

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Modelagem farmacocinética populacional para avaliação da dose
profilática de cefazolina em pacientes obesos submetidos à cirurgia
bariátrica e em ratos com obesidade induzida**

Eduardo Celia Palma

Porto Alegre, março de 2018.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Modelagem farmacocinética populacional para avaliação da dose
profilática de cefazolina em pacientes obesos submetidos à cirurgia
bariátrica e em ratos com obesidade induzida**

Tese apresentada por **Eduardo Celia
Palma** para obtenção do TÍTULO DE
DOUTOR em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Teresa Dalla Costa

Porto Alegre, 2018.

Tese/Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 29 de março de 2018, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Alexandre Prehn Zavascki
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Maiara Cássia Pigatto
Vita Nova Institute – EMS

Prof. Dr. Régis Adriel Zanetti
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Palma, Eduardo Celia

Modelagem farmacocinética populacional para avaliação da dose profilática de cefazolina em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica e em ratos com obesidade induzida / Eduardo Celia Palma. -- 2018.

196 f.

Orientador: Teresa Dalla Costa.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. profilaxia antimicrobiana. 2. cefazolina. 3. obesidade. 4. modelagem farmacocinética populacional. 5. microdiálise subcutânea. I. Dalla Costa, Teresa, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 405 e no Centro Bioanalítico de Medicamentos (CBIM) da Faculdade de Farmácia da UFRGS e no Centro de Atendimento ao Obeso Classe III do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC)/Porto Alegre, com financiamento da Chamada PPSUS/FAPERGS 2013 (Processo 1298-2551/13-8).

AGRADECIMENTOS

Iniciarei agradecendo a minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Teresa Dalla Costa, pela confiança depositada, pela inestimável orientação, pelas oportunidades, pela amizade e pelo exemplo de profissionalismo e dedicação. O seu incentivo e empenho sempre contribuíram significativamente na minha formação profissional e nortearam importantes escolhas no meu caminho.

À Prof^a Dr^a Bibiana Verlindo de Araújo, pela amizade de longa data, pela convivência, pelo incentivo e por todo apoio. Os teus ensinamentos e contribuições nas modelagens e discussões foram fundamentais para condução e conclusão deste trabalho. E não menos importantes, agradeço pelos momentos de descontração e pelo exemplo de como encarar as dificuldades de forma séria e comprometida, mas sem deixar de lado a alegria de viver.

Aos colegas do Laboratório de Farmacocinética e Modelagem PK/PD: Isabel Almeida Alves, Fernando Carreño, Bruna Torres, Kelli Staudt, Carolina Miranda, Graziela Lock, Daiane Lima, Natália Girondi, Victória Helfer e Andressa Braga. A presença de vocês garantiu momentos bons de convivência, muitas trocas e amizade. Um agradecimento especial ao colega e amigo João Victor Laureano pela importante contribuição na realização da etapa pré-clínica deste trabalho, pela parceria e pelas discussões científicas e de cunho profissional.

Ao Dr. Nelson Guardiola Meinhardt por todo apoio, suporte e comprometimento para condução dos experimentos clínicos durante as cirurgias no Hospital Nossa Senhora da Conceição.

Ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Nossa Senhora da Conceição (LAC/HNSC), especialmente a Dra. Andréa Cauduro de Castro, por disponibilizar a estrutura para processamento das amostras.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e a todos os professores e funcionários da Faculdade de Farmácia da UFRGS pela oportunidade de desenvolver esta tese.

À Evelise Reche pelo amor, compreensão das minhas ausências e apoio incondicional, aspectos fundamentais para realização deste trabalho. Às minhas filhas

Helena e Marina, pelos sorrisos e abraços capazes de superar qualquer cansaço ou desânimo.

Aos meus pais pela educação, apoio dado às minhas decisões e ao incentivo para conclusão deste trabalho. A sua presença é fundamental em todos os momentos da minha vida.

DEDICATÓRIA

À minha família,
Evelise, Helena e Marina.

RESUMO

Objetivo: Os objetivos deste trabalho foram: i) desenvolver modelo farmacocinético populacional (popPK) para descrever as concentrações livres teciduais de cefazolina (CFZ) em pacientes morbidamente obesos submetidos à cirurgia bariátrica buscando determinar a melhor dose para antibioticoprofilaxia, e ii) avaliar a possibilidade de translação dos desfechos clínicos usando modelo popPK e dados farmacocinéticos de modelo animal de obesidade. **Métodos:** Foi desenvolvido e validado método analítico para quantificação de CFZ no plasma e no microdialisado de tecido subcutâneo de animais e humanos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/UV). A etapa clínica do desenvolvimento do modelo popPK, foi realizada com dados de pacientes morbidamente obesas submetidas à cirurgia bariátrica após a dose única i.v. *bolus* de 2 e 3 g do fármaco. As concentrações livres de CFZ foram determinadas no tecido adiposo subcutâneo através de microdiálise (MD), sendo amostras de plasma foram coletadas simultaneamente nas pacientes durante a cirurgia. A análise farmacocinética não-compartimental (ANC) e a modelagem popPK dos dados obtidos foi realizada utilizando os softwares WinNonlin® e Monolix®, respectivamente. Utilizando o modelo popPK desenvolvido foram realizadas simulações de Monte Carlo para avaliação da eficácia profilática, tendo como alvo terapêutico a manutenção das concentrações livres teciduais acima da concentração inibitória mínima (CIM) durante todo o tempo de cirurgia ($fT > CIM = 100\%$). Os resultados foram obtidos na forma de probabilidade de atingir o alvo (PTA), considerando bactérias com diferentes CIM e diferentes tempos de duração da cirurgia. Experimentos similares de MD foram realizados em ratos Wistar obesos induzidos por dieta, a fim de avaliar a possibilidade de utilização do modelo popPK de humanos para descrever a distribuição tecidual da CFZ em ratos obesos. Foram testadas doses de 30 e 45 mg/kg administradas via i.v. *bolus*, equivalentes às doses usadas em humanos. Os dados plasmáticos e teciduais foram avaliados por ANC e modelagem popPK e, com base em simulações de Monte Carlo, obtiveram-se os PTAs para os animais. A possibilidade de translação dos dados dos animais para humanos foi avaliada comparando-se diretamente os valores dos PTAs obtidos, e através de outras duas estratégias empregando escalonamento alométrico dos parâmetros farmacocinéticos populacionais, e comparando-se os desfechos na forma

de PTAs. **Resultados:** O método analítico para quantificação de CFZ total e livre em plasma e em microdialisado de tecido foi validado e considerado adequado para a avaliação das amostras do estudo. A ANC dos dados plasmáticos e teciduais da CFZ nas pacientes obesas mórbidas mostrou que os parâmetros farmacocinética são dose independentes na faixa 2-3 g. Na modelagem populacional, os dados plasmáticos e teciduais foram descritos simultaneamente utilizando-se modelo de dois compartimentos que incluiu a saturação da ligação da CFZ às proteínas plasmáticas e teciduais. A simulação de Monte Carlo mostrou que a dose de 2 g é adequada para atingir o alvo terapêutico para bactérias com CIM ≤ 2 mg/L por até 4 h, geralmente suficiente para cirurgia bariátrica, não justificando o aumento de dose para 3 g. Para CIM ≤ 2 mg/L a dose de 3 g mantém efeito profilático por até 5 h, situação raramente encontrada na prática. Para bactérias com CIM de 4 mg/L, 3 g de CFZ são efetivas por 3 h, não adicionando vantagem significativa frente a dose de 2 g. Na etapa pré-clínica do trabalho houve a necessidade de ajustar o modelo popPK desenvolvido para humanos para uso em ratos, devido às diferenças observadas entre as duas espécies. Diferenças nas taxas de ligação às proteínas teciduais ($B_{\text{máx}(t)}$ de 622 mg/L e 160 mg/L em ratos e humanos, respectivamente) e a presença de um mecanismo adicional de eliminação hepática saturável da CFZ nos ratos foi incorporada no modelo. A estratégia de escalonamento alométrico de *clearance* e volume de distribuição de ratos para humanos e uso das taxas de ligação a proteínas de humanos no modelo popPK de ratos permitiu translação dos desfechos clínicos, com um percentual mínimo de concordância de 121.7%. **Conclusões:** A dose profilática de 2 g é capaz de garantir uma proteção contra infecções de sítio cirúrgico em cirurgias bariátricas por até 4 h para microrganismos com CIM ≤ 2 mg/L, equivalente à dose de 3 g, não havendo justificativa para aumento de dose em obesos. O uso de uma estratégia translacional permitiu a utilização do modelo popPK de ratos para previsão dos desfechos profiláticos da CFZ em pacientes obesos.

Palavras chave: profilaxia antimicrobiana, obesidade, cirurgia bariátrica, cefazolina, microdiálise, modelagem farmacocinética populacional, translação.

ABSTRACT

Population pharmacokinetic modeling for evaluating cefazolin prophylactic dose in obese patients undergoing bariatric surgery and in diet-induced obese rats

Objective: The aims of this work were: i) to develop a population pharmacokinetic model (popPK) to describe free tissue concentrations of cefazolin (CFZ) in morbidly obese patients submitted to bariatric surgery in order to determine the most appropriate dose for antibiotic prophylaxis, and ii) to evaluate the possibility of translating the clinical outcomes using popPK model and pharmacokinetic data from obese animal model. **Methods:** An analytical methodology was developed and validated for quantification of CFZ in plasma and microdialysate of subcutaneous tissue of humans and animals by high performance liquid chromatography (HPLC/UV). The clinical stage of the popPK model development was performed based on CFZ data from morbidly obese female patients undergoing bariatric surgery following administration of a single i.v. *bolus* dose of 2 g and 3 g. Free CFZ concentrations were determined in the subcutaneous adipose tissue using microdialysis (MD). The collection of plasma samples was performed simultaneously in the patients during the surgery. Non-compartmental pharmacokinetic analysis (NCA) and popPK modeling of data were performed using WinNonlin® and Monolix® software, respectively. Using the developed popPK model, Monte Carlo simulations were performed to evaluate the prophylactic efficacy of both doses, with the therapeutic target being the maintenance of free tissue concentrations above the minimum inhibitory concentration (MIC) for the entire duration of surgery ($fT > MIC = 100\%$). The results were obtained as a probability of target attainment (PTA), considering bacteria with different MICs and diverse surgery durations. Similar microdialysis experiments were performed on diet-induced obese Wistar rats in order to evaluate the possibility of using the human's popPK model to describe CFZ tissue distribution in obese rats. Two CFZ i.v. single *bolus* doses (30 and 45 mg/kg), equivalent to those used in humans, were investigated. Plasma and tissue data were evaluated by NCA and popPK modeling and, based on Monte Carlo simulations, the PTAs were obtained for the animals. The possibility of outcome translation from animals to humans was evaluated by comparing directly the values of

the PTAs obtained, and through other two strategies using allometric scaling of the populational pharmacokinetic parameters, and comparison of the outcomes given as PTAs. **Results:** The analytical method for quantification of total and free CFZ in plasma and tissue microdialysis was validated and considered suitable for the evaluation of the study samples. The NCA of CFZ plasma and tissue data from morbidly obese patients showed dose independency pharmacokinetic parameters in the 2-3 g dose range. For populational modeling, plasma and tissue data were simultaneously described using a two-compartment model with CFZ plasma and tissue protein binding saturation. Monte Carlo simulation showed that 2 g dose is adequate to reach the therapeutic target for bacteria with MIC \leq 2 mg/L up to 4 h after administration, usually sufficient for bariatric surgery, not justifying dose increase to 3 g. For MIC \leq 2 mg/L, 3 g dose sustains prophylactic effect up to 5 h, a situation rarely found in practice. For bacteria with MIC of 4 mg/L, 3 g dose is effective for up to 3 h, not adding a significant advantage over the 2 g dose. In the preclinical stage of the work the human popPK model had to be adjusted to accommodate differences between species. Differences in CFZ tissue protein binding rates ($B_{max(t)}$) of 622 mg/L and 160 mg/L in rats and humans, respectively) and the presence of an additional mechanism of saturated hepatic elimination in rats were incorporated into the popPK model. The strategy of allometrically scaling clearance and volume of distribution from rats to humans and the use of CFZ human's protein binding in the popPK model allowed the translation of clinical outcomes, with a minimum percentage of equivalence of 121.7%. **Conclusions:** CFZ 2 g prophylactic dose guarantees protection against surgical site infections equivalent to 3 g dose up to 4 h for microorganisms with MIC \leq 2 mg/L, not justifying the dose increase in obese patients. The use of a translational strategy allowed the use of rat's popPK model to predict CFZ prophylactic outcomes in obese patients.

Key words: Antimicrobials, obesity, cefazolin, microdialysis, populational pharmacokinetic modeling.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1. Instrumental conditions of HPLC system for analysis of CFZ in different matrices.....	80
Table 2. CFZ calibration curve parameters in human and rat plasma, and microdialysate samples	88
Table 3. Intra and inter-assay precision for CFZ in human and rat samples.....	89
Table 4. CFZ method accuracy for plasma and microdialysate.....	90
Table 5. CFZ stability in human plasma, ultrafiltrated human plasma and microdialysate samples.....	91

CAPÍTULO 2

Table I. Patient's clinical characteristics.....	111
Table II. CFZ plasma and tissue pharmacokinetic parameters determined by NCA of individual profiles.....	113
Table III. Parameter estimates of the final CFZ POPPK model.....	116
Table IV: PTA% of single CFZ 2 g and 3 g intravenous bolus dose for surgical prophylaxis regimens according to pathogen MIC at different time points after dosing to morbidly obese patients.....	120

CAPÍTULO 3

Table 1. Plasma protein binding of CFZ determined by ultrafiltration in obese Wistar rats.....	147
Table 2. Total and unbound plasma pharmacokinetic parameters after i.v. <i>bolus</i> administration of CFZ 30 mg/kg and 45 mg/kg to obese Wistar rats.....	150

Table 3. Unbound subcutaneous adipose tissue pharmacokinetic parameters after i.v. <i>bolus</i> administration of CFZ 30 mg/kg and 45 mg/kg to obese Wistar rats.....	150
Table 4. Parameter estimates of the final CFZ popPK model.....	152
Table 5. Pharmacokinetic parameters obtained by popPK modeling and allometrically scaled pharmacokinetic parameters from rats to humans.....	157
Table 6. Area under the PTA vs. MIC curves and perceptual ratio between $AUC_{MIC0.5-16}$ obtained with different translation strategies and results from clinical study.....	160

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Estrutura química da cefazolina.....	40
Figura 2. Esquema de funcionamento de uma sonda de microdiálise do tipo concêntrica. No detalhe é mostrada a membrana semipermeável e a difusão de solutos através da mesma	50
Figura 3. Estrutura geral de um modelo de efeito misto não-linear (NLME), demonstrando os seus principais componentes	59
Figura 4. Representação gráfica de um modelo de efeito misto não-linear (NLME).....	60

CAPÍTULO 1

Figure 1. Representative chromatograms obtained for human blank total plasma; human plasma spiked with CFZ 100 µg/mL (standard curve); human plasma sample harvest 60 min after 2 g CFZ i.v. administration to morbidly obese patient; rat plasma sample harvest 90 min after 30 mg/kg CFZ i.v. administration.....	85
Figure 2. Representative chromatograms obtained for blank ultrafiltrated plasma; ultrafiltrated plasma spiked with CFZ 50 µg/mL (standard curve); and ultrafiltrated plasma sample harvest 120 min after 2 g CFZ i.v. administration to morbidly obese patient.	86
Figure 3. Representative chromatograms obtained for: blank microdialysate sample from human subcutaneous adipose tissue; Ringer´s lactate spiked with CFZ 7.5 µg/mL (standard curve); 90 min microdialysate sample from human subcutaneous tissue; 75 min microdialysate sample from rat subcutaneous tissue.....	87
Figure 4. CFZ mean total and unbound plasma, and unbound subcutaneous tissue concentration–time profiles after 2 g i.v. <i>bolus</i> dose to morbidly obese patients	93

Figure 5. CFZ mean total and unbound subcutaneous tissue concentration–time profiles after 30 mg/kg i.v. bolus dose to diet-induced obesity rats94

CAPÍTULO 2

Figure 1. Mean CFZ concentration-time profiles after i.v. bolus dosing of 2 g and 3 g to morbidly obese patients: total plasma (upper panel); unbound plasma (middle panel); and unbound subcutaneous adipose tissue (lower panel) (mean \pm SD).....112

Figure 2. Structure of the final CFZ POPPK model using both total and unbound concentrations in plasma and tissue. The dotted lines indicate observed data and the solid line indicates estimated data used in each compartment to build the model.114

Figure 3. Diagnostic plots for the final CFZ POPPK model. Observations vs. population and individual model predictions plot showing the goodness-of-fit. Visual predictive check (VPC) plot of the final model based on 1000 simulated replicates of the original data, Panel A: total plasma concentrations; Panel B: unbound plasma concentrations; Panel C: Free subcutaneous adipose tissue concentrations.....117

Figure 4. Monte Carlo simulations and %PTA for 2 g (solid line) and 3 g (dashed line) dosing against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* after 3 h, 4 h, 5 h and 6 h dosing.119

Supplementary Figure S1. Individual and population fitted total (upper panel), free plasma (middle panel) and free tissue (lower panel) profiles using nonlinear mixed-effect modeling approach.....124

CAPÍTULO 3

Figure 1. Mean total and unbound plasma and free subcutaneous adipose tissue concentration-time profile of CFZ after i.v. bolus dosing of 30 mg/kg (*upper panel*, n = 11) and 45 mg/kg (*lower panel*, n = 9) to obese Wistar rats mean \pm SD).....149

Figure 2. Structural model used for popPK modeling of CFZ tissue and plasma concentrations.....	151
Figure 3. Individual and populational fitting of CFZ total plasma concentrations, after a single 30 mg/kg or 45 mg/kg intravenous <i>bolus</i> dose of CFZ.....	154
Figure 4. Individual and populational fitting of CFZ free subcutaneous adipose tissue concentrations, after a single 30 mg/kg or 45 mg/kg intravenous <i>bolus</i> dose of CFZ.....	155
Figure 5. Diagnostic plots for the final CFZ popPK model. Observations vs. populational and individual model predictions plot and Visual predictive check (VPC) plot of the final model based on 1000 simulated replicates of the original data.....	156
Figure 6. Translated PTA obtained with different translation strategies for different MICs and times after 2 g and 3 g iv <i>bolus</i> doses of CFZ.....	158

LISTA DE ABREVIATURAS

ASC – Área sob a curva de concentração plasmática por tempo

ASHP - *American Society of Health-System Pharmacists*

CFZ – Cefazolina

CIM – Concentração inibitória mínima

CL – *clearance*

CL_{cre} – *clearance* de creatinina

CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*

C_{máx} – Pico de concentração plasmática

CYP - Citocromo P450

FIS - Fluido intersticial

fT>CIM - Tempo que a concentração livre permaneceu acima da concentração inibitória mínima

IMC – Índice de massa corporal

Índice PK/PD – Índice farmacocinético/farmacodinâmico

ISC - Infecções de sítio cirúrgico

MD - Microdiálise

OMS – Organização Mundial da Saúde

PTA – Probabilidade de atingir o alvo (*probability of target attainment*)

PK/PD – Farmacocinética/farmacodinâmica

popPK - Modelo farmacocinético populacional

SUS - Sistema Único de Saúde

t > CIM - Tempo em que a concentração excede a CIM num intervalo entre doses

t_{1/2} – Meia-vida

TFG – Taxa de filtração glomerular

Vd – Volume de distribuição

Vd_{ss} – Volume de distribuição no *steady state*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	23
OBJETIVOS	29
REVISÃO DA LITERATURA	33
3.1 Panorama atual sobre a obesidade mórbida e tratamento cirúrgico	35
3.2 Influência da obesidade na farmacocinética.....	37
3.3 Profilaxia antimicrobiana com cefazolina em pacientes obesos.....	40
3.4 Microdiálise	49
3.4.1. Microdiálise aplicada a antimicrobianos beta-lactâmicos no tecido adiposo subcutâneo e outros tecidos moles	52
3.5 Modelagem farmacocinética populacional.....	57
3.6 Abordagem translacional.....	61
Capítulo 1	
“Fast and sensitive HPLC/UV method for cefazolin quantification in plasma and subcutaneous tissue microdialysate of humans and rodents applied to pharmacokinetic studies in obese individuals”.....	71
Capítulo 2	
“Efficacious cefazolin prophylactic dose for morbidly obese women undergoing bariatric surgery based on evidence from subcutaneous microdialysis and populational pharmacokinetic modeling”.....	99
Capítulo 3	
“Potentialities and limitations of population pharmacokinetic modeling in translating the prophylactic effect of cefazolin from obese rats to obese patients”	129
DISCUSSÃO GERAL	167
CONCLUSÕES	175
REFERÊNCIAS GERAIS	179
ANEXOS	194

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade e sobrepeso como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal que pode causar prejuízo à saúde. A relação entre peso e altura ao quadrado, conhecida como índice de massa corporal (IMC) é comumente utilizada para classificação, onde valores de 25 a 29,99 kg/m² indicam sobrepeso e valores iguais ou acima de 30 kg/m² indicam obesidade (World Health Organization, 2016). Pacientes com IMC \geq 40 kg/m² são classificados como portadores de obesidade classe III, também chamada de mórbida ou severa, sendo esta uma condição patológica associada a um aumento significativo na morbidade e mortalidade (Kitahara *et al.*, 2014; Wolf, Kortner e Kuhlmann, 2001).

Particularmente em obesos mórbidos, o tratamento baseado em dieta e terapia farmacológica apresenta resposta inadequada. Por outro lado, estes pacientes respondem bem à cirurgia bariátrica, a qual é mais efetiva na manutenção da perda de peso (Christou e Efthimiou, 2009; Echols, 2010; Wolf, Kortner e Kuhlmann, 2001) e também no controle de algumas comorbidades associadas (Echols, 2010; Julia Xu *et al.*, 2015; Maggard *et al.*, 2005; Piché *et al.*, 2015; Sjöström, 2012) fato que tem levado a uma demanda crescente por intervenção cirúrgica nesses pacientes (Santos *et al.*, 2010; Wolf, Kortner e Kuhlmann, 2001).

