

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Farmácia

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Avaliação por microdiálise da penetração cerebral, pulmonar, renal e
muscular de Levofloxacino em ratos Wistar sadios**

Karolina Torres Santos Borges

Porto Alegre, 2022

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Farmácia

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Avaliação por microdiálise da penetração cerebral, pulmonar, renal e muscular de Levofloxacino em ratos Wistar sadios

Defesa de tese de Doutorado apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, UFRGS.

Orientadora: Prof^a Dra. Bibiana Verlindo de Araújo

Porto Alegre, 2022

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30/12/2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Francine Johansson Azeredo

University of Florida - USA

Roselena Silvestri Schuh

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Sandra Elisa Hass

Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA

Torres Santos Borges, Karolina
Avaliação por microdiálise da penetração cerebral,
pulmonar, renal e muscular de Levofloxacino em ratos
Wistar sadios / Karolina Torres Santos Borges. --
2022.
115 f.
Orientadora: Bibiana Verlindo de Araujo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, , Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. levofloxacino. 2. microdiálise . 3.
farmacocinética. 4. modelagem populacional . I.
Verlindo de Araujo, Bibiana, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Centro Bioanalítico de Medicamentos (CBIM) e no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com financiamento da Fapergs. A autora recebeu bolsa de estudos do CNPq.

Dedico este trabalho aos meus amados avós, Raimunda e Emilio.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me cuidado e me sustentado em cada momento, pelas vezes em que me abati e Ele estava comigo. Por ter me dado forças e sabedoria para lutar pelo meu sonho.

Ao meu marido, meu Amor Negrinho, meu Daniel. Quando este sonho começou era meu namorado, durante a pandemia noivamos e agora somos casados e eu serei grata até o fim, por Deus ter me presenteado com um amor assim, tu foste essencial desde o dia que realizei a seleção, até hoje. Realmente somos um só, ficaste feliz com minhas conquistas e triste com minhas tristezas, só sei agradecer, falar que eu te Amo meu Amor e que esta conquista é nossa!

Aos meus amados pais, Dinora e João, que jamais mediram esforços para fazer tudo por mim, que estiveram comigo no primeiro dia de aula do “prézinho”, no dia da matrícula na UNIPAMPA, na seleção para o mestrado e no primeiro dia do doutorado. Vocês foram os primeiros a acreditarem nos meus sonhos e através das suas orações Deus me guardou para eu chegasse até aqui. Eu Amo vocês.

Ao Bb da mana, “minha irmã menor”, que foi o melhor presente que nossos pais poderiam me dar. Ela acreditou em mim, até quando eu mesma não acreditava, ela sabia que eu conseguiria chegar até aqui. Ela é a minha pessoa! Eu te Amo Bb.

Ao meu cunha Lucas, que esteve presente desde o começo e acompanhou cada etapa, é um presente tu fazer parte da nossa família. Eu te Amo cunha.

Á minha amada avó Raimunda que recentemente partiu, deixando um vazio no meu coração por não ter mais a presença física de uma avó que teve uma parcela enorme na minha formação como ser humano e como profissional, ela me ajudou desde o começo, ela me ligava e falava que estava com saudades e que estava orando para Deus me guardar, eu a amarei para sempre.

Ao meu amado vô Emilio, que partiu e não pode me ver “dutora”, mas que mesmo sem entender muito bem o que significava fazer um doutorado, falava com orgulho até para desconhecidos que ele tinha uma neta doutora (e eu estava

recém no primeiro semestre da faculdade quando ele começou a falar isto), ele sempre falava que desde os meus 5 anos eu já dizia, vovô quando eu crescer quero ser doutora. Eu fui muito privilegiada de ter um avô como ele, fica a saudade e o meu amor.

Ao meu pequeno e perfeito filhotinho da mamãe, Thorzinho. Os cachorrinhos são seres abençoados capazes de mudar a nossa vida toda, e ele chegou para fazer isto. Foi minha companhia no tempo em que estive sozinha em Porto Alegre, e com certeza ele saberia defender esta tese, pq ele participou de cada pedacinho. Ele é o amor da mamãe.

