

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

**Modelo Farmacocinético Populacional do Metotrexato para  
Pacientes Pediátricos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com  
Leucemia Linfoblástica Aguda**

**PRICILLA DE OLIVEIRA HENZ**

Porto Alegre, 2022.



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

**Modelo Farmacocinético Populacional do Metotrexato para  
Pacientes Pediátricos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com  
Leucemia Linfoblástica Aguda**

Dissertação apresentada por **Pricilla de Oliveira Henz** como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, financiada com bolsa de estudos do CNPq.

Orientadora: Profa. Dra. Teresa Dalla Costa  
Coorientadora: Profa. Dra. Bibiana Verlindo de Araújo

Porto Alegre, 2022

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 25 de março de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Marcelo Dutra Arbo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Suzanna Edith Medellin-Garibay UASLP

Universidade Autónoma de San Luis Potosí

Izabel Almeida Alves

Universidade Federal da Bahia

#### CIP - Catalogação na Publicação

Henz, Pricilla de Oliveira  
Modelo Farmacocinético Populacional do Metotrexato para Pacientes Pediátricos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com Leucemia Linfoblástica Aguda / Pricilla de Oliveira Henz. -- 2022.  
79 f.  
Orientadora: Teresa Cristina Tavares Dalla Costa.  
  
Coorientador: Bibiana Verlindo de Araújo.  
  
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2022.  
  
1. Metotrexato. 2. leucemia linfoblástica aguda. 3. modelo farmacocinético populacional (popPK). 4. pacientes pediátricos brasileiros. I. Dalla Costa, Teresa Cristina Tavares, orient. II. de Araújo, Bibiana Verlindo, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dedico à Milene Lopes de Oliveira,  
que é essa mãe resiliente e meu  
apoio em todas as horas difíceis.



## **AGRADECIMENTOS**

Começo agradecendo as duas mulheres que me criaram e sempre me deram todo apoio nas decisões que tomei, tanto na minha vida pessoal quanto profissional, que são minha mãe Milene e minha avó Francisca.

Agradeço a minha família e amigos, que tornaram esse tempo mais divertido, menos estressante, e que me deram motivação para continuar.

Agradeço ao Prof. Lauro Gregianin pela oportunidade, pelas dicas e por acreditar neste trabalho. E também a Mariana Botton e a Amanda Pinhatti pela ajuda que me deram nesse trabalho.

Agradeço aos integrantes do Laboratório Farmacocinética e Modelagem PK/PD pelo suporte, principalmente à Profa. Teresa, pela dedicação aos alunos que sempre demonstrou, e à Profa. Bibiana, por trazer ao laboratório as ferramentas de modelagem farmacocinética que tanto nos ajudaram durante a pandemia.

Por fim, assim como fiz no meu trabalho de conclusão da graduação, termino agradecendo à universidade pública, as bolsas de formento à pesquisa e financiamento, CNPq e Fapergs, que tornaram meus desejos profissionais possíveis. Espero e luto por tempos melhores, para que muito mais jovens tenham essas oportunidades.



## RESUMO

O metotrexato (MTX) é um agente quimioterápico que compõe os protocolos de tratamento da Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) para pacientes pediátricos. Este fármaco está sujeito ao monitoramento terapêutico devido a sua alta variabilidade farmacocinética e o risco de toxicidade quando concentrações altas estão fora da janela terapêutica. **Objetivos:** Desenvolver um modelo farmacocinético populacional (popPK) para o MTX em pacientes pediátricos brasileiros com LLA atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **Métodos:** O modelo foi desenvolvido utilizando o software NONMEM 7.4 (Icon®), subrotinas ADVAN3 TRANS4 e o método de estimativa FOCE-I. Para explicar a variabilidade interindividual, avaliamos covariáveis a partir de dados demográficos, dados bioquímicos e informações genéticas de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) de genes relacionados ao transporte e metabolismo de fármacos nesta população (Comitê de Ética nº 4.260.110). Um modelo de dois compartimentos foi construído usando 483 concentrações de 45 pacientes (0,33–17,83 anos) tratados com MTX (0,25–5 g/m<sup>2</sup>) em diferentes ciclos. A depuração de creatinina (crCL) e uma estratificação de baixo índice de massa corporal de acordo com o z-score da Organização Mundial da Saúde (LowBMI) foram adicionados como covariáveis na depuração do MTX:  $CL (L/h) = 8,06 \times (crCL/mediana^{0,432}) \times (1 - 0,363)_{LowBMI}$ . O volume de distribuição do compartimento central e periférico foram de 27,6 L e 9,20 L, respectivamente, e a depuração intercompartimental foi de 0,226 L/h. A validação externa do modelo foi realizada por meio de verificação preditiva visual usando dados de outros 15 pacientes pediátricos com LLA. **Conclusão:** Um modelo popPK de MTX foi desenvolvido para pacientes pediátricos brasileiros com LLA, onde a variabilidade interindividual foi explicada pela função renal e fatores relacionados ao tamanho corporal do paciente.

**Palavras-chave:** Metotrexato, leucemia linfoblástica aguda, modelo farmacocinético populacional (popPK), pacientes pediátricos brasileiros.



## ABSTRACT

### **Methotrexate Population Pharmacokinetic Model for Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia attended at Hospital de Clínicas de Porto Alegre**

Methotrexate (MTX) is a chemotherapy agent that compose Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) treatment protocols for pediatric patients. This drug is subject to therapeutic drug monitoring due to its high pharmacokinetic variability and safety risk when it is out of therapeutic window. **Objectives:** The aim of this work was to develop a population pharmacokinetic model (popPK) of MTX for Brazilian pediatric ALL patients attended at Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **Methods:** The model was developed using NONMEM 7.4 (Icon®), ADVAN3 TRANS4 subroutines and estimation method FOCE-I. To explain interindividual variability, we evaluate covariates from demographic and biochemical data and genetic information of single nucleotide polymorphism (SNP) of genes related to transport and metabolism of drugs in this population (Ethics Committee # 4.260.110). **Results:** A two-compartment model was built using 483 data points from 45 patients (0.33–17.83 y.o.) treated with MTX (0.25–5 g/m<sup>2</sup>) in different cycles. Creatinine clearance (crCL) and a low body mass index stratified according to z-score established by the World Health Organization (LowBMI) were added as clearance covariates:  $CL (L/h) = 8.06 \times (crCL/median^{0.432}) \times (1 - 0.363)_{LowBMI}$ . Volume of distribution of central and peripheral compartment were 27.6 L and 9.20 L, respectively, and intercompartmental clearance was 0.226 L/h. Model external validation was perform through visual predictive check using data of other 15 pediatric ALL patients. **Conclusion:** A popPK model of MTX was develop for Brazillian pediatric ALL patients, were the interindividual variability was explain by renal function and factors related to body.

**Keywords:** Methotrexate, acute lymphoblastic leukemia, population pharmacokinetic (popPK) model, Brazilian pediatric patients.



## LISTA DE SIGLAS

7-OH-MTX	7-hidroximetotrexato
ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
ALL	<i>Acute lymphoblastic leukemia</i>
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	<i>Alanine aminotransferase</i>
ASC	Área sob a curva
AST	<i>Aspartate aminotransferase</i>
BFM	<i>Berlin-Frankfurt-Munster</i>
BMI	<i>Body mass index</i>
BSA	<i>Body surface area</i>
BUN	<i>Blood urea nitrogen</i>
CL	<i>Clearance</i>
crCL	<i>Creatinine clearance</i>
eFGR	Filtração glomerular estimada
FOCE-I	<i>First order conditional estimation with interaction method</i>
FPGS	Folilpoliglutamato sintetase
GST	Glutathione S-transferase
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HSP	<i>Heat shock protein</i>
$k_e$	Constante de velocidade de eliminação
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLOQ	<i>Low limit of quantification</i>
MRP	<i>Multidrug resistance proteins</i>
MTHFR	<i>Methylenetetrahydrofolate reductase</i>
MTX	<i>Methotrexate</i>
NONMEM	<i>Nonlinear Mixed Effects Modeling software</i>
OFV	<i>Objective function value</i>
popPK	<i>Population pharmacokinetic</i>
PSN	<i>Pearl-speaks-Nonmem</i>
Q	<i>Intercompartmental clearance</i>

RFC	<i>Reduce Folate Carrier</i>
RSE	<i>Residual standard error</i>
SCM	<i>Stepwise covariate selection</i>
SLC	<i>Solute carrier</i>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
$t_{1/2}$	Meia-vida
$t_{1/2 \alpha}$	Meia-vida de distribuição
$t_{1/2 \beta}$	Meia-vida de eliminação
ULOQ	<i>Upper of limit of quantification</i>
V1	<i>Central volume of distribution</i>
V2	<i>Peripheral volume of distribution</i>
$V_c$	Volume no compartimento central
Vd	Volume de distribuição
$V_{d\beta}$	Volume da fase de eliminação
$V_P$	Volume de distribuição periférico
VPC	<i>Visual predictive check</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>25</b>
3.1 CÂNCER INFANTIL E LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.....	27
3.2 METOTREXATO.....	27
<b>3.2.1 Importância na Clínica.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2.2 Mecanismo de ação.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.3 Farmacocinética do MTX.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.4 Influência da Idade na Farmacocinética do MTX.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2.5 Toxicidade e Medidas de Prevenção.....</b>	<b>31</b>
3.3 TRATAMENTO DA LLA COM MTX.....	33
3.4 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO MTX.....	36
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>CAPITULO 1.....</b>	<b>49</b>
<b>1 INTRODUCTION.....</b>	<b>53</b>
<b>2 METHODS.....</b>	<b>54</b>
2.1 Study population.....	54
2.2 Structural pharmacokinetic model.....	55
2.3 Covariate model.....	55
2.4 Genetic variants.....	56
2.5 Internal and external validation of final model.....	56
<b>3 RESULTS.....</b>	<b>57</b>
3.1 Study population.....	57
3.2 Structural pharmacokinetic model.....	59
3.3 Covariate model.....	60
3.4 Model Internal and External Validation.....	61
<b>4 DISCUSSION.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>66</b>
<b>SUPPLEMENTARY MATERIAL.....</b>	<b>71</b>

