se utiliza o medicamento no tratamento da depressão. Quando ocorrem, as mais comuns são:

1. Sonolência - É improvável constituir desvantagem quando o medicamento é tomado ao deitar (nesse caso, na verdade, pode ser vantajoso).

2. Efeitos Anticolinérgicos - Também pode ser vantajoso, pois há muito tempo os anticolinérgicos são utilizados no tratamento da enurese.

As únicas outras reações adversas relatadas com as doses de cloridrato de amitriptilina recomendadas para enurese têm sido sudorese e prurido moderados; estas, no entanto, têm ocorrido com pouca frequência.

Relação Causal Desconhecida: as seguintes reações adversas adicionais estão sendo reportadas; porém, a relação causal da terapia com a amitriptilina não tem sido estabelecida:

Organismo como um todo: síndrome tipo lúpus (artrite migratória, ANA positivo e fator reumatoide).

periférica, falta de coordenação, ataxia, tremores, coma, tonturas, alteração dos traçados do EEG, sintomas extrapiramidais (incluindo movimentos involuntários anormais e discinesia tardia), disartria e zumbidos.

**Anticolinérgicas:** secura na boca, turvação visual, midríase, distúrbios da acomodação, aumento da pressão intra-ocular, constipação, íleo paralítico, hiperpirexia, retenção urinária, dilatação do trato urinário.

**Alérgicas:** erupção cutânea, prurido, urticárias, fotos sensibilização, edema da face e da língua.

**Hematológicas:** depressão da medula óssea (incluindo agranulocitose, leucopenia, eosinofilia, púrpura, trombocitopenia).

**Gastrointestinais:** náusea, desconforto epigástrico, vômitos, anorexia, estomatite, alteração do paladar, diarreia, tumefação da parótida, língua negra e, raramente, hepatite (inclusive disfunção hepática e icterícia).

**Endócrinas:** aumento ou diminuição da libido, elevação ou redução dos níveis da glicemia e síndrome da secreção inapropriada do ADH (hormônio antidiurético). Ainda no homem: tumefação testicular, ginecomastia e impotência; e na mulher: aumento das mamas e galactorréia;

**Outras:** tontura, fraqueza, fadiga, cefaléia, aumento ou perda de peso, edema, aumento da transpiração e da frequência urinária e alopecia.

**Em casos de eventos adversos, notifique ao sistema de Notificação em Vigilância Sanitária NOTIVISA, disponível em [www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm) ou para a Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal.**

## 10. SUPERDOSE

Podem ocorrer mortes por superdose com essa classe medicamentosa. A ingestão de mais de uma medicação (incluindo álcool) é comum em superdose deliberada de antidepressivo tricíclico. Como o tratamento da superdose é complexo e variado, é recomendado que o médico contate um centro de controle toxicológico para obter informação atualizada sobre o tratamento mais adequado. Os sinais e sintomas de toxicidade desenvolvem-se rapidamente depois da superdose com um antidepressivo tricíclico; portanto, é necessário monitoramento hospitalar o mais rápido possível.

### Manifestações

As manifestações críticas de superdose incluem: arritmias cardíacas, hipotensão grave, convulsões e depressão do SNC, inclusive coma. Alterações no eletrocardiograma, particularmente no eixo ou na duração do segmento QRS, são indicadores clinicamente significativos da toxicidade do antidepressivo tricíclico. Outros sinais de superdose podem incluir: confusão, distúrbio de concentração, alucinações visuais transitórias, dilatação das pupilas, agitação, hiperreflexia, estupor, sonolência, rigidez muscular, vômito, hipotermia, hiperpirexia ou quaisquer dos sintomas citados em Reações Adversas.

### Conduta

#### Geral

Obtenha um ECG e inicie imediatamente o monitoramento cardíaco. Proteja a via respiratória do paciente, estabeleça um acesso intravenoso e inicie a descontaminação gástrica. É necessário um mínimo



de seis horas de observação com monitoramento cardíaco e observação de sinais de depressão do SNC ou depressão respiratória, hipotensão, arritmias cardíacas e/ou bloqueios de condução e tonturas. Se ocorrerem sinais de toxicidade durante esse período, é necessário estender o monitoramento. Foram relatados casos de pacientes que sucumbem a arritmias fatais tardiamente após a superdose. Esses pacientes apresentaram evidência clínica de envenenamento significativo antes da morte e a maioria recebeu descontaminação gastrointestinal inadequada. O monitoramento do nível plasmático da medicação não deve determinar a conduta do tratamento do paciente.

#### **Descontaminação Gastrointestinal**

Todos os pacientes com suspeita de superdose de antidepressivo tricíclico devem ser submetidos a descontaminação gastrointestinal, que deve incluir grande volume de lavagem gástrica, seguido por carvão ativado. Se a consciência for alterada, a via respiratória deve ser protegida antes da lavagem. A êmese é contraindicada.

#### **Cardiovascular**

A duração máxima do segmento QRS de  $> 0,10$  segundos pode ser a melhor indicação da gravidade da superdose. Deve ser usado bicarbonato de sódio intravenosamente para manter o pH do soro entre 7,45 a 7,55. Se a resposta do pH for inadequada, também pode ser usada hiperventilação. O uso concomitante de hiperventilação e bicarbonato de sódio deve ser feito com extrema cautela, com freqüente monitoramento do pH. É indesejável um pH  $> 7,60$  ou uma  $pCO_2 < 20$  mmHg. As arritmias indiferentes à terapia com bicarbonato de sódio/hiperventilação podem responder à lidocaína, ao bretilium ou à fenitoína. Os antiarrítmicos tipo 1A e 1C são geralmente contraindicados (por exemplo: quinidina, disopirâmida e procainamida).