A obesidade é reconhecidamente um fator de risco para a ocorrência de infecções de sítio cirúrgico (ISC) após procedimentos abdominais. Menor fluxo sanguíneo na ferida cirúrgica, maior dificuldade da técnica e tempo da cirurgia mais longo são apontados como fatores que condicionam esse risco aumentado. Taxas significativamente maiores de ISC são observadas em pacientes obesos e obesos mórbidos, sobretudo em cirurgias limpas [obesos *odds ratio* (OR) = 1,757 e obesos mórbidos OR = 2,544] e potencialmente contaminadas (obesos OR = 1,239 e obesos mórbidos OR = 1,287). A antibioticoprofilaxia em cirurgias bariátricas torna-se, portanto, um procedimento fundamental (Martins, 2001; Winfield *et al.*, 2016).

O cenário atual permite o uso de diferentes agentes antimicrobianos em vários regimes posológicos para a prevenção das ISC, embora nem sempre estejam disponíveis evidências consistentes da efetividade dos mesmos. Nas cirurgias bariátricas o antimicrobiano profilático de eleição é a cefazolina (CFZ), uma cefalosporina de 1ª geração que apresenta vantagens como a administração de dose única com duração de efeito de até 4 h, espectro de ação contra enterobactérias, baixa toxicidade e baixo custo (Bratzler *et al.*, 2013).

O ajuste de dose dos agentes antimicrobianos nos obesos mórbidos é importante, uma vez que não se conhece plenamente a distribuição tecidual, a ligação a proteínas plasmáticas e eliminação dos antimicrobianos nesses pacientes (Buehler e Yancey, 2013; Falagas e Kompoti, 2006). De acordo com a literatura, a dose profilática recomendada de CFZ em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica é de 2 g, semelhante a dose profilática utilizada em indivíduos com peso normal submetidos a cirurgias abdominais. No entanto, ainda não há consenso se essa dose é suficiente para todos os pacientes (Anlicoara *et al.*, 2014; Edmiston *et al.*, 2004; Kralingen, van *et al.*, 2011). A *American Society of Health-System Pharmacists* (ASHP) no seu recente *guideline* sobre antibioticoprofilaxia cirúrgica recomenda para pacientes com mais de 120 kg uma dose de 3 g de CFZ no pré-operatório e uma segunda dose após 4 horas da primeira. Esta recomendação, embora não apresente uma forte evidência, é justificada principalmente pelo baixo custo e pelo perfil de segurança do fármaco (Bratzler *et al.*, 2013). Destaca-se que no Brasil ainda é corrente o uso da dose padrão de 2 g em dose única, para todos os pacientes, como profilaxia da cirurgia bariátrica.

Corroborando com a recomendação da ASHP, estudo recente observou que a distribuição da CFZ no fluido intersticial do tecido adiposo subcutâneo está reduzida nos obesos mórbidos. O mesmo estudo concluiu que, em obesos mórbidos, uma dose única i.v. de 2 g pode não ser suficiente para manutenção da profilaxia para patógenos com concentração inibitória mínima (CIM) mais elevadas (≥ 4 mg/L) ou mesmo por períodos maiores que 4 horas para patógenos com CIM menores (Brill *et al.*, 2014).

Até o momento não há estudos farmacocinéticos experimentais que comparem as concentrações de CFZ no tecido adiposo, a partir de diferentes doses em obesos mórbidos submetidos à cirurgia bariátrica. Estudos comparativos desse tipo foram conduzidos em pacientes obesas durante a cesariana e os resultados encontrados foram conflitantes, com alguns estudos suportando a necessidade de uma dose de 3 g (Pevzner *et al.*, 2011; Swank *et al.*, 2015) e outros concluindo que 2 g seriam suficientes para garantir adequada profilaxia cirúrgica (Maggio *et al.*, 2015; Young *et al.*, 2015). Além disto, deve-se pontuar que nesses estudos a quantificação das concentrações teciduais foi feita em amostra de biópsia do tecido, que é uma metodologia que apresenta limitações, uma vez que considera a concentração total do fármaco no local de ação e não apenas a fração livre, farmacologicamente ativa. Deve-se considerar também que a duração da cesárea em geral não ultrapassa 1,5

h, ao contrário da cirurgia bariátrica cuja duração é, no mínimo, o dobro deste tempo. Além disso, a gravidez também impacta na farmacocinética, podendo confundir a interpretação sobre o quanto a obesidade contribui na necessidade ou não do ajuste de dose para CFZ.

Estudos com modelos animais de obesidade também poderiam auxiliar na otimização das posologias de antimicrobianos, através de uma abordagem translacional. Particularmente os ratos são muito utilizados em estudos sobre obesidade e doenças metabólicas, uma vez que reproduzem diversas características fisiopatológicas humanas das síndromes relacionadas, sendo os modelos de indução por dieta considerados os mais fidedignos para estudos farmacocinéticos (CORCORAN; SALAZAR; SORGE, 1989). Dentro da abordagem translacional, os estudos pré-clínicos também podem fornecer informações que retornem a pesquisa básica, situação que reflete o conceito “*from-bench-to bedside-and-back*”, colaborando assim no desenvolvimento de modelos animais que auxiliem na elucidação de fenômenos farmacológicos observados em humanos (Gaetani *et al.*, 2016; Grimm e Nurmi, 2015).

No entanto, da mesma forma que ocorrem com os estudos clínicos em obesos submetidos à cirurgia bariátrica, raríssimos são os estudos pré-clínicos que avaliam a disposição de antimicrobianos em modelos de obesidade, não sendo encontrados estudos com animais obesos comparando as concentrações livres de CFZ no sítio de ação. Portanto, a troca de informações e conhecimentos clínicos e pré-clínicos dessa natureza ainda são necessários para definir racionalmente a posologia profilática mais adequada para uso de CFZ em pacientes obesos.

A técnica atualmente recomendada para determinar as concentrações livres de fármacos no espaço intersticial é a microdiálise (MD). Essa técnica possui a vantagem de permitir a quantificação do fármaco no líquido intersticial do tecido sob investigação em situações praticamente fisiológicas, uma vez que as alterações causadas pela sonda de MD inserida no tecido são mínimas e seu comportamento assemelha-se ao de um vaso sanguíneo. Em estudos farmacocinéticos, a MD permite o monitoramento do conteúdo do fluido extracelular caracterizando, portanto, o fármaco no local de ação e a disposição das concentrações livre do mesmo em vários tecidos e órgãos em função do tempo (HEINEN; FREDDO; DALLA COSTA, 2001).

Entre as abordagens para tratamento de dados farmacocinéticos, uma das mais sofisticada é a modelagem farmacocinética populacional (popPK). Esta ferramenta estatística é potencialmente aplicada no estudo da disposição dos fármacos em diferentes condições clínicas (Buclin, Nicod e Kellenberger, 2009). Como principal vantagem da modelagem popPK, destaca-se a possibilidade de quantificação das características individuais que explicam a variabilidade na resposta (as covariáveis), bem como a distinção entre a variabilidade inter e intraindividual nos perfis farmacocinéticos. Além disto, a obtenção de parâmetros farmacocinéticos populacionais e a estimativa precisa e exata da variabilidade interindividual, fornece dados importantes para realização de simulações Bayesianas, tais como as simulações de Monte Carlo, na qual podem robustamente individualizar regimes de doses (Bruce Charles, 2014; Ette e Williams, 2004).

Frente ao exposto, este trabalho propõe a comparação de duas doses profiláticas de CFZ em obesos mórbidos através da avaliação das concentrações plasmáticas e da penetração tecidual em tecido adiposo subcutâneo por MD. Esta avaliação farmacocinética será conduzida em um modelo animal de obesidade e em pacientes morbidamente obesos submetidos à cirurgia bariátrica. A possibilidade de translação do modelo farmacocinético populacional desenvolvido para descrever os de roedores e humanos será investigada.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolver modelo farmacocinético populacional (popPK) para descrever as concentrações livres teciduais de CFZ em pacientes morbidamente obesos submetidos à cirurgia bariátrica com vistas a determinação da melhor dose para antibioticoprofilaxia nesses pacientes.

Objetivos Específicos

- Desenvolver metodologia analítica para quantificação da CFZ em amostras de plasma (concentração total e livre) e microdialisado;
- Determinar o perfil farmacocinético plasmático e as concentrações livres teciduais, por MD, em ratos obesos após a administração de doses únicas intravenosas de 30 e 45 mg/kg;
- Determinar o perfil farmacocinético plasmático e a distribuição tecidual, por MD, das doses de 2 g e 3 g de CFZ utilizadas para antibioticoprofilaxia de sítio cirúrgico em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica;
- Modelar os dados plasmáticos e teciduais dos pacientes com modelo popPK adequado para prever as concentrações livres de CFZ no tecido subcutâneo;
- Investigar se o modelo popPK desenvolvido para humanos pode ser utilizado para descrever os dados de animais obesos, servindo para uma abordagem translacional;
- Determinar, através de simulações de Monte Carlo, a probabilidade de alcançar concentrações teciduais livres adequadas de CFZ para garantir a profilaxia do sítio cirúrgico em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica utilizando as doses de 2 g e 3 g.

REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Panorama atual sobre a obesidade mórbida e tratamento cirúrgico

A prevalência de sobrepeso e obesidade têm alcançado proporções epidêmicas em nível global afetando seriamente países desenvolvidos e em desenvolvimento. Em 2014, a OMS estimou que mais de 600 milhões de indivíduos adultos são obesos, o que corresponde a 13% da população mundial (World Health Organization, 2016). Nas capitais brasileiras a obesidade atinge 17,9% dos adultos (BRASIL. Ministério da Saúde, 2015).

Especificamente para a obesidade mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$), os dados mais atuais disponíveis no país estimam uma prevalência de 0,81%, o que corresponde a um valor aproximado de 1,55 milhões de adultos (Oliveira, 2013). Fato preocupante, relacionado à obesidade mórbida no Brasil, relaciona-se a três estudos de base populacional conduzidos pelo Instituto Nacional de Geografia e Estatística (IBGE), que mostraram um aumento exponencial na prevalência da obesidade mórbida em adultos nos últimos 35 anos, aumentado de 0,18% (1974-1975) para 0,33% (1989) e para 0,64% (2002- 2003) (Santos *et al.*, 2010).

A obesidade mórbida ou grau III é considerada uma doença grave, crônica e multifatorial associada a fatores como predisposição genética, desordens glandulares ou gastrintestinais, alterações nervosas e psicológicas, hábitos alimentares inadequados e a falta de exercícios físico (Chalk, 2004; Huang e Hu, 2015; Tavares, Nunes e Santos, 2010). Associa-se a altas taxas de comorbidades, destacando-se o desenvolvimento de diabetes, hipertensão, dislipidemia e afecções cardio- e cerebrovasculares. Também são observados danos psicossociais relacionados ao estigma e discriminação em decorrência da alteração da imagem corporal, o que resulta em diminuição da autoestima e o surgimento de sintomas depressivos e de ansiedade (Nguyen *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2006).

Além das complicações, a obesidade mórbida está associada a um aumento significativo na mortalidade, devido principalmente à doença cardiovascular. Pacientes com esta condição e idade entre 25 e 40 anos chegam a ter uma taxa de mortalidade 12 vezes maior em do que as pessoas com peso normal na mesma faixa etária (Costa *et al.*, 2009; Wolf, Kortner e Kuhlmann, 2001). Assim, a obesidade é hoje um problema de saúde pública, com consequências físicas e psicológicas que

comprometem a qualidade e a expectativa de vida dos indivíduos, requerendo tratamento adequado.

Em pacientes obesos mórbidos ou pacientes com IMC ≥ 35 kg/m² e comorbidades associadas, a cirurgia bariátrica é a melhor opção de tratamento, uma vez que estes casos não apresentam resposta satisfatória à dietoterapia e a terapia farmacológica. Estudo prospectivo controlado realizado na Suécia, envolvendo 4047 pacientes obesos adultos, metade dos quais haviam sido submetidos à cirurgia bariátrica, concluiu que, comparado aos tratamentos usuais, a cirurgia bariátrica foi associada a uma redução significativa do número de casos de mortes cardíacas e menor incidência de eventos cardiovasculares (Sjöström, 2012). Da mesma forma, existe uma associação de forma positiva entre a cirurgia bariátrica e a melhora ou remissão das comorbidades associadas, principalmente no que se refere ao diabetes, além de determinar uma perda ponderal sustentável de peso e melhora na qualidade de vida dos pacientes (Jumbe, Hamlet e Meyrick, 2017; Silva-Neto *et al.*, 2014).

No Brasil, o Ministério da Saúde fornece o tratamento cirúrgico para obesidade mórbida desde 1999 (Santos *et al.*, 2010). Em 2012 o número de cirurgias bariátricas chegou a 72 mil, o que representou um aumento de quase 90% em relação aos cinco anos anteriores. Segundo o Ministério da Saúde, das cirurgias realizadas em 2012, 6.029 foram realizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), número que praticamente dobrou comparado às 3.139 realizadas em 2008, envolvendo um custo anual de mais de R\$ 35 milhões (Oliveira, Santos e Silva, 2015).

Diversas complicações de saúde ocorrem em pacientes morbidamente obesos que não são devidas unicamente à natureza singular do procedimento cirúrgico em si, mas, à natureza do processo intrínseco a doença que esse paciente muitas vezes apresenta, como por exemplo, infecção de ferida e abscesso intra-abdominal (Tanner e Allen, 2009). A incidência de ISC pode chegar a 15% nos pacientes morbidamente obesos submetidos à cirurgia bariátrica e a 16% em pacientes morbidamente obesos submetidos à cirurgia abdominal não bariátrica (Alexander, Rahn e Goodman, 2009; Topaloglu *et al.*, 2005).

A obesidade aumenta o risco de ISC por vários mecanismos. Nos pacientes obesos o excesso de tecido adiposo está relacionado diretamente a uma redução da perfusão tecidual e da oxigenação, fato que impacta negativamente no processo de cicatrização da ferida cirúrgica. Além disto, está associada à redução de uma das

principais defesas do organismo contra patógenos, a eliminação oxidativa por neutrófilos, processo que é criticamente dependente da tensão de oxigênio nos tecidos (Kabon *et al.*, 2004). Um segundo fator está associado ao tempo de cirurgia. Em geral, as cirurgias em pacientes obesos são mais demoradas e o tempo de cirurgia tem sido descrito como um previsor significativo para a ocorrência de ISC. Alguns estudos mostram que o aumento das taxas de hiperglicemia pré-operatória em pacientes obesos reduz a atividade linfocitária, o que constitui outro fator de risco e pode ser crítico para a ocorrência de infecções (Tjeertes *et al.*, 2015).

A maioria das infecções de sítio cirúrgico ocorrem dentro das primeiras 2-3 semanas após a cirurgia bariátrica (Christou *et al.*, 2004). A fonte mais comum de patógenos envolvidos é a microbiota endógena do paciente (incluindo estafilococos e estreptococos) e espécies da microbiota do trato gastrointestinal (incluindo bacilos Gram-negativos aeróbios e anaeróbios). Semelhantemente a outras cirurgias gastrointestinais, a infecção após a cirurgia bariátrica também pode ser polimicrobiana (Bratzler *et al.*, 2013; Chopra *et al.*, 2012).

Outros mecanismos propostos para o aumento dos riscos de infecção de sítio cirúrgico em pacientes obesos são as alterações das concentrações séricas e teciduais dos antimicrobianos utilizados na profilaxia (Czupryniak e Strzelczyk, 2004; Edmiston *et al.*, 2004).

3.2 Influência da obesidade na farmacocinética

A administração de fármacos a pacientes obesos mórbidos apresenta alguns desafios relacionados à definição da posologia mais adequada. Em geral, as doses utilizadas são baseadas em estudos clínicos e dados farmacocinéticos obtidos de indivíduos com peso normal. No entanto, em pacientes obesos as diferenças fisiológicas em relação aos pacientes com peso normal e a presença de comorbidades, que afetam o funcionamento de órgãos envolvidos principalmente com a eliminação, podem levar a alterações na disposição dos fármacos. Os dados disponíveis na literatura sobre farmacocinética em pacientes obesos ainda são considerados limitados ou pouco conclusivos.

Nos pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, a profilaxia antimicrobiana é uma das principais formas de prevenção da infecção pós-operatória, sendo aprovada

em diversos protocolos e comprovada por estudos clínicos (Bratzler *et al.*, 2004, 2013). Nesse contexto, garantir as concentrações teciduais efetivas do antimicrobiano no sítio de infecção, representado aqui pelo tecido adiposo subcutâneo, através de uma posologia correta é fundamental.

A farmacocinética dos fármacos em geral pode estar alterada nos pacientes obesos em qualquer etapa do processo de absorção, distribuição e eliminação. No entanto, nem sempre essa alteração impacta significativamente na sua disponibilidade no organismo. Por exemplo, embora possa haver associação entre obesidade e retardo no esvaziamento gástrico, a absorção dos fármacos pela via oral parece não sofrer alterações nesses pacientes. Já para a via subcutânea, a absorção pode sofrer um atraso ou ser incompleta. No caso da administração intramuscular, a dose pode inadvertidamente ser colocada no tecido subcutâneo, devido ao aumento da quantidade de tecido adiposo (Polso, Lassiter e Nagel, 2014), prejudicando o processo de absorção e, conseqüentemente, alterando a biodisponibilidade nos pacientes obesos.

O volume de distribuição (Vd), um parâmetro que estima a extensão da distribuição do fármaco para os tecidos, pode ser alterado de forma significativa nos pacientes obesos em relação aos pacientes com peso normal. A magnitude dessa alteração é considerada fármaco-específica, pois depende primariamente das características físico-químicas do fármaco, tais como peso molecular, grau de ionização, solubilidade lipídica e também da ligação às proteínas plasmáticas. A obesidade não afeta significativamente a ligação dos fármacos à albumina, mas pode causar aumento das concentrações de lipoproteínas e da glicoproteína α -1 ácida, possivelmente reduzindo a fração livre disponível para distribuição, metabolização e excreção, embora os estudos ainda sejam pouco conclusivos e sejam válidos apenas para fármacos que se ligam a essas proteínas específicas, especialmente fármacos de caráter básico que se ligam a glicoproteína α -1 ácida. Outras alterações fisiológicas, como fluxo sanguíneo e alterações no débito cardíaco, também podem alterar a distribuição dos fármacos embora a importância dessas alterações ainda não tenha sido determinada ou seja pequena, sobretudo quando nos referimos ao tecido adiposo subcutâneo que recebe somente cerca de 5% do débito cardíaco (Hanley, Abernethy e Greenblatt, 2010).

Considerando as características físico-químicas espera-se, em geral, um aumento no Vd nos pacientes obesos para aqueles fármacos com pequeno peso molecular, minimamente ionizados, com baixa ligação às proteínas plasmáticas e lipofílicos. Para fármacos com características opostas, tais como os hidrofílicos, embora possa ocorrer certa distribuição para o fluido extracelular do tecido adiposo, o aumento no Vd é discreto e, em geral, de pouca significância para esse parâmetro (Buehler e Yancey, 2013; Polso, Lassiter e Nagel, 2014)

Ao contrário da distribuição, as características físico-químicas dos fármacos influenciam pouco nos processos de metabolismo e excreção. Esses processos são muito mais influenciados por fatores fisiológicos, tais como o fluxo sanguíneo para o órgão envolvido na eliminação. O *clearance* (CL), definido como o volume de sangue do qual o fármaco consegue ser completamente removido por um determinado órgão na unidade de tempo, ocorre basicamente no fígado e nos rins.

Em pacientes obesos pode ocorrer a doença hepática gordurosa não alcoólica, com conseqüente acúmulo de gordura no fígado, ou mesmo fibrose, alterando o fluxo sanguíneo hepático e impactando negativamente no CL hepático. Adicionalmente, a atividade do citocromo P450 (CYP) também pode ser diferente em pacientes obesos. Aumento na atividade da isoforma CYP2E1 e redução da atividade da CYP3A4 em obesos são relatados na literatura, embora as evidências e o real impacto dessas alterações na farmacocinética não estejam claros a ponto de justificar o ajuste de doses. Estudos de longa data com oxazepam, lorazepam e paracetamol sugerem um aumento proporcional ao peso corporal total nas reações de Fase II do tipo glicuronidação e sulfatação, levando um aumento no CL hepático desses fármacos em pacientes obesos (Brill *et al.*, 2012; Emery *et al.*, 2003).

O efeito da obesidade sobre o CL renal está relacionado principalmente a alterações na taxa de filtração glomerular (TFG). Em pacientes obesos saudáveis têm-se um aumento na TFG, possivelmente devido a aumento no número e tamanho dos néfrons. No entanto, a obesidade na presença de comorbidades, especialmente a hipertensão, aumenta o risco do desenvolvimento de insuficiência renal crônica, fato que pode levar a uma redução da excreção renal de fármacos. De fato, o uso de equações tradicionais ou mesmo o uso do CL de creatinina como predito da TFG em obesos encontra resultados controversos. A equação clássica de Cockcroft e Gault sistematicamente supera a TFG uma vez que a secreção de creatinina tubular e o

aumento no peso devido à obesidade ou sobrecarga de fluidos não são levados em consideração (Carvalho, de *et al.*, 2012).

Estudo avaliando a influência da obesidade mórbida na farmacocinética da daptomicina avaliou a TFG através do CL do iotalamato-I¹²⁵ e não encontrou diferença entre obesos mórbidos e não-obesos. Em contraste, a TFG foi superestimada, indicando diferença significativa entre os grupos, quando estimada pelo cálculo do CL de creatinina obtido através da equação de Cockcroft-Gault, considerando o peso corporal total. Adicionalmente esse estudo não observou diferenças significativas no Vd, CL total e renal, e ligação às proteínas plasmáticas para a daptomicina entre os dois grupos (Pai *et al.*, 2007).

Achados dessa natureza justificam atenção, sobretudo quando se pretende utilizar um parâmetro farmacocinético para estimar a dose e a frequência de administração de antimicrobianos. Adicionalmente, os estudos farmacocinéticos envolvendo obesidade e antimicrobianos são realizados para fármacos específicos, dificultando a generalização, mas justificando a importância do seu conhecimento nesse contexto.

3.3 Profilaxia antimicrobiana com cefazolina em pacientes obesos

A CFZ (Figura 1), antimicrobiano β -lactâmico semissintético, é classificada como uma cefalosporina de 1ª geração, que apresenta alta atividade contra cocos Gram-positivos, incluindo estafilococos, estreptococos e pneumococos. Frequentemente *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* são sensíveis, enquanto se observa pouca atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* e *Acinetobacter*.