<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....</b>	<b>79</b>

## 1. INTRODUÇÃO



O tratamento do câncer ainda é um dos maiores desafios da medicina, em parte devido à incidência elevada na população (INCA, 2020), em parte devido à complexidade das diversas neoplasias e dos efeitos indesejados que os tratamentos quimioterápicos existentes podem causar nos pacientes oncológicos. No caso de paciente oncológicos pediátricos, o desfecho do tratamento pode ser ainda mais imprevisível, devido às variações decorrentes da ontogenia, que influenciam a farmacocinética (PK), alterando as taxas de metabolização e eliminação, aumentando efeitos tóxicos e/ou reduzindo os efeitos terapêuticos dos quimioterápicos (LUYCKX *et al*, 1985; PEARSON *et al*, 1991; WINTER, 1994).

Dentre os quimioterápicos mais utilizados em pacientes oncológicos pediátricos está o metotrexato (MTX), que compõe protocolos terapêuticos para leucemia linfoblástica aguda (LLA), que é uma das neoplasia que mais acomete crianças e adolescentes (INCA, 2018). O MTX é um antifolato que age inibindo de forma competitiva e irreversível a diidrofolato redutase (DHFR) e, conseqüentemente, reduz a produção de tetraidrofolato e metiltetrahidrofolato, que são doadores de metila para a timidilato sintetase e purinas, levando à inibição da síntese de DNA (CHIBBER *et al*, 2011; CHAN; CRONSTEIN, 2013). Para tratamento de alguns tumores, o MTX é administrado em altas doses ( $>1\text{g/m}^2$ ), sendo o cálculo da dose baseado na área superficial corporal do paciente (BSA – *body surface area*) (GAO *et al*, 2014). Sua toxicidade é dependente muito mais do tempo de exposição do organismo ao fármaco do que do pico de concentração plasmática resultante da posologia (BLEYER, 1978). Os efeitos colaterais são geralmente hematopoiéticos, como anemia, leucopenia e trombocitopenia, e também gastrointestinais e hepáticos (GAIES *et al*, 2012). Em altas doses ocorre principalmente danos renais devido à produção do metabólito 7-hidroxi-MTX, que se cristaliza no néfron e diminui a taxa de excreção renal. Em função disso, após a administração de MTX, realiza-se o resgate com leucovorina, que compete com o fármaco na penetração celular, além de medidas que favorecem a eliminação renal, como alcalinização da urina (LEVÊQUE *et al*, 2017). Para assegurar a eficácia e segurança do uso do MTX, os hospitais adotam protocolos terapêuticos elaborados por instituições de referência internacional ou pelo próprio hospital.

Independente do protocolo utilizado, o monitoramento terapêutico do MTX se faz necessário devido a estreita janela terapêutica desse fármaco e o fato que a toxicidade não é só dependente da concentração plasmática, mas do tempo que concentrações elevadas permanecem na corrente sanguínea (tempo de exposição ao

fármaco), ainda mais quando o fármaco é utilizado em altas doses. No tratamento do câncer, a concentração plasmática de MTX deve atingir  $\leq 10 \mu\text{M}$  até no máximo 48 horas após o início do tratamento e, após esse período, deve ficar entre 0,01 a 0,1  $\mu\text{M}$  após 72 horas, dependendo da dose que foi administrada (EVANS *et al*, 1992; WINTER, 1994).

No monitoramento terapêutico utilizam-se modelos farmacocinéticos que auxiliam na adequação do regime terapêutico, através da determinação de parâmetros farmacocinéticos como tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ), constante de velocidade de eliminação ( $k_e$ ), *clearance* (CL), volume de distribuição (Vd), que descrevem o comportamento do organismo em relação ao fármaco administrado (WANG; FUJIMOTO, 1984; LUYCKX *et al*, 1985; PEARSON *et al*, 1991; PIGNON *et al*, 1994; HIJIYA *et al*, 2006; LEVÊQUE *et al*, 2017). Esses parâmetros estão sujeitos a variações intra e inter-individuais, que acontecem ainda mais em pacientes pediátricos, devido a variações de idade, altura, peso, área corporal, maturação dos sistemas de metabolismo e transporte, gênero (ANDERSON *et al*, 2006; TAGEN; STEWART, 2014), polimorfismos em genes envolvidos no metabolismo, transporte e mecanismo de ação desse fármaco (MATTIA; TOFFOLI, 2009; LUI *et al*, 2018), condições de saúde do paciente e interação com medicamentos de uso concomitante (PFIZER, 2019). Para isso, na literatura existem alguns estudos de modelagem farmacocinética populacional (popPK) para o MTX em pacientes adultos (WANG; FUJIMOTO, 1984; PIGNON *et al*, 1994) e pediátricos (WANG; FUJIMOTO, 1984; PEARSON *et al*, 1991; HIJIYA *et al*, 2006), que tentam atribuir fontes de variabilidade (covariáveis) aos parâmetros do modelo farmacocinético, gerando parâmetros PK populacionais. A inclusão dessas covariáveis pode trazer maior aproximação dos parâmetros do modelo à realidade do paciente, favorecendo um melhor desfecho clínico.

O modelo populacional busca auxiliar no monitoramento terapêutico de uma população específica, já que para sua construção são usadas concentrações plasmáticas e características dos indivíduos que participaram do estudo. Sendo assim, os modelos podem variar entre diferentes países, cidades e até mesmo entre diferentes hospitais (ODOUL *et al*, 1999; AUMENTE *et al*, 2006; THOMPSON *et al*, 2006; COLOM *et al*, 2009; KOTNIK *et al*, 2011; HUI *et al*, 2018). Como não há estudo relatando a farmacocinética do MTX em pacientes pediátricos brasileiros, este projeto

tem como objetivo desenvolver um modelo farmacocinético populacional para o fármaco, através de dados retrospectivos obtidos de pacientes pediátricos com LLA submetidos aos protocolos de tratamento quimioterápico utilizados pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).



## **2. OBJETIVOS**



## 2. 1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver modelo popPK para o MTX através de dados esparsos retrospectivos obtidos de pacientes pediátricos com LLA, submetidos aos protocolos de tratamento quimioterápico utilizados pelo HCPA.

## 2. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir esse objetivo, os objetivos específicos deste projeto foram:

- I. Coletar nos prontuários os dados de concentração plasmática do MTX nos diferentes ciclos de quimioterapia dos pacientes pediátricos com LLA participantes do estudo bem como dados demográficos, bioquímicos e genéticos desses pacientes;
- II. Construir uma base de dados (*data sets*) para possibilitar o desenvolvimento do modelo popPK para o fármaco;
- III. Construir o modelo farmacocinético estrutural utilizando o *software* de regressão não-linear de efeitos mistos NONMEN;
- IV. Investigar o impacto de covariáveis demográficas, bioquímicas e do polimorfismo genético nos parâmetros farmacocinéticos;
- V. Realizar a validação externa do modelo popPK utilizando dados de outro grupo de pacientes.

Os resultados desta dissertação estão apresentados na forma de artigo que será submetido para publicação.



### **3. REFERENCIAL TEÓRICO**



### 3.1 CÂNCER INFANTIL E LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

O câncer, de forma geral, é uma doença caracterizada por uma proliferação exagerada de células anormais e disfuncionais que ocorre devido a mutações não corrigidas no ciclo celular, podendo ocorrer em qualquer parte do organismo (*American Cancer Society*, 2019). Segundo a Organização Mundial e Saúde (WHO, 2019), o número de novos casos de câncer registrados anualmente é de 14 milhões no mundo todo. Além do mais, a previsão é que esse número aumente em 70% nos próximos vinte anos, devido a exposições a agentes cancerígenos no ambiente e hábitos de vida danosos à saúde, como obesidade, tabagismo e alcoolismo, principalmente nos países subdesenvolvidos, onde há escassez de recursos (OPAS, 2020). No Brasil, o câncer é a primeira causa de morte por doença (8% do total) entre crianças e adolescentes de 1 a 19 anos (INCA, 2020).

