

Projeto de Pesquisa:

Influência da pielonefrite em gestantes sobre a atividade dos transportadores de membrana OATP1B1 e OCT2

Informações Preliminares**Responsável Principal**

CPF/Documento: 103.334.076-60	Nome: ANA CLAUDIA RABELO E SILVA
Telefone: 5516997813741	E-mail: anarabelo@usp.br

Instituição Proponente

CNPJ: 56.023.443/0001-52	Nome da Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -
--------------------------	--

Essa submissão de emenda é exclusiva do seu Centro Coordenador?

A emenda não é exclusiva de seu Centro Coordenador, então quando a emenda for aprovada, esta SERÁ replicada nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes.

É um estudo internacional? Não**Assistentes**

CPF/Documento	Nome
061.191.586-34	Geraldo Duarte

Equipe de Pesquisa

CPF/Documento	Nome
033.163.688-33	Vera Lucia Lanchote
061.191.586-34	Geraldo Duarte
335.489.978-64	João Paulo Bianchi Ximenez

Área de Estudo**Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)**

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

Propósito Principal do Estudo (OMS)

- Clínico

Título Público da Pesquisa: Influência da pielonefrite em gestantes sobre a atividade dos transportadores de membrana OATP1B1 e OCT2**Contato Público**

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
103.334.076-60	ANA CLAUDIA RABELO E SILVA	5516997813741	anarabelo@usp.br

Contato Científico: ANA CLAUDIA RABELO E SILVA

Desenho de Estudo / Apoio Financeiro

Desenho do Estudo: Observacional

Condições de saúde ou problemas

Condição de saúde ou Problema

Pielonefrite

Gravidez

Infecção no trato urinário

Descritores Gerais para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
O23.0	Infecções do rim na gravidez

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
12140	Pielonefrite
22261	Gravidez

Descritores Específicos para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
O23.0	Infecções do rim na gravidez

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
12140	Pielonefrite
22261	Gravidez

Desenho:

Estudo observacional, longitudinal e prospectivo, no qual serão investigadas 13 gestantes diagnosticadas com pielonefrite que estejam no segundo ou terceiro trimestres de gravidez, antes (fase I) e depois (fase II) do tratamento com antibióticos endovenosos, para avaliar a influência da pielonefrite sobre a atividade dos transportadores OATP1B1 e OCT2.

Apoio Financeiro

CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
43.828.151/0001-45	FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO			Institucional Secundário

Palavra Chave

Palavra-chave

Gravidez

Proteínas de Membrana Transportadoras

Pielonefrite

Biomarcadores

Coproporfirinas

Detalhamento do Estudo**Resumo:**

Contexto/Justificativa: A presente pesquisa visa elucidar como a pielonefrite (a infecção mais grave do trato urinário na gravidez, com evidente componente inflamatório) modula a atividade dos transportadores de membrana em gestantes, possibilitando melhor embasamento futuro para a utilização de fármacos com mais segurança nessa população especial e para auxiliar na previsão da exposição fetal a drogas. Objetivo: Avaliar a influência da pielonefrite na atividade dos transportadores OATP1B1 e OCT2 durante o segundo e o terceiro trimestres de gravidez (empregando rosuvastatina e metformina como fármacos marcadores). Métodos: Estudo observacional, longitudinal e prospectivo, no qual serão investigadas 13 gestantes diagnosticadas com pielonefrite que estejam no segundo ou terceiro trimestres de gravidez, com indicação de tratamento com antibióticos endovenosos. O protocolo clínico ocorrerá no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC-FMRPUSP) e será dividido em: a) Fase I, realizada na Divisão de Obstetrícia do HC-FMRPUSP, onde serão coletadas amostras sanguíneas para realização de exames bioquímicos e hematológicos, análise de citocinas inflamatórias e do genótipo. Em seguida, será administrada dose única oral dos fármacos marcadores: rosuvastatina (5 mg) e metformina (50 mg), com coletas seriadas de sangue por 24 h, as quais serão congeladas e armazenadas até a análise farmacocinética; b) Fase II, realizada na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC), em data conveniente para a participante após o término no tratamento subsequente com antibióticos orais, onde serão realizados todos os mesmos procedimentos descritos na Fase I (exceto a análise do genótipo). As análises serão realizadas no Laboratório de Farmacocinética Clínica (PKCLIN) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP-USP), empregando cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por espectrometria de massas (UPLC-MS/MS), por meio de protocolos já validados e outros a serem desenvolvidos. Os parâmetros farmacocinéticos (AUC e clearance total) serão calculados com base nas concentrações plasmáticas obtidas experimentalmente por meio do software Phoenix WinNonlin. Os dados do projeto serão armazenados e gerenciados usando o Research Electronic Data Capture (REDCap). As análises estatísticas serão realizadas com auxílio do software R. A disposição cinética dos fármacos marcadores será avaliada entre as fases (antes e após o tratamento) através do teste t de Student ou o teste não paramétrico de Wilcoxon. A relação entre o clearance renal da rosuvastatina com os biomarcadores CP-I e CP-III será avaliada pelo coeficiente de Pearson; todos com nível de significância fixado em 5%. O projeto será financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por meio do Processo Temático FAPESP: 2018/0516-3. Palavras-chave: Pielonefrite. Gravidez. Proteínas de membrana transportadoras.