Em raros casos, a hemoperfusão pode ser benéfica em instabilidade cardiovascular refratária aguda em pacientes com intoxicação aguda. Porém, hemodiálise, diálise peritoneal, transfusão e diurese forçada geralmente foram relatadas como ineficazes no tratamento de envenenamento com antidepressivo tricíclico.

#### **SNC**

Em pacientes com depressão do SNC, intubação precoce é aconselhável em razão do potencial para deterioração abrupta. As convulsões devem ser controladas com benzodiazepinas ou, se estas forem ineficazes, outros anticonvulsivantes (por exemplo: fenobarbital, fenitoína). A fisostigmina não é recomendada, exceto para tratar sintomas de risco de vida que foram indiferentes a outras terapias, e somente deve ser realizada após consulta criteriosa a um centro de controle de toxicologia.

#### **Acompanhamento Psiquiátrico**

Considerando que a superdose é frequentemente premeditada, os pacientes podem tentar suicídio por outros meios durante a fase de recuperação. Orientação psiquiátrica pode ser conveniente.

#### **Conduta Pediátrica**

Os princípios da conduta de superdose de crianças e adultos são similares. É extremamente recomendado que o médico contate um centro de controle de toxicologia local para tratamento pediátrico específico.

**Em caso de intoxicação ligue para 0800 722 6001, se você precisar de mais orientações.**

**III – DIZERES LEGAIS:**

Registro M.S. nº 1.5584.0067

Farm. Responsável: Dr. Marco Aurélio Limirio G. Filho - CRF-GO nº 3.524

Nº do Lote, Data de Fabricação e Prazo de Validade: VIDE EMBALAGEM.

**VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA. SÓ PODE SER VENDIDO COM RETENÇÃO DA RECEITA.**



**Registrado por: Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A.**

VPR 3 - Quadra 2-C - Módulo 01-B - DAIA - Anápolis - GO - CEP 75132-015

C.N.P.J.: 05.161.069/0001-10 - Indústria Brasileira

**Fabricado por: Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A.**

VPR 1 - Quadra 2-A - Módulo 4 - DAIA - Anápolis - GO - CEP 75132-020



Anexo C – Bula do Medicamento Cloridrato de Fluoxetina



**Fluxene<sup>®</sup>**  
**(cloridrato de fluoxetina)**

Bula para profissional da saúde

Cápsula dura

20 mg



**Fluxene<sup>®</sup>**  
(cloridrato de fluoxetina)

“MEDICAMENTO SIMILAR EQUIVALENTE AO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA”

Cápsula dura

---

#### FORMA FARMACÉUTICA E APRESENTAÇÕES:

---

Embalagens com 14, 28 ou 60 cápsulas duras contendo 20 mg de fluoxetina.

#### USO ORAL

#### USO ADULTO ACIMA DE 18 ANOS

#### COMPOSIÇÃO:

Cada cápsula contém:

cloridrato de fluoxetina\* ..... 22,36 mg

Excipientes\*\* ..... q.s.p. 1 cápsula

\* Cada 22,36 mg de cloridrato de fluoxetina equivalem à 20 mg de fluoxetina base.

\*\*Excipientes: amido, celulose microcristalina, hipromelose.

---

#### INFORMAÇÕES TÉCNICAS AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE

---

#### 1. INDICAÇÕES

Fluxene<sup>®</sup> (cloridrato de fluoxetina) é indicado para o tratamento da depressão, associada ou não à ansiedade, da bulimia nervosa, do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) e do transtorno disfórico pré-menstrual (TDPM), incluindo tensão pré-menstrual (TPM), irritabilidade e disforia.

A eficácia de Fluxene<sup>®</sup> (cloridrato de fluoxetina) durante o uso no longo prazo (mais de 13 semanas no tratamento do transtorno obsessivo-compulsivo e mais de 16 semanas no tratamento da bulimia nervosa) não foi sistematicamente avaliada em estudos controlados com placebo. Portanto, o médico deve reavaliar periodicamente o uso de Fluxene<sup>®</sup> (cloridrato de fluoxetina) em tratamentos no longo prazo.

#### 2. RESULTADOS DE EFICÁCIA

##### Depressão

**Doses Diárias:** a eficácia de cloridrato de fluoxetina para o tratamento de pacientes com depressão ( $\geq 18$  anos) foi comprovada em estudos clínicos placebo-controlados de 5 e 6 semanas. O cloridrato de fluoxetina mostrou ser significativamente mais eficaz que o placebo conforme mensurado pela Escala de Depressão de Hamilton (HAM-D). O cloridrato de fluoxetina também foi significativamente mais eficaz que o placebo na sub-pontuação da HAM-D para humor deprimido, distúrbio do sono e sub-fator de ansiedade. Dois estudos clínicos controlados de 6 semanas (n=671, randomizados), comparando cloridrato de fluoxetina 20 mg e placebo, mostraram que cloridrato de fluoxetina 20 mg em doses diárias é eficaz no tratamento de pacientes idosos ( $\geq 60$  anos de idade) com depressão. Nesses estudos, cloridrato de fluoxetina produziu uma taxa de resposta e de remissão significativamente mais altas definidas, respectivamente, por uma diminuição de 50% na pontuação da HAM-D e uma pontuação total de avaliação na HAM-D  $\leq 8$ . O cloridrato de fluoxetina foi bem tolerado e a taxa de interrupção do tratamento devido a eventos adversos não foi diferente entre cloridrato de fluoxetina (12%) e o placebo (9%).