A minha amiga de quase 20 anos, Naty. Tivemos uma grata oportunidade de ficar morando na mesma cidade por 2 anos e foram tempos maravilhosos, onde era so enviar uma mensagem e podíamos tomar um mate e ficar juntas. Tu sempre fizeste parte de cada momento e neste não poderia ser diferente. Te Amo amiga.

Ao meu maior presente do doutorado, Raiza. Tu foste essencial, ficaste noites em claro para me auxiliar nos experimentos e antes, horas planejando-os. Dividimos alegrias e angustias e tu estavas comigo em cada momento. Fizemos incontáveis 'papas deliciosos', mates, coquinha e lanches na madrugada. Te Amo, obrigada por tudo.

Ao PPGCF da UFRGS e ao CBIM pela oportunidade.

Ao CNPq pela bolsa de estudos.

Epigrafe: “Tudo tem seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito debaixo do céu”. Eclesiastes 3:1.

Resumo

O Levofloxacino é um antimicrobiano de amplo espectro, utilizado para infecções do trato respiratório e urinário, infecções de pele, para tratar pacientes com sepse e para o tratamento de tuberculose. Através de dados plasmáticos e teciduais após dose *i.v* bolus de levofloxacino (7 e 40mg/kg) em ratos Wistar saudáveis, este trabalho objetiva a construção de modelos farmacocinéticos que sejam capazes de descrever estes dados. As concentrações livres de levofloxacino foram medidas através de microdiálise e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Foram feitas coletas plasmáticas, cerebrais, pulmonares, renais e musculares. Uma análise farmacocinética não compartimental foi realizada para todos os tecidos e para o plasma e foi feita uma comparação entre o plasma de animais acordados e anestesiados. Um modelo farmacocinético populacional foi construído para descrever os dados de plasma total, plasma livre e tecido cerebral. A análise não compartimental demonstrou diferenças significativas quando foram comparados os tecidos ao plasma. Também foram encontradas diferenças entre plasma livre de animais acordados e anestesiados, como na AUC $0-\infty$ 10.25 ± 4.17 mg.h.L⁻¹ (acordados) e 28.72 ± 9.9 mg.h.L⁻¹ (anestesiados). Levando em consideração todas as características farmacocinéticas que foram descritas para o Levofloxacino, foi possível concluir que ele apresentou boa penetração em todos os tecidos que foram avaliados. O fator de penetração tecidual calculado foi de 0.41 para cérebro, 0.81 para os rins, 0.59 para músculo e 0.93 para tecido pulmonar. Foi desenvolvido um modelo farmacocinético populacional semimecanístico, com três compartimentos e variabilidade interindividual atribuída no V₁ e CL, para descrever os dados de plasma total, plasma livre e tecido cerebral.

Palavras chave: Levofloxacino, farmacocinética, microdiálise, modelagem populacional.

Abstract

Levofloxacin is a broad-spectrum antimicrobial used for respiratory and urinary tract infections, skin infections, to treat patients with sepsis, and to treat tuberculosis. Through plasma and tissue data after i.v bolus dose of levofloxacin (7 and 40mg/kg) in healthy Wistar rats, this work aims to build pharmacokinetic models capable of describing these data. Free concentrations of levofloxacin were measured by microdialysis and analyzed by high performance liquid chromatography. Plasma, brain, lung, kidney and muscle collections were performed. A non-compartmental pharmacokinetic analysis was performed for all tissues and for plasma and a comparison was made between plasma from awake and anesthetized animals. A population pharmacokinetic model was constructed to describe total plasma, free plasma, and brain tissue data. Non-compartmental analysis showed significant differences when tissues were compared to plasma. Differences were also found between free plasma from awake and anesthetized animals, as in $AUC_{0-\infty} 10.25 \pm 4.17 \text{ mg.h.L}^{-1}$ (awake) and $28.72 \pm 9.9 \text{ mg.h.L}^{-1}$ (anesthetized). Taking into account all the pharmacokinetic characteristics that were described for Levofloxacin, it was possible to conclude that it presented good penetration in all tissues that were evaluated. The calculated tissue penetration factor was 0.41 for brain, 0.81 for kidneys, 0.59 for muscle and 0.93 for lung tissue. A semi-mechanistic population pharmacokinetic model, with three compartments and inter-individual variability attributed in the V_1 and CL , was developed to describe the data of total plasma, free plasma and brain tissue.