As neoplasias em crianças e adolescentes são predominantemente de origem embrionária e, geralmente, afetam as células do sistema sanguíneo e os tecidos de sustentação. Por isso, a LLA é um dos tipos de câncer que mais acomete crianças e adolescentes (*American Cancer Society*, 2019). A leucemia tem origem nas mutações que ocorrem durante a hematopoese, podendo ocorrer na linhagem mieloide ou linfoide. A linhagem linfoide se subdivide em linfócitos T ou B, sendo a tipo B mais comum em populações de origem hispânica (DORES, 2012). Apesar da LLA ser mais comum em crianças de 2 – 5 anos de idade, o prognóstico é muito melhor para elas do que para adultos, levando a uma incidência de sobrevida muito maior. Porém, cerca de 20% desses pacientes sofrem recidivas.

### 3.2 METOTREXATO

#### 3.2.1 Importância na Clínica

O MTX é um fármaco largamente utilizado no tratamento do câncer, compondo vários protocolos terapêuticos, por isso, compõe a lista de medicamentos essenciais elaborada pela Organização Mundial de Saúde (WHO – *World Health Organization*, 2019). O MTX como quimioterápico, além de ser usado no tratamento de leucemias, também é empregado no tratamento do osteosarcoma, linfoma não-Hodgkin, linfoma de Burkitt, câncer de bexiga e de mama, e tem uso *off-label* em certos tumores

cerebrais (HUENNEKENS, 1994). O fármaco também é utilizado no tratamento da psoríase, na artrite reumatoide (WESSELS *et al*, 2007), na granulomatose de Wegner, na doença de Crohn (HERFARTH *et al*, 2012) e como imunossupressor em transplante hlogênico de células tronco hematopoiéticas (GORI *et al*, 2009). Seu emprego contra diferentes patologias depende de sua dosagem: para os protocolos quimioterápicos são utilizadas altas doses ( $\leq 50$  mg/semana) e como imunossupressor e anti-inflamatório são usadas doses baixas (5 à 25 mg/semana) (BARBISSAN, 2014; TAGEN; STEWART, 2014).

### 3.2.2 Mecanismo de ação

O MTX é um antifolato que age inibindo de forma competitiva e irreversível a DHFR e, conseqüentemente, reduz a produção de tetraidrofolato e metiltetrahidrofolato, que são doadores de metila para a timidilato sintetase e purinas, levando a inibição da síntese de DNA (HUENNEKENS, 1994; CHIBBER *et al*, 2011; CHAN; CRONSTEIN, 2013). Esse medicamento tem uma estrutura análoga ao ácido fólico, cuja afinidade pela DHFR é 300 à 1000 vezes maior do que a dos folatos (CHIBBER *et al*, 2011). Esse mecanismo confere ao MTX suas propriedades antineoplásicas, sendo mais ativo contra células que se multiplicam mais rapidamente, já que seus efeitos citotóxicos ocorrem primeiramente na fase S do ciclo celular. Como a proliferação celular nos tecidos malignos é maior do que na maioria dos tecidos normais, o MTX pode prejudicar o crescimento maligno sem causar danos irreversíveis aos tecidos normais. Como resultado, tecidos em proliferação ativa, como células malignas, medula óssea, células fetais, mucosa bucal e intestinal e células da bexiga urinária são, em geral, mais sensíveis aos efeitos de inibição da DHFR pelo MTX (PFIZER, 2019).

### 3.2.3 Farmacocinética do MTX

O MTX é administrado geralmente pelas vias intravenosa, intramuscular e parenteral, isso porque, pela via oral, a absorção é saturável devido ao transportador de folato reduzido (RFC – *reduce folate carrier*), na porção proximal do jejuno (MURAKAMI; MORI, 2012). O fármaco é cerca de 46,5 % ligado a proteína plasmática

em pessoas saudáveis (PAXTON, 1981). Quase não é metabolizado, sendo cerca de 80% excretado inalterado por via renal, através de filtração glomerular e secreção tubular ativa. Apenas 3% da dose é excretada na forma do metabólito 7-hidroimetotrexato, em até 24h após a administração da dose (SEIDEMAN *et al*, 1993). Dessa forma, o *clearance* do MTX tem forte influência do *clearance* de creatinina ( $CL_{Cr}$ ).

Seu perfil farmacocinético segue modelo de dois compartimentos, sendo as meias-vidas de distribuição ( $t_{1/2\alpha}$ ) e de eliminação ( $t_{1/2\beta}$ ) descritas por farmacocinética não-linear. O volume de distribuição, composto por volume no compartimento central ( $V_c$ ) e volume da fase de eliminação ( $V_{d\beta}$ ), também não é linear, já que o transporte para os tecidos é saturável. Em adultos, os valores desses parâmetros farmacocinéticos são:  $t_{1/2\alpha} = 3$  h se concentração plasmática do MTX  $> 0,5$  mM,  $t_{1/2\beta} = 10$  h se a concentração plasmática  $< 0,5$  mM,  $V_c = 0,2$  L/kg e  $V_{d\beta} = 0,5-1$  L/kg (EVANS *et al*, 1992; WINTER, 1994). Porém, se sabe que esses valores podem ser diferentes em pacientes pediátricos e mudar sob influência das condições clínicas do paciente como obesidade, insuficiência renal e presença de ascite, que fazem o MTX se depositar em um terceiro compartimento; uso concomitante de outros medicamentos, que podem alterar pH urinário ou competir com o MTX por transportadores; dose empregada no tratamento, que pode levar à saturação de transportadores para os tecidos; e características intrínsecas dos indivíduos como idade, peso, altura e polimorfismos em genes relacionados ao transporte do fármaco (ANDERSON *et al*, 2006; MATTIA; TOFFOLI, 2009; TAGEN; STEWART, 2014; LUI *et al*, 2018).

É sabido que a eliminação do MTX é influenciada pela participação de transportadores de membrana, presentes nas células alvo, nos hepatócitos e nos enterócitos, que se comunicam com a corrente sanguínea, e também nas células renais, por onde passa para ser eliminado pela urina. Portanto, alterações no genótipo em genes que codificam para esses transportadores, como polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP – *single nucleotide polymorphism*) podem ser a causa para alterações na disposição e eliminação desse fármaco. Muitos representantes dessas famílias já tiveram variantes genéticas associadas à toxicidade e redução da eliminação, assim como também à redução do risco de toxicidade e aumento na eliminação do MTX.

Os principais transportadores que participam do transporte do MTX são os da superfamília SLC (*solute carrier*), também conhecida como RFC (*reduce folate carrier*), e os da superfamília ABC (*ATP-binding cassette*). Como exemplo de associação com toxicidade ou redução da eliminação do MTX podemos citar o gene SLC19A1 (RFC1) (KISHI *et al*, 2007; GREGERS *et al*, 2010; PARK *et al*, 2016; KOTNIK, *et al* 2017) e o gene SLCO1B1 (RADTKE *et al*, 2013; YANG *et al*, 2017; SCHULTE *et al*, 2021), dos carreadores de folato reduzido. Os genes dos transportadores de efluxo ABCC1 (HEGYI *et al*, 2017), ABCC2 (HEGYI *et al*, 2017), ABCC4 (HOED *et al*, 2014), cuja família é conhecida por codificar para proteínas de resistência a múltiplos fármacos (MRP – *multidrug resistance proteins*), e os genes ABCB1 e ABCG2 (LUI *et al*, 2018) também foram associados a sintomas de toxicidade e alteração da eliminação do MTX. Outros genes que podem estar relacionados a eliminação do MTX são os envolvidos na metabolização do fármaco. Os genes relatados na literatura são os que codificam para as enzimas folilpoliglutamato sintetase (FPGS) (HUANG *et al*, 2016), DHFR e metileno tetrahydrofolato redutase (MTHFR) (KOTNIK *et al*, 2011), que participam de vias de metabolização intracelular do MTX.

### 3.2.4 Influência da Idade na Farmacocinética do MTX

Weng e Fujimoto (1979), observaram que pacientes pediátricos entre 5 e 17 anos com osteosarcoma tiveram menores concentrações de MTX em 6 h e 24 h após infusão do que pacientes adultos, mostrando forte correlação da concentração com a idade quando o MTX é administrado em doses altas. Para uma dose de 150 mg/kg, o coeficiente de correlação entre as concentrações de MTX e a idade dos pacientes foi de 0,5358 para 38 infusões em 6 h ( $P < 0,001$ ) e de 0,3702 para 33 infusões em 24 h ( $P < 0,05$ ). Os parâmetros farmacocinéticos calculados mostram que a constante de eliminação em crianças é quase o dobro do que a de pacientes adultos, sendo  $k_e = 0,578 \text{ h}^{-1}$  e  $0,306 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente, indicando que a eliminação em crianças é maior do que em adultos, levando a menores concentrações plasmáticas em 6 e 24 horas após a dose. Além disso, a constante de troca do compartimento central para o compartimento periférico também demonstrou ser mais que o dobro em pacientes pediátricos do que em adultos, com  $k_{12} = 0,018 \text{ h}^{-1}$  e  $0,007 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente. O volume de distribuição na fase de eliminação também dobrou de valor entre um grupo e outro

( $Vd_{\beta} = 1,1$  e  $0,5$  L/kg, em crianças e adultos). Os autores observaram que a taxa de excreção urinária entre o grupo abaixo de 15 anos e o grupo acima de 18 anos era distinta, sendo que as crianças excretam cerca de 60 % da dose de MTX durante as 6 h de infusão e a maior parte do resto dos 40% nas próximas 18 h, já nos adultos ocorre o contrário. Nos pacientes envolvidos nesse estudo, a toxicidade se mostrou mais presente em pacientes adultos. Donelli e colaboradores (1995), avaliaram a farmacocinética do MTX em crianças com LLA de diferentes idades e observaram que a área sob a curva (ASC) de adolescentes acima de 10 anos é 60% maior do que as de crianças abaixo dessa idade, e o CL é significativamente menor em adolescentes, chegando a um terço do CL de infantes ( $0.2$  vs.  $0.6$  L/h/kg,  $P < 0,01$ ).