Introdução:

Os parâmetros farmacocinéticos (que incluem os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de um fármaco, reconhecidos pela sigla ADME) sofrem variações durante a gravidez, visto que a demanda metabólica materna para suprir as necessidades do feto resulta em um período naturalmente repleto de diversas alterações fisiológicas e anatômicas no organismo materno. Essas modificações que ocorrem no organismo materno impactam diretamente sobre os fenômenos farmacocinéticos, os quais começaram a ser descritos em gestantes de forma mais consistente a partir de 1977,2 cujos efeitos se fazem notar em praticamente todos os órgãos, sistemas e aparelhos do organismo materno, destacando-se o cardiovascular, respiratório, hematológico, urinário, digestivo e endócrino.3,4 Considerando o processo de absorção gastrointestinal das drogas, esse pode ser mais lento devido ao prolongamento de 30-50% do tempo de esvaziamento gástrico, efeito originado do aumento da progesterona no plasma, reduzindo a peristaltase do estômago. Destes efeitos, decorrem a redução da concentração plasmática máxima (Cmax) e o aumento do tempo para alcançar a Cmax.3-5 Além disso, a absorção de fármacos dependentes de pH também é reduzida, devido à elevação do pH intestinal pela redução da secreção gástrica de ácido clorídrico e aumento de radicais básicos.3,5 Outro ponto é a queda da absorção e da biodisponibilidade do fármaco decorrente das frequentes náuseas e vômitos deste período.1,4,5 Com relação à distribuição das drogas, observa-se sua elevação devido ao aumento no peso corporal, na deposição de gorduras e no volume plasmático (até 50%), assim como à redução da concentração de albumina plasmática.6 Por sua vez, o metabolismo das drogas também sofre alterações variáveis de acordo com o tipo específico de enzima envolvida. As enzimas das fases I (que envolvem a modificação química do fármaco: redução, oxidação pelo citocromo P450 e hidrólise) e II (que envolvem a adição de frações: açúcares, sulfatos e aminoácidos) são afetadas pela gravidez, influenciando na concentração e na eficácia dos fármacos.2 Sobre a excreção, seu aumento ocorre principalmente devido à amplificação do clearance renal, decorrente do incremento do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração glomerular, consequentemente promovendo menor meia-vida aos fármacos eliminados pelos rins.6 Com isso, mudanças em todos esses processos de ADME durante a gravidez devem-se, direta ou indiretamente, à alteração da atividade das enzimas metabolizadoras e dos transportadores de membrana relacionados ao fluxo dos fármacos.6,7 Esses transportadores são proteínas integrais de membrana, as quais, por meio de transporte ativo, transferem fármacos e outras moléculas através da membrana celular, afetando todas as etapas de metabolização das drogas.8 Duas estratégias para as análises da modulação dos transportadores utilizam: a) substratos de drogas e b) biomarcadores endógenos. Apesar dessas duas estratégias demandarem métodos analíticos sensíveis e corretamente validados, ambas têm como vantagens não serem invasivas e muito seguras para os pacientes. Além disso, os substratos atuam como fármacos marcadores, utilizando drogas que, em geral, já apresentam a farmacocinética bem conhecida.7 Com relação aos biomarcadores endógenos, o Consórcio Internacional de Transportadores, grupo formado por cientistas especializados em transporte de fármacos, divulgou em 2018 uma perspectiva de substratos endógenos cuja disponibilização pode ser mediada por transportadores, correlacionando sua concentração com a modulação do transportador. Isso impulsionou as pesquisas nessa busca de candidatos a biomarcadores endógenos, que dispensam o uso de um fármaco marcador e possibilitam a avaliação diretamente em estudos com seres humanos, sem testes prévios in vitro ou em animais. Com isso, seria possível prever ou validar a atuação de transportadores frente aos fármacos, com estudos em desenvolvimento, a exemplo do uso das coproporfirinas.7,9-11 São conhecidos inúmeros transportadores de fármacos, os quais são classificados principalmente em duas superfamílias: a) transportadores do tipo ABC, do inglês ATP-binding cassette (ABC), que estão relacionados, em geral, com o efluxo de substâncias; e b) transportadores do tipo SLC, do inglês solute-linked carrier (SLC), que estão frequentemente associados com o influxo de substâncias.12 Com relação à família SLC, mais de 400 transportadores já foram identificados, os quais incluem, dentre outros, os grupos dos polipeptídeos de transporte de ânions orgânicos (OATPs) e dos transportadores de cátions orgânicos (OCTs), atuando na captação hepática de fármacos.12,13 Dentre os OATPs, o OATP1B1 é encontrado na membrana basolateral de hepatócitos, sendo essencial na absorção hepática de drogas e no seu clearance. Alguns medicamentos são considerados bons fármacos marcadores para OATP1B1, como é o caso da rosuvastatina, utilizada no tratamento de hipercolesterolemia.13,14 O uso das estatinas, classe da qual a rosuvastatina faz parte, durante a gravidez não foi associado com anomalias congênitas e nem a efeitos teratogênicos.15-17 Além disso, a rosuvastatina já foi utilizada como fármaco marcador em gestantes saudáveis, em dose única oral de 5 mg, em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa.18 As coproporfirinas (CP) I e III (CP-I e CP-III) estão sendo investigadas em homens e mulheres não-grávidas como candidatas a biomarcadores endógenos para OATP1B1.19-21 Considerando agora os OCTs, sabe-se que o OCT2 é expresso majoritariamente na membrana basolateral de células epiteliais dos rins, também sendo encontrado em outros órgãos, como no intestino delgado, pulmão, pele, cérebro e plexo coróide. A metformina é apontada como um bom fármaco marcador de OCT2,13,14 sendo considerada segura para uso durante a gravidez, visto que já é empregada no controle, por exemplo, de pacientes com diabetes gestacional;22,23 assim como já foi utilizada em estudos com gestantes acima do peso e sem outras comorbidades, sem problemas.24 Coquetéis utilizando os fármacos marcadores metformina e rosuvastatina já são utilizados e validados para uso como ferramentas sensíveis e específicas para a avaliação dos