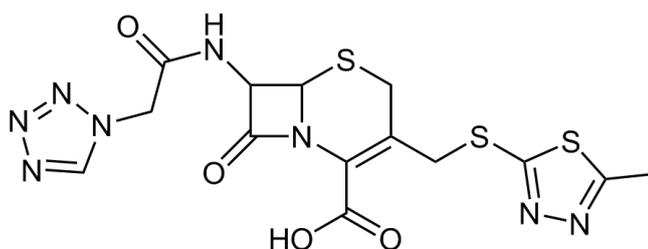


Figura 1. Estrutura química da cefazolina (Crazy-Chemist, 2007).

Seu uso na prática clínica destaca-se por se manter há anos como fármaco de escolha na profilaxia perioperatória. Para cirurgias como a bariátrica, a cefazolina é o agente profilático de escolha. É a única cefalosporina de 1ª geração administrada por via parenteral ainda em uso, estando disponível comercialmente como sal sódico, na forma farmacêutica de pó liofilizado para solução injetável.

Os parâmetros farmacocinéticos da CFZ em adultos sadios mostram concentração máxima em torno de 185 µg/mL após uma dose de 1 g e volume de distribuição de 0,19 L/kg, considerado baixo, em função dos β-lactâmicos geralmente apresentarem caráter hidrofílico e mostrarem uma fraca tendência à distribuição no tecido adiposo em pacientes com peso normal. A eliminação é predominantemente renal, por filtração glomerular e alguma secreção tubular, com uma depuração da ordem de 0,95 mL/min/kg. A meia-vida é de aproximadamente 2,0 h (Brunton, Chabner e Knollmann, 2012). A ligação às proteínas plasmática é saturável e considerada alta, entre 80 e 90% (Vella-Brincat *et al.*, 2007).

Da mesma forma que os glicopeptídeos e os macrolídeos, os β-lactâmicos são considerados antimicrobianos com efeito tempo-dependente, ou seja, uma vez que a concentração excede um valor crítico, acima da CIM, a taxa de morte bacteriana apresenta ordem zero e o aumento da concentração do fármaco não resulta mais em mudança significativa na erradicação das bactérias (Craig, 1998). O índice farmacocinético/farmacodinâmico (índice PK/PD) mais importante é, portanto, o tempo em que a concentração excede a CIM ($t > CIM$), sendo fundamental uma posologia que garanta essa condição por um percentual específico de tempo do intervalo entre doses, para garantir o sucesso terapêutico. Esse índice é influenciado tanto pelo CL quanto pelo Vd, parâmetros que por sua vez podem ser influenciados pela obesidade.

As pesquisas sobre profilaxia cirúrgica utilizando a CFZ em pacientes obesos têm se concentrado naqueles submetidos à cirurgia bariátrica ou cesariana. Forse e colaboradores (1989) realizaram um dos primeiros estudos dessa natureza e observaram que em pacientes obesos mórbidos submetidos à gastroplastia, as concentrações séricas e na biópsia do tecido adiposo de uma dose de 1 g de CFZ foram significativamente menores que nos pacientes não-obesos, tanto no momento da incisão quanto ao final da cirurgia. Somente quando os pacientes obesos receberam uma dose de 2 g do fármaco foram obtidas concentrações plasmáticas e

teciduais capazes de superar a CIM para a maioria das bactérias envolvidas na ISC. O mesmo estudo mostrou que após um período de quatro meses, durante o qual todos os pacientes com obesidade mórbida receberam profilaxia com 2 g de CFZ, a taxa de ISC caiu de 16,5% para 5,6%, representando uma redução significativa deste percentual ($p < 0,03$). O estudo concluiu que a profilaxia antibiótica deve ser especialmente adaptada às necessidades desses pacientes (Forse *et al.*, 1989).

Buscando investigar a influência da obesidade e da idade na farmacocinética e na ligação às proteínas plasmáticas da CFZ, outro estudo foi conduzido em obesos mórbidos durante cirurgia bariátrica. Os pacientes receberam 2 g do fármaco e coletas de sangue foram realizadas até 4 horas após a dose, a fim de determinar as concentrações plasmáticas livres e totais. Através de análise não-compartimental, os parâmetros farmacocinéticos e correlações foram os seguintes: CL de $4,2 \pm 1,0$ L/h com uma correlação negativa com a idade, mas positiva com o peso; e Vd de $13,0 \pm 3,1$ L com uma correlação positiva com o peso. A ligação às proteínas plasmáticas foi considerada saturável, com um percentual de ligação de 74,9% para concentrações totais de 136,5 mg/L, 30 min após a dose e de 81,4% para uma concentração total de 55 mg/L, 180 min após a dose. A mediana geral para a taxa de ligação foi de 79%, sendo considerada similar aos resultados reportados para pacientes não-obesos. Embora os autores não tenham quantificado o antimicrobiano no tecido adiposo dos pacientes, inferiram que a dose administrada foi adequada, pois em todos os pacientes as concentrações de CFZ livre plasmática permaneceram acima de 1 $\mu\text{g/mL}$, considerada CIM₉₀ para isolados meticilina-sensíveis de *S. aureus*, até 4 h após a dose. Para cirurgias com duração acima de 4 h ou a presença de isolados clínicos com CIM mais elevada, os autores consideram a possibilidade de nova dose de CFZ ou dose com outra classe de antibiótico profilático (Kralingen, van *et al.*, 2011).

Outro estudo avaliou pacientes submetidos à cirurgia aberta ou laparoscópica de Y em Roux que receberam 2 g de CFZ por via intravenosa 30-60 min antes da incisão. Neste estudo foram feitas coletas de tecido no momento da incisão e no fechamento da cirurgia, sendo a quantificação do fármaco realizada por ensaio microbiológico. Os autores relataram concentrações decrescentes de CFZ no plasma, pele e tecido adiposo, obtidos por biópsia, com o aumento do IMC, embora a diferença tenha sido significativa somente no momento do fechamento, entre a categoria de IMC mais elevado em relação às outras duas. Considerando como alvo um valor de 8

$\mu\text{g/mL}$, baseado no *breakpoint* de sensibilidade para CFZ, as concentrações terapêuticas nos tecidos foram alcançadas em apenas 48,1%, 28,6% e 10,2% das categorias de IMC de 40-50 mg/m^2 , 50-60 mg/m^2 e 60 mg/m^2 ou mais, respectivamente. Os autores sugeriram que a dose profilática de 2 g de CFZ em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica poderia não ser efetiva (Edmiston *et al.*, 2004).

Estudo conduzido com pacientes obesos grau II (IMC de 35 a 40 kg/m^2) e grau III (IMC > 40 kg/m^2) avaliando a concentração tecidual de CFZ no início e no final da cirurgia bariátrica encontrou diferença significativa entre os grupos. No início da cirurgia as concentrações do fármaco nas amostras de 1 g de tecido adiposo coletadas foram de $7,62 \pm 2,87 \mu\text{g/mL}$ e $5,15 \pm 0,65 \mu\text{g/mL}$ e ao final da cirurgia foram de $9,02 \pm 2,53 \mu\text{g/mL}$ e $6,22 \pm 1,39 \mu\text{g/mL}$, respectivamente para os pacientes obesos grau II e grau III. A dose administrada foi a mesma para ambos os grupos, 2 g no momento da anestesia, seguida por uma infusão de 1 g por 2 horas durante a cirurgia. Os autores concluíram que, nas cirurgias bariátricas, a adição de 1 g de CFZ em infusão após a dose usual de 2 g administrada garante concentrações acima da CIM no tecido adiposo para os principais agentes causadores da ISC. Além disso, observaram uma correlação inversa entre IMC e a concentração de CFZ nesse tecido (Anlicoara *et al.*, 2014).

Ho e colaboradores (2012) realizaram estudo em pacientes submetidos a procedimento cirúrgico eletivo para obesidade a fim de investigar o regime de dose mais adequado para obesos mórbidos. Os participantes foram estratificados em quatro grupos: obesos mórbidos que receberam 2 g via i.v. *bolus*, obesos mórbidos que receberam 2 g via infusão por 30 min, obesos super-mórbidos (IMC > 50 kg/m^2) que receberam 2 g via infusão por 30 min e obesos super-mórbidos que receberam 3 g via infusão por 30 min. Após a administração do fármaco foram feitas coletas de sangue para quantificação do fármaco total. As concentrações livres foram inferidas com base em um percentual de ligação a proteínas de 85%. Para cada paciente foi calculada a meia-vida da CFZ, bem como o tempo que a concentração livre permaneceu acima da CIM ($fT > CIM$), usando um *breakpoint* de 8 $\mu\text{g/mL}$. Foi considerado efeito profilático adequado para um $fT > CIM$ de 70%. Os autores observaram que, para todos os regimes e respectivos grupos testados, 2 g de CFZ

são suficientes para prover efeito profilático por 5 h, independentemente do IMC (Ho *et al.*, 2012).

Importante estudo conduzido na Holanda concluiu que a distribuição da CFZ para o fluido intersticial do tecido adiposo subcutâneo está reduzida nos obesos mórbidos, em comparação aos pacientes com peso normal, e que, portanto, a distribuição tecidual desse fármaco reduz com o aumento do peso corporal. Um dos principais diferenciais desse estudo foi o uso da MD para amostragem das concentrações livres do fármaco no líquido intersticial. O impacto dessa conclusão é significativo, considerando que o índice PK/PD para CFZ é o tempo em que a fração livre do fármaco permanece acima da CIM ($fT > CIM$). Nesse contexto, normalmente assume-se que a penetração da CFZ livre plasmática para o fluido intersticial é igual a 1, ou seja, concentrações livres no plasma são equivalentes às concentrações livres nos tecidos. Esse estudo, na verdade, demonstrou que essa distribuição em obesos mórbidos é menor que a unidade, indicando menor penetração tecidual do fármaco nessa condição. Com base no modelo farmacocinético populacional obtido os autores realizaram simulações de Monte Carlo para prever a probabilidade do fármaco atingir concentrações livres adequadas no fluido intersticial do tecido subcutâneo dos pacientes. A partir das simulações, concluíram que 2 g de CFZ são suficientes para prevenir infecções por patógenos com CIM até 1 $\mu\text{g/mL}$, por até 4 h de cirurgia em obesos mórbidos. Já para patógenos com CIM de 2 $\mu\text{g/mL}$, 3 h após a administração do fármaco, a probabilidade de obter concentrações livres efetivas no fluido intersticial fica abaixo de 1 (0,996) e, para patógenos com CIM de 4 $\mu\text{g/L}$, a probabilidade de atingir concentrações efetivas fica abaixo de 1 (0,996) a partir de 2 h após a administração do fármaco. Com base nessas observações os autores pontuam que um ajuste de dose é necessário em pacientes obesos (Brill *et al.*, 2014).

Outros estudos encontrados na literatura foram realizados durante procedimento cesáreo em pacientes obesas e, nestes casos, deve-se considerar que, assim como a obesidade, a gravidez também impacta na farmacocinética, além de ser fator de risco para desenvolvimento de ISC. Aumento no V_d e na taxa de filtração glomerular são relatados em pacientes gestantes, fato que pode confundir as interpretações sobre o quanto a obesidade contribuiu nas diferenças observadas em relação às pacientes não-obesas.

Em estudo realizado em 29 pacientes distribuídas em três faixas de IMC (< 30 kg/m², entre 30 e 39,9 kg/m² e > 40 kg/m²) foi administrada 2 g de CFZ entre 30 e 60 min antes da incisão cesárea. As concentrações do fármaco no tecido adiposo das pacientes foram inversamente proporcionais ao IMC ($r = 0,67$ e $p < 0,001$). Foram observadas concentrações de CFZ significativamente menores nos grupos com maior IMC em relação às pacientes com peso normal (IMC < 30 kg/m²), no momento da incisão. Já no momento do fechamento, não foram observadas diferenças tanto no tecido adiposo quanto nas concentrações séricas e no tecido miometrial. Cabe pontuar que as concentrações de CFZ no momento da incisão e no fechamento ficaram acima de 1 µg/g nos tecidos avaliados para todos os grupos, mas uma considerável porção de mulheres com IMC ≥ 30 kg/m² obtiveram concentrações inferiores a 4 µg/g, *breakpoint* de sensibilidade à CFZ. Embora os dados não sejam completamente conclusivos, os autores sugerem que a profilaxia na dose de 2 g pode ser falha em pacientes obesas durante a cesariana (Pevzner *et al.*, 2011).

Os dados do estudo de Pevzner e colaboradores (2011) foram utilizados posteriormente para comparação em uma coorte prospectiva que avaliou os efeitos da obesidade nas concentrações teciduais de uma dose profilática de 3 g de CFZ em procedimento cesáreo. Utilizando a mesma metodologia do estudo anterior, amostras de tecido adiposo e de sangue foram coletadas para quantificação do fármaco no momento da incisão e ao final do procedimento cirúrgico. Os resultados obtidos confirmam uma correlação inversa entre IMC e concentração do fármaco no sítio de ação. Neste estudo foi considerada uma concentração alvo de 8 µg/mL, mais alta que o estudo anterior, uma vez que o *breakpoint* de sensibilidade para a CFZ, de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) de 2012 aumentou em função dos dados de resistência a *Enterobacteriaceae*. Os resultados mostraram que com a dose de 2 g, somente 20% e 40% das mulheres com IMC entre 30 e 40 kg/m² (n = 10) obtiveram concentrações acima de 8 µg/g no momento da incisão e no fechamento, respectivamente. Com esta mesma dose, nenhuma das pacientes com IMC > 40 kg/m² superou este valor limite. Utilizando a dose de 3 g, todas as mulheres com IMC entre 30 e 40 kg/m² (n = 14) alcançaram o valor limite e para aquelas com IMC > 40 kg/m² (n = 14) os percentuais foram 70% e 43%, no momento da incisão e no fechamento, respectivamente. Os autores concluem que o estudo dá suporte ao uso

profilático de 3 g de CFZ em pacientes obesas durante a cesariana (Swank *et al.*, 2015).

Também realizado em mulheres durante a cirurgia cesárea, o estudo de Stitely e colaboradores (2012) alocou 20 mulheres com IMC > 35 kg/m² que receberam 2 g (n = 11) ou 4 g (n = 9) de CFZ administrada antes do início da cirurgia. Como esperado, as concentrações plasmáticas e teciduais foram significativamente maiores para o grupo que recebeu a dose de 4 g, tanto no momento da incisão quanto no fechamento. Os autores consideraram como alvo uma concentração plasmática acima de 4 µg/mL e tecidual acima de 4 µg/g, a fim de superar a CIM de sensibilidade para a maioria das bactérias comumente encontradas em ISC, incluindo *Staphylococcus aureus* meticilina-sensíveis, *Streptococcus spp.* e *Enterobacteriaceae*. Neste estudo, as duas doses testadas garantiram concentrações teciduais e plasmáticas acima dos valores limite estabelecidos, não sendo observado em nenhuma paciente o desenvolvimento de ISC. No entanto, os autores discutem que para microrganismos com CIM mais elevada, em geral Gram negativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* valores de 16 µg/mL possam ser necessários para alcançar > 90% de sensibilidade dessas espécies para a CFZ. Com a dose de 2 g do fármaco os valores médios de concentração no tecido adiposo no momento da incisão foram 18,40 ± 6,68 µg/g para 2 g contra os 40,11 ± 24,10 µg/g obtidos com a maior dose. Frente aos resultados, os autores concluíram que não está claro se a dose maior de CFZ produz um efeito anti-infeccioso mais protetor sobre a dose tradicional de 2 g em pacientes obesas (Stitely *et al.*, 2013).

Estudo clínico randomizado duplo cego comparando 2 g (n = 28) e 3 g (n = 29) de CFZ profilática, em mulheres com IMC entre 33 e 45,6 kg/m² durante cesariana também encontrou concentrações medianas similares no tecido adiposo subcutâneo para as duas doses e acima de um *breakpoint* de 8 µg/g, tanto no momento da incisão quanto no fechamento da cirurgia. O número de pacientes que superou este valor limite também não diferiu estatisticamente entre as doses, resultado que juntamente com os demais não justificaria uma dose de 3 g nessas pacientes (Maggio *et al.*, 2015).

Young e colaboradores (2015), utilizando desenho experimental semelhante, também compararam a farmacocinética de 2 g e 3 g de CFZ em 26 mulheres com IMC entre 37,3 e 46,2 kg/m² durante a cesariana. Adicionalmente este estudo coletou

amostras de sangue em períodos pré-determinados durante 8 h após administração do fármaco, permitindo obter parâmetros farmacocinéticos plasmáticos, e coletou amostras de tecido nos seguintes momentos: na incisão pré-fascial, no fechamento da histerotomia (aproximadamente metade da cirurgia) e no fechamento pós-fascial. Em relação aos parâmetros plasmáticos, diferença estatisticamente significativa entre as doses foi encontrada na área sob a curva (ASC). Já para o Vd, CL e meia-vida os valores não diferiram significativamente. Outro ponto diferenciado deste estudo é que os autores utilizaram um modelo linear generalizado para obter uma equação capaz de prever as concentrações plasmáticas correlacionando IMC, dose de CFZ e tempo de coleta da amostra de sangue. Com base neste modelo, cada incremento de 1 kg/m² no IMC está associado a uma redução de 13,77 µg/mL nas concentrações plasmáticas durante todo o período de tempo monitorado. Em relação à penetração no tecido adiposo subcutâneo, as concentrações de CFZ diferiram significativamente entre as doses no momento do fechamento da histerotomia e no fechamento pós-fascial. No início da cirurgia ou incisão pré-fascial, não foi observada essa diferença. O trabalho mostra também que as concentrações de CFZ no tecido adiposo permaneceram consistentemente acima da CIM de 4 µg/g para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Para um *breakpoint* de 8 µg/g as concentrações poderiam ficar abaixo somente no momento da incisão com a dose de 2 g, fato que dependeria mais do momento de administração do fármaco do que da dose. Com os resultados os autores concluíram que, para mulheres obesas, tanto a dose de 2 g quanto de 3 g de CFZ permitem alcançar níveis adequados do fármaco nos tecidos, não recomendando a alteração na dose padrão atualmente utilizada na profilaxia em cesarianas (Young *et al.*, 2015).

Os dados de concentração plasmática e tecidual publicados nos estudos de Maggio e colaboradores, (2015), Swank e colaboradores (2015) e Pevzner e colaboradores (2016), foram utilizados para realizar uma análise farmacocinética populacional de pacientes com sobrepeso e obesas (IMC entre 25,5 e 55,8 kg/m²) durante cesariana. Utilizando um modelo de dois compartimentos sem covariáveis os autores obtiveram os seguintes parâmetros farmacocinéticos: CL de 7,38 ± 5,34 L/h, Vd do compartimento central 11,8 ± 9,36 L e Vd no compartimento periférico (tecido adiposo) de 80,12 ± 55,47 L. Boa penetração tecidual foi demonstrada, baseando-se na simulação de Monte Carlo para 5000 pacientes, que encontrou um fator de

penetração tecidual para o tecido adiposo de $0,81 \pm 2,06$, sendo este um valor comparável aos 0,7 encontrado por Brill e colaboradores (2014), em pacientes obesos durante cirurgia bariátrica. Os resultados mostraram ainda que a probabilidade de atingir as concentrações de CFZ livre no tecido acima de $2 \mu\text{g/mL}$, 1,5 h após a administração do fármaco, foi de 92,4% e 94,7%, respectivamente para as doses de 2 e 3 g. Considerando que comumente as cirurgias cesarianas não ultrapassam 1,5 horas, uma dose de 2 g seria o suficiente para garantir concentrações acima da CIM para a maioria dos patógenos em pacientes com sobrepeso e obesas, sendo possível a administração de uma segunda dose para cirurgias mais longas (Grupper *et al.*, 2016).

Uma revisão recente em pacientes com peso corporal acima de 100 kg avaliou a eficácia de 2 g (n = 152) e 3 g (n = 284) de CFZ pré-operatória utilizando como desfecho a taxa de ISC, nos mais diversos tipos de cirurgias, tais como ortopédica, neurocirurgia, trauma e outras. As ISC foram identificadas com base nos registros médicos de acordo com as definições do centro de prevenção e controle de doenças do hospital, local de realização do estudo. Com base nos dados avaliados, a análise estatística encontrou um valor de *odds ratio* (OR) de 0,87 (IC 95% 0,36 – 2,06) e de p = 0,77, concluindo que em pacientes obesos com peso acima de 100 kg, uma dose de 2 g de CFZ profilática está associada a taxas de ISC similares às observadas em pacientes que receberam dose de 3 g (Peppard *et al.*, 2016).

Observa-se que os estudos em pacientes obesos tanto nas cirurgias bariátricas quanto nas cesarianas diferem bastante em termos metodológicos. Alguns estudos quantificam o fármaco em biópsia de tecido, outros inferem sobre a eficácia das concentrações teciduais com base nos dados plasmáticos e apenas um utilizou a técnica de MD para quantificação do fármaco livre no tecido adiposo subcutâneo. Além disto, os *breakpoints* de sensibilidade dos microrganismos para a CFZ, e consequentemente a concentração terapêutica alvo são bastante variáveis, o que também dificulta uma conclusão definitiva. Em revisão sistemática sobre profilaxia em cirurgia bariátrica, Fischer e colaboradores (2014) concluem que os dados atuais são insuficientes para responder questões importantes como a dose inicial e a necessidade ou não de nova dose (Fischer *et al.*, 2014). Assim, estudos com metodologias experimentais e de análise de dados mais refinadas, que deem suporte a essa decisão, continuam sendo importantes.

3.4 Microdiálise

Estudos de distribuição tecidual dos fármacos são considerados de extrema importância quando se avalia a efetividade dos antimicrobianos. Está bem estabelecido que as concentrações livres desses fármacos em tecidos específicos do organismo podem ser diferentes daquelas encontradas na circulação sistêmica e, possivelmente, mais representativas da penetração dos fármacos no sítio de ação (Brunner, Derendorf e Müller, 2005; Deitchman *et al.*, 2017). Para agentes antimicrobianos, as concentrações teciduais abaixo das consideradas terapêuticas podem levar à resistência e à falha no tratamento. Uma boa penetração tecidual e concentrações no fluido intersticial (FIS) adequadas são, portanto, de extrema importância, uma vez que o espaço que se encontra o FIS é considerado o compartimento alvo para a maioria dos agentes antimicrobianos, foco primário de muitas infecções bacterianas. É neste contexto que se encontra uma das principais aplicações da MD (Kiang, Häfeli e Ensom, 2014; Zhuang *et al.*, 2015).