Keywords: Levofloxacin, pharmacokinetics, microdialysis, population modeling.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	21
2.1. Objetivo geral	21
2.2. Objetivos específicos	21
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 Alterações encontradas na Sepsis	23
3.2 Levofloxacino	23
3.3 Microdiálise	24
3.4 Farmacocinética	26
3.4.1 <i>Análise não compartimental</i>	26
3.4.2 <i>Modelagem Farmacocinética Populacional</i>	27
Capítulo 1	31
Capítulo 2:	34
Capítulo 3:	36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
6. REFERÊNCIAS GERAIS	41

1. INTRODUÇÃO

Existem diversas maneiras de quantificação de fármacos em tecidos, uma técnica que vem sendo utilizada é a microdiálise (MD), que foi descoberta na década de 60 e vem sendo utilizada na área de farmacologia. A técnica consiste na inserção de uma sonda no tecido de interesse para medidas diretas de concentrações livres de fármaco no local de ação. O primeiro estudo foi relatado por Delgado 1972, onde foi mensurado concentrações de neurotransmissores em cérebro de primatas não humanos, em seguida foram realizados estudos em ratos (UNGERSTEDT & PYCOCK, 1974) e em 1987 a técnica foi utilizada pela primeira vez em humanos para caracterização da concentração intersticial de glicose em voluntários saudáveis (LONNROTH & JANSSON, 1987). Atualmente, tem sido empregada no estudo de doenças psiquiátricas (déficit de atenção e esquizofrenia) e doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson), (BENVENISTE, 1989; VAN DER ZEYDEN et al., 2008; DARVESH et al., 2011), em pacientes obesos (HOLLENSTEIN et al., 2001), pacientes e ratos com sepse (MAURIC et al 2011; KARJAGIN et al., 2007; NOWAK et al., 2019), dentre inúmeras utilizações em diversas patologias, proporcionando maior conhecimento a respeito da etiologia e dos seus tratamentos terapêuticos.

Na distribuição cerebral das quinolonas, a lipofilicidade dessas moléculas pode ser um fator importante devido à maior afinidade com a barreira hematoencefálica (BHE) (JAEHDE et al., 1992, NAU et al., 2010), entretanto, apesar dessa característica, alguns derivados quinolônicos exibem baixa distribuição no cérebro em comparação com a distribuição em outros tecidos periféricos (MURATA et al., 1999; TURNIDGE, 1999). Utilizando o método de microdiálise cerebral, foi demonstrado que as concentrações de várias quinolonas eram significativamente mais baixas, 35 a 50 % de penetração através da BHE (FRIEDLAND et al., 1993), do que as concentrações encontradas no soro e líquido cefalorraquidiano, demonstrando que possivelmente sofreram a ação de transportadores de efluxo encontrados na BHE, reduzindo as concentrações cerebrais (OOIE et al., 1997).

As fluoroquinolonas possuem propriedades farmacocinética (PK) favoráveis, o que justifica sua utilização no tratamento em diferentes tecidos do