Um estudo foi conduzido envolvendo pacientes ambulatoriais deprimidos que responderam ao final de uma fase inicial de tratamento aberto de 12 semanas com cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia (pontuação modificada da HAMD-17  $\leq 7$  durante cada uma das 3 últimas semanas de tratamento aberto e ausência de depressão pelos critérios da DSM-III-R). Estes pacientes (n=298) foram randomizados para continuarem no estudo duplo-cego com cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia ou com placebo. Em 38 semanas (50 semanas totais), uma taxa de recaída estatisticamente mais baixa (definida como sintomas suficientes para atender a um diagnóstico de depressão por 2 semanas ou pontuação modificada da HAMD-17  $\geq 14$  por 3 semanas) foi observada em pacientes tomando cloridrato de fluoxetina comparada àqueles usando placebo.

##### Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC)

A eficácia de cloridrato de fluoxetina para o tratamento do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) foi demonstrada em dois grupos de estudo paralelos, multicêntricos, de 13 semanas (Estudos 1 e 2), com pacientes



adultos ambulatoriais que receberam doses fixas de cloridrato de fluoxetina de 20, 40 ou 60 mg/dia (uma vez ao dia, pela manhã) ou placebo. Os pacientes em ambos os estudos tinham TOC moderado a grave (DSM-III-R), com taxas iniciais médias na Escala Obsessiva-Compulsiva *Yale-Brown* (YBOCS, pontuação total) variando de 22 a 26. No Estudo 1, pacientes recebendo cloridrato de fluoxetina apresentaram reduções médias de aproximadamente 4 a 6 unidades na pontuação total da YBOCS, comparado com uma redução de 1 unidade para os pacientes tratados com placebo. No Estudo 2, pacientes recebendo cloridrato de fluoxetina apresentaram reduções médias de aproximadamente 4 a 9 unidades na pontuação total da YBOCS, comparado a uma redução de 1 unidade para os pacientes com placebo. Apesar de não ter havido indicação de relação dose-resposta para a eficácia no Estudo 1, esta relação foi observada no Estudo 2, com respostas numericamente melhores nos dois grupos de dose mais alta.

#### **Bulimia Nervosa**

A eficácia de cloridrato de fluoxetina para o tratamento de bulimia foi demonstrada em dois estudos de 8 semanas e um estudo de 16 semanas, multicêntricos, paralelos, em pacientes adultos que atendiam ao critério de bulimia na escala DSM-III-R. Os pacientes dos estudos de 8 semanas receberam 20 ou 60 mg/dia de cloridrato de fluoxetina ou placebo pela manhã. Os pacientes do estudo de 16 semanas receberam uma dose fixa de 60 mg/dia de cloridrato de fluoxetina ou placebo. Os pacientes nesses três estudos tinham bulimia de moderada a grave, com frequências medianas de episódios de compulsão alimentar e vômito, variando de 7 a 10 e de 5 a 9 por semana, respectivamente. Nesses três estudos, cloridrato de fluoxetina 60 mg, mas não a dose de 20 mg, foi estatisticamente superior ao placebo, reduzindo o número de episódios de compulsão alimentar e vômito por semana. O efeito estatisticamente superior das 60 mg *versus* placebo foi observado logo na Semana 1 e persistiu durante cada estudo. A redução nos episódios bulímicos relacionada ao cloridrato de fluoxetina pareceu ser independente da depressão inicial, conforme avaliada pela escala de Depressão de Hamilton. Em um desses três estudos, o efeito do tratamento, conforme medido pelas diferenças entre cloridrato de fluoxetina 60 mg e placebo, na redução mediana do valor basal na frequência dos comportamentos bulímicos no final do estudo, variou entre 1 a 2 episódios por semana para compulsão alimentar e de 2 a 4 episódios por semana para vômito.

O tamanho do efeito foi relacionado à frequência inicial, com reduções maiores vistas em pacientes com frequências iniciais mais altas. Embora alguns pacientes tenham deixado de apresentar episódios de compulsão alimentar e comportamentos purgativos como um resultado de tratamento, para a maioria, o benefício foi uma redução parcial na frequência dos episódios de compulsão alimentar e comportamentos purgativos.

Em um estudo no longo prazo, 150 pacientes reunindo os critérios (DSM-IV) para bulimia nervosa, subtipo purgativo, que tiveram resposta na fase do tratamento agudo, simples-cego, de 8 semanas com cloridrato de fluoxetina 60 mg/dia, foram randomizados para seguir em outro estudo, sendo este duplo-cego, com administração de 60 mg de cloridrato de fluoxetina ou placebo por dia, e houve remissão em até 52 semanas. A resposta durante a fase simples-cega foi definida pelo alcance de pelo menos uma diminuição de 50% na frequência de vômito, quando comparada à inicial. A remissão durante a fase duplo-cega foi definida como um retorno persistente da frequência de vômito inicial ou julgamento médico sobre a recidiva da doença. Os pacientes que continuaram recebendo cloridrato de fluoxetina 60 mg/dia apresentaram um tempo significativamente mais longo para remissão durante as 52 semanas subsequentes comparando-se com aqueles que receberam placebo.

#### **Transtorno Disfórico Pré-menstrual (TDPM)**

Os sintomas relacionados com TDPM incluem alterações do humor e sintomas físicos. Nos estudos clínicos cloridrato de fluoxetina mostrou ser eficaz no alívio das alterações do humor (tensão, irritabilidade e disforia) e dos sintomas físicos (cefaleia, edema e mastalgia) relacionados ao TDPM.