Originalmente utilizada em neurociências para a quantificação de neurotransmissores no sistema nervoso central, a MD rapidamente evoluiu em termos de possíveis aplicações (Erdő, 2015). Trata-se de uma técnica minimamente invasiva capaz de monitorar de forma direta e contínua as concentrações livres e, portanto, farmacologicamente ativa, dos fármacos em praticamente qualquer tecido. Esta possibilidade de monitoramento tornou a MD uma das ferramentas mais poderosas para estudos farmacocinéticos pré-clínicos e clínicos de distribuição e penetração tecidual dos fármacos (Brunner, Derendorf e Müller, 2005; Deitchman *et al.*, 2017; Hutchinson *et al.*, 2015).

Do ponto de vista de funcionamento, basicamente a técnica mimetiza a função de um capilar sanguíneo, onde uma sonda de diálise é implantada no tecido de interesse e perfundida com uma solução fisiológica. Ao ser criado um gradiente de concentração entre o FIS e o interior da sonda de MD, ocorre a difusão das substâncias de interesse do interstício para o interior da sonda através da membrana semipermeável que esta possui, obtendo-se o microdialisado. Tecnicamente o espaço onde se concentra o FIS localiza-se entre a vasculatura e o tecido, e o fluido de perfusão apresenta composição similar ao plasma sendo isento ou com baixa concentração de proteínas (Kiang, Häfeli e Ensom, 2014). O princípio de

funcionamento de uma sonda de MD está representado no esquema da Figura 2. Na figura observa-se a sonda de MD e, na porção terminal, a membrana semipermeável (mostrada no detalhe), onde ocorre a difusão passiva sob condição *sink*.

Cabe destacar que basicamente existem quatro designs de sondas de MD: a sonda linear, a sonda em *loop*, a sonda lado-a-lado e a sonda concêntrica. Cada tipo apresenta características únicas, sendo aplicável em diferentes situações. Por exemplo, a sonda linear mostra-se muito útil para estudos de distribuição em tecidos periféricos, como o tecido adiposo, uma vez que a sua membrana semipermeável está localizada no meio da tubulação de entrada e saída do líquido de perfusão. Já a sonda concêntrica e a lado-a-lado tem como grande vantagem minimizar o trauma nos tecidos moles devido ao posicionamento da membrana na extremidade da sonda e as tubulações posicionarem-se em paralelo (Zhuang *et al.*, 2015).

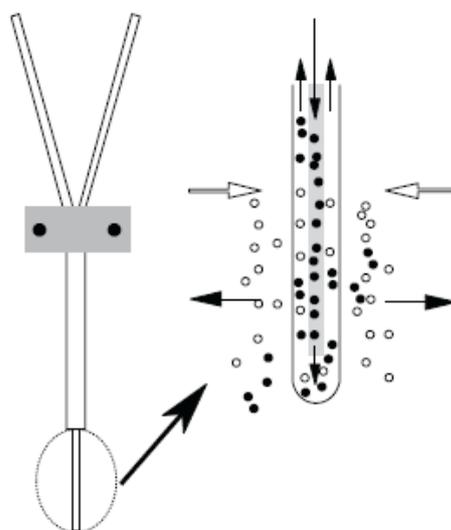


Figura 2. Esquema de funcionamento de uma sonda de microdiálise do tipo concêntrica. No detalhe é mostrada a membrana semipermeável e a difusão de solutos através da mesma (Adaptado de ZHUANG *et al.*, 2015).

Devido à condição *sink* estabelecida durante a amostragem, as concentrações coletadas no microdialisado não são iguais às concentrações livres do fármaco no tecido. A perfusão da sonda com uma solução isenta do fármaco impede que ocorra um equilíbrio entre os dois meios e assim, a concentração no microdialisado representa apenas uma fração da concentração livre tecidual. Desse modo, torna-se

importante o conceito de recuperação relativa (RR) que descreve a proporção da concentração de fármaco no dialisado e no tecido sob investigação, possibilitando assim a determinação da fração livre tecidual (Equação 1):

$$RR = \frac{C_d}{C_i} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

onde C_d é a concentração do fármaco livre no microdialisado e C_i é a concentração do fármaco livre no fluido intersticial.

É importante considerar que inúmeros fatores interferem na RR das sondas, tais como o tipo de material da membrana, o coeficiente de difusão do fármaco no tecido, o tamanho das conexões da tubulação que liga a sonda à bomba de MD, o fluxo de perfusão utilizado e o volume de líquido e tortuosidade da matriz (tecido quando MD *in vivo*). Conseqüentemente, a otimização das condições experimentais torna-se fundamental para obtenção de resultados confiáveis (Menacherry, Hubert e Justice, 1992).

Existem vários métodos para determinar RR das sondas, tais como o método do fluxo líquido zero e o método do padrão interno (Zhuang *et al.*, 2015). No entanto, nos estudos clínicos o método mais utilizado é a retrodiálise, uma vez que permite a calibração *in situ* da sonda e otimiza o tempo do experimento. Essa técnica foi utilizada no presente trabalho e está baseada na premissa de que a difusão é quantitativamente igual em ambas as direções da membrana. Em outras palavras, a perda do fármaco através da membrana de MD para o tecido é igual ao ganho do tecido para a sonda, o que é particularmente verdade para fármacos hidrofílicos. Durante a calibração através da retrodiálise, o líquido de perfusão contendo uma concentração conhecida do analito (C_p) é bombeado através da sonda, sendo determinada a concentração do analito no microdialisado (C_d) obtido:

$$RR = \left(1 - \frac{C_d}{C_p}\right) \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

onde C_p é a concentração do fármaco/analito no líquido de perfusão e C_d é a concentração do fármaco/analito no microdialisado.

Nos estudos clínicos a retrodiálise é tradicionalmente realizada antes da administração da primeira dose do fármaco. E convencionalmente, a concentração do analito no perfundido tem de ser previamente calculada por experimentos *in vitro* para determinar se não há adesão do fármaco à tubulação das sondas, o que faria com que a RR fosse diferente entre retrodiálise e diálise e, conseqüentemente, a recuperação por retrodiálise não seria adequada para calibração das sondas antes do experimento propriamente dito.

Embora a MD seja uma ferramenta poderosa, ela apresenta algumas limitações. Uma dessas é a dificuldade de se trabalhar com compostos lipofílicos, que podem aderir à membrana da sonda e afetar a taxa de recuperação. Além disso, observa-se limitação para amostrar moléculas com peso molecular muito elevado, uma vez que há maior dificuldade de difusão através dos poros da membrana, que em geral tem *cut off* de 20 kDa. Pontua-se ainda que a técnica não permite determinar a concentração do fármaco em um único tempo, obtendo-se apenas a concentração média de cada intervalo de coleta. A inserção da sonda pode produzir um trauma limitado, acompanhado de resposta inflamatória e, em experimentos muito prolongados (> 24 h), é observado fenômeno de infiltração de linfócitos e fibrose em volta da membrana (Zhuang *et al.*, 2015).

3.4.1. Microdiálise aplicada a antimicrobianos beta-lactâmicos no tecido adiposo subcutâneo e outros tecidos moles

Estão disponíveis na literatura diversos estudos utilizando MD para estimar as concentrações de antimicrobianos no FIS do tecido adiposo subcutâneo, bem como em outros tecidos moles, tais como o tecido muscular. Ressalta-se que a importância da quantificação do fármaco livre no sítio de ação, através da MD, reside no fato de que as correlações estabelecidas com os biomarcadores de efeito terapêutico serão muito mais precisas, uma vez que esta representa a fração biologicamente ativa do fármaco na biofase.

Os antibióticos β -lactâmicos historicamente foram estudados nesse contexto, devido ao seu amplo uso terapêutico. Para a piperacilina, diversos estudos avaliaram as modificações na penetração tecidual em pacientes hospitalizados. Com a MD avaliou-se, por exemplo, distribuição da piperacilina no fluido intersticial do tecido

adiposo subcutâneo e do músculo esquelético. O mesmo estudo comparou pacientes saudáveis com pacientes submetidos à cirurgia de substituição da válvula aorta e concluiu que, durante o período pós-operatório e de tratamento intensivo, as concentrações de piperacilina decrescem significativamente nos pacientes submetidos à cirurgia. Os autores indicaram que existe a possibilidade de que o mesmo seja observado para outros antimicrobianos e sugeriram que esta redução pode produzir concentrações inadequadas no sítio de ação para esses pacientes, quando utilizadas as doses tradicionalmente recomendadas (Brunner, Derendorf e Müller, 2005).

Estudo semelhante avaliou a influência do choque séptico na penetração tecidual da piperacilina. Neste trabalho os autores também encontraram uma redução significativa das concentrações do fármaco no fluido intersticial do tecido adiposo subcutâneo e do músculo esquelético nos pacientes em choque séptico, em relação aos pacientes saudáveis. Concluíram que mesmo atingindo concentrações plasmáticas efetivas, as concentrações teciduais podem ser subinibitórias nesses pacientes e atribuíram a possível falta de sucesso terapêutico a esta alteração (Joukhadar e Markus, 2005).

A MD foi utilizada também para comparação entre a administração em *bolus* e em infusão contínua da piperacilina em pacientes críticos com suspeita ou efetivamente com sepse. Embora os resultados não tenham mostrado diferença entre as concentrações alcançadas no tecido subcutâneo entre as formas de administração testadas, a dose utilizada para a infusão contínua foi 25% menor que a dose em *bolus*. Com isto os autores indicam que para patógenos com CIM mais elevadas a administração em infusão contínua é vantajosa frente à administração intravenosa em *bolus*. Além disso, a comparação de resultados com o estudo de Joukhadar e colaboradores (2001), permitiu concluir que em pacientes críticos não se observa o mesmo tipo de impacto na distribuição que o observado em pacientes com choque séptico (C, Hartmut e Müller, 2001; Roberts *et al.*, 2009).

Os carbapenêmicos também foram avaliados para a penetração tecidual em voluntários saudáveis. Para o ertapenem o fator de penetração tecidual, determinado pela relação entre $ASC_{\text{livre-tecido}}/ASC_{\text{total-plasma}}$, apresentou valores muito baixos para músculo ($0,13 \pm 0,09$) e para o tecido subcutâneo ($0,05 \pm 0,01$). Infelizmente este estudo não estabelece a relação entre a concentração livre tecidual e a concentração

livre plasmática (Burkhardt *et al.*, 2006), não permitindo estabelecer a real penetração tecidual do fármaco levando em consideração a ligação a proteínas plasmáticas.

Sauerman e colaboradores (2013) compararam as concentrações de ertapenem no tecido subcutâneo de pacientes saudáveis e diabéticos. Neste estudo, embora tenham observado uma redução das concentrações plasmáticas totais nos pacientes diabéticos, as concentrações teciduais foram similares entre os grupos de pacientes estudados. Os autores concluíram que, com uma dose de 1 g/dia administrada via infusão, o percentual de tempo que a concentração livre tecidual permanece acima da CIM ($t > CIM$) para bactérias com *breakpoint* de 1 µg/mL é de $38 \pm 25\%$, sugerindo a possibilidade de doses maiores de 1 g/dia para otimizar os efeitos bactericidas desse antibiótico para bactérias com sensibilidade moderada (Ho *et al.*, 2013).

Doripenem foi estudado em pacientes saudáveis, obtendo-se uma razão $ASC_{livre-tecido}/ASC_{livre-plasma}$ de $0,53 \pm 0,19$ e $0,84 \pm 0,28$ para o músculo esquelético e para o tecido adiposo subcutâneo, respectivamente. Os autores observaram valores bem mais elevados que os valores descritos anteriormente para o ertapenem, uma vez que nesse estudo a relação foi estabelecida com base nas concentrações livres plasmáticas calculadas, o que reforça a importância e a influência da ligação às proteínas plasmáticas na distribuição de fármacos para os tecidos (Burian *et al.*, 2012).

Estudo farmacocinético populacional com o meropenem em obesos mórbidos durante cirurgia abdominal foi conduzido a fim avaliar a influência de covariáveis nos parâmetros farmacocinéticos, bem como para prever a probabilidade de alcançar níveis teciduais adequados do fármaco. Nesses pacientes o valor populacional para a relação entre ASC no tecido adiposo subcutâneo e no plasma total foi de 0,721. A probabilidade de alcançar o alvo terapêutico, correspondente a uma concentração livre acima da CIM no tecido subcutâneo em 40% do intervalo entre doses, foi maior que 90% após administração de 1 g de meropenem como infusão a cada 8 h para bactérias com CIM até 0,5 µg/mL. Cabe ressaltar que os autores pontuam que a alta variabilidade na penetração tecidual foi considerada como limitante da previsibilidade das concentrações no tecido subcutâneo (Wittau *et al.*, 2015).

Cefalosporinas também foram avaliadas em tecido adiposo subcutâneo e músculo esquelético. De forma similar aos estudos conduzidos com a piperacilina, a MD foi utilizada para avaliar a diferença na penetração tecidual da cefpiroma em

pacientes com sepse. Os valores obtidos para $ASC_{0-240min}$ no tecido adiposo subcutâneo foram significativamente diferentes em voluntários sadios ($13,11 \pm 5,2$ g.min/L) e em pacientes sépticos ($6,90 \pm 2,56$ g.min/L). A simulação das concentrações livres teciduais *in vitro* permitiu aos autores concluir que mesmo com esta diferença de penetração tecidual a cefpiroma é um fármaco adequado para tratar infecções de tecidos moles em pacientes sépticos, respeitando-se o intervalo de 8 h entre doses (Sauermann *et al.*, 2005).

Ainda para a cefpiroma, estudo em voluntários sadios avaliou o impacto da administração concomitante de norepinefrina na penetração tecidual do fármaco. As taxas de penetração encontradas no grupo controle foram $0,81 \pm 0,39$ e $0,82 \pm 0,30$ no tecido adiposo e músculo esquelético, respectivamente, não diferindo significativamente entre os tecidos. Resultados similares foram encontrados com a administração concomitante de noradrenalina, para ambos os tecidos, mostrando que não houve alterações na penetração tecidual em função da combinação de fármacos (Steiner *et al.*, 2004).

Semelhantemente ao investigado para a piperacilina, o mesmo grupo de pesquisadores avaliou a influência da sepse na penetração tecidual da cefpiroma. Resultados similares entre os dois fármacos foram encontrados, observando-se uma redução significativa nas concentrações do fármaco no FIS do músculo esquelético nos pacientes com sepse em relação aos voluntários sadios ($p < 0,04$ para $ASC_{livre-tecido}$), embora no plasma os valores de exposição não tenham mostrado diferença entre os grupos estudados. No entanto, mesmo com essa diferença na penetração, os valores excederam $28 \mu\text{g/mL}$ durante todo o período de observação de 240 min, garantindo valores acima da CIM para todos os patógenos clinicamente relevantes (Joukhadar *et al.*, 2002).

Liu e colaboradores (2005) reportaram uma redução nos valores de ASC para cefixima e cefpodoxima no FIS do músculo esquelético de voluntários sadios comparado com as concentrações plasmáticas totais. No entanto, a relação entre $ASC_{livre-tecido}/ASC_{livre-plasma}$ para ambos os fármacos ficou próximo a 1 ($0,84 - 0,89$) sugerindo um equilíbrio praticamente completo entre o compartimento central e o compartimento periférico tecidual estudado (Liu *et al.*, 2005).

Estudo semelhante foi conduzido para o ceftobiprole, uma das cefalosporinas mais recentes, em pacientes sadios. As concentrações medidas no tecido adiposo

subcutâneo e no músculo mostram-se significativamente menores que as concentrações livres plasmáticas, obtendo-se uma relação $ASC_{\text{livre-tecido}}/ASC_{\text{livre-plasma}}$ $0,49 \pm 0,28$ para o tecido adiposo e $0,69 \pm 0,13$ para o músculo esquelético. Entre os tecidos também se observou diferença significativa, atribuindo-se as mesmas às diferenças fisiológicas e de afinidade do fármaco. Com estes dados os autores concluíram que os níveis alcançados nestes locais atingem o *breakpoint* de sensibilidade por no mínimo 40% do intervalo de dose de 8 h para microrganismos com CIM acima de 2 mg/L. Assim, o ceftobiprole pode ser considerado um agente com penetração tecidual adequada para tratar infecções cutâneas complicadas causadas por Gram-positivos e Gram-negativos com CIM igual ou inferior a 2 mg/L (Barbour, Schmidt, Sabarinath, *et al.*, 2009).

Uma importante constatação feita a partir dos estudos de penetração das cefalosporinas no músculo esquelético e no tecido adiposo subcutâneo é que se observa uma relação inversa entre a penetração tecidual desses fármacos e a taxa de ligação às proteínas plasmáticas. Além disto, assim como observado para outros antimicrobianos, a análise de regressão mostrou que a taxa de ligação às proteínas plasmáticas é o principal fator capaz de prever a penetração tecidual determinada pela relação de ASC do fluido intersticial subcutâneo/concentração plasmática total. O valor do coeficiente de determinação (R^2) da correlação utilizando a ligação às proteínas foi de 0,48 ($p < 0,004$). Quando utilizados o peso molecular e o coeficiente de partição para prever a relação de ASC, o valor de R^2 foi de 0,25 e 0,02, respectivamente. (Kiang, Häfeli e Ensom, 2014). Esse, portanto, é um fator importante a ser considerado na modelagem farmacocinética dos dados.

Estudos com cefalosporinas em pacientes obesos são menos numerosos. Destaca-se o estudo de Toma e colaboradores (2011) que compararam a penetração tecidual no tecido subcutâneo da cefoxitina em obesos submetidos à cirurgia pélvica e abdominal, com pacientes de peso normal. Esses autores observam uma correlação inversa entre a penetração tecidual do antimicrobiano e o IMC dos pacientes. A penetração tecidual foi significativamente menor nos pacientes obesos, obtendo-se uma relação entre os valores de $ASC_{\text{tecido-livre}}/ASC_{\text{plasma-total}}$ de $0,08 \pm 0,07$ em comparação com $0,37 \pm 0,26$ dos pacientes com peso normal. Embora tenham utilizado os dados plasmáticos totais para comparação, os autores sugerem que a dose usual de 2 g não é suficiente para alcançar concentrações adequadas do

fármaco no tecido subcutâneo desses pacientes, predispondo ao maior risco de ISC (Toma *et al.*, 2011).

Estudo em obesos mórbidos submetidos à cirurgia abdominal foi conduzido utilizando a cefuroxima como antimicrobiano profilático. Os autores observaram taxas adequadas de penetração tecidual para obesos mórbidos, com valores de $ASC_{\text{tecido-livre}}/ASC_{\text{plasma-livre}}$ de $0,94 \pm 0,78$ e $1,53 \pm 0,36$ para tecido adiposo subcutâneo e tecido muscular, respectivamente. Para obtenção das concentrações livres plasmáticas foi considerada uma taxa de ligação da cefuroxima a proteínas de 33%. Os autores consideram que as concentrações teciduais obtidas com a dose de 1,5 g são altas o suficiente para prevenção de infecções causadas por Gram-positivos, mas que podem ser insuficientes para algumas bactérias Gram-negativas que tradicionalmente apresentam valores de CIM mais elevados (Barbour, Schmidt, Rout, *et al.*, 2009).

Outro estudo com obesos, comentado nas seções anteriores, foi o conduzido por Brill e colaboradores (2014) comparando a penetração de cefazolina no tecido adiposo subcutâneo de pacientes obesos mórbidos e pacientes com peso normal (Brill *et al.*, 2014).

Antimicrobianos de outras classes, além dos β -lactâmicos, também foram estudados para avaliar a penetração em tecido adiposo e outros tecidos moles de pacientes. Destacam-se os vários estudos com o ciprofloxacino, a fluoroquinolona mais estudada (Bielecka-Grzela e Klimowicz, 2005; Brunner *et al.*, 1999; Joukhadar *et al.*, 2005); a linezolida (Dehghanyar *et al.*, 2005; Islinger *et al.*, 2006; Thallinger *et al.*, 2008); os macrolídeos como a azitromicina e a eritromicina (Matzneller *et al.*, 2013; Traunmüller *et al.*, 2007); e os glicopeptídeos como a daptomicina e a tigeciclina (Bulik *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2008; Traunmüller *et al.*, 2010).

3.5 Modelagem farmacocinética populacional

As características individuais dos pacientes, tais como idade, peso corporal, presença de comorbidades e o uso de medicações concomitantes, dentre outras, podem ser responsáveis por alterar a farmacocinética de muitos fármacos. Partindo deste princípio, o conceito de farmacocinética populacional (popPK) converge para uma abordagem que procura avaliar a extensão da variabilidade dos parâmetros farmacocinéticos em uma população de pacientes e identificar quais fatores são

responsáveis pela mesma, correlacionando-os entre si (Bruce Charles, 2014; Buclin, Nicod e Kellenberger, 2009; Mould e Upton, 2012). Na atualidade, a modelagem popPK é considerada uma poderosa metodologia farmaco-estatística, sendo aplicada no estudo da disposição dos fármacos em diferentes condições clínicas (Buclin, Nicod e Kellenberger, 2009).

O uso da popPK permite elucidar o impacto de um número maior de fatores individuais que usualmente afetam o perfil farmacocinético. A importância dessas correlações é particularmente útil para a administração de novos fármacos e também durante o planejamento e avaliação de novos regimes posológicos, podendo ser aplicada a estudos pré-clínicos (*in vivo* e *in vitro*) e clínicos (Ette e Williams, 2004; Sime, Roberts e Roberts, 2015).

Na modelagem popPK tanto a média dos parâmetros farmacocinéticos populacionais quanto a dispersão destes parâmetros na população são estimadas. Para isso a utilização de modelos matemáticos é fundamental, sendo os mais comumente utilizados os modelos de efeitos mistos não-lineares (NLME) (Aarons e Ogungbenro, 2010).

Nos modelos NLME, a “não-linearidade” se refere ao fato de que a variável dependente não está relacionada de forma linear aos parâmetros do modelo e suas variáveis independentes. Os “efeitos mistos” se referem à parametrização, onde os parâmetros que não variam entre os indivíduos, representados pelos parâmetros farmacocinéticos populacionais, são referidos como efeitos fixos (*fixed effects*), enquanto que os parâmetros que variam inter e intraindivíduos, são chamados de efeitos aleatórios (*random effects*) (Bonate, 2011).

A estrutura geral de um NLME está representada na Figura 3. O *modelo estrutural* é responsável por descrever o perfil de concentração x tempo típico em uma população. O *modelo estatístico* irá relacionar a variabilidade “inexplicável” (aleatória) nas concentrações dentro da população, por exemplo, a variabilidade entre os indivíduos, entre ocasião e residual, dentre outras. E o *modelo de covariáveis* explica a variabilidade prevista pelas características do sujeito (Bonate, 2011; Mould e Upton, 2013).