Corroborando os achados previamente relatados, os resultados de Weng, Kawakatsu e colaboradores (2019), realizando um estudo de farmacocinética populacional do MTX, comparando o primeiro ciclo de tratamento de pacientes adultos e pediátricos com diferentes tipos de câncer – entre eles osteosarcoma e LLA – mostrou que a ASC, que é a medida de exposição do organismo ao fármaco, tem uma forte correlação com a neuro e hepatotoxicidade em crianças e nefrotoxicidade em adultos. No modelo popPK desenvolvido pelos autores, as covariáveis que puderam ser incluídas foram a filtração glomerular estimada (eFGR) e o número de ciclos, que influenciavam o CL, enquanto que a idade e a ALT (alanina aminotransferase, relacionada a função hepática) foram covariáveis para  $V_c$ , e ALT e a ocorrência de osteosarcoma foram covariáveis para o volume no compartimento periférico ( $V_p$ ). Sendo que, no caso do CL, a idade só deixou de ser uma covariável porque estava incluída no cálculo da eFGR. Sendo assim, fica claro que a idade dos pacientes é uma fonte de variabilidade que pode alterar tanto a depuração quanto a distribuição do MTX para os tecidos, impactando na toxicidade, tolerância para altas doses e, conseqüentemente, no sucesso do tratamento.

### **3.2.5 Toxicidade e Medidas de Prevenção**

O MTX não é largamente metabolizado pelo fígado, porém, alguns poliglutamatos são formados como produtos de metabolização: o 7-hidroximetotrexato (7-OH-MTX), que é o mais produzido, o ácido 4-amino-4-desoxi-N10-metilpteróico e o MTX-poliglutamato (WIDEMANN; ADAMSON, 2006). O 7-OH-MTX é um metabólito

de solubilidade baixa, que se deposita no néfron, levando à nefrotoxicidade. Por isso, durante o tratamento com MTX o pH da urina deve ser alcalinizado para evitar esse fenômeno (HOLMBOE *et al*, 2011). O próprio MTX e seus metabólitos tentem a se acumular também no compartimento extravascular, por isso que pessoas com insuficiência renal, dano hepático, ascite ou edema podem ter acúmulo do fármaco num terceiro compartimento e, dessa forma, um ajuste de dose se faz necessário (EVANS *et al*, 1992; WINTER, 1994; CHAN; CRONSTEIN, 2013).

Os sinais de toxicidade mais comuns que se manifestam nos pacientes que fazem uso de altas doses de MTX são:

- Falência renal aguda, que leva à necrose tubular, que é bastante rara (2 – 4%), porém é muito grave. Ocorre principalmente devido ao acúmulo de 7-OH-MTX, podendo levar à necessidade de diálise para a completa eliminação do fármaco e seu metabólito (WIDEMANN; ADAMSON, 2006). Para evitar esse quadro, a alcalinização da urina e hidratação do paciente são medidas necessárias.
- Neurotoxicidade aguda, que não é grave, causando dor de cabeça, náuseas e vômitos que duram de 12 à 72 horas; subaguda, caracterizada por paraplegia, disfunção cerebral, convulsão, que podem ocorrer semanas após a administração do MTX; e crônica, que ocorre meses ou anos após o tratamento, com leucoencefalopatia necrótica que é uma progressiva deterioração cognitiva, convulsões, ataxia, espasticidade e/ou coma. A neurotoxicidade só é observada em administração intratecal ou intravenosa do MTX. Devido ao seu mecanismo de ação, as concentrações elevadas de homocisteína no fluído cerebrospinal são responsáveis pelo acidente vascular cerebral (GAIES *et al*, 2012).
- Hematotoxicidade é uma complicação séria comumente observada com altas doses do MTX. Essa toxicidade é decorrente da redução do número de células sanguíneas, como mielossupressão e pancitopenia, podendo ocorrer trombocitopenia, anemia megalobástica e, ainda mais comumente, leucopenia (RAJNICS *et al*, 2017).
- Toxicidade cutâneas mais frequentes ao MTX são ulcerações na mucosa oral (mucosite), sensação de queimação na pele, fotossensibilidade, eritema acral, eritema multiforme, urticária e vasculite (POZO *et al*, 2001). Ocorrem

principalmente quando administradas altas doses de MTX, sendo raro em baixas doses (ALAYA *et al*, 2018).

- Gastrotoxicidade são bastante comuns, com sintomas como vômitos, diarreia e dores abdominais (GAIES *et al*, 2012).
- Hepatotoxicidade ocorre devido a uma longa duração de exposição ao MTX e sua dose cumulativa, resultando em fibrose ou cirrose (MILLWARD-SADLER; RYAN, 1974).
- Toxicidade pulmonar com pneumonia não é muito comum, porém é bastante grave, podendo levar à descontinuação do tratamento com MTX e necessidade de tratamento com corticoides. Isso ocorre devido a liberação de citocinas, desencadeadas pelo MTX, e consequente recrutamento de células inflamatórias, como linfócitos e eosinófilos (JAKUBOVIC *et al*, 2013).

Para evitar esses transtornos que podem afetar diretamente o desfecho clínico, é necessário o monitoramento dos níveis plasmáticos de MTX para que assim se possa fazer o resgate com leucovorina (ácido folínico), como está especificado nos protocolos terapêuticos. Também é necessário que se evite interações medicamentosas com o MTX. Essas interações podem ocorrer com diversos medicamentos, sendo as mais comuns: anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e salicilatos, que aumentam e prolongam os níveis séricos do MTX (FRENIA *et al*, 1992); medicamentos anti-reumáticos modificadores da doença (penicilamina, hidroxiclороquina ou sulfassalazina) (INOSE *et al*, 2020); amiodarona; L-asparaginase; diuréticos; fármacos altamente ligadas a proteínas plasmáticas como sulfonilureias, ácido aminobenzóico, salicilatos, fenilbutazona, fenitoína, sulfonamidas, como trimetoprim e sulfadiazina (KITAOKA *et al*, 1986), alguns antibióticos como penicilinas, tetraciclina, pristinamicina, probenecida e cloranfenicol; e inibidores da bomba de prótons, que são relacionados a redução na eliminação do MTX (BEORLEGUI *et al*, 2000; PFIZER, 2019).

### 3.3 TRATAMENTO DA LLA COM MTX

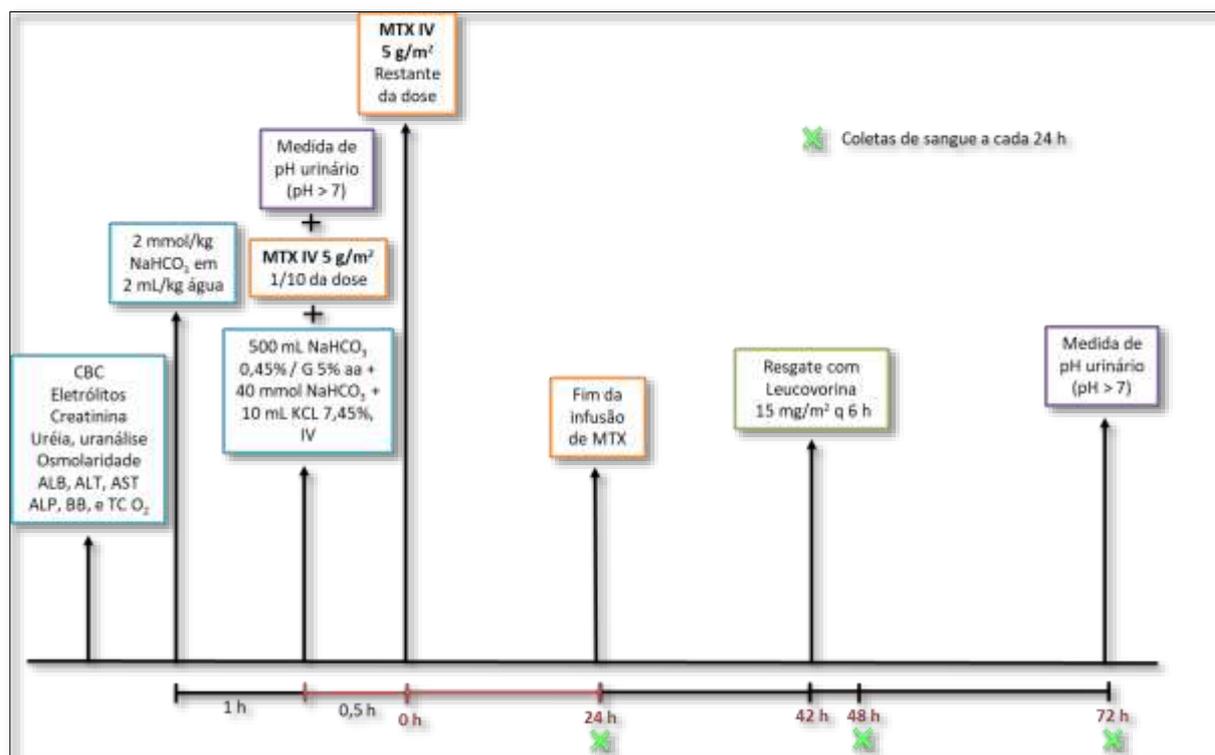
*Berlin-Frankfurt-Munster* (BFM) é um protocolo quimioterápico para o tratamento de LLA que foi elaborado após diversos estudos, entre 1991 e 2017, avaliando resultados obtidos de diferentes protocolos previamente propostos (CONTER *et al*, 2014; ALL IC-BFM 2009). A determinação do tratamento que deve

ser seguido é bastante complexa, variando de acordo com a gravidade e variantes genéticas da doença. Nesse protocolo, diferentes agentes quimioterápicos são combinados durante as fases de indução, consolidação, intensificação e manutenção, tendo como fármacos principais os glicocorticoides, vincristina, asparaginase, antraciclina e MTX em altas doses.