A eficácia de cloridrato de fluoxetina para o tratamento do TDPM foi estabelecida em três estudos clínicos placebo-controlados (um estudo de dose intermitente e dois estudos de dose contínua). Em um estudo clínico de dose intermitente descrito abaixo, as pacientes reuniram os critérios do Manual Estatístico e de Diagnóstico, 4ª edição (DSM-IV), para TDPM. Nos estudos clínicos de dose contínua descritos abaixo, as pacientes reuniram os critérios do Manual Estatístico e de Diagnóstico – 3ª edição revisada para o Transtorno Disfórico da Fase Lútea Tardia (TDFLT), a entidade clínica agora referida como TDPM no DSM-IV. Pacientes usando anticoncepcionais orais foram excluídas desses estudos. Portanto, a eficácia de cloridrato de fluoxetina em combinação com anticoncepcionais orais para o tratamento do TDPM é desconhecida.

Em um grupo de estudos duplo-cegos, paralelos, de dose intermitente de 3 meses de duração, as pacientes (n=260, randomizadas) foram tratadas com cloridrato de fluoxetina 10 mg/dia, cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia ou placebo. Iniciou-se o tratamento com cloridrato de fluoxetina ou o placebo 14 dias antes do início previsto da menstruação e continuado até o 1º dia do fluxo menstrual. A eficácia foi avaliada com o Relato Diário da Gravidade dos Problemas (DRSP), um instrumento dependente da avaliação e colaboração da paciente, que se



espelha nos critérios de diagnóstico para TDPM, conforme indicado no DSM-IV, e inclui avaliações para humor, sintomas físicos e outros sintomas. O cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia mostrou ser significativamente mais eficaz que o placebo, conforme mensurado pela pontuação do DRSP. O cloridrato de fluoxetina 10 mg/dia não mostrou ser significativamente mais eficaz que o placebo nesse estudo. A média da pontuação total do DRSP diminuiu 38% para o cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia, 35% para cloridrato de fluoxetina 10 mg/dia e 30% para o placebo.

No primeiro grupo de estudos duplo-cegos, paralelos, de dose contínua de 6 meses de duração, envolvendo n=320 pacientes, doses fixas de cloridrato de fluoxetina 20 e 60 mg/dia administradas diariamente durante o ciclo menstrual, mostraram ser significativamente mais eficazes que o placebo, conforme mensurado por uma pontuação total de Escala Visual Análoga (EVA) (incluindo humor e sintomas físicos). A média da pontuação total da EVA diminuiu 7% no tratamento com placebo, 36% no tratamento com cloridrato de fluoxetina 20 mg e 39% no tratamento com cloridrato de fluoxetina 60 mg. A diferença entre as doses de 20 e 60 mg não foi estatisticamente significativa.

No segundo estudo cruzado, duplo-cego, de dose contínua, as pacientes (n=19) foram tratadas diariamente com cloridrato de fluoxetina 20 mg a 60 mg/dia (dose média=27 mg/dia) e placebo durante o ciclo menstrual por um período de 3 meses cada. O cloridrato de fluoxetina foi significativamente mais eficaz que o placebo, conforme mensurado pelas alterações do ciclo folicular à fase lútea na pontuação total da EVA (humor, sintomas físicos e prejuízo social). A média da pontuação total EVA (aumento da fase folicular à lútea) foi 3,8 vezes mais alta durante o tratamento com placebo do que aquela observada durante o tratamento com o cloridrato de fluoxetina.

Em outro grupo de estudos duplo-cegos, paralelos, de dose contínua, pacientes com TDFTL (n=42) foram tratadas diariamente com cloridrato de fluoxetina 20 mg/dia, bupropiona 300 mg/dia ou placebo por 2 meses. Nem cloridrato de fluoxetina e nem a bupropiona mostraram ser superiores ao placebo em uma avaliação primária, isto é, a taxa de resposta.

### 3. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS

**Descrição:** o cloridrato de fluoxetina é o cloridrato de ( $\pm$ )-N-metil-3-fenil-3-[( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoro-p-tolil)-oxil]propilamina, com a fórmula molecular  $C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl$ . Uma dose de 20 mg equivale a 64,7 micromoles de fluoxetina. Seu peso molecular é 345,79. É um pó cristalino branco a quase branco, solúvel em água numa concentração de 14 mg/mL.

**Propriedades Farmacodinâmicas:** a fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptação da serotonina, sendo este seu suposto mecanismo de ação. A fluoxetina praticamente não possui afinidade com outros receptores tais como  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$ -adrenérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos, histaminérgicos H1, muscarínicos e receptores do GABA. A etiologia do transtorno disfórico pré-menstrual (TDPM) é desconhecida, porém esteroides endógenos envolvidos no ciclo menstrual parecem estar relacionados com a atividade serotoninérgica neuronal.

#### **Propriedades Farmacocinéticas**

**Absorção e distribuição:** a fluoxetina é bem absorvida após administração oral. Concentrações plasmáticas máximas são alcançadas dentro de 6 a 8 horas. A fluoxetina se liga firmemente às proteínas do plasma e se distribui largamente. Concentrações plasmáticas estáveis são alcançadas após doses contínuas durante várias semanas e, após doses prolongadas, são similares às concentrações obtidas em 4 a 5 semanas.