Graficamente um NLME seria representado de acordo com a Figura 4, onde podem ser observados os perfis de concentração x tempo para um paciente típico da população (PRED), bem como para pacientes individuais (IPRED). As diferenças

entre os pacientes individuais e a previsão típica é dada pela variabilidade interindividual, enquanto que os desvios em relação às observações individuais são devidos à variabilidade intraindividual (erro residual) (Bon *et al.*, 2017; Riviere *et al.*, 2016).

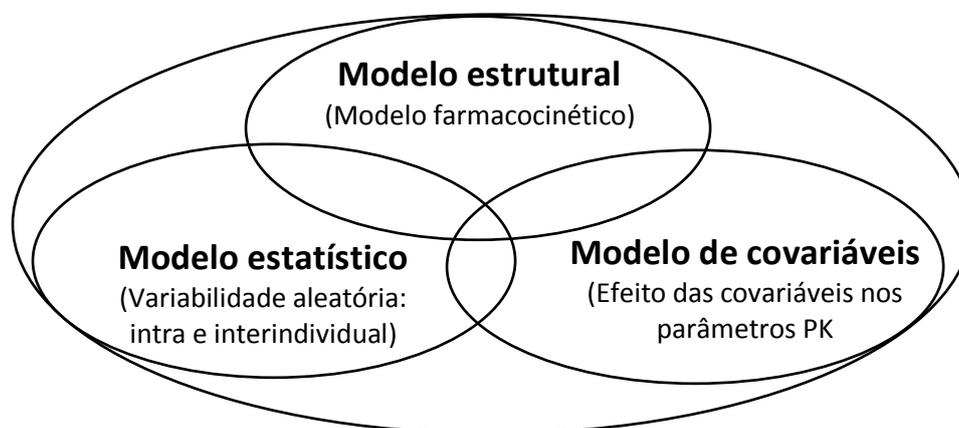


Figura 3. Estrutura geral de um modelo de efeito misto não-linear (NLME), demonstrando os seus principais componentes (adaptado de BON *et al.*, 2017).

Matematicamente os modelos NLME podem ser escritos no seguinte formato:

$$DV = IPRED + \varepsilon_{ij}, \text{ onde } IPRED = PRED + \eta_i, \text{ e } IPRED = f(\phi_i, t_{ij}) = \mu + \eta_i \text{ (Eq. 3)}$$

onde DV corresponde a uma variável observada (concentração plasmática, por exemplo) medida no indivíduo i^{th} no tempo específico t_{ij} , ϕ_i é o vetor do parâmetro farmacocinético individual (como CL_i , Vd_i , dentre outros), IPRED é o valor da variável observada no tempo t_{ij} para um indivíduo com parâmetros ϕ_i , e ε_{ij} é uma variável aleatória independente representando o termo de erro (variabilidade intraindividual). O μ caracteriza um valor típico de um parâmetro farmacocinético populacional (CL_{pop} , Vd_{pop} , dentre outros) do modelo. As fontes de variação entre os parâmetros individuais ϕ_i podem ser explicadas através das características da população (covariáveis) que podem ser incluídas aditiva ou proporcionalmente a μ . As variáveis randômicas independentes η_i representam as diferenças inexplicáveis entre os valores de um parâmetro individual ϕ_i e sua média μ . Para as variáveis randômicas ε_{ij} e η_i comumente se assume uma distribuição normal enquanto para DV e ϕ_i podem ter uma distribuição normal ou log-normal (Riviere *et al.*, 2016).

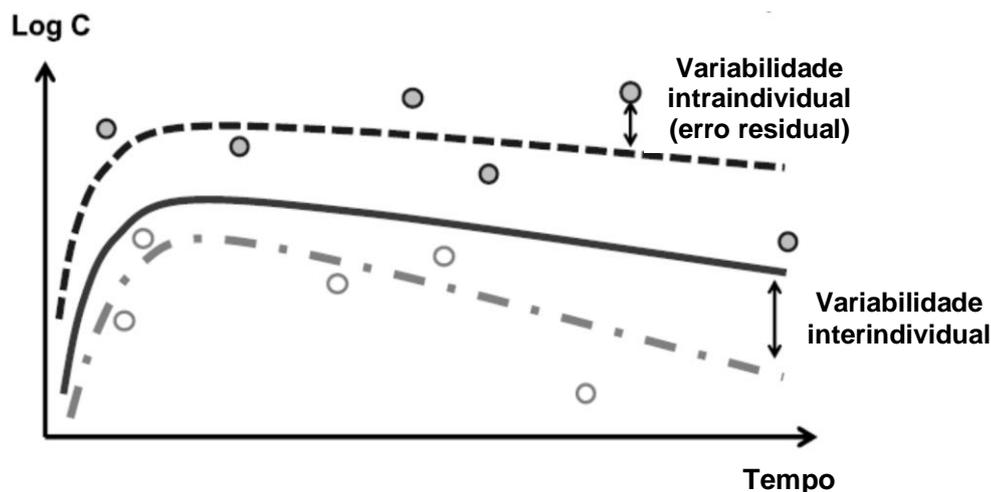


Figura 4. Representação gráfica de um modelo de efeito misto não-linear (NLME). Legenda: ● e ○: observações; —: média da população (PRED); - - - - -: previsão individual do paciente 1 (IPRED 1); e — . — . — .: previsão individual do paciente 2 (IPRED 2) (Adaptado de RIVIERE et al., 2016).

A modelagem popPK contrasta com os métodos de análise farmacocinética tradicionais - as análises compartimentais e não-compartimentais - onde a variabilidade dos parâmetros entre os indivíduos é frequentemente minimizada pelo uso de uma população homogênea. Dentre as vantagens do uso da modelagem popPK destaca-se a possibilidade de utilização de dados adquiridos em situações clínicas reais, onde muitas vezes os dados disponíveis são escassos ou esparsos, mas oriundos de um grande número de indivíduos. Essa possibilidade permite a realização de investigações farmacocinéticas em populações especiais como neonatos, idosos, pacientes com HIV, pacientes críticos, paciente com câncer e nas fases II e III de desenvolvimento de fármacos, onde o número de amostras obtidas por indivíduos é limitado por questões éticas ou médicas, além de reduzir custos (Ette e Williams, 2004).

A combinação de uma estimativa precisa e exata da variabilidade interindividual, bem como a obtenção de parâmetros populacionais de um fármaco em determinada situação clínica, representa grande utilidade para seleção de uma dose inicial em determinada terapia, bem como fornece dados importantes para realização de análises Bayesianas, na qual pode-se individualizar regimes de doses de modo mais robusto (Bruce Charles, 2014; Ette e Williams, 2004). As análises Bayesianas serão discutidas a seguir, no tópico sobre Simulação de Monte Carlo.

Dentre as desvantagens dos modelos popPK está a necessidade de dispor de farmacocineticistas e farmacometristas qualificados e capazes de implementar técnicas matemáticas e estatísticas adequadas para estimativa dos parâmetros. O tempo despendido para a construção, diagnóstico e ajustes do modelo também pode ser considerada uma outra desvantagem (Bruce Charles, 2014; Ette e Williams, 2004).

Estudos utilizando modelagem popPK para avaliar a profilaxia antimicrobiana com cefazolina em pacientes obesos foram realizados e encontram-se comentados no tópico específico (Brill *et al.*, 2014; Grupper *et al.*, 2016; Schmitz *et al.*, 2015; So, Kuti e Nicolau, 2014).

3.6 Abordagem translacional

O termo *pesquisa translacional* tem sua origem creditada ao Instituto Nacional de Câncer (NCI) dos Estados Unidos, na década de 90. Na época, o termo se referia a investigações que abrangiam diferentes tipos de pesquisa ou de sistemáticas de trabalho dentro de um determinado tipo de pesquisa. Desde a criação do termo, a pesquisa translacional foi incorporando etapas na cadeia de conhecimento, incluindo aspectos inerentes à pesquisa e ao desenvolvimento, passando a englobar processos produtivos e também a incorporação de novos produtos e processos nas práticas de cuidado à saúde. Hoje, a literatura inclui uma infinidade de tentativas em vários campos para definir esse termo (Guimaraes, 2013; Rubio *et al.*, 2010).

Uma definição bastante objetiva na atualidade é dada pelo próprio NCI, que descreve a pesquisa translacional como o processo pelo qual os resultados da pesquisa realizada no laboratório são usados para desenvolver novas formas de diagnosticar e tratar doenças (National Cancer Institute, 2016).

A abordagem que será dada neste tópico é aquela considerada por muitos autores como o momento “T1” de translação, onde a pesquisa básica fornece e dá suporte para a pesquisa clínica (Crowley *et al.*, 2003; Dougherty e Conway, 2008; Khoury *et al.*, 2007). Mais especificamente direcionada à possibilidade de utilização de modelos animais pré-clínicos para previsão dos efeitos clínicos nos pacientes.

Dentre os modelos animais utilizados, o rato (*Rattus norvegicus*) e o camundongo (*Mus musculus*) continuam sendo os principais para o estudo de fisiologia, farmacologia, toxicologia e neurocomportamento, fato comprovado pelo

número de estudos científicos publicados utilizando estas espécies ao longo do tempo (Dietrich, Ankeny e Chen, 2014). Particularmente para estudos farmacocinéticos a utilização do rato é vantajosa, sobretudo quando se considera o a realização de coletas e o volume de sangue e outros fluidos que podem ser obtidos para posterior análise.

Os ratos são amplamente utilizados em estudos sobre obesidade e doenças metabólicas, não somente devido aos seus diversos paralelos fisiológicos com os seres humanos. Por exemplo, animais alimentados com a “dieta de cafeteria” reproduzem de forma robusta e adequada a síndrome metabólica humana e patologias relacionadas sendo usado para compreender fatores genéticos que influenciam a obesidade (Sampey *et al.*, 2011). Avançando neste aspecto, os *clusters* de genes que determinam as diferenças de respostas a esta dieta entre diferentes cepas de ratos também foram identificados, utilizando monócitos do sangue periférico, em ratos Wistar-Kyoto e ratos Lewis (Martínez-Micaelo *et al.*, 2016). Além disso, foi identificado e caracterizado um fenótipo com envelhecimento e estresse-oxidativo acelerado no músculo esquelético na prole de fêmeas alimentadas com baixos níveis de proteínas, sugerindo que uma intervenção antioxidante pós-natal pode reduzir o aumento do risco de diabetes e doença cardiovascular em indivíduos expostos *in útero* a má-nutrição materna (Tarry-Adkins *et al.*, 2016). O uso de ratos também se mostrou útil para auxiliar na elucidação dos mecanismos mediados pela serotonina que influenciam na suscetibilidade para desenvolvimento da obesidade na idade adulta (Martin-Gronert *et al.*, 2016). Estudos como esses exemplificam situações em que a pesquisa translacional também pode assumir um sentido inverso, onde os conhecimentos, hipóteses e ideias oriundos da pesquisa clínica retornam para a pesquisa básica objetivando a elucidação de mecanismos desconhecidos. Esse ciclo de informações e conhecimentos da pesquisa básica para a clínica e vice-versa, ilustra o conceito “*from-bench-to bedside-and-back*” (Gaetani *et al.*, 2016).

A importância da retroalimentação entre a pesquisa pré-clínica e clínica também é evidenciada nos estudos sobre distúrbios alimentares, tais como a anorexia nervosa, compulsão alimentar e, novamente, obesidade. Pesquisadores italianos mostraram que o polimorfismo genético do receptor glicocorticóide Bcll nos pacientes está relacionado com as diferentes manifestações psicopatológicas da anorexia nervosa. Também reforçam a importância de que os tratamentos clínicos devem estar

baseados em uma avaliação psicopatológica precisa e a necessidade de identificar novos alvos farmacológicos para desenvolvimento de terapias mais seguras e efetivas, considerando a elevada taxa de insucesso com os tratamentos tradicionais (Cellini *et al.*, 2010). Particularmente, a identificação de novos alvos farmacológicos recorre a utilização de modelos animais que mimetizem adequadamente as manifestações da patologia em humanos, retroalimentando o ciclo entre os diferentes níveis de pesquisa (Gaetani *et al.*, 2016).

Poucos estudos translacionais na área farmacocinética são encontrados com ratos obesos. Corcoran, Salazar e Sorge (1989) publicaram um estudo pioneiro comparando a adequabilidade de dois modelos animais de obesidade para estudos farmacocinéticos. Nesse trabalho foram utilizados o modelo de indução de obesidade por dieta em ratos Sprague-Dawley e ratos Zucker geneticamente obesos. Os autores concluíram que o modelo de obesidade induzido por dieta reproduz qualitativamente um maior número de características fisiológicas que controlam ou influenciam a depuração e o volume de distribuição dos fármacos em humanos. Os ratos Zucker demonstraram forte discrepância em relação aos humanos em aspectos como *clearance* de creatinina, massa magra e função tireoideana. Os autores concluíram que o modelo de obesidade induzido por dieta é superior para avaliação e translação de aspectos farmacocinéticos em obesidade. Embora esse estudo não tenha utilizado nenhum fármaco para avaliação ou comparação, ele fornece subsídios relevantes para escolha do modelo pré-clínico de obesidade mais adequado para ser usado em estudos farmacocinéticos (Corcoran, Salazar e Sorge, 1989).

Pai e colaboradores (2013), buscando validar um modelo pré-clínico, utilizaram modelo de obesidade induzido por dieta para avaliar as diferenças farmacocinéticas e toxicológicas após administração de gentamicina intraperitoneal em doses únicas de 12,5, 18,75 e 25 mg/kg a ratos obesos e não obesos. Nesse estudo os perfis farmacocinéticos mimetizaram aqueles observados em humanos com elevado peso corporal. Para humanos, doses de 7 mg/kg estão associadas a concentrações plasmáticas de aproximadamente 40 mg/L após 1 h de infusão intravenosa, as quais declinam de forma bifásica para valores entre 5 e 10 mg/L após 3 h. Comparativamente, os valores mais altos de pico de concentração após 0,5 h da administração nos animais foram atribuídos à diferença na via de administração utilizada. O mesmo declínio bifásico foi observado nos animais e, em 3 h as

concentrações observadas ficaram entre 3 e 10 mg/L, mostrando excelente similaridade com os dados de humanos. Adicionalmente, os valores estimados de ASC_{0-24} também mostraram-se alinhados com os esperados para pacientes tratados com doses de 7 a 10 mg/kg de gentamicina. Como conclusão os autores pontuaram que o modelo pré-clínico utilizado apresentou potencial para auxiliar na extrapolação da dose em função do tamanho corporal e para melhorar a avaliação do potencial toxicológico no desenvolvimento de antimicrobianos.

Ainda na linha das terapias antinfeciosas, os efeitos da obesidade induzida por dieta na farmacocinética também foram investigados para antirretrovirais. A influência da obesidade na farmacocinética do nelfinavir foi avaliada, enfocando nas alterações de depuração e distribuição causadas pela dislipidemia e esteatose hepática. A redução na fração livre plasmática observada foi atribuída ao aumento plasmático de lipoproteínas. Valores de distribuição e depuração, respectivamente 39,5 e 69,1% menores que os controles, causados pela menor fração livre plasmática, foram responsáveis pelo aumento da ASC nesses animais. Por outro lado, a ASC da fração livre nos ratos obesos foi ligeiramente inferior ao controle, demonstrando que a concentração plasmática de nelfinavir em ratos obesos necessária para obter o mesmo efeito farmacológico é maior do que nos animais controle. Embora os autores não façam nenhum tipo de comparação direta com dados farmacocinéticos humanos, a transposição destes resultados destaca a importância do monitoramento terapêutico para a terapia antirretroviral, sobretudo em pacientes que apresentam síndrome metabólica com quadro de dislipidemia e acúmulo de gordura visceral, incluindo esteatose hepática (Sugioka *et al.*, 2009).

Utilizando o mesmo modelo de obesidade foi observado que para o atazanavir os valores de ASC plasmática obtidos após administração por diferentes vias foram significativamente maiores nos animais obesos do que nos animais controle. Consistentemente, a depuração plasmática total nos animais obesos após administração i.v. foi aproximadamente a metade da observada nos animais controle ($0,8 \pm 0,07$ L/h/kg *versus* $1,55 \pm 0,18$ L/h/kg). Além disso, o percentual de fração livre no plasma também foi significativamente menor nos animais obesos, sendo o aumento das lipoproteínas plasmáticas observado nesses animais o principal fator associado aos resultados uma vez que o atazanavir apresenta elevada lipofilia. O volume de distribuição, por consequência, também foi reduzido nos animais obesos.

A redução do metabolismo hepático foi evidenciada por uma menor extração hepática nos animais obesos, correspondente a apenas 62% do observado nos animais controle. Da mesma forma que o estudo anterior, os autores extrapolam os resultados, sugerindo que os regimes de dosagem devem ser cuidadosamente avaliados em pacientes obesos, recomendando-se levar em conta os dados de monitoramento terapêutico para otimizar as posologias (Kobuchi *et al.*, 2013).

É possível concluir que os modelos de obesidade em ratos mais utilizados e que demonstram maior potencial de translação em estudos farmacocinéticos são aqueles induzidos por dieta. A literatura carece de mais trabalhos que demonstrem a aplicação destes modelos relacionando farmacocinética e obesidade, sendo, portanto, relevante a investigação utilizando outros fármacos, particularmente outros antimicrobianos.

3.7 Simulações de Monte Carlo

Por definição, uma simulação é baseada em um modelo matemático definido que projeta um possível resultado futuro. Difere de uma modelagem, na qual se propõem um modelo baseado em dados disponíveis, olhando, portanto, para um evento já ocorrido. As simulações na área farmacêutica têm sido utilizadas com inúmeros propósitos que incluem a descoberta e avaliação de novos fármacos, a otimização de processos e posologias e, mais recentemente, o delineamento de estudos clínicos (Bonate, 2005).

As simulações necessitam de uma abordagem estatística, uma vez que trabalham com o conceito de probabilidade. Atualmente as simulações têm utilizado a estatística bayesiana onde as probabilidades estão associadas à plausibilidade ou incerteza sobre uma quantidade aleatória, evento ou hipótese. Esta análise constitui uma abordagem rigorosa para estimar a distribuição de probabilidade de variáveis desconhecidas, utilizando todos os conhecimentos, dados e informações disponíveis sobre um determinado sistema (Chen *et al.*, 2004; Kinas e Andrade, 2010).

O grande êxito dos modelos bayesianos para estimar as probabilidades está na adequada integração dos diferentes tipos de informações disponíveis a fim de escolher e parametrizar modelos de risco. Paradoxalmente, uma das principais dificuldades no uso das técnicas bayesianas consiste na combinação da informação

prévia com a informação dos dados, o que geralmente é descrito através de fórmulas difíceis de serem tratadas com exatidão. Conforme aumenta a complexidade dos problemas abordados, mais complexas serão as funções a serem integradas. Assim, a integração de funções complexas, e muitas vezes multidimensionais, é um aspecto extremamente importante na inferência bayesiana (Ehlers e Justiniano, 2003; Gamerman, 2013).

Neste contexto se insere o método de simulação de Monte Carlo que, resumidamente, engloba técnicas computacionais para a solução de problemas matemáticos e que, fundamentalmente, incorpora uma variabilidade randômica no modelo. Esse método é utilizado não somente para cálculo de integrais, mas também como ferramenta para simulação de comportamentos estocásticos, sendo de ampla aplicação nas mais diversas áreas (Johansen e Evers, 2007).

Na área da farmacologia a simulação de Monte Carlo é considerada uma poderosa ferramenta para estabelecer a probabilidade de atingir um alvo farmacodinâmico específico utilizando um modelo farmacocinético populacional adequado permitindo, por exemplo, testar regimes de dose alternativos. Especificamente na antibioticoterapia, a simulação incorpora a variabilidade farmacocinética potencial entre os pacientes prevendo a exposição ao antibiótico e permite o cálculo da probabilidade de alcançar um alvo crítico para o intervalo de possíveis valores de CIM (Butterfield, Lodise e Pai, 2012).

Cabe ressaltar que, embora o CIM seja um indicador da potência do fármaco, ela não prevê uma resposta farmacológica *in vivo*, situação em que as concentrações do antimicrobiano flutuam, seja no sangue ou no tecido de interesse. Para prover uma aproximação mais fidedigna, utilizam-se como alvo um dos índices farmacocinéticos-farmacodinâmicos (PK/PD): a relação entre área sobre a curva e CIM (ASC/CIM), a relação entre concentração máxima e CIM ($C_{m\acute{a}x}/CIM$) ou o tempo em que a concentração permanece acima do CIM ($t > CIM$) (Maglio e Nicolau, 2004).

Considerando o índice PK/PD mais relevante para previsão do sucesso terapêutico, os antimicrobianos podem ser divididos em tempo-dependentes (ou concentração-independentes) e concentração-dependentes (ou tempo-independentes). No primeiro grupo estão os β -lactâmicos, glicopeptídeos e macrolídeos. Para esses fármacos, uma vez que a concentração excede um valor crítico de CIM, a taxa de morte bacteriana apresenta ordem zero e o aumento da

concentração do fármaco não resulta mais em mudança significativa na erradicação da bactéria. Nesse caso o índice PK/PD que melhor se correlaciona com a eficácia é $t > CIM$. Por exemplo, para β -lactâmicos e eritromicina a taxa máxima de morte bacteriana é observada quando se mantêm as concentração livres do antimicrobiano acima da CIM por 70% do tempo de um intervalo entre doses (Craig, 1995; Nicolau, 2003). No segundo grupo estão os aminoglicosídeos, as fluoroquinolonas e a daptomicina. Para esses, o regime de dose ideal deve maximizar a concentração, pois quanto maior este valor mais rápido e intensa será a taxa de morte bacteriana. As relações ASC/CIM e $C_{m\acute{a}x}/CIM$ são os índices preditores da eficácia terapêutica. Para aminoglicosídeos, uma razão de no mínimo 8-10 para $C_{m\acute{a}x}/CIM$ é desejada para prevenir o desenvolvimento de resistência; e para o tratamento de infecções por Gram-negativos com fluoroquinolonas, uma relação de aproximadamente 125 é adequada, podendo ser reduzida para 40 contra bactérias Gram-positivas. Cabe ressaltar que esses valores para as relações podem variar dependendo do fármaco, do tipo de patógeno e da infecção (Asín-prieto e Rodríguez-gasc, 2015; Nielsen *et al.*, 2007).