transportadores.25–27 Além da alteração da ação dos transportadores devido às mudanças rotineiras durante a gravidez, a atividade dos transportadores também pode sofrer influência de várias doenças. As citocinas produzidas durante processos inflamatórios – como interferon gama (IFN-), fator de necrose tumoral alfa (TNF-), interleucinas (IL) 6 e 8 (IL-6 e IL-8) e proteína C reativa –, por exemplo, podem alterar a expressão dos transportadores, afetando os parâmetros farmacocinéticos dos medicamentos, e, conseqüentemente, sua eficácia e/ou sua toxicidade. Por isso, suas dosagens são demandadas nos estudos referentes aos transportadores.7,28,29 Desse modo, considerando que a ocorrência de infecções é evento relativamente habitual no período gestacional, sendo as infecções do trato urinário (ITU) as mais frequentes,30 é necessário investigar o papel dessas doenças na atividade dos transportadores em gestantes. Devido às alterações anatômicas e fisiológicas causadas pela gestação, a predisposição para o desenvolvimento de pielonefrite nesse período aumenta,31 na maioria das vezes como evolução da bacteriúria assintomática não tratada (em cerca de 30% desses casos).32 Como essa doença apresenta um evidente componente inflamatório,33 cujos mediadores podem modular a atividade dos transportadores,28 a pielonefrite representa um bom modelo para a investigação da influência de uma infecção sobre os transportadores. A pielonefrite lidera a lista de formas graves de ITU que ocorrem na gravidez, associando-se a elevadas taxas de hospitalizações de origem não obstétrica e a prognósticos maternos e perinatais desfavoráveis, sendo também uma das principais causas de sepse materna.33,34 De acordo com o protocolo adotado pelo Setor de Gestação de Alto Risco do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRPUSP),35 o tratamento para pielonefrite consiste na antibioticoterapia endovenosa com uso preferencial de cefalosporinas de segunda ou terceira gerações: cefuroxima (750 mg de 8 em 8 horas) ou ceftriaxona (1 g de 12 em 12 horas). A cefuroxima tem como vantagens a segurança para uso durante toda a gestação e o período de amamentação, assim como elevada taxa de sensibilidade de *Escherichia coli* (o principal microrganismo causador dessa ITU em gestantes). Além destas prerrogativas, a possibilidade de ser transicionada para a via oral após melhora clínica embasa a escolha deste medicamento para o tratamento da pielonefrite em gestantes. A ceftriaxona, apesar de também ser segura e apresentar um bom espectro de ação contra os germes Gram-negativos (entre eles a *Escherichia coli*), não tem a formulação via oral para transicionar após a melhora clínica.35,36 Estudos relacionando a atividade dos transportadores na gestação são raros, demandando imperiosa necessidade de pesquisas relacionadas a este tema.28 Isso acontece pois gestantes são consideradas “órfãs terapêuticas”, devido à exclusão dessas pacientes da maioria dos estudos envolvendo pesquisa e desenvolvimento de fármacos (participaram de menos de 0,5% dos estudos), considerando que as barreiras éticas, legais e logísticas são maiores nesse grupo especial. Desse modo, a extrapolação de doses baseadas em estudos com populações de mulheres não-grávidas e homens transforma-se na regra, visto que mais de 90% dos fármacos aprovados para uso clínico não apresentam especificações para gestantes.1,6 Com isso, na maioria desses casos, são prescritas drogas sem dosagem específica e carentes de informações detalhadas sobre eficácia e segurança para gestantes e fetos, fato ainda mais preocupante ao considerar que cerca de 90% das pacientes usam ao menos uma medicação durante a gravidez.37,38 A investigação da alteração da função de diversos transportadores relacionados a contextos distintos tem sido feita por nosso grupo de pesquisa, envolvendo trabalhos em andamentos ou mesmo já publicados.18,39–41 Desse modo, a presente pesquisa justifica-se pela necessidade de elucidar como a pielonefrite modula a atividade dos transportadores de membrana em gestantes, possibilitando melhor embasamento futuro para a utilização de fármacos com mais segurança nessa população especial e para poder auxiliar na previsão da exposição fetal a drogas. Além disso, a investigação das coproporfirinas (CP-I e CP-III) como possíveis biomarcadores endógenos de OATP1B1 poderá contribuir no entendimento da atuação desse transportador em diversos âmbitos sem o uso de fármacos marcadores, o que significaria também uma expressiva contribuição neste campo do conhecimento.

Hipótese:

A pielonefrite em gestantes (modelo de processo inflamatório) altera os valores de AUC da eliminação da rosuvastatina e da metformina em pelo menos 30%.

Objetivo Primário:

Avaliar a influência da pielonefrite na atividade dos transportadores OATP1B1 e OCT2 durante o segundo e o terceiro trimestres de gravidez (empregando rosuvastatina e metformina como fármacos marcadores).