**Metabolismo e excreção:** a fluoxetina é extensivamente metabolizada no fígado à norfluoxetina e em outros metabólitos não identificados, que são excretados na urina. A meia-vida de eliminação da fluoxetina é de 4 a 6 dias e a de seu metabólito ativo é de 4 a 16 dias.

### 4. CONTRAINDICAÇÕES

**Hipersensibilidade:** Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) é contraindicado em pacientes com hipersensibilidade conhecida à fluoxetina ou a qualquer um dos excipientes.

**Inibidores da monoaminoxidase (IMAOs):** Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) não deve ser usado em combinação com um IMAO ou dentro de 14 dias da suspensão do tratamento com um IMAO. Deve-se deixar um intervalo de, pelo menos, cinco semanas (ou talvez mais, especialmente se o Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) foi prescrito para tratamento crônico e/ou em altas doses) após a suspensão de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) e o início do tratamento com um IMAO. Casos graves e fatais de síndrome serotoninérgica (que pode se assemelhar e ser diagnosticada como síndrome neuroléptica maligna) foram relatados em pacientes tratados com Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) e um IMAO com curto intervalo entre uma terapia e outra.

**Tioridazina:** Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) não deve ser usado em combinação com tioridazina ou dentro de, pelo menos, cinco semanas após a suspensão de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) (ver INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS).



## 5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

**Risco de suicídio:** a possibilidade de uma tentativa de suicídio é inerente à depressão e a outros transtornos psiquiátricos e pode persistir até que uma remissão significativa ocorra. Assim como outras drogas de ação farmacológica similar (antidepressivos), casos isolados de ideação e comportamentos suicidas foram relatados durante o tratamento com cloridrato de fluoxetina ou logo após a sua interrupção.

Embora não tenha sido estabelecida uma relação causal entre cloridrato de fluoxetina e a indução de tais eventos, algumas análises realizadas a partir de um grupo de estudos de antidepressivos em transtornos psiquiátricos encontraram um aumento do risco para ideação e/ou comportamento suicida nos pacientes pediátricos e jovens adultos ( $\leq 25$  anos de idade), comparados ao placebo.

Um acompanhamento mais próximo a pacientes de alto risco deve ser feito durante o tratamento. Os médicos devem incentivar os pacientes de todas as idades a relatarem quaisquer pensamentos ou sentimentos depressivos em qualquer fase do tratamento.

Em uma análise de estudos controlados em adultos com transtorno depressivo maior, os fatores de risco para suicídio com ambos, placebo e cloridrato de fluoxetina, foram os seguintes:

- Antes do tratamento: maior gravidade da depressão e presença de pensamento de morte.
- Durante o tratamento: piora da depressão e desenvolvimento de insônia.

O desenvolvimento de ativação psicomotora grave (por exemplo: agitação, acatisia e pânico) também foi um fator de risco durante o tratamento com cloridrato de fluoxetina.

A presença ou surgimento dessas condições antes ou durante o tratamento sugere que se deve levar em consideração o aumento do monitoramento clínico ou possível alteração da terapia.

**Efeitos Cardiovasculares:** pode ocorrer prolongamento do intervalo QT no tratamento com fluoxetina. Cloridrato de fluoxetina deve ser utilizado com precaução em pacientes com síndrome congênita do QT longo, síndrome do QT longo adquirida (por exemplo, devido ao uso concomitante de um medicamento que prolonga o QT), histórico familiar de prolongamento do QT ou outras condições clínicas que predispõem a arritmias (por exemplo: hipocalcemia ou hipomagnesemia) ou exposição aumentada à fluoxetina (por exemplo: insuficiência hepática).

**Erupções de pele:** erupção de pele, reações anafilactoides e reações sistêmicas progressivas, algumas vezes graves e envolvendo pele, fígado, rins ou pulmões, foram relatadas por pacientes tratados com cloridrato de fluoxetina. Após o aparecimento de erupção cutânea ou de outra reação alérgica para a qual uma alternativa etiológica não pode ser identificada, cloridrato de fluoxetina deve ser suspenso.

**Convulsões:** assim como com outros antidepressivos, a fluoxetina deve ser administrada com cuidado a pacientes com histórico de convulsões.

**Hiponatremia:** foram relatados casos de hiponatremia (alguns com sódio sérico abaixo de 110 mmol/L). A maioria desses casos ocorreu em pacientes idosos e em pacientes que estavam tomando diuréticos ou com depleção de líquidos.

**Controle Glicêmico:** em pacientes com diabetes ocorreu hipoglicemia durante a terapia com cloridrato de fluoxetina e hiperglicemia após a suspensão do medicamento. A dose de insulina e/ou hipoglicemiante oral deve ser ajustada, quando for instituído o tratamento com cloridrato de fluoxetina e após sua suspensão.

**Midriase:** midriase foi relatada em associação com cloridrato de fluoxetina, por isso, deve-se ter cautela na prescrição de cloridrato de fluoxetina a pacientes com pressão intraocular elevada ou aqueles com risco de glaucoma de ângulo estreito agudo.

**Sangramento anormal:** ISRSs e ISRSNs, incluindo a fluoxetina, podem aumentar o risco de sangramentos, incluindo sangramentos gastrointestinais (ver REAÇÕES ADVERSAS). Sendo assim, aconselha-se precaução a pacientes que tomam fluoxetina concomitantemente com anticoagulantes e/ou produtos medicinais que afetam a função plaquetária (por exemplo: AINEs e Aspirina®) e em pacientes com tendência a sangramentos.