Conforme destacado, a simulação de Monte Carlo utilizando um modelo farmacocinético populacional tem sido muito utilizada na otimização de regimes de dose para antimicrobianos. Uma vez definido o índice PK/PD de interesse avalia-se a probabilidade de atingir esse alvo ou o PTA - *probability of target attainment* do regime posológico sob investigação.

Estudos utilizando a simulação de Monte Carlo para avaliação da profilaxia cirúrgica com CFZ são relatados na literatura. Estudo realizado em cesariana em pacientes com sobrepeso e obesas simulou dados de concentração plasmática e concentração no tecido adiposo das pacientes. Nesse estudo o índice PK/PD considerado foi a manutenção das concentrações acima de 2 $\mu\text{g/mL}$ durante todo o período avaliado (100%), sendo o valor de CIM definido com base no CIM90 para *S. aureus* metilicina-sensível e na sensibilidade da maioria das *Enterobacteriaceae*. Valores de PTA abaixo de 80% não foram considerados adequados. Após 1,5 h da administração, a PTA no tecido, foi de 92,4% e 94,7%, respectivamente para as doses de 2 e 3 g, mostrando equivalência nos resultados e não justificando o uso de doses mais altas em pacientes obesas (Grupper *et al.*, 2016).

O estudo de Brill e colaboradores (2014) com a CFZ apresentou simulações de Monte Carlo que tiveram como alvo a capacidade das posologias de atingir a CIM em diferentes períodos de tempo, considerando como satisfatória a manutenção de concentrações teciduais livres iguais ou superiores à CIM durante todo o período de tempo simulado. Valores de PTA abaixo de 100% foram considerados indicativos de insucesso terapêutico. As simulações concluíram que a dose de 2 g i.v. administrada antes da incisão seria suficiente para prevenção de infecções causadas por patógenos com CIM de 1 mg/L em procedimentos de até 2 horas. No entanto quando a CIM das bactérias é maior, uma nova dose pode ser necessária após 2 h, uma vez que, o valor de PTA para uma CIM de 4 mg/L em 180 min pós dose decai para 0,909 nos pacientes mórvidos em oposição aos 0,995 observados em não-obesos e, para bactérias com CIM de 2 mg/L, têm-se um PTA de 0,956 contra 0,997 em obesos mórvidos e não obesos, respectivamente, em 240 min pós-dose. Concluem ainda que para cirurgias com duração maior do que 4 h, uma dose extra é necessária, mesmo quando se consideram bactérias com CIM de 1 mg/L. Cabe pontuar que valores de PTA de 100% representam uma condição pouco utilizada na literatura, podendo ser questionada, já que em geral trabalha-se na faixa de PTA de 80 a 90%, como sendo adequada.

Utilizando a técnica de MD, estudo utilizou a simulação de Monte Carlo para avaliar de doses profiláticas i.v. de CFZ de 1 e 2 g administradas a cada 6, 8 e 12 h a pacientes críticos pós-traumas. O alvo considerado foi a manutenção de concentrações livres teciduais acima da CIM por no mínimo 50% do intervalo de dose. A posologia foi considerada adequada se o valor de PTA atingisse um mínimo de 85%. De forma bastante interessante, os autores também incluíram na simulação valores de *clearance* de creatinina (CL_{cre}) de 50 a 215 mL/min e observaram que conforme aumenta o valor do CL_{cre} há uma redução do valor do PTA para uma mesma CIM. Para pacientes com CL_{cre} de 50 mL/min, 1 g a cada 12 h atinge um PTA de 88%, enquanto um paciente com CL_{cre} de 215 mL/min, uma dose de 2 g a cada 6 h alcança um valor de 84%, ficando relativamente abaixo do PTA desejado (Roberts *et al.*, 2014).

O uso de CFZ e mais seis antibióticos β -lactâmicos (cefotetano, ceftriaxona, ampicilina/sulbactama, cefuroxima e ertapenem) foi avaliado na profilaxia da cirurgia coloretal eletiva utilizando simulação de Monte Carlo. Os alvos PK/PDs foram definidos como sendo $fT > CIM$ no plasma de 100% durante 4 h, considerando um PTA $\geq 90\%$ ótimo. O estudo conclui que, entre os antibióticos e regimes testados,

ertapenem (1 g), cefuroxime (1,5 g) e CFZ (2 g) são os únicos que atingiram os alvos desejados de forma consistente e permanecem como primeira linha na profilaxia deste tipo de cirurgia (Moine e Fish, 2013).

Trabalho avaliando o uso da CFZ no tratamento de infecções cutâneas e de tecidos moles complicadas, comparou a utilização de 1 e 2 g do fármaco a cada 8 h. Diferentemente da maioria dos trabalhos, este estudo propôs um modelo farmacocinético populacional de três compartimentos, sendo um deles o fluido intersticial, cujas concentrações foram obtidas por MD. A simulação considerou um índice PK/PD alvo de 30% e 50% para o $fT > CIM$ tecidual e o PTA aceito como satisfatório foi de 80%. Como resultado, o trabalho mostrou que para uma CIM de 1 mg/L (correspondente ao MIC90 para cepas de *S. aureus* meticilina-sensíveis) os PTAs para a dose de 1 g a cada 8 h foram de 96% e 91% para os alvos de 30% e 50% $fT > MIC$, respectivamente, decaindo para 87% e 71% para bactérias com CIM de 2 mg/L (correspondente ao MIC de sensibilidade da maioria das *Enterobacteriaceae*). Doses de 2 g a cada 8 h aumentam o PTA para 96% e 91% para a CIM de 2 mg/L (So, Kuti e Nicolau, 2014). Cabe observar que para o tratamento de infecções os valores para o índice $fT > CIM$ são geralmente menores que os utilizados na profilaxia.

Estudo recente avaliou as diferenças da administração intermitente e da infusão profilática de CFZ em pacientes durante diferentes cirurgias. Utilizando modelagem popPK com um modelo estrutural de dois compartimentos, os autores identificaram o peso corporal e o CL_{cre} como sendo as principais covariáveis. Com base nesse modelo realizaram simulação de Monte Carlo e obtiveram as PTAs variando os regimes de dosagem, o peso corporal do paciente e o CL_{cre} . Os autores concluíram que a administração da CFZ por infusão contínua intraoperatória, mesmo em doses baixas, garante melhores resultados que as outras vias de administração. Cabe pontuar que nesse trabalho as simulações foram feitas considerando as concentrações plasmáticas e não as concentrações teciduais, bem como uma ligação a proteínas plasmáticas constante, independente da concentração de CFZ, o são limitações do estudo (Naik *et al.*, 2017).

Outros β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas, também tiveram seus regimes de dose avaliados utilizando simulação de Monte Carlo. Destacam-se os estudos com cefquinoma (Xiao, 2015), cefepima (Ikawa, 2007), cefoxitina (Moine, 2016), piperacilina/tazobactam (Lodise, 2004) e meropenem (Roberts, 2009).

Em conclusão, observa-se que no contexto da avaliação dos regimes de dosagens, os principais requerimentos para realização da simulação de Monte Carlo são: (i) um modelo farmacocinético robusto e bem avaliado, com uma definição da distribuição e da covariância dos parâmetros farmacocinéticos; (ii) um modelo de covariáveis que provenha informação sobre como os parâmetros farmacocinéticos são influenciados por estas; (iii) um modelo farmacodinâmico com uma relação definida entre PK e PD.

Capítulo 1

“Fast and sensitive HPLC/UV method for cefazolin quantification in plasma and subcutaneous tissue microdialysate of humans and rodents applied to pharmacokinetic studies in obese individuals”

(Publicado no periódico Biomedical Chromatography. DOI 10.1002/bmc.4254)

Fast and sensitive HPLC/UV method for cefazolin quantification in plasma and subcutaneous tissue microdialysate of humans and rodents applied to pharmacokinetic studies in obese individuals

Eduardo Celia Palma¹; João Victor Laureano¹; Bibiana Verlindo de Araújo¹; Nelson Guardiola Meinhardt²; Airton Tetelbom Stein²; Teresa Dalla Costa¹

¹Pharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil;

²Center for Obese Class III Care, Nossa Senhora Conceição Hospital (HNSC), Porto Alegre - RS, Brazil;

O capítulo 1 é constituído por artigo científico publicado que no texto integral da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 74 a 98. O resumo do capítulo 1 é apresentado na página seguinte.

Abstract

Antimicrobial prophylactic dosing of morbidly obese patients may differ from normal weighted individuals due to alterations on drug's tissue distribution. Drug subcutaneous tissue distribution can be investigated by microdialysis patients and animals. The need of cefazolin prophylactic dose adjustment in obese patients remains under discussion. The paper describes the validation of an HPLC-UV method for cefazolin quantification in plasma and microdialysate samples from clinical and pre-clinical studies. A C18 column with an isocratic mobile phase was used for drug separation, with detection at 272 nm. Total and unbound cefazolin LLOQ was 5 µg/mL in human plasma, 2 µg/mL in rat plasma, 0.5 µg/mL and 0.025 µg/mL in human and rat microdialysate samples, respectively. The maximum intra and inter-day imprecision were 10.7% and 8.1%, respectively. The inaccuracy was lower than 9.7%. Both LOQ imprecision and inaccuracy were below 15%. Cefazolin stability in the experimental conditions was confirmed. Cefazolin plasma concentrations and subcutaneous tissue penetration were accessed by microdialysis in morbidly obese patients (2 g i.v. *bolus*) and diet-induced obese rats (30 mg/kg i.v. *bolus*) using the method. This method has the main advantages of easy plasma clean-up and practicability and has proven to be useful in cefazolin clinical and pre-clinical pharmacokinetic investigations.

Key-words: HPLC-UV, bioanalytical method validation, cefazolin, pharmacokinetics, microdialysis.

Capítulo 2

“Efficacious cefazolin prophylactic dose for morbidly obese women undergoing bariatric surgery based on evidence from subcutaneous microdialysis and populational pharmacokinetic modeling”

(Publicado no periódico Pharmaceutical Research. DOI 10.1007/s11095-018-2394-5)

**Efficacious cefazolin prophylactic dose for morbidly obese women
undergoing bariatric surgery based on evidence from
subcutaneous microdialysis and populational pharmacokinetic
modeling**

Eduardo Celia Palma¹; Nelson Guardiola Meinhardt²; Airton Tetelbom Stein²; Isabela Heineck³; Maria Isabel Fischer³; BibianaVerlindo de Araújo¹; Teresa Dalla Costa^{1,*}

¹Pharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil;

²Center for Obese Class III Care, Nossa Senhora Conceição Hospital (HNSC), Porto Alegre - RS, Brazil;

³Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil.

O capítulo 2 é constituído por artigo científico publicado que no texto integral da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 102 a 127. O resumo do capítulo 2 é apresentado na página seguinte.

ABSTRACT

Purpose: To determine the efficacious cefazolin prophylactic dose for bariatric surgery using free subcutaneous concentrations accessed by microdialysis after 2 g or 3 g i.v. *bolus* dosing to morbidly obese women and POPPK modeling. **Methods:** A POPPK model with variable plasma and subcutaneous tissue protein binding was developed to simultaneously describe plasma and tissue data sets. The outcomes was predicted for common surgical site infection (SSI) bacteria over 3, 4, 5 and 6 h periods postdose, as probability of target attainment (PTA) using Monte Carlo simulation. **Results:** CFZ 2 g warrant up to 5 h SSI prophylaxis for bacteria with MICs ≤ 1 mg/L such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. For species such as *Klebsiella pneumoniae*, which present MIC distribution frequency of 2 mg/L, the maintenance of PTA $\geq 90\%$ occurs with a 3 g dose for surgeries lasting up to 5 h, and 2 g dose provide an adequate response up to 4 h (PTA of 89%). **Conclusions:** Effectiveness of CFZ 2 g is similar to 3 g against bacteria with a MIC up to 2 mg/L, especially if the surgery does not last for more than 4 h.

Key-words: cefazolin, β -lactam, morbid obesity, microdialysis, populational pharmacokinetics.

Capítulo 3

“Potentialities and limitations of population pharmacokinetic modeling in translating the prophylactic effect of cefazolin from obese rats to obese patients”

Potentialities and limitations of population pharmacokinetic modeling in translating the prophylactic effect of cefazolin from obese rats to obese patients

Eduardo Celia Palma¹; João Victor Laureano¹; Daiane M.F. Lima¹; Bibiana Verlindo de Araújo¹; Teresa Dalla Costa¹.

¹Pharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil;

O texto completo do capítulo 3, que na tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 132 e 166, foi suprimido por tratar-se de manuscrito a ser submetido para publicação em periódico científico. O resumo do capítulo 3 é apresentado na página seguinte

ABSTRACT

Introduction: Obesity is a risk factor for the occurrence of surgical site infections (SSI) in abdominal surgery. Cefazolin (CFZ) is the antimicrobial prophylactic agent of choice in bariatric surgery. **Objectives:** To evaluate the validity of using CFZ pharmacokinetic data from diet-induced obese rats and a popPK model developed with human data to predict drug's prophylactic outcomes in obese patients. **Materials and Methods:** Obesity was induced in Wistar rats by hypercaloric diet. Four-month-old obese male Wistar rats were used to determine CFZ total plasma and the free interstitial subcutaneous tissue concentrations, by microdialysis, following 30 or 45 mg/kg i.v. *bolus* doses. Datasets were used to adapt human's popPK model to rats. The model was applied to predict human's clinical outcomes as probability of target attainment (PTA) using Monte Carlo simulation. Different strategies were tested for the translation of outcomes. **Results:** A low CFZ subcutaneous penetration was observed in obese rats, with penetration factors ($AUC_{0-2h \text{ tissue, free}}/AUC_{0-2h \text{ plasma free}}$) of 0.19 ± 0.05 and 0.17 ± 0.02 for 30 and 45 mg/kg dosing, respectively. To the two compartments popPK model with saturable plasma and tissue CFZ binding previously developed for humans, a saturable elimination pathway was added to accommodate rat's data. The translation strategy using popPK model with rat's allometric scaled clearance and volume of distribution and human's protein binding constants was successful in predicting clinical outcomes PTA similar to those previously described using human's data. Similarities were observed in the PTA graphs for different MIC values and diverse surgery durations evaluated. **Conclusions:** Differences in elimination, tissue penetration and free fraction at the site of action limit the direct use of the popPK model from humans to animals. Even with these differences and limitations, a strategy was devised that allowed the translation of CFZ prophylactic outcomes in humans from rat's data, helping the definition of best prophylactic dose for obese patients.

Keywords: Cefazolin, animal model of obesity, pre-clinical pharmacokinetics, microdialysis, popPK model, translational strategy, Monte Carlo simulations.

A utilização de medicamentos em pacientes obesos, particularmente obesos mórbidos, apresenta inúmeros desafios e permanece como um importante ponto de discussão clínica. Especificamente, as questões relacionadas à posologia merecem atenção uma vez que as alterações fisiopatológicas nesses pacientes impactam na farmacocinética de diferentes fármacos.

Para aprofundar o conhecimento sobre a influência da obesidade na profilaxia antimicrobiana, os estudos farmacocinéticos exercem um importante papel. Sobretudo se considerarmos a possibilidade de mensurarmos as concentrações livres teciduais no sítio de ação, uma vez que estas representam de maneira fidedigna a fração farmacologicamente ativa do fármaco, sendo a MD a técnica mais adequada para este propósito. O desenvolvimento desta tese está alicerçado nas relações que se estabelecem entre a obesidade, as concentrações livres no tecido subcutâneo e a profilaxia antimicrobiana com o antimicrobiano CFZ. A proposta principal foi determinar a melhor dose de CFZ para antibioticoprofilaxia em pacientes obesos mórbidos, desenvolvendo para isso um modelo farmacocinético populacional (popPK) capaz de descrever as concentrações livres teciduais do fármaco.

Assim, a primeira etapa do trabalho foi o desenvolvimento de metodologia capaz de quantificar a CFZ total e livre no plasma de humanos e total no plasma de ratos, bem como no microdialisado do tecido adiposo subcutâneo de ambas espécies. Essa metodologia foi desenvolvida para ser utilizada com amostras biológicas de humanos e de ratos Wistar, uma vez que entre os objetivos específicos do trabalho estava uma etapa de translação dos resultados pré-clínicos para clínicos. A partir de adaptações de métodos publicados, as condições foram otimizadas para obter uma metodologia simples, confiável e robusta. A etapa de validação da metodologia foi realizada com base nos guias de validação atualmente disponíveis para métodos bioanalíticos. As condições experimentais utilizadas, os parâmetros de validação avaliados e os resultados obtidos estão organizados no Capítulo 1, apresentado na forma de artigo científico. De forma bastante vantajosa, foi possível quantificar a CFZ nas diferentes matrizes investigadas, trabalhando-se com limites de quantificação de 5 µg/mL para as amostras de plasma humano (CFZ total e livre), 2 µg/mL para as amostras de CFZ total no plasma de ratos e 0,5 µg/mL e 0,025 µg/mL para o microdialisado de humanos e ratos, respectivamente. Nas diferentes matrizes, as imprecisões máximas intra e inter-dias foram 10,7% and 8,1%, respectivamente, com

uma inexatidão menor que 9,7%. Para os limites de quantificação foram obtidos valores de precisão e exatidão abaixo de 15%. As principais vantagens da metodologia validada são a simplicidade do procedimento de *cleanup* das amostras de plasma, o curto tempo de análise, a praticidade e aplicabilidade em estudos pré-clínicos e clínicos com CFZ.

A etapa clínica do trabalho buscou aprofundar a discussão e esclarecer sobre a necessidade de aumento da dose profilática de CFZ, de 2 para 3 g em pacientes obesos submetidos à cirurgia bariátrica. Os detalhes sobre a metodologia e resultados estão descritos no Capítulo 2, na forma de artigo científico. Destaca-se que o principal diferencial do trabalho foi realizar essa avaliação com base nas concentrações livres de CFZ atingidas no tecido adiposo subcutâneo dos pacientes, local de ocorrência das infecções de sítio cirúrgico. Para tanto, utilizou-se a técnica de MD para coleta de amostras intersticiais. A análise não-compartimental dos dados mostrou que para a CFZ os valores de penetração tecidual são estatisticamente semelhantes para ambas as doses e próximos de 1 ($0,84 \pm 0,30$ e $1,10 \pm 0,60$, para as doses de 2 e 3 g, respectivamente, $\alpha = 0,05$). Valores próximos a 1 mostram que as concentrações livres plasmáticas de CFZ se encontram em equilíbrio com as concentrações livres teciduais e, comparando com dados da literatura para pacientes não-obesos, a possível redução da penetração em obesos talvez não seja tão expressiva a ponto de impactar significativamente nas concentrações teciduais e conseqüentemente o efeito.

Os dados foram utilizados para construir um modelo farmacocinético com abordagem populacional. O modelo popPK proposto considerou a inclusão de um importante fator que influencia a distribuição tecidual de fármacos, que é a ligação às proteínas. Para a CFZ, a ligação às proteínas é saturável, o que leva a flutuação das frações livres do fármaco tanto no plasma como no tecido investigado. Esse relato da concentração dependente da ligação a proteínas tecidual foi caracterizado de modo inédito neste trabalho de tese. Interessantemente, uma importante conclusão do trabalho foi que a dinâmica de ligação da CFZ às proteínas, além de ser saturável, ocorre de forma diferente no plasma e no tecido. Assim, através da utilização do modelo popPK desenvolvido foi possível obter os valores para as constantes de ligação $B_{máx}$ e K_d no plasma (312 e 98,3 mg/L, respectivamente) e no tecido subcutâneo (160 e 38,4 mg/L, respectivamente). A abordagem populacional, também

permitiu identificar que os parâmetros V_1 , Q , CL e B_{max} respondem pela variabilidade interindividual nos pacientes. As covariáveis peso total, massa magra, índice de massa corpórea, concentração de creatinina plasmática, CL_{cre} , concentração de albumina e idade foram avaliadas na modelagem. No entanto nenhuma delas se mostrou suficientemente relevante para explicar a variabilidade de algum dos parâmetros farmacocinéticos do modelo. Os resultados de validação do modelo proposto mostraram a adequabilidade do mesmo para a descrição do conjunto de dados plasmáticos e teciduais de forma simultânea, podendo ser utilizado para previsão de concentração plasmáticas e teciduais para posologias distintas das investigadas experimentalmente.

A comparação dos resultados para o desfecho clínico esperados com as duas doses de CFZ testadas (2 g e 3 g) foi realizada através da simulação de Monte Carlo, uma metodologia estatística bayesiana que produz resultados bastante confiáveis. O alvo terapêutico utilizado foi a $fT > CIM$, considerando as concentrações livres teciduais e sua variabilidade populacional. Uma vez que o objetivo clínico era profilaxia, utilizou-se uma condição rigorosa, onde durante todo o tempo de exposição, as concentrações livres teciduais deveriam permanecer acima da CIM ($fT > CIM = 100\%$). Como o resultado da simulação de Monte Carlo resulta num valor de probabilidade de atingir o alvo terapêutico proposto (PTA) novamente adotou-se neste trabalho uma condição rigorosa, buscando-se um $PTA > 90\%$. Os resultados dessas simulações indicaram que a dose de 2 g produz concentrações teciduais adequadas, acima da CIM, por um período de até 6 h após a dose considerando-se bactérias com CIM de 0,5 mg/L; e um período de até 5 h para bactérias com CIM de 1,0 mg/L. Esses períodos de tempo excedem, em geral, o tempo de duração de uma cirurgia bariátrica por laparotomia. Dentre os microrganismos frequentes em infecções de sítio cirúrgico estão *S. aureus* meticilina-sensíveis, cujo distribuição populacional de CIM mostra maior frequência de sensibilidade em 0,5 mg/L para a CFZ. Para bactérias com CIM maiores, tais como as enterobactérias onde os valores estão na faixa de 2 mg/L, em 4 h encontramos um valor de PTA de 89%, muito próximo do PTA 90% assumido como sucesso terapêutico nesse trabalho. Considerando o rigor dos critérios utilizados nessas simulações, bem como o fato de que raramente uma cirurgia bariátrica leva mais do que 4 h de duração desde a incisão cirúrgica até a sutura, pode-se afirmar que mesmo para bactérias com CIM de 2 mg/L, uma profilaxia adequada é obtida com a dose de 2 g de CFZ, não

justificando o uso de 3 g do fármaco. Uma dose de 3 g passa a ser útil para bactérias com CIM de 2 mg/L em cirurgias que tenham duração de até 5 h, não havendo necessidade de redose após 4 h da primeira administração do fármaco. Para bactérias com CIM de 4 mg/L, o uso de 3 g mostra-se útil somente até 3 h de cirurgia. Para CIM > 4 mg/L a CFZ não teria efetividade em nenhuma das duas doses investigadas. Essa análise não considerou outros fatores que contribuem para redução do risco de infecções em sítios cirúrgicos, tais como os procedimentos pré, trans e pós-operatórios recomendados pela OMS em 2016 (Allegranzi, Bischoff, *et al.*, 2016; Allegranzi, Zayed, *et al.*, 2016). O cumprimento das recomendações da OMS reforça a adequabilidade da dose profilática de 2 g de CFZ para cirurgia bariátrica para a maioria das situações, havendo pouca vantagem em elevar a dose para 3 g.