organismo (O'DONNELL & GELONE, 2004), ainda, são substratos para alguns transportadores de efluxo, como P-gp. Devido às características estruturais das quinolonas, elas podem ser mais suscetíveis à transportadores de efluxo, portanto pode ocorrer uma menor penetração nos tecidos que são protegidos por este tipo de transportador, como o cérebro (ALVAREZ et al., 2008). Tamai e colaboradores (2000) relataram um envolvimento de transportador de efluxo que transfere drogas do cérebro para a corrente sanguínea, diminuindo assim a distribuição aparente de várias drogas no tecido cerebral (TATSUTA et al., 1992; LOSCHER & POTSCHKA, 2005; SPECTOR 2010). Efeitos adversos como convulsões e psicoses tóxicas foram relatadas em pacientes recebendo fluoroquinolonas (TSUJI et al., 1988). Elas também podem causar aumento da pressão intracraniana e estimulação do sistema nervoso central que pode levar a tremores, inquietação, ansiedade, tontura, confusão, alucinações, paranóia, depressão, insônia (OOIE et al 1997; FDA 2008; SLOBODIN et al., 2009).

O levofloxacino (LEV) é um fármaco que pertence a esta da classe, das fluoroquinolonas, apresenta amplo espectro de ação, sendo aprovado pelo FDA para o tratamento de infecções do trato respiratório, como pneumonia e bronquite, infecções do trato urinário, como prostatite e pielonefrite, e infecções de pele (FDA, 2008; BOLON, 2011). Segundo o guia de terapia antimicrobiana para sepse e choque séptico desenvolvido pelo Instituto Latino Americano de sepse (ILAS, 2016), o LEV pode ser uma fluoroquinolona de escolha para pacientes com sepse, principalmente com foco infeccioso pulmonar ou urinário (SALOMÃO et al., 2011). Ainda, diretrizes da OMS relatam que o LEV, administrado por via oral ou intravenosa, pode ser um fármaco de escolha para o tratamento de tuberculose em pacientes (FALZON et al., 2017).

A sepse é uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica causada principalmente por infecção bacteriana (XU et al., 2016) e é uma das principais causas de morte em países de alta renda (NGUYEN et al., 2007). Embora não pertença a essa estratificação econômica, o Brasil igualmente apresenta um dos mais elevados níveis de letalidade associada a sepse em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI), de acordo com dados do primeiro estudo nacional sobre essa doença (MACHADO et al., 2017), na ordem de 55,7%. A sepse é caracterizada como um estado complexo de inflamação sistêmica após uma

infecção, com um aumento nos mediadores inflamatórios que provoca vasodilatação difusa (GOTTS & MATTHAY, 2016), à medida que persistir este aumento, ocorre uma mudança em direção a um estado imunossupressor anti-inflamatório (ERGIN et al., 2015; STIMAC & PAXTON, 2015). As respostas inflamatórias vasculares sistêmicas na endotoxemia levam a insuficiência rápida de órgãos, choque e morte (RUSSELL, 2006; MEHTA & MALIK, 2006).

A situação fisiopatológica particular de pacientes críticos dificulta o manejo de doenças infecciosas utilizando protocolos padrão de antibióticos. As diferenças no desfecho clínico são, na maioria das vezes, devido a alterações na PK desses fármacos causadas pela patofisiologia da doença e também por mudanças farmacodinâmicas, relacionadas ao efeito antimicrobiano (ROBERTS et al., 2010). Em pacientes críticos, a PK de antimicrobianos é alterada devido à situação clínica e aos procedimentos de cuidados intensivos que sofrem. Desbalanços na homeostase causadas pelas disfunções renais, hepáticas e cardiovasculares, resultam em aumento das concentrações de proteínas circulantes, edema em alguns tecidos devido ao vazamento capilar e diferenças de osmolaridade, podendo levar à redução de fármaco livre, responsável pela ação no sítio ativo, e ao aumento de fluído intersticial que causa elevação do volume de distribuição (SAUERMAN et al., 2005), portanto, as concentrações teciduais dos antimicrobianos geralmente se mostram reduzidas nesses pacientes críticos (BLOT et al., 2014). O sangramento e os drenos produzem maior taxa de eliminação do fármaco, ou seja, maior clearance e, como consequência, as concentrações de antimicrobianos serão menores (ULLDEMOLINS et al., 2011). Por outro lado, o comprometimento de órgãos de excreção (rim ou fígado) pode provocar acúmulo de fármaco no plasma e, portanto, maiores concentrações, tornando a previsão da PK difícil de ser estabelecida. Fica clara a importância de mais estudos quanto a distribuição de antimicrobianos, como as fluoroquinolonas, em diferentes tecidos assim como sua PK, para que possamos melhor aplicar esses conhecimentos em situações de pacientes críticos, como no caso da sepse. Para isso, são necessários estudos pré-clínicos em animais para que futuramente sejam translacionados para humanos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Construção de modelos farmacocinéticos através de dados de concentração plasmática e tecidual livre obtidos por microdiálise após a administração de levofloxacino na dose de 40 mg.kg^{-1} em ratos Wistar saudáveis.