A administração de MTX segundo o protocolo BFM 2009 para pacientes de alto risco (bloco HR-1') pode ser melhor observado na Figura 1. Esse protocolo começa indicando a necessidade que sejam conduzidos os testes de contagem total de células sanguíneas, eletrólitos, creatinina sérica, nitrogênio ureico no sangue, osmolaridade, albumina, ALT (alanina transaminase), AST (aspartato transaminase), ALP (fosfatase alcalina), bilirrubina, uranálise, e, de forma adicional, saturação de oxigênio transcutâneo. Em seguida aos resultados dos exames, começa o primeiro dia de tratamento, em que 1h antes da infusão do MTX inicia-se a hidratação do paciente com NaHCO<sub>3</sub> (2 mmol/kg) em água (2 mL/kg), em seguida passa para uma hidratação com 500 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,45%/glicose 5% aa (*ana partes aequales*, que significa “de cada uma mesma quantidade”) + 40 mmol NaHCO<sub>3</sub> + 10 mL KCL 7,45%, sendo que essa hidratação segue pelas próximas 72 horas após início da infusão de MTX. O MTX na dose de 5 g/m<sup>2</sup> é infundido durante 24 horas, sendo que 1/10 da dose é administrada nos primeiros 30 min, como dose de ataque. A dose do MTX é calculada com base na BSA, utilizando a equação de DuBois, sendo o equivalente a área superficial bidimensional da pele do indivíduo, proporcional ao volume sanguíneo (GURNEY, 1996; GAO *et al*, 2014). Do primeiro ao terceiro dia de tratamento é monitorado o pH urinário, que não pode ficar abaixo de 7. A primeira dose de resgate com a leucovorina 15 mg/m<sup>2</sup> acontece 42 horas após início da infusão de MTX e segue a cada 6 horas até 72 horas. A cada 24 horas é coletado o sangue para avaliação dos níveis plasmáticos de MTX e, assim, determinar a necessidade ou não de aumentar as doses de leucovorina, sendo que a concentração do quimioterápico não deve ultrapassar valores limite, de acordo com o tempo após início da quimioterapia (Tabela 1). Se os níveis de MTX estiverem elevados, a dose de leucovorina adicional é calculada de acordo com a equação 1.

*Leucovorina [mg] = concentração plasmática de MTX [μmol/L] x peso corporal [kg].*

Eq.1



**Figura 1.** Linha temporal de cuidados e monitoramento terapêutico da infusão de alta dose de MTX estabelecido pelo protocolo BFM 2009 para pacientes de alto risco.

**Tabela 1:** Concentrações regulares de MTX no plasma, de acordo com protocolo BFM 2009.

Tempo após início da infusão de MTX	Nível de corte de MTX
24 h	$\leq 150,0 \mu\text{mol/L}$
36 h	$\leq 3,0 \mu\text{mol/L}$
42 h	$\leq 1,0 \mu\text{mol/L}$
48 h	$\leq 0,4 \mu\text{mol/L}$
54 h	$\leq 0,4 \mu\text{mol/L}$

Apesar de atualmente o protocolo BFM 2009 ser o mais empregado, outros protocolos existem e são usados como referência. Há algumas diferenças entre esses protocolos, já alguns são voltados para diferentes tipos e condições de pacientes. Os

protocolos BFM 2009 e GBTLI 2009 empregam uma dose de 5 g/m<sup>2</sup> de MTX intravenoso, mas o tempo de infusão é de 24 horas para BFM 2009, enquanto para GBTLI 2009 é de apenas 6 horas de infusão. A dose de ácido folínico é administrada 42 horas após o início da infusão de MTX no protocolo BFM 2009, enquanto para GBTLI 2009 inicia-se a leucovorina 36 horas após o início da infusão de MTX. Embora a dose padrão de MTX seja 5g/m<sup>2</sup> e a dose de ácido folínico seja 15mg/m<sup>2</sup>, essas doses podem variar de acordo com o braço terapêutico do protocolo utilizado e as complicações apresentadas pelos pacientes durante o tratamento, como sinais de toxicidade, que levam a equipe decidir reduzir a dose de MTX e aumentar a dose de resgate com ácido folínico.

### 3.4 MODELAGEM FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO MTX

A abordagem farmacocinética populacional é bastante utilizada no caso de dados esparsos, porque permite estimar parâmetros individuais e populacionais do fármaco, que são ajustados utilizando covariáveis. Dessa forma, mesmo que o conjunto de dados seja incompleto para cada indivíduo, é possível utilizar esses dados para estimar parâmetros que descrevem o comportamento do fármaco em determinada população. Na modelagem farmacocinética populacional, modelos matemáticos e estatísticos são incorporados aos modelos compartimentais, permitindo a avaliação da influência das fontes de variabilidade nos parâmetros farmacocinéticos e a descrição das informações relativas à variabilidade inexplicável entre os parâmetros farmacocinéticos dos indivíduos pertencentes a uma dada população. Um modelo popPK possui elementos fixos, representados pelo modelo estrutural e pelas covariáveis, e os elementos aleatórios. O modelo estrutural descreve o perfil de concentração versus tempo para a população (modelo compartimental clássico), o modelo de covariáveis quantifica as fontes de variabilidade interindividual conhecidas e o modelo estatístico quantifica as fontes de variabilidade desconhecidas (MOULD; UPTON, 2013).

Para guiar o processo de construção do modelo, podem ser utilizadas estimativas Bayesianas ou o valor da função objetiva (OFV – objective function value). Nas estimativas Bayesianas são estimados os parâmetros mais prováveis para descrever os dados com base em informações anteriores. Já a função objetiva é um valor que indica o ajuste do modelo aos dados, podendo avaliar diferentes modelos

em sequência para o mesmo conjunto de dados. Quanto menor o valor da função objetiva entre um modelo aninhado e outro, melhor é o ajuste do modelo aos dados (OWEN; FIEDLER-KELLY, 2014). Independente da abordagem, será escolhido um modelo estrutural que melhor se ajusta aos dados e, na sequência, será feita uma análise de covariáveis que influenciam os parâmetros. Se no processo de construção do modelo for usada a função objetiva, seu valor deverá reduzir significativamente entre o modelo base e o contendo a covariável testada, indicando a influência significativa dessa covariável no parâmetro farmacocinético sob investigação. Dessa forma, cada parâmetro será estimado por uma função que melhor o descreve.

Os modelos são avaliados ao longo das etapas de sua construção através de gráficos de qualidade de ajuste das predições individuais e populacionais em relação as observações e gráficos de verificação preditiva visual (VPC – visual predictive check), que usam simulações para gerar áreas no gráfico de intervalo de confiança de 95%. O modelo final ainda pode ser testado por bootstrap, que é um método de amostragem, que permite a construções de intervalos de confiança para cada parâmetro estimado (BYON et al, 2013). Para avaliar a capacidade preditiva do modelo final, é possível fazer uma validação externa, utilizando dados de outros pacientes, que não foram usados para a construção do modelo, para avaliar se o modelo é capaz de ser utilizado na prática clínica para prever concentrações de outros pacientes (OWEN; FIEDLER-KELLY, 2014).

A utilização dos modelos popPK permite a previsão das concentrações do fármaco em cada indivíduo, após administração de uma determinada dose, com base na estimativa dos parâmetros farmacocinéticos individuais feita utilizando as equações populacionais para cada parâmetro, que levam em consideração os fatores individuais que impactam nos mesmos. Com isso, é possível definir uma melhor dose ou regime terapêutico para um paciente, impedindo que situações como toxicidade ou doses subterapêuticas sejam utilizadas.

Além dos diversos estudos sobre a farmacocinética e farmacodinâmica do MTX já publicados, tanto em adultos quanto em crianças, existem relatos de modelos popPK para o fármaco. O que difere os estudos farmacocinéticos clássicos dos estudos com abordagem populacional é a inclusão de covariáveis aos modelos, tornando-os mais complexo, porém, mais fidedignos à realidade, já que levam em consideração a variabilidade intra e inter-individuais, comum em pacientes pediátricos como anteriormente mencionado.