O capítulo 3, também descrito na forma de artigo científico, versou sobre a translação dos resultados farmacocinéticos da CFZ obtidos em animais obesos para humanos obesos. A importância desse capítulo reside na avaliação possibilidade da utilização de animais obesos para testar profilaxias cirúrgicas com outros antimicrobianos, investigação de novas doses e estudos de penetração em outros órgãos e tecidos que não seriam viáveis de serem investigados na rotina em seres humanos. O objetivo principal desse estudo foi verificar se os desfechos obtidos para os animais obesos, utilizando modelagem farmacocinética populacional e simulação de Monte Carlo para obtenção dos PTAs, seriam os mesmos obtidos no estudo clínico.

Utilizou-se um modelo de obesidade em ratos induzido por dieta hipercalórica para obtenção dos perfis plasmáticos e livres teciduais da CFZ em animais obesos após a administrada i.v. *bolus* das doses de 30 mg/kg e 45 mg/kg (equivalentes a 2 g e 3 g de CFZ em humanos). As concentrações livres teciduais também foram coletadas através de MD, mantendo-se o mesmo padrão metodológico utilizado nos pacientes. No estudo pré-clínico, a ligação a proteínas plasmática da CFZ em diferentes concentrações do fármaco foi determinada a partir de experimentos *in vitro* utilizando plasma de animais obesos. A análise não-compartimental dos dados mostrou uma penetração tecidual expressivamente menor nos animais em relação a observada em humanos, com um fator de penetração tecidual próximo a 0,2 ($0,19 \pm 0,05$ e $0,17 \pm 0,02$, para as doses de 30 mg/kg e 45 mg/kg, respectivamente). Esta penetração reduzida mostra uma importante diferença observada nos ratos, sendo um fator potencialmente limitante para a translação do efeito.

O modelo farmacocinético populacional utilizado em humanos foi testado para descrição dos dados dos animais. No entanto, não se mostrou adequado para descrição simultânea dos dados plasmáticos e teciduais. Em parte, essa dificuldade foi atribuída a via de eliminação da CFZ que nos animais ocorre por via renal e por via hepática (secreção biliar), enquanto que nos humanos a eliminação é somente renal. Desta forma, um ajuste no modelo popPK foi necessário, adicionando-se ao modelo duas vias de eliminação em paralelo, sendo uma via não-saturável (renal) e a outra saturável (hepática). Também de forma bastante marcante, a modelagem dos dados mostrou que os valores da constante de ligação às proteínas teciduais ($B_{m\acute{a}x(t)} = 622$ mg/L) nos ratos é superior ao observado em humanos ($B_{m\acute{a}x(t)} = 160$ mg/L). Esse parâmetro reflete a capacidade de ligação do fármaco às proteínas do líquido intersticial. Quanto mais elevado, menor é a fração livre e conseqüentemente as concentrações livres da CFZ no tecido subcutâneo, confirmando o menor fator de penetração tecidual da CFZ observados nos animais obesos.

Visando estabelecer uma translação dos dados pré-clínicos para clínicos, avaliou-se comparativamente os desfechos terapêuticos esperados, em tempos equivalentes, entre animais e humanos. Os resultados mostraram-se muito diferentes, evidenciando que não há uma relação direta entre as previsões de efeitos observados para os animais e humanos sendo as menores concentrações teciduais encontradas nos animais as responsáveis pela falta de translação.

Outras duas estratégias de translação foram investigadas, utilizando-se o escalonamento alométrico clássico para cálculo dos parâmetros V_1 , V_2 , CL e Q de humanos a partir dos parâmetros populacionais obtidos nos animais. Esses parâmetros, após escalonados, foram substituídos no modelo farmacocinético populacional de humanos e os PTAs foram determinados através da simulação de Monte Carlo. Em uma destas estratégias, mantiveram-se os valores dos parâmetros de ligação às proteínas plasmáticas e teciduais ($B_{m\acute{a}x}$ e K_d) encontradas em humanos e na outra mantiveram-se valores dos parâmetros encontrados nos animais. Dessas duas estratégias, somente aquela em que escalonou-se os parâmetros de *clearance* e volume e manteve-se os parâmetros de ligação às proteínas encontrados em humanos mostrou-se adequada para a previsão dos desfechos clínicos. As limitações e dificuldades para a translação puderam ser evidenciadas e somente após vários ajustes as modelagens produziram desfechos semelhantes. A utilização dos modelos

animais de obesidade para a previsão dos efeitos de antibióticos profiláticos em pacientes obesos também revelou-se um grande desafio. Abordagens, como as propostas neste capítulo, contribuem para divulgar resultados que podem auxiliar neste entendimento e abrem perspectivas para realização de estudos com outros fármacos utilizados com o mesmo propósito. Este capítulo contribuiu para trazer informações e conhecimentos sobre as possibilidades de translação no contexto da obesidade e profilaxia, reforçando que ainda permanecem muitos desafios para translação dos efeitos neste contexto.

O desenvolvimento desta tese atingiu os objetivos propostos e os resultados poderão contribuir para os avanços sobre o uso de profilaxia antimicrobiana em pacientes obesos.

CONCLUSÕES

- A metodologia analítica desenvolvida e validada mostrou-se adequada para a quantificação de CFZ total e não ligada a proteínas em amostras de plasma humano, total em amostras de plasma de ratos e no microdialisado de tecido subcutâneo de ambas espécies, podendo ser aplicadas em estudos farmacocinéticos pré-clínicos e clínicos de farmacocinética a CFZ;

- O modelo popPK proposto para descrição simultânea dos dados plasmáticos e teciduais da CFZ em pacientes obesos incluiu os parâmetros de ligação às proteínas plasmáticas e, de forma inédita, a ligação às proteínas teciduais, permitindo identificar que a variabilidade interindividual está associada aos parâmetros volume de distribuição no compartimento central (V_1), *clearance* intercompartimental (Q), *clearance* (CL) e capacidade máxima de ligação da CFZ à albumina tecidual (B_{max}).

- Os resultados obtidos através da simulação de Monte Carlo comparando as doses profiláticas de CFZ em pacientes obesos mórbidos permitiram concluir que a dose de 2 g administrada 15 min antes do início da cirurgia bariátrica é capaz de garantir uma proteção contra infecções de sítio cirúrgico equivalente à dose de 3 g por até 4 h para microrganismos com CIM até 2 mg/L, não justificando o aumento de dose profilática nesses pacientes.

- O modelo popPK utilizado em humanos não se mostrou adequado para ser utilizado em ratos, devido a diferenças no processo de eliminação do fármaco entre as espécies.

- A translação dos resultados de profilaxia com CFZ de ratos obesos induzidos por dieta para humanos obesos somente é possível utilizando uma estratégia de escalonamento alométrico dos parâmetros de *clearance* e volume de distribuição, associada à utilização dos parâmetros de ligação às proteínas plasmáticas e teciduais obtidos dos pacientes.

REFERÊNCIAS GERAIS

AARONS, L.; OGUNGBENRO, K. Optimal design of pharmacokinetic studies. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 0, p. 250–255, 2010.

AHSMAN, M. J. *et al.* Microanalysis of beta-lactam antibiotics and vancomycin in plasma for pharmacokinetic studies in neonates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 75–80, 2009.

AL-RAWITHI, S. *et al.* Sensitive assay for the determination of cefazolin or ceftriaxone in plasma utilizing LC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, n. 2, p. 281–286, 2000.

ALEXANDER, J. W.; RAHN, R.; GOODMAN, H. R. Prevention of surgical site infections by an infusion of topical antibiotics in morbidly obese patients. **Surgical Infections**, v. 10, n. 1, p. 53–57, 2009.

ALLEGIANZI, B.; BISCHOFF, P.; *et al.* New WHO recommendations on preoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. e276–e287, 2016.

ALLEGIANZI, B.; ZAYED, B.; *et al.* New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. e288–e303, 2016.

ALVES, I. A. *et al.* Influence of Experimental Cryptococcal Meningitis in Wistar Rats on Voriconazole Brain Penetration Assessed by Microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 7, 2017.

ANAYA, D. A.; DELLINGER, E. P. The Obese Surgical Patient : A Susceptible Host for Infection. **Surgical Infections**, v. 7, n. 5, p. 473–480, 2006.

ANGRISANI, L. *et al.* Bariatric Surgery Worldwide 2013. **Obesity Surgery**, v. 25, n. 10, p. 1822–32, 2015.

ANLICOARA, R. *et al.* Antibiotic prophylaxis in bariatric surgery with continuous infusion of cefazolin: Determination of concentration in adipose tissue. **Obesity Surgery**, v. 24, n. 9, p. 1487–1491, 2014.

ASÍN-PRÍETO, E.; RODRÍGUEZ-GASC, A. Applications of the pharmacokinetic / pharmacodynamic (PK / PD) analysis of antimicrobial agents. v. 21, p. 319–329, 2015.

AUKLAND, K.; FADNES, H. O. Protein Concentration of Interstitial Fluid Collected from Rat Skin by a Wick Method. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 88, n. 3, p. 350–358, 1973.

BAKKER-WOUDENBERG, I. A. J. M. *et al.* Relevance of Serum Protein Binding of Cefoxitin and Cefazolin to Their Activities against *Klebsiella pneumoniae* Pneumonia in Rats. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 28, n. 5, p. 654–659, 1985.

BARANOWSKA, I.; PŁONKA, J. Monitoring of biogenic amines and drugs of various therapeutic groups in urine samples with use of HPLC. **Biomedical Chromatography**, v. 30, n. 4, p. 652–657, 2016.

BARBOUR, A.; SCHMIDT, S.; SABARINATH, S. N.; *et al.* Soft-Tissue Penetration of Ceftobiprole in Healthy Volunteers Determined by In Vivo Microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 7, p. 2773–2776, 2009.

BARBOUR, A.; SCHMIDT, S.; ROUT, W. R.; *et al.* Soft tissue penetration of cefuroxime determined by clinical microdialysis in morbidly obese patients undergoing abdominal surgery. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 3, p. 231–235, 2009.

BARNES, M. J. *et al.* High fat feeding is associated with increased blood pressure, sympathetic nerve activity and hypothalamic mu opioid receptors. **Brain Research Bulletin**, v. 61, n. 5, p. 511–519, 2003.

BEREZHKOVSIIY, L. M. On the Accuracy of Estimation of Basic Pharmacokinetic Parameters by the Traditional Noncompartmental Equations and the Prediction of the Steady-State Volume of Distribution in Obese Patients Based Upon Data Derived from Normal Subjects. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2482–2497, 2011.

BEREZHKOVSIIY, L. M. On the Accuracy of Determination of Unbound Drug Fraction in Tissue Using Diluted Tissue Homogenate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 5, p. 1909–1916, 2012.

BIELECKA-GRZELA, S.; KLIMOWICZ, A. Penetration of ciprofloxacin and its desethylenemetabolite into skin in humans after a single oral dose of the parent drug assessed by cutaneous microdialysis. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 30, p. 383–390, 2005.

BOMPADRE, S. *et al.* On-line solid-phase extraction of ceftazidime in serum and determination by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 669, n. 2, p. 265–269, 1995.

BON, C. *et al.* Mathematical modeling and simulation in animal health. Part III: Using nonlinear mixed-effects to characterize and quantify variability in drug pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. November, p. 1–13, 2017.

BONATE, P. L. A Brief Introduction to Monte Carlo Simulation. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 35, n. 2, p. 3–8, 2005.

_____. Chapter 7: Nonlinear Mixed Effects Models: Theory. *In: Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation*. 2nd. ed. New York: Springer, 2011. p. 233–301.

BORENGASSER, S. J. *et al.* High Fat Diet and In Utero Exposure to Maternal Obesity Disrupts Circadian Rhythm and Leads to Metabolic Programming of Liver in Rat Offspring. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigitel Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. v. 13

_____. **Vigitel Brazil 2016: surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of sociodemographic frequency and distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian states and Federal District in 2016**. Brasília: Ministério da Saúde: Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/07/vigitel_2016_jun17.pdf

>.

BRATZLER, D. W. *et al.* Antimicrobial Prophylaxis for Surgery : An Advisory Statement from the National Surgical Infection Prevention Project. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 12, p. 1706–1715, 2004.

BRATZLER, D. W. *et al.* Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 70, n. 3, p. 195–283, 2013.

BRILL, M. J. E. *et al.* Impact of Obesity on Drug Metabolism and Elimination in Adults and Children. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 51, n. 5, p. 277–304, 2012.

_____. Reduced subcutaneous tissue distribution of cefazolin in morbidly obese versus non-obese patients determined using clinical microdialysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 3, p. 715–723, 2014.

BRISCOE, S. E. *et al.* A method for determining the free (unbound) concentration of ten beta-lactam antibiotics in human plasma using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 907, p. 178–184, 2012.

BRUCE CHARLES. Population pharmacokinetics: an overview. **Australian Prescriber**, v. 37, n. 6, p. 210–213, 2014.

BRUNNER, M. *et al.* Distribution and Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin in Human Soft Tissues Distribution and Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin in Human Soft Tissues. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 43, n. 5, p. 1307–1309, 1999.

BRUNNER, M.; DERENDORF, H.; MÜLLER, M. Microdialysis for in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic characterization of anti-infective drugs. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, n. 5 SPEC.ISS., p. 495–499, 2005.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12a. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda.

BUCLIN, T.; NICOD, M.; KELLENBERGER, S. **Population pharmacokinetics**. Disponível em: <<https://sepia.unil.ch/pharmacology/index.php?id=75>>. Acesso em: 9 nov. 2017.

BUEHLER, K.; YANCEY, A. Underdosing in obesity — an epidemic: Focus on anticoagulation. **Formulary**, v. 48, n. June, p. 199–202, 2013.

BULIK, C. C. *et al.* Tissue penetration and pharmacokinetics of tigecycline in diabetic patients with chronic wound infections described by using in vivo microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 12, p. 5209–5213, 2010.

BURIAN, B. *et al.* Penetration of Doripenem into Skeletal Muscle and Subcutaneous. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 1, p. 532–535, 2012.

BURKHARDT, O. *et al.* Penetration of ertapenem into skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in healthy volunteers measured by in vivo microdialysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 3, p. 632–636, 2006.

BURNEIKO, R. C. M. *et al.* Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile , oxidative stress and antioxidant defenses. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 1167–1172, 2006.

- BUTTERFIELD, J.; LODISE, T. P.; PAI, M. P. Applications of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles to Optimize Drug Dosage Selection. Example of Antibiotic Therapy Management. *In: Therapeutic Drug Monitoring: Newer Drugs and Biomarkers*. 1st. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2012. p. 175–196.
- C, J.; HARTMUT, D.; MÜLLER, M. Microdialysis. A novel tool for clinical studies of anti-infective agents. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 57, n. 3, p. 211–219, 2001.
- CARVALHO, E. J. DE *et al.* Nomograma para a Estimação da Taxa de Filtração Glomerular baseado na Fórmula CKD-EPI. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, p. 313–315, 2012.
- CELLINI, E. *et al.* Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in Italian patients with eating disorders and obesity. **Psychiatric Genetics**, v. 20, n. 6, p. 282–288, 2010.
- CHALK, M. B. Obesity: Addressing A Multifactorial Disease. **Case Manager**, v. 15, n. 6, p. 47–49, 2004.
- CHEN, T.; MAGER, D. E.; KAGAN, L. Interspecies modeling and prediction of human exenatide pharmacokinetics. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 3, p. 751–760, 2013.
- CHEN, W. S. *et al.* Bayesian estimation via sequential Monte Carlo sampling: Unconstrained nonlinear dynamic systems. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 43, n. 14, p. 4012–4025, 2004.
- CHEN, X. *et al.* Optimal Cefazolin Prophylactic Dosing for Bariatric Surgery : No Need for Higher Doses or Intraoperative Redosing. **Obesity Surgery**, v. 27, n. 3, p. 626–629, 2017.
- CHOPRA, T. *et al.* Epidemiology and outcomes associated with surgical site infection following bariatric surgery. **American Journal of Infection Control**, v. 40, n. 9, p. 815–819, 2012.
- CHRISTOU, N.; EFTHIMIOU, E. Five-year outcomes of laparoscopic adjustable gastric banding and laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in a comprehensive bariatric surgery program in Canada. **Canadian Journal of Surgery**, v. 52, n. 6, p. E249-58, 2009.
- CHRISTOU, N. V *et al.* Analysis of the incidence and risk factors for wound infections in open bariatric surgery. **Obesity Surgery**, v. 14, n. 1, p. 16–22, 2004.
- COCK, R. F. W. DE *et al.* Population pharmacokinetic modelling of total and unbound cefazolin plasma concentrations as a guide for dosing in preterm and term neonates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 5, p. 1330–1338, 2014.
- COETZEE, J. H.; HATTINCH, J.; MITCHELL, G. Rat interstitial Fluid Proteins. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 72A, n. 1, p. 173–178, 1982.
- COLIN, P. *et al.* Development and validation of a fast and uniform approach to quantify beta-lactam antibiotics in human plasma by solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 103, p. 285–293, 2013.
- COLQUITT, J. L. *et al.* Surgery for weight loss in adults (Review). **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 8, n. 8, p. 1–241, 2014.

- CORCORAN, G. B.; SALAZAR, D. E.; SORGE, C. L. Pharmacokinetic characteristics of the obese overfed rat. **International Journal of Obesity**, v. 13, n. 1, p. 69–79, 1989.
- COSTA, A. C. C. *et al.* Obesidade em pacientes candidatos a cirurgia bariátrica. **ACTA Paulista de Enfermagem**, v. 22, n. 1, p. 55–59, 2009.
- CRAIG, W. A. Interrelationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics in determining dosage regimens for broad-spectrum cephalosporins. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 22, n. 1–2, p. 89–96, 1995.
- CRAIG, W. A. STATE-OF-THE-ART CLINICAL ARTICLE Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Parameters : Rationale for Antibacterial Dosing of Mice and Men. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, n. 1, p. 1–10, 1998.
- CRAZY-CHEMIST. **Chemical Formula of Cefazolin**. Disponível em: <<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cefazolin.png>>. Acesso em: 14 mar. 2018.
- CROWLEY, W. F. *et al.* Central Challenges Facing the National Clinical Research Enterprise. **JAMA**, v. 289, n. 10, 2003.
- CRUTCHFIELD, C. A.; MARZINKE, M. A. Bioanalytical development and validation of liquid chromatographic-tandem mass spectrometric methods for the quantification of total and free cefazolin in human plasma and cord blood. **Practical Laboratory Medicine**, v. 1, n. 1, p. 12–21, 2015.
- CZUPRYNIAK, L.; STRZELCZYK, J. Mild Elevation of Fasting Plasma Glucose is a Strong Risk Factor for Postoperative Complications. **Obesity Surgery**, v. 14, n. 10, p. 1393–1397, 2004.
- DAVIES, M. I. A review of microdialysis sampling for pharmacokinetic applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 379, n. 3, p. 227–249, 1999.
- DEGHANYAR, P. *et al.* Penetration of linezolid into soft tissues of healthy volunteers after single and multiple doses. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 6, p. 2367–2371, 2005.
- DEITCHMAN, A. N. *et al.* Utility of Microdialysis in Infectious Disease Drug Development and Dose Optimization. **The AAPS Journal**, v. 19, n. 2, p. 334–342, 2017.
- DIETRICH, M. O. *et al.* Western style diet impairs entrance of blood-borne insulin-like growth factor-1 into the brain. **NeuroMolecular Medicine**, v. 9, n. 4, p. 324–330, 2007.
- DIETRICH, M. R.; ANKENY, R. A.; CHEN, P. M. Publication trends in model organism research. **Genetics**, v. 198, n. 3, p. 787–794, 2014.
- DOUGHERTY, D.; CONWAY, P. H. The “ 3T ’ s ” Road Map to Transform US Health Care. **JAMA**, v. 299, n. 19, p. 2319–2321, 2008.
- ECHOLS, J. Obesity weight management and bariatric surgery case management programs: a review of literature. **Professional Case Management**, v. 15, n. 1, p. 17–26–8, 2010.
- EDMISTON, C. E. *et al.* Perioperative antibiotic prophylaxis in the gastric bypass patient: Do we achieve therapeutic levels? **Surgery**, v. 136, n. 4, p. 738–747, 2004.
- EHLERS, R.; JUSTINIANO, P. **Introdução a Inferência Bayesiana**. Disponível em: <<http://www.leg.ufpr.br/~paulojus/CE227/ce227/ce227.html>>. Acesso em: 4 dez.

2017.

ELEVELD, D. J. *et al.* Obesity and allometric scaling of pharmacokinetics. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 50, n. 11, p. 751–753, 2011.

ELLMERER, M. *et al.* Measurement of interstitial albumin in human skeletal muscle and adipose tissue by open-flow microperfusion MARTIN. **American Journal of Endocrinology and Metabolism**, n. 32, p. 423–429, 1999.

EMERY, M. G. *et al.* CYP2E1 Activity Before and After Weight Loss in Morbidly Obese Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Hepatology**, v. 38, n. 2, p. 428–435, 2003.

ERDŐ, F. Microdialysis Techniques In Pharmacokinetic and Biomarker Studies . Past , Present and Future Directions. A Review. **Clinical & Experimental Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 1–11, 2015.

ETTE, E. I.; WILLIAMS, P. J. Population pharmacokinetics I: Background, concepts, and models. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 38, n. 10, p. 1702–1706, 2004.

FALAGAS, M. E.; KOMPOTI, M. Obesity and infection. **Lancet Infectious Diseases**, v. 6, n. 7, p. 438–446, 2006.

FARTHING, C. *et al.* High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Cefepime and Cefazolin in Human Plasma and Dialysate. **Chromatographia**, v. 67, n. 5–6, p. 365–368, 2008.