**Carcinogênese, Mutagênese e Danos à fertilidade:** não houve evidência de carcinogenicidade ou mutagênese a partir de estudos *in vitro* ou em animais. Não foram observados danos à fertilidade em animais adultos em doses até 12,5 mg/kg/dia [aproximadamente 1,5 vezes a dose humana máxima recomendada (MRHD) em base de mg/m<sup>2</sup>].



Em um estudo toxicológico em ratos CD jovens, a administração de 30 mg/kg de cloridrato de fluoxetina (entre o 21º e o 90º dia após o nascimento), resultou em um aumento dos níveis séricos de creatinina quinase e aspartato aminotransferase (TGO), que foram acompanhadas microscopicamente através da degeneração da musculatura esquelética, necrose e regeneração. Outros achados em ratos aos quais também foram administrados 30 mg/kg de cloridrato de fluoxetina constatarem degeneração e necrose dos túbulos seminíferos dos testículos, vacuolização do epitélio do epidídimo dos ratos e imaturidade/inatividade do trato reprodutivo das ratas. As concentrações plasmáticas alcançadas nestes animais foram maiores quando comparadas às concentrações plasmáticas normalmente alcançadas em pacientes pediátricos (em animais que receberam 30 mg/kg, o aumento foi de aproximadamente 5 a 8 vezes para fluoxetina e de 18 a 20 vezes para norfluoxetina. Em animais que receberam 10 mg/kg, o aumento foi de aproximadamente 2 vezes para fluoxetina e 8 vezes para norfluoxetina). Após um período de recuperação de aproximadamente 11 semanas, foram realizadas avaliações de esperma em ratos que haviam sido medicados com 30 mg/kg de cloridrato de fluoxetina, que indicaram uma diminuição de aproximadamente 30% nas concentrações de esperma sem afetar sua morfologia ou motilidade. Uma avaliação microscópica dos testículos e epidídimos destes ratos indicou que a degeneração testicular foi irreversível. Ocorreram atrasos na maturação sexual nos machos tratados com 10 mg/kg e nas fêmeas e machos tratados com 30 mg/kg. A relevância destes achados em seres humanos é desconhecida. Houve uma diminuição na extensão de crescimento do fêmur de ratos tratados com 30 mg/kg quando comparados com o grupo controle.

**Gravidez (Categoria C):** resultados de um número de estudos epidemiológicos avaliando o risco de gestantes expostas ao cloridrato de fluoxetina foram inconsistentes e não apresentaram evidências conclusivas de um risco aumentado de malformação congênita. Entretanto, uma meta-análise sugere um risco potencial de defeitos cardiovasculares em bebês de mulheres expostas ao cloridrato de fluoxetina durante o primeiro trimestre da gravidez, comparado aos bebês de mulheres que não foram expostas ao cloridrato de fluoxetina.

O uso de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) deve ser considerado durante a gravidez somente se os benefícios do tratamento justificarem o risco potencial para o feto, tendo em conta os riscos do não tratamento da depressão.

Deve-se ter cuidado no final da gravidez, pois foram relatados, raramente, sintomas transitórios de retirada (exemplo: tremores transitórios, dificuldade na amamentação, taquipneia e irritabilidade) em recém-nascidos cujas mães fizeram uso de cloridrato de fluoxetina próximo ao término da gravidez.

**Lactantes:** Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) é excretado no leite humano, portanto deve-se ter cuidado quando for administrado a mulheres que estejam amamentando.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas ou amamentando sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.

**Trabalho de parto e nascimento:** o efeito de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) sobre o trabalho de parto e nascimento nos seres humanos é desconhecido.

**Efeitos sobre a habilidade de dirigir e operar máquinas:** cloridrato de fluoxetina pode interferir na capacidade de julgamento, pensamento e ação. Portanto, os pacientes devem evitar dirigir veículos ou operar maquinário até que tenham certeza de que seu desempenho não foi afetado.

**Uso geriátrico:** não foram observadas diferenças na segurança e eficácia entre pacientes idosos e jovens. Outros relatos de experiências clínicas não identificaram diferenças nas respostas de pacientes jovens ou idosos, mas uma sensibilidade maior de alguns indivíduos mais idosos não pode ser excluída.

## 6. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

**Drogas metabolizadas pelo citocromo P4502D6:** devido ao potencial de cloridrato de fluoxetina em inibir a isoenzima do citocromo P4502D6, o tratamento com drogas predominantemente metabolizadas pelo sistema CYP2D6 e que tenham um índice terapêutico estreito deve ser iniciado com o limite mais baixo de dose, caso o paciente esteja recebendo cloridrato de fluoxetina concomitantemente ou a tenha recebido nas cinco semanas anteriores. Se cloridrato de fluoxetina for adicionado ao tratamento de um paciente que já esteja recebendo uma droga metabolizada pelo CYP2D6, a necessidade de diminuição da dose da medicação original deve ser considerada.

**Drogas com ação no sistema nervoso central:** foram observadas alterações nos níveis sanguíneos de fenitoína, carbamazepina, haloperidol, clozapina, diazepam, alprazolam, lítio, imipramina e desipramina e, em alguns casos, manifestações clínicas de toxicidade. Deve ser considerado o uso de esquemas conservadores de titulação



de drogas concomitantes e monitoração do estado clínico. O uso concomitante de outras drogas com atividade serotoninérgica (exemplo: inibidores seletivos da recaptação da serotonina, inibidores seletivos da recaptação da noradrenalina, triptanos ou tramadol) podem resultar numa síndrome serotoninérgica.