Nos relatos de modelos popPK da literatura, a farmacocinética do MTX é melhor descrita por modelo estrutural de dois compartimentos com eliminação de primeira ordem. Odoul e colaboradores (1999), usando dados retrospectivos de pacientes pediátricos com LLA, puderam fazer uma predição do atraso de eliminação de alguns pacientes que não conseguiram atingir a concentração de  $0,2 \mu\text{M}$  de MTX após 72 horas do início do tratamento, através de uma estimativa Bayesiana, para que assim pudessem ser feitos ajustes de doses para evitar a toxicidade do fármaco. O modelo popPK proposto inclui o peso e a idade como covariáveis do CL e do Vd. Os autores concluíram que, com uma amostra coletada 48 h após o início do tratamento, o modelo era capaz de prever o atraso na eliminação do fármaco. Para isso, os parâmetros obtidos através do modelo foram usados para estimar os parâmetros individuais de um conjunto de dados teste. Com os parâmetros individuais, foram simulados perfis com base nas concentrações coletadas em 48 horas ou em 24 e 48 horas. Os perfis simulados por estimativa Bayesiana usando essas concentrações foram comparados com os perfis observados, mostrando resultados satisfatórios, principalmente para os perfis simulados apenas com base na concentração de 48 h.

Também trabalhado com dados de pacientes com LLA que utilizaram os protocolos terapêuticos LAL-SHOP/94 e LAL-SHOP/99, Aumente e colaboradores (2006) construíram modelo popPK em que testaram diversas possíveis covariáveis, concluindo que o peso corporal total dos pacientes foi covariável para CL e Vd, além da idade estratificada (maior ou menor que 10 anos) como covariável no CL, corroborando com Donelli (1995).

Colom e colaboradores (2009), através de dados retrospectivos, incluíram o peso corporal e a idade como covariáveis adequadas para o CL e o  $V_c$ , em modelos para LLA ou osteosarcoma. Hui e colaboradores (2018), fizeram um estudo com dados retrospectivos de pacientes chineses, também com LLA ou osteosarcoma, em que os dados plasmáticos foram coletados a cada 6 horas para pacientes com osteosarcoma e a cada 24 horas para pacientes com LLA, de acordo com os próprios protocolos do hospital. A modelagem foi feita usando o usando o NONMEM e a estimativa dos parâmetros foi feita com o Perl-speaks-NONMEM. Dois modelos popPK foram gerados em que, para LLA, as covariáveis incluídas foram BSA e  $CL_{CR}$  no parâmetro de CL, enquanto que, para o modelo de osteosarcoma, seis covariáveis foram incluídas: altura no  $V_c$  e no CL, peso no CL intracompartimental, idade no volume de distribuição periférico,  $CL_{CR}$  e dose/BSA no CL. A seleção das covariáveis

foi baseada no teste da razão de verossimilhança, com inclusão realizada em  $\alpha = 0,05$  (ou seja, alteração no valor mínimo da função objetivo  $[\Delta OF]$  maior que 3,84) e eliminação realizada em  $\alpha = 0,01$  (ou seja,  $\Delta OF$  maior que 6,63). Todas essas covariáveis se mostraram com significância, já que apresentaram valor de função objetiva ( $\Delta OF$ )  $> 8,55$ , com  $P < 0,004$  no modelo final.

Kotnik e colaboradores (2011) foram os primeiros a testarem polimorfismos genéticos como possíveis covariáveis em modelo popPK para MTX. Os autores fizeram a genotipagem dos 64 pacientes envolvidos no estudo procurando por SNP's nos genes envolvidos na distribuição do MTX (SLC19A1, MTHFR e ABCB1) que pudessem influenciar nas concentrações plasmáticas observadas. Entretanto, de todos os polimorfismos investigados, apenas o MTHFR 677 C>T foi associado com um decréscimo de 26% do CL, além de a presença desse polimorfismo aumentar o risco de mucosite no uso de altas doses do fármaco. Porém, os autores indicaram que seria necessária uma validação de uma coorte maior para determinar o valor preditivo dessas associações. Na sequência, um estudo investigou a influência do ABCB1 C3435T em um modelo populacional de MTX em pacientes pediátricos com LLA e linfoma, e percebeu que esse genótipo com a presença do alelo variante C teve cerca de 21% de aumento de *clearance* em comparação com os homozigotos selvagens alelo tipo T (KIM *et al* 2012). A variante genética rs717620 do gene ABCC2 teve influência significativa na farmacocinética do MTX, sendo que o *clearance* e o volume de distribuição foram maiores em pacientes portadores da variante do alelo T (SIMON *et al* 2012). Beechinor e colaboradores (2019), também desenvolveram um modelo, dessa vez para infantes (2,9-12,9 meses de idade). A única covariável que foi possível incluir foi o peso no CL,  $V_C$ ,  $V_P$  (volume de distribuição periférico) e Q (CL intercompartimental). A idade, como todos os pacientes eram muito jovens, não teve influência nos parâmetros. No mesmo ano, Medellin-Garibay e colaboradores (2019), conseguiram incluir a BSA, além do peso corporal, como covariáveis do CL e do  $V_C$ . Esses autores também investigaram a influência de variantes genéticas [ABCB1 C3435T, MTHFR C677T e SLC19A1 (ou RFC1) G80A] encontrados na população mexicana nos parâmetros farmacocinéticos, porém nenhuma se mostrou relevante.

Quanto à tentativa de inclusão de polimorfismos como covariáveis, o estudo de Lui e colaboradores (2018) em pacientes jovens (entre 5-25 anos de idade) com osteosarcoma, conseguiu realizar a genotipagem dos pacientes envolvidos, procurando por SNP's nos genes envolvidos no transporte do MTX (ABCB1, ABCC2,

ABCG2, SLCO1B1 e UGT1A1). Desses SNP's, quatro foram significativamente associados com o CL, sendo 3 deles localizados no gene ABCG2 (rs13120400, rs13137622 e rs12505410) e um do UGT1A (rs4148324). Porém, apenas o polimorfismo rs13120400 do gene ABCG2 foi incluído no modelo final por causar um maior aumento no CL comparado aos outros (16%, enquanto que os outros 6, 12, 9%, respectivamente). Entretanto, a inclusão dessa covariável genética explica apenas 2% da variabilidade interindividual, sendo o peso corporal o maior responsável pela variabilidade. A idade não mostrou significância, provavelmente porque não foram incluídas crianças tão jovens, menores de 5 anos. Recentemente, um estudo focado em investigar a influência de dois SNPs do gene SLCO1B1 (521T>C e 388A>G) em modelo popPK para MTX para pacientes pediátricos com LLA (SCHULTE *et al*, 2021) concluiu que o principal contribuinte para a variabilidade interindividual do fármaco foi o peso corporal, sendo que as duas variantes genéticas poderiam ser incluídas no modelo como covariáveis para CL.

Até o momento, nenhum estudo foi conduzido para avaliar as fontes da variabilidade farmacocinética do MTX na população brasileira. Nesse contexto, o presente trabalho busca desenvolver modelo popPK para o fármaco utilizando dados esparsos de pacientes pediátricos com LLA atendidos no HCPA.

#### **4. REFERÊNCIAS**



ALAYA, Zeineb *et al.* Acute severe cutaneous methotrexate toxicity in a patient with rheumatoid arthritis: report of a rare side effect. **The Egyptian Rheumatologist**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 281-284, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejr.2017.08.004>.

ALL IC-BFM 2009 – Comitê de direção do estudo (2009). A Randomized Trial of the I-BFM-SG for the Management of Childhood non-B Acute Lymphoblastic Leukemia. Versão final do protocolo de terapia de agosto 14, 2009.

**American Cancer Society**. Treatment of Children with Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). Last Medical Review: February 12, 2019. Last Revised: February 12, 2019. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/leukemia-in-children/treating/children-with-all.html>>. Acesso em: 12 abr. 2020.

ANDERSON, Brian J.; ALLEGAERT, Karel; HOLFORD, Nicholas H. G. Population clinical pharmacology of children: general principles. **European Journal of Pediatrics**, [S.L.], v. 165, n. 11, p. 741-746, 29 jun. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-006-0188-y>.

AUMENTE, Dolores *et al.* Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate in Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia. **Clinical Pharmacokinetics**, [S.L.], v. 45, n. 12, p. 1227-1238, 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-200645120-00007>.

BARBISSAN, F. Efeito farmacogenético e farmacogenômico do MTX na resposta citotóxica de células mononucleares periféricas do sangue. 2014. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

BEECHINOR, Ryan J. *et al.* The Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate in Infants with Acute Lymphoblastic Leukemia Highlight the Need for Bedside Individualized Dose Adjustment: a report from the children's oncology group. **Clinical Pharmacokinetics**, [S.L.], v. 58, n. 7, p. 899-910, 27 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40262-018-00734-0>.

BEORLEGUI, Blanca *et al.* Potential Interaction between Methotrexate and Omeprazole. **Annals of Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 34, n. 9, p. 1024-1027, set. 2000. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1345/aph.19094>.

BLEYER, Archie W. The clinical pharmacology of methotrexate.new applications of an old drug. **Cancer**, v. 41, n. 1, p. 36-51, 1978. Wiley. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(197801\)41:13.0.co;2-i](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(197801)41:13.0.co;2-i).