2.2. Objetivos específicos

- Escrita de artigo de revisão sobre a influência da sepsis na penetração tecidual de antimicrobianos;
- Adaptação de metodologia bioanalítica para determinação dos níveis de levofloxacino no plasma e no microdialisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Determinação das condições de microdiálise como fluxo de perfusato e recuperação relativa da sonda *in vitro* e *in vivo*;
- Investigação dos níveis plasmáticos e teciduais alcançados após a administração de dose única de LEV (40 mg.kg^{-1}) intravenoso em ratos Wistar saudáveis, administradas por via intravenosa;
- Avaliação, por microdiálise, da penetração pulmonar, muscular, renal e cerebral de LEV em ratos Wistar saudáveis após administração de dose única (40 mg/Kg^{-1}) por via intravenosa;
- Construção de um modelo farmacocinético populacional semi-mecanístico que seja preditivo dos níveis teciduais alcançados pelo LEV no cérebro que permita estimar adequadamente os parâmetros farmacocinéticos em roedores saudáveis.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Alterações encontradas na Sepses

A importância da sepsis, sua fisiopatogenia, principais patógenos envolvidos, tratamentos antimicrobianos e possíveis modificações em parâmetros farmacocinéticos, está descrita com detalhes no capítulo 1 desta tese, onde foi demonstrado através de uma revisão de literatura as principais modificações em parâmetros farmacocinéticos de antimicrobianos que são encontradas em indivíduos com sepsis.

3.2 Levofloxacino

O levofloxacino é uma fluoroquinolona de terceira geração de amplo espectro, sendo quimicamente um isômero levógiro (isômero-L) do racemato ofloxacino. A atividade antibacteriana do ofloxacino deve-se basicamente ao isômero-L. O seu mecanismo de ação envolve a inibição da topoisomerase bacteriana IV e da DNA-girase, enzimas necessárias para a replicação, transcrição, restauração e recombinação do DNA bacteriano (WIMER & GARRISON, 1998; ZHANEL et al., 2002; HAWKEY, 2003).

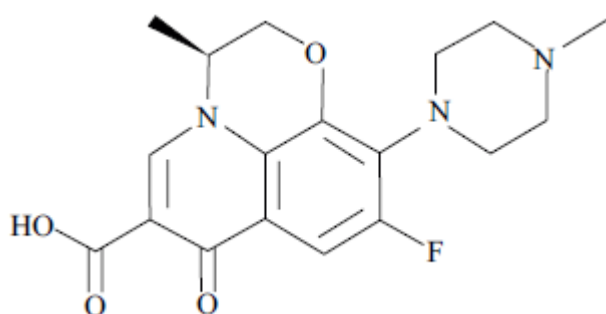


Figura 1. Estrutura química do Levofloxacino.

Microbiologicamente, isso se traduz numa atividade antibacteriana 25 a 40 vezes maior para o isômero-L, o levofloxacino, do que para o isômero-D. Possui um amplo espectro de atividade contra bactérias aeróbicas Gram-positivas e Gram-negativas, mas atividade limitada contra a maioria das bactérias anaeróbicas (WIMER & GARRISON, 1998; FISH & NORTH, 2001).