Objetivo Secundário:

a) Comparar as atividades de OATP1B1 e OCT2 em gestantes com pielonefrite antes e após o tratamento de pielonefrite com cefuroxima ou ceftriaxona, empregando, respectivamente, os fármacos marcadores rosuvastatina e metformina; b) Avaliar as concentrações plasmáticas das citocinas IFN-, TNF-, IL-6, IL-8 e da proteína C reativa nas gestantes com diagnóstico de pielonefrite antes e após o tratamento com o antibiótico; c) Desenvolver e validar o método de determinação dos biomarcadores endógenos coproporfirinas CP-I e CP-III, empregando cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por espectrometria de massas (UPLC-MS/MS); d) Investigar se os valores de área sob a curva (AUC) da rosuvastatina em gestantes com pielonefrite antes e após o tratamento com cefuroxima ou ceftriaxona apresentam a mesma tendência que os valores das concentrações dos biomarcadores endógenos CP-I e CP-III em plasma.

Metodologia Proposta:

O protocolo clínico para as gestantes com pielonefrite com indicação de tratamento com antibióticos endovenosos será dividido nas fases I e II, nas quais cada paciente será comparada consigo mesma em dois momentos (antes e após o tratamento), sendo o próprio controle: Fase I: As gestantes diagnosticadas com pielonefrite serão recrutadas diretamente no CO, onde as pacientes já estarão internadas (ou em outras áreas da Divisão de Obstetrícia do HC FMRPUSP, como o AMIGO ou a enfermaria do 3º andar, as quais serão posteriormente internadas no CO) e onde ocorrerá a realização da fase I. No início do tratamento com o antibiótico, as pacientes serão avaliadas por exames clínicos e por testes laboratoriais – ureia, creatinina, alanino aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), bilirrubinas, fosfatase alcalina, gama-GT, glicemia, proteínas totais, albumina, 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa, lipidograma e hemograma. Esses exames bioquímicos e hematológicos serão realizados rotineiramente de acordo com o protocolo assistencial do setor, e tais dados serão acessados posteriormente (via prontuário eletrônico). Além disso, serão coletados 3 mL de sangue, em tubos contendo EDTA, para a análise das citocinas plasmáticas INF-, TNF-, IL-6 e IL-8 e para a análise do genótipo. Após a infusão da primeira dose do antibiótico (cefuroxima 750 mg de 8/8h ou ceftriaxona 1 g de 12/12h), as gestantes receberão dose oral de rosuvastatina (5 mg) e de metformina (50 mg). Amostras seriadas de sangue (volumes aproximados de 3 mL) serão colhidas por meio de punção venosa com escalpe em tubos contendo heparina (Liquemine® 5000 UI, Roche) nos tempos 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 10; 12; 16 e 24 h. Logo após cada ponto de coleta, as amostras serão centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos a 4 °C. As alíquotas de plasma serão separadas e, em seguida, armazenadas no Laboratório de Farmacocinética Clínica (PKCLIN) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP-USP), permanecendo no biorrepositório a -70 °C até a análise. Conforme o protocolo do Setor de Moléstias Infectocontagiosas em Ginecologia e Obstetrícia do HC-FMRPUSP, após o tratamento antimicrobiano, e ao apresentar melhora do quadro infeccioso (febre, dor lombar, entre outros sintomas), as gestantes receberão alta hospitalar e continuarão o tratamento com antibióticos via oral durante 10-14 dias, de acordo com o protocolo clínico.33 Fase II: Após o término do tratamento com os antibióticos orais, as gestantes serão convidadas a retornarem ao HC-FMRPUSP para nova internação de 24 h, dessa vez na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC). Serão coletados cerca de 5 mL de sangue para a realização dos exames bioquímicos e hematológicos e dosagem das citocinas plasmáticas. Em seguida, serão administrados os fármacos marcadores e realizadas as coletas de amostras de sangue seriadas, conforme protocolo descrito na Fase I.

Critério de Inclusão:

Como critérios de elegibilidade, serão investigadas gestantes diagnosticadas com pielonefrite que estejam no segundo ou terceiro trimestres de gravidez, com indicação de tratamento com antibióticos endovenosos, conforme protocolo clínico do HC-FMRPUSP33

(cefuroxima 750 mg de 8/8h ou ceftriaxona 1 g de 12/12h), atendidas na Divisão de Obstetrícia do HC-FMRPUSP: no Centro Obstétrico (CO), na enfermaria do 3º andar ou no Ambulatório de Moléstias Infectocontagiosas em Ginecologia e Obstetrícia (AMIGO) do HC-FMRPUSP.

Critério de Exclusão:

Como critérios de exclusão, serão desconsideradas as gestantes que apresentarem pelo menos uma das seguintes doenças: insuficiência renal crônica, síndromes hipertensivas (hipertensão arterial crônica e/ou pré-eclâmpsia), sofrimento fetal crônico e lúpus eritematoso sistêmico. As gestantes também serão excluídas do protocolo ao utilizarem fármacos inibidores/indutores dos transportadores em questão, que possam interagir com os medicamentos utilizados: probenecida, verapamil, trimetopim, amiodarona, claritromicina, cobicistate, ciclosporina, dronedarona, eritromicina, itraconazol, cetoconazol, lapatinibe, lopinavir, ritonavir, quinidina, ranolazina, saquinavir, ritonavir, verapamil, atazanavir, gemfibrozila, rifampicina, cimetidina, dolutegravir, isavuconazol, pirimetamina, trilaciclib, vandetanibe, dabigatran, digoxina, edoxabana, atorvastatina, bosentana, docetaxel, elagolix, glecaprevir, gliburida, grazoprevir, letermovir, paclitaxel, pitavastatina, pravastatina, repaglinida, ácido sinvastatina. Como critérios de descontinuidade, estão a decisão da participante em retirar o consentimento a qualquer momento da sua participação no estudo; e participantes que, eventualmente, necessitem de tratamento baseado nos fármacos utilizados como marcadores.