BYON, W. *et al.* Establishing Best Practices and Guidance in Population Modeling: an experience with an internal population pharmacokinetic analysis guidance. **Cpt: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 51, jul. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/psp.2013.26>.

**Cancer**. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), outubro 2020. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer> > Acesso em 06 abril, 2021.

CHAN, E. S.; CRONSTEIN, B. N. Mechanisms of action of methotrexate. **Bulletin of the Hospital for Joint Diseases**. 2013. 71(Suppl 1):S5-8

CHIBBER, Sandesh *et al.* In vitro pro-oxidant action of Methotrexate in presence of white light. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S.L.], v. 104, n. 3, p. 387-393, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.04.005>.

COLOM, Helena *et al.* Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate after Intravenous Administration in Pediatric Patients With Osteosarcoma. **Therapeutic Drug Monitoring**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 76-85, fev. 2009. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/ftd.0b013e3181945624>.

CONTER, Valentino *et al.* Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the aieop all 2000 study. **Blood**, [S.L.], v. 123, n. 10, p. 1470-1478, 6 mar. 2014. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-10-532598>.

DONELLI, Maria G. *et al.* Pharmacokinetics of HD-MTX in infants, children, and adolescents with non-B acute lymphoblastic leukemia. **Medical and Pediatric Oncology**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 154-159, mar. 1995. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mpo.2950240303>.

DORES, Graça M. *et al.* Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. **Blood**, [S.L.], v. 119, n. 1, p. 34-43, 5 jan. 2012. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-04-347872>.

EVANS, W.; SCHENTAG, J. J.; JUSKO, W. J. **Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring**. 3. ed. Vancouver: Applied Therapeutics, 1992. Cap. 26: Anticancer Agents, p. 617-636.

FRENIA, Maureen L.; LONG, Kimberly S.; HARTSHORN, Edward A. Methotrexate and Nonsteroidal Antiinflammatory Drug Interactions. **Annals of Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 26, n. 2, p. 234-237, fev. 1992. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/106002809202600219>.

GAIES, Emna; JEBABLI, Nadia. Methotrexate Side Effects: review article: Review Article. **Journal of Drug Metabolism & Toxicology**, v. 3, n. 4, p. 1-5, 2012. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7609.1000125>.

GAO, B.; KLUMPEN, H-J.; GURNEY, H. (comp.). Defining the Starting Dose: Should It Be mg/kg, mg/m<sup>2</sup>, or Fixed? In: RUDEK, Michelle A. (ed.). **Handbook of Anticancer Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**. 2. ed. Baltimore, Usa: Humana Press, 2014. p. 69-87.

GORI, J L. *et al.* In vivo selection of human embryonic stem cell-derived cells expressing methotrexate-resistant dihydrofolate reductase. **Gene Therapy**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 238-249, 15 out. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/gt.2009.131>.

GREGERS, Jannie, *et al.* The association of reduced folate carrier 80G>A polymorphism to outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia interacts with chromosome 21 copy number. **Blood**, [S.L.], v. 115, n. 23, p. 4671-4677, 10 jun. 2010. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-01-256958>.

GURNEY, H. Dose calculation of anticancer drugs: a review of the current practice and introduction of an alternative. **Journal of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 2590-

2611, set. 1996. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.1996.14.9.2590>.

HEGYI, Marta *et al.* Pharmacogenetic analysis of high-dose methotrexate treatment in children with osteosarcoma. **Oncotarget**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 9388-9398, 23 ago. 2017. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.11543>.

HERFARTH, Hans H.; LONG, Millie D.; ISAACS, Kim L. Methotrexate: underused and ignored? **Digestive Diseases**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 112-118, 2012. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000342735>.

HIJIYA, Nobuko *et al.* Body mass index does not influence pharmacokinetics or outcome of treatment in children with acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, [S.L.], v. 108, n. 13, p. 3997-4002, 15 dez. 2006. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-05-024414>.

HOED, M A H Den *et al.* Genetic and metabolic determinants of methotrexate-induced mucositis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **The Pharmacogenomics Journal**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 248-254, 4 nov. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2014.63>.

HOLMBOE, Laila *et al.* High dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate and toxicity in osteosarcoma patients. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 73, n. 1, p. 106-114, 8 dez. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04054.x>.

HUENNEKENS, F.M. The methotrexate story: a paradigm for development of cancer chemotherapeutic agents. **Advances in Enzyme Regulation**, [S.L.], v. 34, p. 397-419, jan. 1994. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571\(94\)90025-6](http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571(94)90025-6).

HUI, Ka Ho *et al.* Population Pharmacokinetic Study and Individual Dose Adjustments of High-Dose Methotrexate in Chinese Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia or Osteosarcoma. **The Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 59, n. 4, p. 566-577, 17 dez. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcph.1349>.

INOSE, Ryo *et al.* Association between malignancy and methotrexate and biological disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis. **Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, [S.L.], v. 58, n. 03, p. 131-138, 1 mar. 2020. Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle. <http://dx.doi.org/10.5414/cp203604>.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Ministério da Saúde**. Câncer infantojuvenil. Última modificação 04 abr. 2018. INCA. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-infantojuvenil>. Acesso em: 11 abr. 2020.

JAKUBOVIC, Baruch D. *et al.* Methotrexate-Induced Pulmonary Toxicity. **Canadian Respiratory Journal**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 153-155, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/527912>.

KAWAKATSU, Sonoko *et al.* Population pharmacokinetic analysis of high-dose methotrexate in pediatric and adult oncology patients. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [S.L.], v. 84, n. 6, p. 1339-1348, 4 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-019-03966-4>.

KISHI, Shinji *et al.* Ancestry and pharmacogenetics of antileukemic drug toxicity. **Blood**, [S.L.], v. 109, n. 10, p. 4151-4157, 30 jan. 2007. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-10-054528>.

KITAOKA, Setsuko *et al.* Trimethoprim interference in methotrexate assay by an enzyme inhibition assay kit. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 150, n. 4, p. 481-482, 1986. Tohoku University Medical Press. <http://dx.doi.org/10.1620/tjem.150.481>

KOTNIK, Barbara F. *et al.* Association of genetic polymorphism in the folate metabolic pathway with methotrexate pharmacokinetics and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia and malignant lymphoma. **European Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 67, n. 10, p. 993-1006, 21 abr. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-011-1046-z>.

KOTNIK, Barbara F. *et al.* Vita. Association between SLC19A1 gene polymorphism and high dose methotrexate toxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia and non-Hodgkin malignant lymphoma: introducing a haplotype based approach. **Radiology and Oncology**, [S.L.], v. 51, n. 4, p. 455-462, 18 set. 2017. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/raon-2017-0040>.

LEVÊQUE, Dominique *et al.* Clinical pharmacokinetics of methotrexate in oncology. **International Journal of Pharmacokinetics**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 137-147, maio 2017. Future Science Ltd. <http://dx.doi.org/10.4155/ipk-2016-0022>.

LUI, Gabrielle *et al.* A Pharmacokinetic and Pharmacogenetic Analysis of Osteosarcoma Patients Treated with High-Dose Methotrexate: data from the os2006/sarcoma-09 trial. **The Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 58, n. 12, p. 1541-1549, 23 maio 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcph.1252>.

LUYCKX, M. *et al.* Clinical pharmacokinetics of 6-hour infusion of high-dose methotrexate. Preliminary trial of monitoring high infusion doses. **European Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 457-462, 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00544367>.

MATTIA, Elena de; TOFFOLI, Giuseppe. C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalisation. **European Journal of Cancer**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 1333-1351, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2008.12.004>.

MEDELLIN-GARIBAY, Susanna E. *et al.* Population pharmacokinetics of methotrexate in Mexican pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 21-31, 31 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-019-03977-1>.

MILLWARD-SADLER, G.H.; RYAN, T.J. Methotrexate induced liver disease in psoriasis. **British Journal of Dermatology**, [S.L.], v. 90, n. 6, p. 661-667, jun. 1974. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.1974.tb06695.x>.

Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil. **INCA**, Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>> Acesso em: 10 jun, 2021.

MOULD, Dr; UPTON, Rn. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development-Part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. **Cpt: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 38, abr. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/psp.2013.14>.

MURAKAMI, Teruo; MORI, Nobuhiro. Involvement of Multiple Transporters-mediated Transports in Mizoribine and Methotrexate Pharmacokinetics. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 802-836, 10 ago. 2012. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph5080802>

ODOUL, Franck *et al.* Prediction of methotrexate elimination after high dose infusion in children with acute lymphoblastic leukaemia using a population pharmacokinetic approach. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 595-604, 10 set. 1999. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-8206.1999.tb00366.x>.

OWEN, Joel S.; FIEDLER-KELLY, Jill. Introduction to Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Analysis with Nonlinear Mixed Effects Models. 1 ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2014.

PARK, Jeong A.; SHIN, Hee Young. Influence of genetic polymorphisms in the folate pathway on toxicity after high-dose methotrexate treatment in pediatric osteosarcoma. **Blood Research**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 50, 2016. The Korean Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.5045/br.2016.51.1.50>.

PAXTON, J.W. Protein binding of methotrexate in sera from normal human beings: effect of drug concentration, ph, temperature, and storage. **Journal of Pharmacological Methods**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 203-213, maio 1981. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0160-5402\(81\)90088-7](http://dx.doi.org/10.1016/0160-5402(81)90088-7).