**Ligação às proteínas do plasma:** devido ao fato de a fluoxetina estar firmemente ligada às proteínas do plasma, a administração de cloridrato de fluoxetina a um paciente que esteja tomando outra droga que seja firmemente ligada à proteína pode causar uma mudança nas concentrações plasmáticas da mesma.

**Varfarina:** efeitos anticoagulantes alterados (valores de laboratório e/ou sinais clínicos e sintomas), incluindo sangramento, sem um padrão consistente, foram reportados com pouca frequência quando cloridrato de fluoxetina e varfarina foram coadministrados. Com a mesma prudência do uso concomitante de varfarina com muitas outras drogas, os pacientes em tratamento com varfarina devem ser cuidadosamente monitorados quanto à coagulação quando se inicia ou interrompe o tratamento com Fluxene® (cloridrato de fluoxetina).

**Tratamento eletroconvulsivo:** houve raros relatos de convulsões prolongadas em pacientes usando cloridrato de fluoxetina e que receberam tratamento eletroconvulsivo.

**Meia-vida de eliminação:** devido ao fato da fluoxetina e do seu principal metabólito, a norfluoxetina, possuírem uma longa meia-vida de eliminação, a administração de drogas que interajam com essas substâncias pode produzir consequências ao paciente após a interrupção do tratamento com cloridrato de fluoxetina.

**Tioridazina:** devido ao risco de arritmias ventriculares graves e de morte súbita, potencialmente associada com uma elevação dos níveis de tioridazina, não deve ser realizada a administração concomitante de tioridazina com cloridrato de fluoxetina ou, deve-se aguardar no mínimo 5 semanas após o término do tratamento com cloridrato de fluoxetina para se administrar a tioridazina.

**Drogas que interferem na homeostase (anti-inflamatórios não esteroidais – AINEs, ácido acetilsalicílico, varfarina, etc.):** a liberação de serotonina pelas plaquetas desempenha um papel importante na homeostase. Estudos epidemiológicos, caso-controle e coorte têm demonstrado uma associação entre o uso de drogas psicotrópicas (que interferem na recaptação da serotonina) e a ocorrência de aumento de sangramento gastrointestinal, que também tem sido demonstrado durante o uso concomitante de uma droga psicotrópica com um AINE ou ácido acetilsalicílico. Portanto, os pacientes devem ser advertidos sobre o uso concomitante destas drogas com cloridrato de fluoxetina.

**Álcool:** em testes formais, cloridrato de fluoxetina não aumentou os níveis de álcool no sangue ou intensificou os efeitos do álcool. Entretanto, a combinação do tratamento de inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) e álcool não é aconselhável.

**Alimentos:** cloridrato de fluoxetina pode ser administrado com alimentos sem que interações medicamentosas ocorram.

**Ervas medicinais:** assim como outros ISRS, *Hypericum perforatum* pode interagir com cloridrato de fluoxetina, aumentando os efeitos adversos, como a síndrome serotoninérgica.

**Nicotina:** não há estudos que relatam a possibilidade de interação entre cloridrato de fluoxetina e nicotina.

**Exames laboratoriais e não laboratoriais:** não há estudos em humanos a respeito desta interação.

## 7. CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO DO MEDICAMENTO

Conservar em temperatura ambiente (entre 15 e 30°C). Proteger da umidade.

O prazo de validade deste medicamento é de 24 meses.

**Número de lote e datas de fabricação e validade:** vide embalagem.

**Não use medicamento com o prazo de validade vencido. Guarde-o em sua embalagem original.**

**Características do produto:** cápsula de gelatina (azul/branco), contendo pó branco, homogêneo, livre de impurezas estranhas.



Antes de usar, observe o aspecto do medicamento.  
 Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance das crianças.

#### 8. POSOLOGIA E MODO DE USAR

Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) deve ser administrado por via oral e pode ser tomado independente das refeições.

Caso o paciente deixe de tomar uma dose, deverá tomá-la assim que possível.

Não tomar mais que a quantidade de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) recomendada para período de 24 horas.

Depressão: a dose recomendada é de 20 mg/dia.

Bulimia Nervosa: a dose recomendada é de 60 mg/dia.

Transtorno Obsessivo-Compulsivo: a dose recomendada é de 20 mg/dia a 60 mg/dia.

Transtorno Disfórico Pré-menstrual: a dose recomendada é de 20 mg/dia administrada continuamente (durante todos os dias do ciclo menstrual) ou intermitentemente (isto é, uso diário, com início 14 dias antes do início previsto da menstruação, até o primeiro dia do fluxo menstrual. A dose deverá ser repetida a cada novo ciclo menstrual).

Para todas as indicações: a dose recomendada pode ser aumentada ou diminuída. Doses acima de 80 mg/dia não foram sistematicamente avaliadas.

Idade: não há dados que demonstrem a necessidade de doses alternativas tendo como base somente a idade do paciente.

Doenças e/ou terapias concomitantes: uma dose mais baixa ou menos frequente deve ser considerada em pacientes com comprometimento hepático, doenças concomitantes ou naqueles que estejam tomando vários medicamentos.

Este medicamento não deve ser partido, aberto ou mastigado.

Este medicamento não deve ser partido, aberto ou mastigado.

#### 9. REAÇÕES ADVERSAS

Como reportado com outros antidepressivos ISRS, foram relatadas as seguintes reações adversas com (cloridrato de fluoxetina):

**Reação muito comum (> 1/10):** diarreia, náusea, fadiga (incluindo astenia), dor de cabeça e insônia (incluindo despertar cedo, insônia inicial e insônia de manutenção).