FISCHER, M. I. *et al.* Antibiotic prophylaxis in obese patients submitted to bariatric surgery. A systematic review. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 209–217, 2014.

FLEGAL, K. M. *et al.* Trends in obesity among adults in the united states, 2005 to 2014. **JAMA**, v. 315, n. 21, p. 2284–2291, 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. **Draft Guide**, v. Rev. 1, n. September, p. 34, 2013.

FORSE, R. A. *et al.* Antibiotic prophylaxis for surgery in morbidly obese patients. **Surgery**, v. 106, n. 4, p. 750–756, 1989.

FREEMAN, J. T. *et al.* Surgical site infections following bariatric surgery in community hospitals: A weighty concern? **Obesity Surgery**, v. 21, n. 7, p. 836–840, 2011.

GAETANI, S. *et al.* Eating disorders: from bench to bedside and back. **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. 5, p. 691–699, 2016.

GAMERMAN, D. **StatPop - Popularização da Estatística MCMC - a revolução da estatística Bayesiana**. Disponível em: <<http://www.statpop.com.br/2013/05/mcmc-revolucao-da-estatistica-bayesiana.html>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

GRIMM, J.; NURMI, A. Practical Applications of Bedside to Bench - Reverse Translation. **In Translation**, p. 32–33, 2015.

GRUPPER, M. *et al.* Population Pharmacokinetics of Cefazolin in Serum and Adipose Tissue From Overweight and Obese Women Undergoing Cesarean Delivery. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 0, n. November, p. 1–8, 2016.

GUIMARAES, R. Translational research: an interpretation. **Ciencia & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 6, p. 1731–1744, 2013.

- HANLEY, M. J.; ABERNETHY, D. R.; GREENBLATT, D. J. Effect of obesity on the pharmacokinetics of drugs in humans. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 49, n. 2, p. 71–87, 2010.
- HEINEN, J. E.; FREDDO, R. J.; COSTA, T. D. Penetração tecidual de antibióticos. **Caderno de Farmácia**, v. 17, n. 1, p. 9–18, 2001.
- HO, M. *et al.* Tissue pharmacokinetics of ertapenem at steady-state in diabetic patients with leg infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. December, p. 895–899, 2013.
- HO, V. P. *et al.* Cefazolin Dosing for Surgical Prophylaxis in Morbidly Obese Patients. **Surgical Infections**, v. 13, n. 1, p. 33–37, 2012.
- HOUSMAN, S. T.; SUTHERLAND, C. A.; NICOLAU, D. P. Pharmacodynamic profile of commonly utilised parenteral therapies against meticillin-susceptible and meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* collected from US hospitals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 3, p. 235–241, 2014.
- HUANG, T.; HU, F. B. Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions. **BMC Medical Genomics**, v. 8 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S2, 2015.
- HUTCHINSON, P. J. *et al.* Consensus statement from the 2014 International Microdialysis Forum. **Intensive Care Medicine**, v. 41, p. 1517–1528, 2015.
- ISLINGER, F. *et al.* The effect of food on plasma and tissue concentrations of linezolid after multiple doses. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 27, n. 2, p. 108–112, 2006.
- JOHANSEN, A.; EVERS, L. **MCM_Sequential Monte Carlo**. Bristol: [s.n.]. Disponível em: <https://warwick.ac.uk/fac/sci/statistics/staff/academic-research/johansen/teaching/mcm-2007.pdf>.
- JOHNSON, E. E. *et al.* Bariatric surgery implementation trends in the USA from 2002 to 2012. **Implementation Science**, p. 1–9, 2016.
- JOUKHADAR, C. *et al.* Plasma and tissue pharmacokinetics of cefepime in patients with sepsis. **Critical Care Medicine**, v. 30, n. 7, p. 1478–1482, 2002.
- _____. Increase of Microcirculatory Blood Flow Enhances Penetration of Ciprofloxacin into Soft Tissue. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 10, p. 4149–4153, 2005.
- JOUKHADAR, C.; MARKUS, M. Current Applications in Clinical Pharmacokinetic Studies. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, n. 9, p. 895–913, 2005.
- JULIA XU, X. *et al.* Improved insulin sensitivity 3 months after RYGB surgery is associated with increased subcutaneous adipose tissue AMPK activity and decreased oxidative stress. **Diabetes**, v. 64, n. 9, p. 3155–3159, 2015.
- JUMBE, S.; HAMLET, C.; MEYRICK, J. Psychological Aspects of Bariatric Surgery as a Treatment for Obesity. **Current Obesity Reports**, v. 6, n. 1, p. 71–78, 2017.
- KABON, B. *et al.* Obesity Decreases Perioperative Tissue Oxygenation. **Anesthesiology**, v. 2, n. 2, p. 274–280, 2004.
- KAMANI, G. *et al.* HPLC determination of cefazolin in plasma, urine and dialysis fluid.

Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 50, n. Supplement, p. 118–118, 1998.

KATZ, J. *et al.* Extravascular albumin mass and exchange in rat tissues. **Clinical Science**, v. 39, p. 705–724, 1970.

KHOURY, M. J. *et al.* The continuum of translation research in genomic medicine: How can we accelerate the appropriate integration of human genome discoveries into health care and disease prevention? **Genetics in Medicine**, v. 9, n. 10, p. 665–674, 2007.

KIANG, T. K. L.; HÄFELI, U. O.; ENSOM, M. H. H. A comprehensive review on the pharmacokinetics of antibiotics in interstitial fluid spaces in humans: Implications on dosing and clinical pharmacokinetic monitoring. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 53, n. 8, p. 695–730, 2014.

KIM, A. *et al.* In vivo microdialysis study of the penetration of daptomycin into soft tissues in diabetic versus healthy volunteers. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 11, p. 3941–3946, 2008.

KIM, T. H. *et al.* Population Pharmacokinetic Modeling of the Enterohepatic Recirculation of Fimasartan in Rats, Dogs, and Humans. **AAPS Journal**, v. 17, n. 5, p. 1210–1223, 2015.

KINAS, P. G.; ANDRADE, H. A. **Introdução à Análise Bayesiana (Com R)**. Porto Alegre: Ed. MaisQnada, 2010.

KITAHARA, C. M. *et al.* Association between Class III Obesity (BMI of 40-59 kg/m²) and Mortality: A Pooled Analysis of 20 Prospective Studies. **PLoS Medicine**, v. 11, n. 7, p. 1–14, 2014.

KOBUCHI, S. *et al.* Effects of obesity induced by high-fat diet on the pharmacokinetics of atazanavir in rats. **Drug Metabolism Letters**, v. 7, n. 1, p. 39–46, 2013.

KUNICKI, P. K.; WAŚ, J. Simple HPLC method for cefazolin determination in human serum - validation and stability testing. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 911, p. 133–139, 2012.

LIANG, D.; CHOW, D.; WHITE, C. High-performance liquid chromatographic assay of cefazolin in rat tissues. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 656, n. 2, p. 460–465, 1994.

LILLICO, R. *et al.* Quantification of cefazolin in serum and adipose tissue by ultra high performance liquid chromatography-Tandem mass spectrometry (UHPLC–MS/MS): application to a pilot study of obese women undergoing cesarean delivery. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1031, p. 94–98, 2016.

LIU, P. *et al.* Tissue Penetration of Cefpodoxime and Cefixime in Healthy Subjects. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 45, p. 564–569, 2005.

MAGGARD, M. A. *et al.* Clinical Guidelines Meta-Analysis: Surgical Treatment of Obesity. **Clinical Guidelines**, v. 142, n. 7, p. 547–559, 2005.

MAGGIO, L. *et al.* Cefazolin prophylaxis in obese women undergoing cesarean delivery. **Obstetrics and Gynecology**, v. 125, n. 5, p. 1205–1210, 2015.

MAGLIO, D.; NICOLAU, D. P. The integration of pharmacokinetics and pathogen susceptibility data in the design of rational dosing regimens. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 26, n. 10, p. 781–788, 2004.

- MARTIN-GRONERT, M. S. *et al.* 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors as hypothalamic targets of developmental programming in male rats. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 4, p. 401–412, 2016.
- MARTÍNEZ-MICAELO, N. *et al.* Identification of a nutrient-sensing transcriptional network in monocytes by using inbred rat models on a cafeteria diet. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 10, p. 1231–1239, 2016.
- MARTÍNEZ, L. G.; FALCÓ, P. C.; CABEZA, A. S. Comparison of several methods used for the determination of cephalosporins. Analysis of cephalexin in pharmaceutical samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 3, p. 405–423, 2002.
- MARTINS, M. A. **Manual de infecção hospitalar: epidemiologia, prevenção e controle**. 2a. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
- MATZNELLER, P. *et al.* Blood, tissue, and intracellular concentrations of azithromycin during and after end of therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 4, p. 1736–1742, 2013.
- MCWHINNEY, B. C. *et al.* Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 878, n. 22, p. 2039–2043, 2010.
- MENACHERRY, S.; HUBERT, W.; JUSTICE, J. B. In Vivo Calibration of Microdialysis Probes for Exogenous Compounds. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 6, p. 577–583, 1992.
- MOINE, P.; FISH, D. N. Pharmacodynamic modelling of intravenous antibiotic prophylaxis in elective colorectal surgery. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 41, n. 2, p. 167–173, 2013.
- MORAES, C. DE *et al.* Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiology**, v. 8, p. 1–8, 2008.
- MOULD, D. R.; UPTON, R. N. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 1, n. 9, p. e6, 2012.
- _____. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 2, n. April, p. e38, 2013.
- NADAI, M. *et al.* Alterations in pharmacokinetics and protein binding behavior of cefazolin in endotoxemic rats. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, n. 9, p. 1781–1785, 1993.
- NADERALI, E. K. *et al.* Dietary obesity in the rat induces endothelial dysfunction without causing insulin resistance: a possible role for triacylglycerols. **Clinical Science**, v. 101, p. 499–506, 2001.
- NAIK, B. I. *et al.* Comparative total and unbound pharmacokinetics of cefazolin administered by bolus versus continuous infusion in patients undergoing major surgery: a randomized controlled trial. **British Journal of Anaesthesia**, v. 118, n. 6,

p. 876–882, 2017.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **NCI Dictionary of Cancer Terms**. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?cdrid=561724>>. Acesso em: 8 nov. 2017.

NGUYEN, N. T. *et al.* Association of Hypertension , Diabetes , Dyslipidemia , and Metabolic Syndrome with Obesity : Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey , 1999 to 2004. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 207, n. 6, p. 928–934, 2008.

NICOLAU, D. P. Optimizing outcomes with antimicrobial therapy through pharmacodynamic profiling. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 9, n. 4, p. 292–296, 2003.

NIELSEN, E. I. *et al.* Semimechanistic Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Model for Assessment of Activity of Antibacterial Agents from Time-Kill Curve Experiments. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 1, p. 128–136, 2007.

OLIVEIRA, M. L. DE. **Estimativa dos custos da obesidade para o Sistema Único de Saúde do Brasil**. Tese (Doutorado em Nutrição Humana) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, p. 95. 2013.

OLIVEIRA, M. L. DE; SANTOS, L. M. P.; SILVA, E. N. DA. Direct healthcare cost of obesity in brazil: An application of the cost-of-illness method from the perspective of the public health system in 2011. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–15, 2015.

PAI, M. P. *et al.* Influence of morbid obesity on the single-dose pharmacokinetics of daptomycin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 8, p. 2741–2747, 2007.

PALMA, E. C. *et al.* Fast and sensitive HPLC/UV method for cefazolin quantification in plasma and subcutaneous tissue microdialysate of humans and rodents applied to pharmacokinetic studies in obese individuals. **Biomedical Chromatography**. *Under revision*, 2018.

PARKER, S. L. *et al.* Determination of Cefalothin and Cefazolin in Human Plasma, Urine and Peritoneal Dialysate by UHPLC-MS/MS: application to a pilot pharmacokinetic study in humans. **Biomedical Chromatography**, v. 30, n. 6, p. 872–879, 2016.

PEPPARD, W. J. *et al.* Association between Pre-Operative Cefazolin Dose and Surgical Site Infection in Obese Patients. **Surgical infections**, v. 18, n. 0, p. 1–6, 2016.

PEVZNER, L. *et al.* Effects of maternal obesity on tissue concentrations of prophylactic cefazolin during cesarean delivery. **Obstetrics and gynecology**, v. 117, n. 4, p. 877–882, 2011.

PICHÉ, M.-È. *et al.* How to Choose and Use Bariatric Surgery in 2015. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 2, p. 153–166, 2015.

POLSO, A. K.; LASSITER, J. L.; NAGEL, J. L. Impact of hospital guideline for weight-based antimicrobial dosing in morbidly obese adults and comprehensive literature review. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 39, n. 6, p. 584–608, 2014.

RIVIERE, J. E. *et al.* Mathematical modeling and simulation in animal health. Part I:

Moving beyond pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 39, n. 3, p. 213–223, 2016.

ROBERTS, J. A. *et al.* Piperacillin penetration into tissue of critically ill patients with sepsis—Bolus versus continuous administration? **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 3, p. 926–933, 2009.

ROBERTS, J. A. *et al.* Plasma and target-site subcutaneous tissue population pharmacokinetics and dosing simulations of cefazolin in post-trauma critically ill patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 5, p. 1495–1502, 2014.

RUBIO, D. M. *et al.* Defining translational research: Implications for training. **Academic Medicine**, v. 85, n. 3, p. 470–475, 2010.

SAMPEY, B. P. *et al.* Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: Comparison to high-fat diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.

SANTOS, L. M. P. *et al.* Trends in morbid obesity and in bariatric surgeries covered by the Brazilian public health system. **Obesity Surgery**, v. 20, n. 7, p. 943–948, 2010.

SAUERMAN, R. *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cefpirome in Subcutaneous Adipose Tissue of Septic Patients. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 650–655, 2005.

SCHMITZ, M. L. *et al.* Determination of appropriate weight-based cutoffs for empiric cefazolin dosing using data from a phase 1 pharmacokinetics and safety study of cefazolin administered for surgical prophylaxis in pediatric patients aged 10 to 12 years. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 7, p. 4173–4180, 2015.

SILVA-NETO, E. F. *et al.* Cirurgia bariátrica reverte risco metabólico em pacientes assistidos em nível ambulatorial. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 27, n. 1, p. 38–42, 2014.

SILVA, M. P. DA *et al.* Obesidade e qualidade de vida. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, p. 247–250, 2006.

SIME, F. B.; ROBERTS, M. S.; ROBERTS, J. A. Optimization of dosing regimens and dosing in special populations. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 10, p. 886–893, 2015.

SJÖSTRÖM, L. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. **JAMA**, v. 307, n. 1, p. 56–65, 2012.

SMITS, A. *et al.* Cefazolin plasma protein binding in different human populations: More than cefazolin-albumin interaction. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 43, n. 2, p. 199–200, 2014.

SO, W.; KUTI, J. L.; NICOLAU, D. P. Population Pharmacokinetics of Cefazolin in Serum and Tissue for Patients with Complicated Skin and Soft Tissue Infections (cSSTI). **Infectious Diseases and Therapy**, v. 3, p. 269–279, 2014.

STEINER, I. M. *et al.* Effect of norepinephrine on ceftazidime tissue concentrations in healthy subjects. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 53, n. 3, p. 506–511, 2004.

STITELY, M. *et al.* Plasma and tissue cefazolin concentrations in obese patients undergoing cesarean delivery and receiving differing pre-operative doses of drug. **Surgical Infections**, v. 14, n. 5, p. 455–9, 2013.

SUGIOKA, N. *et al.* Effects of Obesity Induced by High-fat Diet on the Pharmacokinetics of Nelfinavir , A HIV Protease Inhibitor , in Laboratory Rats. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 541, n. August, p. 532–541, 2009.

SWANK, M. L. *et al.* Increased 3-gram cefazolin dosing for cesarean delivery prophylaxis in obese women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 213, n. 3, p. 415e1-415e8, 2015.

TANAKA S, INOUE S, ISODA F, WASEDA M, ISHIHARA M, YAMAKAWA T, SUGIYAMA A, TAKAMURA Y, O. K. Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 17, n. 11, p. 631–636, 1993.

TANNER, B. D.; ALLEN, J. W. Complications of Bariatric Surgery: Implications for the Covering Physician. **The American Surgeon**, v. 75, n. 2, p. 103–112, 2009.

TARRY-ADKINS, J. L. *et al.* Poor maternal nutrition and accelerated postnatal growth induces an accelerated aging phenotype and oxidative stress in skeletal muscle of male rats. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 10, p. 1221–1229, 2016.

TAVARES, T. B.; NUNES, S. M.; SANTOS, M. D. O. Obesidade e qualidade de vida : revisão da literatura. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 20, n. 3, p. 359–366, 2010.

TETSUYA, T. *et al.* Comparative Pharmacokinetics of Cefazolin in Awake and Urethane-Anesthetized Rats. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 3, p. 2153–2157, 1985.

_____. Age-related change of cefazolin binding to rat serum proteins and its relation to the molar ratio of free fatty acid to serum albumin. **Journal of Pharmacobiodynamics**, v. 9, p. 81–87, 1986.

THALLINGER, C. *et al.* Effect of severity of sepsis on tissue concentrations of linezolid. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 1, p. 173–176, 2008.

THE EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING - EUCAST 2017. **EUCAST MIC distributions**. Disponível em: <http://www.eucast.org/mic_distributions/>. Acesso em: 1 mar. 2017.

TJEERTES, E. K. M. *et al.* Obesity--a risk factor for postoperative complications in general surgery? **BMC anesthesiology**, v. 15, p. 112, 2015.

TOMA, O. *et al.* Pharmacokinetics and tissue penetration of cefoxitin in obesity: Implications for risk of surgical site infection. **Anesthesia and Analgesia**, v. 113, n. 4, p. 730–737, 2011.

TOPALOGLU, S. *et al.* Comparison of bariatric and non-bariatric elective operations in morbidly obese patients on the basis of wound infection. **Obesity Surgery**, v. 15, n. 9, p. 1271–1276, 2005.

TRAUNMÜLLER, F. *et al.* Pharmacokinetics of single- and multiple-dose oral clarithromycin in soft tissues determined by microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3185–3189, 2007.

_____. Soft tissue and bone penetration abilities of daptomycin in diabetic patients with bacterial foot infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 6, p. 1252–1257, 2010.

TSUJI, A. *et al.* Physiologically Based Pharmacokinetic Model for β -Lactam Antibiotics

I: Tissue Distribution and Elimination Rates. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 11, p. 1239–1252, 1983.

van KRALINGEN, S. *et al.* Pharmacokinetics and protein binding of cefazolin in morbidly obese patients. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 67, n. 10, p. 985–992, 2011.

VELLA-BRINCAT, J. W. A. *et al.* Protein binding of cefazolin is saturable in vivo both between and within patients. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 63, n. 6, p. 753–757, 2007.

WINFIELD, R. D. *et al.* Obesity and the Risk for Surgical Site Infection in Abdominal Surgery. **The American Surgeon**, v. 82, n. 4, p. 331–336, 2016.

WITTAU, M. *et al.* Population Pharmacokinetics and Target Attainment of Meropenem in Plasma and Tissue of Morbidly Obese Patients after Laparoscopic Intraperitoneal Surgery. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 6241–6247, 2015.

WOLF, A. M.; KORTNER, B.; KUHLMANN, H. W. Results of bariatric surgery. **International Journal of Obesity**, v. 25 Suppl 1, p. S113–S114, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight - Fact sheet.** Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 6 mar. 2017.

YOUNG, O. M. *et al.* Pharmacokinetics of cefazolin prophylaxis in obese gravidae at time of cesarean delivery. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 213, n. 4, p. 541.e1-541.e7, 2015.

ZHUANG, L. *et al.* Theory and Application of Microdialysis in Pharmacokinetic Studies. **Current Drug Metabolism**, v. 16, p. 919–931, 2015.

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-
REITORIA DE PESQUISA -



PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação farmacocinética da cefazolina em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica em hospital de Porto Alegre

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 05548412.7.0000.5530

Pesquisador: Airton Tetelbom Stein

Instituição: Grupo Hospitalar Conceição/Hospital Nossa Senhora da Conceição S.A.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 109.041

Data da Relatoria: 13/09/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa está bem apresentado, com introdução atualizada, objetivo e metodologia claramente descritos.

Objetivo da Pesquisa:

Em atendimento à solicitação, adequações foram feitas na redação do objetivo da pesquisa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em carta resposta ao CEP, os pesquisadores descrevem os procedimentos que serão utilizados caso algum paciente apresente reação ao tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As solicitações foram atendidas, estando o projeto de pesquisa adequado para aprovação por esse CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequações foram feitas nos termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As solicitações foram atendidas. Assim, recomenda-se aprovação do projeto de pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

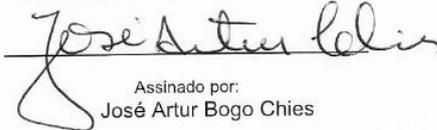
Não

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - 2º andar do Prédio da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propeq.ufrgs.br

Considerações Finais a critério do CEP:

Encaminhe-se.

PORTO ALEGRE, 27 de Setembro de 2012



Assinado por:
José Artur Bogo Chies

CAAE: 05548412.7.0000.5530



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 25463

Título: Otimização da Antibioticoprofilaxia em Cirurgia Bariátrica: Uma Abordagem Translacional para o SUS

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

TERESA CRISTINA TAVARES DALLA COSTA - coordenador desde 17/06/2013
PATRICIA KLARMANN ZIEGELMANN - pesquisador desde 17/06/2013
BIBIANA VERLINDO DE ARAUJO - pesquisador desde 17/06/2013
ISABELA HEINECK - pesquisador desde 17/06/2013
Maria Isabel Fischer - Aluno de Doutorado desde 17/06/2013

Equipe Externa:

airton Stein - pesquisador desde 17/06/2013
Kátia Elisabete Pires Souto - pesquisador desde 17/06/2013
Nelson Guradiola Meinhardt - pesquisador desde 17/06/2013
Maurício Jacks Ramos - pesquisador desde 17/06/2013

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 24/03/2014 - Sala Multiuso da Biblioteca Central - Prédio da Reitoria - Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 18 ratos Wistar, de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.

Porto Alegre, Segunda-Feira, 9 de Fevereiro de 2015

Bruno Cassel Neto
Vice-Pró-Reitor de Pesquisa
PROPESQ/UFRGS

BRUNO CASSEL NETO
Vice Pró-Reitor de Pesquisa