PEARSON, A.; AMINEDDINE, H.; YULE, M.; *et al.* The influence of serum methotrexate concentrations and drug dosage on outcome in childhood acute lymphoblastic leukaemia. **British Journal of Cancer**, v. 64, n. 1, p. 169-173, jul. 1991. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1991.263>.

**PFIZER (Canada)**. METHOTREXATE (methotrexate): Action and Clinical Pharmacology. Última revisão em 8 de julho, 2019. Product monograph. Disponível em: <<https://www.pfizermedicalinformation.ca/en-ca/methotrexate/action-and-clinical-pharmacology#>>. Acesso em: 20 abr. 2020.

PIGNON, T. *et al.* Pharmacokinetics of high-dose methotrexate in adult osteogenic sarcoma. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 420-424, 1994. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00686272>.

POZO, J. Del *et al.* Cutaneous ulceration as a sign of methotrexate toxicity. **European Journal of Dermatology**. v. 11, n. 5, p. 450-452, sept. 2001.

RADTKE, Susanne *et al.* Germline genetic variations in methotrexate candidate genes are associated with pharmacokinetics, toxicity, and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, [S.L.], v. 121, n. 26, p. 5145-5153, 27 jun. 2013. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2013-01-480335>.

RAJNICS Peter *et al.* The Hematologic Toxicity of Methotrexate in Patients with Autoimmune Disorders. **Journal of Neoplasms**. v. 2, n. 1, 2017. <http://dx.doi.org/10.217672576-3903.100010>

SEIDEMAN, P. *et al.* The pharmacokinetics of methotrexate and its 7-hydroxy metabolite in patients with rheumatoid arthritis. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 409-412, abr. 1993. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2125.1993.tb04158.x>.

SIMON, N. *et al.* Impact of ABCC2 polymorphisms on high-dose methotrexate pharmacokinetics in patients with lymphoid malignancy. **The Pharmacogenomics Journal**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 507-513, 16 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2012.37>.

TAGEN, M.; STEWART, C. F. (comp.). Clinical Pharmacology in Pediatrics. In: TEICHER, Beverly A.; RUDEK, Michelle A.; CHAU, Cindy H.; FIGG, William D.; MCLEOD, Howard L. (ed.). **Handbook of Anticancer Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**. 2. ed. New York: Humana Press, 2014. p. 625.

THOMPSON, Patrick A. *et al.* Methotrexate pharmacokinetics in infants with acute lymphoblastic leukemia. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [S.L.], v. 59, n. 6, p. 847-853, 29 nov. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-006-0388-1>.

WANG, Y-M.; FUJIMOTO, T. Clinical Pharmacokinetics of Methotrexate in Children. **Clinical Pharmacokinetics**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 335-348, 1984. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-198409040-00003>.

WESSELS, J. A. M.; HUIZINGA, T. W. J.; GUCHELAAR, H-J. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 249-255, 28 nov. 2007. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kem279>.

WIDEMANN, Brigitte C.; ADAMSON, Peter C. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. **The Oncologist**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 694-703, 1 jun. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.11-6-694>.

WINTER, M.E. **Basic Clinical Pharmacokinetics**. 3.ed. Vancouver: Applied Therapeutics. p. 266-288, 1994.

World Health Organization Model List of Essential Medicines. Versão 21 da lista., 2019. Geneva: **World Health Organization (WHO)**; 2019. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

YANG, Lin *et al.* SLCO1B1 rs4149056 genetic polymorphism predicting methotrexate toxicity in Chinese patients with non-Hodgkin lymphoma. **Pharmacogenomics**, [S.L.], v. 18, n. 17, p. 1557-1562, nov. 2017. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs-2017-0110>.

**CAPITULO 1**  
**Population Pharmacokinetic Model of Methotrexate in Brazilian Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia**



## Population Pharmacokinetic Model of Methotrexate in Brazilian Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia

Pricilla de Oliveira Henz<sup>1</sup>, Amanda Valle Pinhatti<sup>2,3</sup>, Lauro José Gregianin<sup>3</sup>, Manoela Martins<sup>4</sup>, Marina Curra<sup>4</sup>, Bibiana Verlindo de Araújo<sup>1,2</sup>, Teresa Dalla Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup>Medical Sciences Graduate Program, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup>Pediatric Oncology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA, Department of Pediatrics, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>4</sup>Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

### Abstract

**Objectives:** Methotrexate (MTX) is subject to therapeutic drug monitoring due to its high pharmacokinetic variability and safety risk when it is out of therapeutic window. The aim was to develop a population pharmacokinetic model (popPK) of MTX for Brazilian pediatric ALL patients attended at Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**Methods:** The model was developed using NONMEM 7.4 (Icon®), ADVAN3 TRANS4 and FOCE-I. To explain interindividual variability, we evaluate covariates from demographic and biochemical data and genetic information of single nucleotide polymorphism (SNP) of genes related to transport and metabolism of drugs in this population (Ethics Committee # 4.260.110).

**Results:** A two-compartment model was built using 483 data points from 45 patients (0.33–17.83 y.o.) treated with MTX (0.25–5 g/m<sup>2</sup>) in different cycles. Creatinine clearance (crCL) and a low BMI stratification according to z-score by World Health Organization (LowBMI) were added as clearance covariates:  $CL (L/h) = 8.06 \times (crCL/median^{0.432}) \times (1 - 0.363)_{LowBMI}$ . Volume of distribution of central and peripheral compartment were 27.6 L and 9.20 L, respectively, and intercompartmental clearance was 0.226 L/h. Model external validation was performed through visual predictive check using data of other 15 pediatric ALL patients.

**Conclusion:** A popPK model of MTX was developed for Brazilian pediatric ALL patients, where the interindividual variability was explained by renal function and factors related to body size.

### **KEYWORDS**

Methotrexate, acute lymphoblastic leukemia, population pharmacokinetic model, Brazilian pediatric patients

O texto completo do Capítulo 1, que no texto completo da dissertação ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 51 – 74, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito que foi submetido a uma revista científica. Esse artigo trata sobre o desenvolvimento de um modelo farmacocinético populacional do MTX utilizando dados de pacientes pediátricos com LLA, atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Com o modelo estrutural, foram testados fatores bioquímicos e clínicos, assim como variantes genéticas relacionadas a genes de transporte e metabolismo do MTX, como possíveis covariáveis para parâmetros farmacocinéticos. Após obtido o modelo final, esse modelo foi validado externamente com outro conjunto de dados para avaliar sua capacidade preditiva. Assim, foi construído um modelo popPK do MTX para pacientes pediátricos brasileiros.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**



Neste trabalho foi possível contruir um modelo farmacocinético populacional para o MTX utilizando dados de pacientes pediátricos diagnosticados com LLA e atendidos pelo serviço de Oncologia pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Apesar dos dados esparsos, gerados a partir de terapias que seguiam diferentes protocolos terapêuticos, com diferentes doses, tempos de infusão e tempos de coleta de sangue para o doseamento do MTX, foi possível construir um modelo popPK capaz de gerar parâmetros muito similares aos já apresentados na literatura para pacientes pediátricos com LLA. Investigou-se a influência de características demográficas, provas bioquímicas e polimorfismos de nucleotídeo único em genes relacionados ao transporte e metabolismo do MTX como fontes de variabilidade interindividual na depuração do MTX. Observou-se que a função renal, dada pelo  $crCL$ , e o tamanho corporal do paciente, dado pelo baixo índice de massa corporal, são covariáveis que explicam a variabilidade no *clearance* desses pacientes estimado no modelo final. O modelo popPK desenvolvido se mostrou adequado para prever parâmetros farmacocinéticos para pacientes não envolvidos no estudo, podendo de fato ser incorporado na prática clínica do HCPA para realizar o ajuste de dose do MTX, evitando situações de toxicidade relacionadas a esse fármaco.



## ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

<p>HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - HCPA UFRGS</p>	
---	--

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** MODELAGEM FARMACOCINÉTICA POPULACIONAL DO METOTREXATO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA E OSTEOSARCOMA

**Pesquisador:** Lauro José Gregianin

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 36870920.0.0000.5327

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DE CLINICAS DE PORTO ALEGRE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.076.594

#### Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_1833002\_E1.pdf, de 21/10/2021).

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos apresentados estão adequados.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para a emenda no parecer 5.038.333 foram respondidas pelos pesquisadores, conforme carta de respostas adicionada em 21/10/2021.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Emenda E1 aprovada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1833002_E1.pdf	21/10/2021 12:38:31		Aceito
Outros	CartarespostaPARECER.pdf	21/10/2021 12:34:39	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLÉversao2.pdf	21/10/2021 12:34:20	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito
Declaração de Pesquisadores	LGPD.pdf	29/09/2021 16:56:39	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito
Outros	CartaEmendaCEP.pdf	29/09/2021 16:54:10	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMestradoVersao2.pdf	29/09/2021 16:50:29	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	29/09/2021 16:49:01	Pricilia de Oliveira Henz	Aceito

#### Situação do Parecer:

Aprovado

#### Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 03 de Novembro de 2021

Assinado por:  
Tênis Maria Félix  
(Coordenador(a))