**Reação comum (> 1/100 e ≤ 1/10):** palpitações, visão turva, boca seca, dispepsia, vômitos, calafrios, sensação de tremor, diminuição de peso, prolongamento do intervalo QT (QTcF ≥ 450 msec), diminuição do apetite (incluindo anorexia), distúrbio de atenção, vertigem, disgeusia, letargia, sonolência (incluindo hipersonia e sedação), tremor, sonhos anormais (incluindo pesadelos), ansiedade, diminuição da libido (incluindo perda da libido), nervosismo, impaciência, distúrbio do sono, tensão, micções frequentes (incluindo polaciúria), distúrbios da ejaculação (incluindo falha na ejaculação, disfunção da ejaculação, ejaculação precoce, retardo na ejaculação e ejaculação retrógrada), sangramento ginecológico (incluindo hemorragia no colo uterino, disfunção do sangramento uterino, hemorragia genital, menometrorragia, menorragia, metrorragia, polimenorreia, hemorragia pós-menopausal, hemorragia uterina e hemorragia vaginal), disfunção erétil, bocejo, hiperidrose, prurido, erupção cutânea (incluindo eritema, erupção cutânea esfoliativa, erupção cutânea provocada pelo calor, erupção cutânea, erupção cutânea eritematosa, erupção cutânea folicular, erupção cutânea generalizada, erupção cutânea macular, erupção cutânea máculo-papular, erupção cutânea morbiliforme, erupção cutânea papular, erupção cutânea prurítica, erupção cutânea vesicular e erupção cutânea eritematosa no cordão umbilical), urticária e rubor (incluindo fogachos).

**Reação incomum (> 1/1.000 e ≤ 1/100):** midríase, disfagia, sensação de anormalidade, sensação de frio, sensação de calor, mal-estar, contusão, contração muscular, inquietação psicomotora, ataxia, distúrbios do equilíbrio, bruxismo, discinesia, mioclonia, despersonalização, humor elevado, humor eufórico, alteração do orgasmo (incluindo anorgasmia), pensamento anormal, disúria, alopecia, suor frio, tendência aumentada para contusão e hipotensão.

**Reação rara (> 1/10.000 e ≤ 1/1.000):** dor esofágica, reação anafilática, doença do soro, síndrome buco-glossal, convulsão, hipomania, mania, angioedema, equimose, reação de fotossensibilidade, vasculite e vasodilatação.

**Não relatados:** distúrbios na micção.

**Relatos pós-comercialização:** secreção inapropriada do hormônio antidiurético, hepatite idiossincrática muito rara, síndrome serotoninérgica, priapismo, eritema multiforme, comprometimento da memória, disfunção sexual (ocasionalmente persistindo após a descontinuação do uso), sangramento gastrointestinal [incluindo hemorragia das varizes esofágicas, sangramento gengival e da boca, hematêmese, hematoquezia, hematomas (intra-abdominal e peritoneal), hemorragia (anal, esofágica, gástrica, gastrointestinal superior e inferior, hemorroidal,



peritoneal e retal), diarreia hemorrágica e enterocolites, diverticulite hemorrágica, gastrite hemorrágica, melena e úlcera hemorrágica (esofágica, gástrica e duodenal)], galactorreia e hiperprolactinemia.

Em casos de eventos adversos, notifique ao Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária - NOTIVISA, disponível em <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm>, ou para a Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal.

#### 10. SUPERDOSE

**Sintomas:** os casos de superdose de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) isolado geralmente têm uma evolução favorável. Os sintomas de superdose incluem náusea, vômito, convulsões, disfunção cardiovascular variando desde arritmias assintomáticas (incluindo ritmo nodal e arritmias ventriculares) ou indicativo de alterações no ECG do prolongamento do QTc até parada cardíaca (incluindo muitos casos raros de *Torsade de Pointes*), disfunção pulmonar e sinais de alteração do sistema nervoso central (variando de excitação ao coma). Os relatos de morte por superdose de Fluxene® (cloridrato de fluoxetina) isolado têm sido extremamente raros.

**Tratamento:** recomenda-se a monitoração dos sinais cardíacos e vitais, junto com as medidas sintomáticas gerais e de suporte. Não é conhecido antídoto específico. A diurese forçada, diálise, hemoperfusão e transfusão provavelmente não serão benéficas. No tratamento da superdose deve ser considerada a possibilidade do envolvimento de múltiplas drogas.

Em caso de intoxicação ligue para 0800 722 6001, se você precisar de mais orientações.

M.S.: 1.0043.0517

Farm. Resp.: Dra. Sônia Albano Badaró – CRF-SP 19.258

**Registrado por:**

**EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A.**  
Av. Ver. José Diniz, 3.465 - São Paulo - SP  
CNPJ: 61.190.096/0001-92  
Indústria Brasileira

**Fabricado por:**

**EUROFARMA LABORATÓRIOS S.A.**  
Rod. Pres. Castelo Branco, Km 35,6 - Itapevi - SP

**Comercializado por:**

**SUPERA RX MEDICAMENTOS LTDA.**  
Rua Guarã S/N, Quadra 04/05/06 Galpão 08  
Aparecida de Goiânia - GO

LOGO CENTRAL DE ATENDIMENTO  
SUPERA RX 0800 708 1818

Venda sob prescrição médica. Só pode ser vendido com retenção da receita.

Esta bula foi atualizada conforme Bula Padrão aprovada pela ANVISA em 28/02/2014.