Riscos:

Não se espera nenhum risco devido ao uso dos medicamentos rosuvastatina e metformina que possa afetar sua saúde, ou do seu bebê, diante da baixa dose utilizada para este estudo, garantindo a segurança de vocês. No entanto, com doses maiores ou passando a tomar o medicamento todos os dias, o que não é o caso deste estudo, você poderia sentir: dor de cabeça, dores musculares, sensação de fraqueza, prisão de ventre, tontura, enjoo e dor abdominal (para a rosuvastatina) e diarreia, enjoo, vômitos, fraqueza, dor de cabeça e dores abdominais (para a metformina). Esses dois medicamentos já são aprovados para uso clínico, sendo vendidos em drogarias, ou seja, não haverá teste de novos medicamentos: a rosuvastatina é usada no tratamento de colesterol alto e a metformina é usada para tratar diabetes. Com relação às coletas de sangue realizadas durante as 24 horas de internação, serão realizadas por profissionais da enfermagem atuantes no HC-FMRPUSP, mas, ainda assim, podem gerar inconvenientes tais como dor e hematoma no local da coleta. Caso aconteçam, esses sintomas desaparecem naturalmente, ou, se necessário, para acelerar o processo, é indicado o uso de compressas frias por 15 minutos a cada hora nas primeiras seis horas, e após esse prazo, o uso de compressa morna de 3 a 4 vezes ao dia. Vale ressaltar que seu braço será furado uma única vez em cada fase, pois deixaremos um tubinho plástico conectado à sua veia para facilitar esses processos de coleta. Também há o desconforto do deslocamento e da permanência no HC-FMRPUSP por 24 horas em cada uma das fases do estudo (porém, na primeira fase a internação já fará parte do seu tratamento com antibióticos na veia). Além disso, apesar do armazenamento e do uso dos seus dados na pesquisa obedecerem a todas as normas legais e éticas, contudo, não é possível excluir a possibilidade de haver riscos mínimos de vazamento de dados, sendo que os pesquisadores responsáveis tomarão todos os cuidados necessários para evitá-los, visto que todos os seus dados serão mantidos em sigilo e identificados apenas por códigos.

Benefícios:

Não haverá benefícios diretos para as participantes, porém a participação poderá contribuir para a melhor compreensão da saúde de gestantes no futuro.

Metodologia de Análise de Dados:

*Métodos analíticos e validação: As análises serão realizadas no Laboratório de Farmacocinética Clínica (PKCLIN) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP-USP). A rosuvastatina, a metformina e as coproporfirinas CP-I e CP-III serão analisadas em amostras de plasma empregando UPLC-MS/MS. A rosuvastatina será analisada de acordo com o protocolo desenvolvido e validado em estudo publicado por Moreira et al.⁴⁰ Para a metformina, o protocolo de análise está sendo desenvolvido e validado por outra pesquisa do nosso grupo de estudo. Com relação às coproporfirinas, os analitos CP-I, CP-III e padrão interno serão resolvidos na coluna de fase reversa Acquity BEH C18 column (50 mm x 2,1 mm, tamanho de partícula 1,7 µm, Waters Corp., Milford, EUA) e detectados pelo espectrômetro de massas XEVO TQS triplo quadrupolo (Waters Corp., Milford, EUA) com interface de eletronebulização. Será empregada a metodologia de análise MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas). Previamente à quantificação de CP-I e CP-III em plasma, o método de análise será validado de acordo com as exigências vigentes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), RDC n 27 de 17 de maio de 2012, para análise de fármacos em matrizes complexas. Os parâmetros avaliados serão linearidade, limite inferior de quantificação, efeito residual, efeito de matriz, precisão e exatidão e estabilidade das soluções padrão e das amostras de CP-I e CP-III em plasma em temperatura ambiente (curta duração), após ciclos de congelamento e descongelamento, pós-processamento e quanto ao período de armazenamento em freezer (longa duração). *Análise farmacocinética: Os parâmetros farmacocinéticos serão calculados com base nas concentrações plasmáticas obtidas experimentalmente por meio do software Phoenix WinNonlin, versão 8.1.0 (Pharsight Corporation, CA). As AUCs – área sob a curva de concentração plasmática versus tempo – dos fármacos serão calculadas pelo método linear trapezoidal do tempo zero até a última amostra coletada e extrapolada para o infinito dividindo-se a última concentração quantificada pela constante da velocidade de eliminação (kel). O clearance total (Cl/F) será obtido através da equação $Cl/F = Dose/AUC_0-\infty$. *Análise do genótipo: O DNA genômico será extraído de uma amostra de sangue total periférico (1 mL) coletada com EDTA, empregando o QIAamp DNA Blood Midi Kit (QIAGEN, Hombrechtikon, Suíça), de acordo com as instruções do fabricante. O ensaio de discriminação alélica (TaqMan® Real-Time PCR Assays, Applied Biosystems™, Foster City, CA, EUA) para a identificação dos polimorfismos (single nucleotide polymorphism - SNP) do gene SLCO1B1 c.388A>G (rs2306283, p.N130D), c.463C>A (rs11045819, p.P155T), c.521T>C e c.1929A>C (rs34671512, p.L643F) será realizado utilizando o termociclador Roche LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha), mensurando a fluorescência final emitida da clivagem na sonda específica para o alelo (Endpoint Genotyping Analysis). Serão analisados os haplótipos SLCO1B1*1 (c.388A-c.463C-c.521T- c.1929A, previamente conhecido como *1A) e *15 (c.388G-c.463C-c.521C- c.1929A). O alelo *15 é de função diminuída enquanto o alelo *1 é de função normal. *Métodos estatísticos: As análises estatísticas serão realizadas com auxílio do software R, versão 1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria), para obtenção da média, mediana, erro padrão da média e intervalo de confiança 95% (IC 95%). A disposição cinética dos fármacos marcadores será avaliada entre as fases (antes e após o tratamento) através do teste T pareado. A relação entre o clearance renal da rosuvastatina com os biomarcadores CP-I e CP-III será avaliada pelo coeficiente de Pearson. Todos os testes estatísticos terão o nível de significância fixado em 5%.

Desfecho Primário:

A pielonefrite aumenta em 30% a atividade dos transportadores OATP1B1 e OCT2, retornando à normalidade após o tratamento da infecção.

Desfecho Secundário:

As concentrações plasmáticas das citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8 e da proteína C reativa nas gestantes com diagnóstico de pielonefrite são marcadores adequados do processo inflamatório testado no modelo biológico deste projeto. As coproporfirinas CP-I e CP-III têm desempenho adequado como biomarcadores endógenos da atividade de OATP1B1 em gestantes com pielonefrite.

Tamanho da Amostra no Brasil: 13

Data do Primeiro Recrutamento: 19/09/2023

Países de Recrutamento

País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	13

Outras Informações

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

No início do tratamento com o antibiótico, as pacientes serão avaliadas por exames clínicos e por testes laboratoriais – ureia, creatinina, alanino aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), bilirrubinas, fosfatase alcalina, gama-GT, glicemia, proteínas totais, albumina, 1 glicoproteína ácida, proteína C reativa (PCR), lipidograma e hemograma. Esses exames bioquímicos e hematológicos serão realizados rotineiramente de acordo com o protocolo assistencial do setor, e tais dados serão acessados posteriormente (via prontuário eletrônico).

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

13

Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
Gestantes com pielonefrite	13	Administração dos fármacos marcadores rosuvastatina (5 mg) e metformina (50 mg), e coletas de sangue seriadas durante 24 horas de internação.

O Estudo é Multicêntrico no Brasil?

Não

Centros Coparticipantes

CNPJ	Nome da Instituição Co-participante	Nome do Responsável	Nome do Comitê de Ética	Instituição Selecionada Via Plataforma Brasil
63.025.530/0080-08	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP	Vera Lúcia Lanchote	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP - FCFRP/USP	Sim

Propõe dispensa do TCLE?

Não

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Não

Cronograma de Execução

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
Aprovações no Comitê de Ética e Pesquisa e nas Comissões de Pesquisa	01/02/2023	31/03/2023
Coleta de dados após aprovação do CEP	03/04/2023	28/06/2024
Redação e divulgação dos resultados	01/01/2025	31/03/2025
Análise dos resultados	01/07/2024	31/12/2024

Orçamento Financeiro

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R\$)
Análise de citocinas	Custeio	R\$ 11.603,20
Exames bioquímicos e hematológicos	Custeio	R\$ 2.646,80
Análise farmacocinética	Custeio	R\$ 13.000,00
Internação das participantes	Custeio	R\$ 8.586,50
Análise do genótipo	Custeio	R\$ 4.680,00
Total em R\$		R\$ 40.516,50

Outras informações, justificativas ou considerações a critério do pesquisador:

O projeto será financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por meio do Processo Temático FAPESP: 2018/0516-3.

Bibliografia:

1. Kazma JM, van den Anker J, Allegaert K, Dallmann A, Ahmadzia HK. Anatomical and physiological alterations of pregnancy. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2020;47(4):271-285. doi:10.1007/s10928-020-09677-1 2. Pinheiro EA, Stika CS. Drugs in pregnancy: Pharmacologic and physiologic changes that affect clinical care. *Semin Perinatol*. 2020;44(3):151221. doi:10.1016/J.SEMPERI.2020.151221 3. Eke AC. An update on the physiologic changes during pregnancy and their impact on drug pharmacokinetics and pharmacogenomics. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2022;33(5):581. doi:10.1515/JBCPP-2021-0312 4. Costantine MM. Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Front Pharmacol*. 2014;5 APR:65. doi:10.3389/FPHAR.2014.00065/BIBTEX 5. Koren G, Pariente G. Pregnancy- Associated Changes in Pharmacokinetics and their Clinical Implications. *Pharm Res*. 2018;35(3):1-7. doi:10.1007/S11095-018-2352-2/TABLES/5 6. Ren Z, Bremer AA, Pawlyk AC. Drug development research in pregnant and lactating women. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;225(1):33-42. doi:10.1016/j.ajog.2021.04.227 7. Brouwer KLR, Evers R, Hayden E, et al. Regulation of Drug Transport Proteins—From Mechanisms to Clinical Impact: A White Paper on Behalf of the International Transporter Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(3):461-484. doi:10.1002/cpt.2605 8. Roberts AG. The structure and mechanism of drug transporters. *Methods Mol Biol*. 2021;2342:193-234. doi:10.1007/978-1-0716-1554-6_8 9. Giacomini KM, Yee SW, Koleske ML, et al. New and Emerging Research on Solute Carrier and ATP Binding Cassette Transporters in Drug Discovery and Development: Outlook From the International Transporter Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(3):540-561. doi:10.1002/CPT.2627 10. Chu X, Liao M, Shen H, et al. Clinical Probes and Endogenous Biomarkers as Substrates for Transporter Drug-Drug Interaction Evaluation: Perspectives From the International Transporter Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;104(5):836-864. doi:10.1002/cpt.1216 11. Giacomini KM, Huang SM. More Than Pharmacokinetics: Transporters in Clinical Pharmacology. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(3):423-426. doi:10.1002/cpt.2710 12. Yamashita M, Markert UR. Overview of drug transporters in human placenta. *Int J Mol Sci*. 2021;22(23):13149. doi:10.3390/ijms222313149 13. Liu X, Pan G. Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity. Vol 1141. (Liu X, Pan G, eds.). Springer Singapore; 2019. doi:10.1007/978-981-13-7647-4 14. Li Y, Talebi Z, Chen X, Sparreboom A, Hu S. Endogenous Biomarkers for SLC Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Evaluation. *Molecules*. 2021;26(18). doi:10.3390/MOLECULES26185500 15. Chang JC, Chen YJ, Chen IC, Lin WS, Chen YM, Lin CH. Perinatal Outcomes After Statin Exposure During Pregnancy. *JAMA Netw Open*. 2021;4(12):e2141321. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.41321 16. Bateman BT, Hernandez-Diaz S, Fischer MA, et al. Statins and congenital malformations: cohort study. *BMJ*. 2015;350:h1035. doi:10.1136/bmj.h1035 17. Aschenbrenner DS. Statins No Longer Contraindicated in Pregnancy. *Am J Nurs*. 2021;121(11):22. doi:10.1097/01.NAJ.0000798992.09378.14 18. Moreira F de L, Melli PP dos S, Marques MP, et al. PGlycoprotein and Organic Anion Transporter Polypeptide 1B/Breast Cancer Resistance Protein Drug Transporter Activity in Pregnant Women Living With HIV. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2023;63(2):219-227. doi:10.1002/jcph.2152 19. Kalluri H v, Kikuchi R, Coppola S, et al. Coproporphyrin I Can Serve as an Endogenous Biomarker for OATP1B1 Inhibition: Assessment Using a Glecaprevir/Pibrentasvir Clinical Study. *Clin Transl Sci*. 2021;14(1):373-381. doi:10.1111/cts.12888 20. Neuvonen M, Tornio A, Hirvensalo P, Backman JT, Niemi M. Performance of Plasma Coproporphyrin I and III as OATP1B1 Biomarkers in Humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2021;110(6):1622-1632. doi:10.1002/CPT.2429 21. Takita H, Scotcher D, Chu X, Yee KL, Ogungbenro K, Galetin A. Coproporphyrin I as an endogenous biomarker to detect reduced OATP1B activity and shift in elimination route in Chronic Kidney Disease. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(3):615-626. doi:10.1002/cpt.2672 22. Jorquera G, Echiburú B, Crisosto N, Sotomayor-Zárate R, Maliqueo M, Cruz G. Metformin during Pregnancy: Effects on Offspring Development and Metabolic Function. *Front Pharmacol*. 2020;11:653. doi:10.3389/FPHAR.2020.00653/BIBTEX 23. Espnes KA, Hønnås A, Løvvik TS, et al. Metformin serum concentrations during pregnancy and post partum - A clinical study in patients with polycystic ovary syndrome. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2022;130(3):415-422. doi:10.1111/BCPT.13703 24. Esmaili S, Rasuoli J, Vazifekhan S. Efficacy of Metformin on Pregnancy Outcome in Healthy Overweight Pregnant Women; A Double-Blinded Parallel Randomized Clinical Trial. *Int J Pediatr*. 2021;9. doi:10.22038/IJP.2021.55022.4341 25. Stopfer P, Giessmann T, Hohl K, et al. Optimization of a drug transporter probe cocktail: potential screening tool for transporter-mediated drug–drug interactions. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(9):1941-1949. doi:10.1111/BCP.13609 26. Wiebe ST, Giessmann T, Hohl K, et al. Validation of a Drug Transporter Probe Cocktail Using the Prototypical Inhibitors Rifampin, Probenecid, Verapamil, and Cimetidine. *Clin Pharmacokinet*. 2020;59(12):1627. doi:10.1007/S40262-020-00907-W 27. Dunvald AD, Iversen DB, Svendsen ALO, et al. Tutorial: Statistical analysis and reporting of clinical pharmacokinetic studies. *Clin Transl Sci*. 2022;15(8):1856-1866. doi:10.1111/cts.13305 28. Evers R, Piquette-Miller M, Polli JW, et al. Disease-Associated Changes in Drug Transporters May Impact the Pharmacokinetics and/or Toxicity of Drugs: A White Paper from the International Transporter Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;104(5):900. doi:10.1002/CPT.1115 29. Atilano-Roque A, Roda G, Fogueri U, Kiser JJ, Joy MS. Effect of Disease Pathologies on Transporter Expression and Function. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2016;56(S7):S205-S221. doi:10.1002/jcph.768 30. Ansaldi Y, Martinez de Tejada Weber B. Urinary tract infections in pregnancy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2022;Publish Ah. doi:10.1016/j.cmi.2022.08.015 31. DeYoung TH, Whittington JR, Ennen CS, Poole AT. Pyelonephritis in Pregnancy: Relationship of Fever and Maternal Morbidity. *American Journal of Perinatology Reports*. 2019;09(04):e366-e371. doi:10.1055/s-0039-1695746 32. Hudson RE, Job KM, Sayre CL, Krepkova L v., Sherwin CM, Enioutina EY. Examination of Complementary Medicine for Treating Urinary Tract Infections Among Pregnant Women and Children. *Front Pharmacol*. 2022;13. doi:10.3389/fphar.2022.883216 33. Umeh CC, Okobi OE, Olayoye OI, Agu C, Koko J, Okoeguale J. Pyelonephritis in pregnancy from the lens of an underserved community. *Cureus*. 2022;14(9):e29029. doi:10.7759/cureus.29029 34. Duarte G, Marcolin AC, Quintana SM, Cavalli RC. Infecção urinária na gravidez. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2008;30(2):93-100. doi:10.1590/S0100-72032008000200008 35. Duarte G. Infecção urinária e gravidez. In: *Diagnostico e Conduta Nas Infecções Ginecológicas e Obstétricas*. 2nd ed. FUNPEC; 2004:169-177. 36. Corrales M, Corrales-Acosta E, Corrales-Riveros JG. Which Antibiotic for Urinary Tract Infections in Pregnancy? A Literature Review of International Guidelines. *J Clin Med*. 2022;11(23):7226. doi:10.3390/jcm11237226 37. Fashe MM, Fallon JK, Miner TA, Tiley JB, Smith PC, Lee CR. Impact of pregnancy related hormones on drug metabolizing enzyme and transport protein concentrations in human hepatocytes. *Front Pharmacol*. 2022;13. doi:10.3389/fphar.2022.1004010 38. Moreira F de L, Benzi JR de L, Pinto L, Thomaz M de L, Duarte G, Lanchote VL. Optimizing Therapeutic Drug Monitoring in Pregnant Women: a Critical Literature Review. *Ther Drug Monit*. 2022;Publish Ah. doi:10.1097/FTD.0000000000001039 39. Natália Cestari R, Donizeti Ribeiro de Oliveira R, Falcão Lima de Souza F, et al. Systemic Lupus Erythematosus Activity Affects the Sinusoidal Uptake Transporter OATP1B1 Evaluated by the Pharmacokinetics of Atorvastatin. *Clin Transl Sci*. 2020;13:1227-1235. doi:10.1111/cts.12808 40. Coelho EB, Cusinato DAC, Ximenez JP, Lanchote VL, Struchiner CJ, Suarez-Kurtz G. Limited Sampling Modeling for Estimation of Phenotypic Metrics for CYP Enzymes and the ABCB1 Transporter Using a Cocktail Approach. *Front Pharmacol*. 2020;11:1. doi:10.3389/FPHAR.2020.00022/FULL 41. Caris JA, Benzi JR de L, de Souza FFL, de Oliveira RDR, Donadi EA, Lanchote VL. Rheumatoid arthritis downregulates the drug transporter OATP1B1: Fluvastatin as a probe. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;146:105264. doi:10.1016/j.ejps.2020.105264 42. Park E. Analysis of longitudinal data in case-control studies. *Biometrika*. 2004;91(2):321-330. doi:10.1093/biomet/91.2.321 43. Hanke N, Gómez-Mantilla JD, Ishiguro N, Stopfer P, Nock V. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Rosuvastatin to Predict Transporter-Mediated Drug-Drug Interactions. *Pharm Res*. 2021;38(10):1645-1661. doi:10.1007/s11095-021-03109-6 44. Iversen DB, Andersen NE, Dalgård Dunvald AC, Pottgård A, Stage TB. Drug metabolism and drug transport of the 100 most prescribed oral drugs. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2022;131(5):311-324. doi:10.1111/BCPT.13780 45. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Drug Development and Drug Interactions: Table of Substrates, Inhibitors and Inducers | FDA. Published 2022. Accessed December 19, 2022. <https://www.fda.gov/drugs/drug-interactions-labeling/drug-development-and-drug-interactions-table-substrates-inhibitors-and-inducers> 46. Dupont WD, Plummer WD. PS power and sample size program available for free on the internet. *Control Clin Trials*. 1997;18(3):274. doi:10.1016/S0197-2456(97)00074-3 47. Garza-Ocañas L, González-Canudas J, Tamez-de la O E, et al. Comparative Bioavailability of Metformin Hydrochloride Oral Solution Versus Metformin Hydrochloride Tablets in Fasting Mexican Healthy Volunteers. *Adv Ther*. 2019;36(2):407-415. doi:10.1007/S12325-018-0853-3 48. Harris PA, Taylor R, Minor BL, et al. The REDCap consortium: Building an international community of software platform

Upload de Documentos

Arquivo Anexos:

Tipo	Arquivo
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2023_09_21_TCLE_v3_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_2166534.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2023_04_27_TCLE_v2_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Orçamento	Orcamento_v1.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2023_04_27_v2_Projeto_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2023_09_19_v3_Projeto_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2023_09_21_v3_Projeto_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Outros	Carta_emenda_2.docx
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_2080495.pdf
Outros	Carta_emenda_2.pdf
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf
Declaração de concordância	Aprovacao_UPC_GO_AMIGO.pdf
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf
Outros	DGO_806_Parecer.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2023_03_13_TCLE_v1_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2023_03_13_Projeto_Doutorado_Ana_Claudia_Rabelo_e_Silva.docx
Outros	Concordancia_CO.pdf
Outros	2023_27_04_Carta_Pendencias.pdf
Cronograma	Cronograma_v1.docx
Outros	Concordancia_FCFRP_.pdf
Outros	Carta_emenda.pdf

Finalizar

Manter sigilo da integra do projeto de pesquisa: Sim

Prazo: Até a publicação dos resultados

Justificativa da Emenda:

Alteração no texto do projeto e do TCLE, para redução de dosagem do fármaco marcador.