O levofloxacinó é rapidamente absorvido, alcançando concentração máxima entre 1 e 2 horas após administração oral. Sua farmacocinética é linear na faixa de 500 a 1000 mg uma vez ao dia. Para administração de doses múltiplas, vias intravenosas são consideradas intercambiáveis (RARITAN, 1996). Tem baixa ligação às proteínas plasmáticas (24-38%) (JAGER et al., 2019) e um volume de distribuição de 76-102L (FISH et al., 1997; RARITAN, 1996; CHIEN et al., 1997). Fluoroquinolonas tendem a distribuir-se rapidamente nos tecidos periféricos, fluidos biológicos e podem atingir concentrações muitas vezes superiores às encontradas no soro ou plasma (FISH et al., 1997; ZHANEL et al., 2002). A principal via de excreção é a renal, sendo seu tempo de meia vida de aproximadamente 6 a 9 horas, portanto, a depuração do LEV é reduzida na insuficiência renal. Há evidências de que a farmacocinética não é significativamente alterada pela idade, sexo ou infecção por vírus da imunodeficiência humana (PISCITELLI et al., 1999).

3.3 Microdiálise

As concentrações livres de fármacos em tecidos específicos podem ser diferentes das que são encontradas no plasma total, portanto podem ser mais representativas da penetração tecidual dos fármacos no sítio de ação (ELMQUIST & SAWCHUK, 2000; JOUKHADAR et al 2001). A microdiálise é uma técnica que permite múltiplas determinações de fração de fármaco farmacologicamente ativa, que é a fração do fármaco que não está ligada às proteínas plasmáticas, sendo esta uma das principais vantagens desta técnica pois permite diversas coletas em diferentes locais alvo no mesmo indivíduo (MULLER, 2000; JOUKHADAR et al., 2001; ZEITLINGER et al., 2005, AZEREDO et al., 2014; JACKSON et al., 2018).

A taxa e a extensão da distribuição do antibiótico para o fluido intersticial e as células do tecido dependem de vários fatores, incluindo as características do fármaco (peso molecular, ligação a proteínas, lipossolubilidade e grau de ionização), características do tecido alvo (função da membrana e vascularização do tecido), a presença ou ausência de inflamação e se o paciente está ou não em choque séptico.

A técnica consiste na inserção de uma sonda contendo uma membrana semipermeável, que permite a passagem de pequenas moléculas e impede a passagem de moléculas maiores que o *cut off* da membrana, para o líquido de perfusão. Através desta sonda, uma solução isosmótica ao tecido de interesse é perfundida a um fluxo baixo e constante que varia entre 1 e 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Apenas moléculas de baixo peso molecular, não ligadas a proteínas, presentes no fluido intersticial sofrem difusão passiva pela membrana e são recolhidas na outra extremidade da sonda. O dialisado coletado está dissolvido em uma matriz que não requer processamento da amostra para ser analisado (JOHANSEN et al., 1997; ZHOU & GALLO, 2005; BRUNNER & DERENDORF, 2006; CHAURASIA et al., 2007; KIRBS et al., 2019).

Como a sonda é continuamente perfundida, não ocorre equilíbrio entre a concentração do analito no tecido e no dialisado, devido a condição *sink* estabelecida, a membrana só consegue capturar uma fração do fármaco livre no espaço intersticial. Portanto, torna-se necessária a calibração da sonda *in vivo* para quantificar quanto do fármaco é resgatado no microdialisado, permitindo assim o cálculo das concentrações livres reais encontradas nos dialisados. Uma das técnicas mais utilizadas para esta calibração é a de recuperação relativa por retrodiálise (BENVENISTE, 1989; STAHL et al., 2002; PLOCK & KLOFT, 2005; CHAURASIA et al., 2007; KIRBS et al., 2019).

A microdiálise vem sendo cada vez mais utilizada e já foi descrita para avaliar as concentrações livres de levofloxacino em diversos tecidos, como no tecido pulmonar (HUTSCHALA et al., 2005; ZIMMERMANN et al., 2015; MARCHAND et al., 2008), tecido prostático (HURTADO et al., 2014), tecido muscular (MARCHAND et al., 2008), tecido pancreático (LIU et al., 2014).

Através de microdiálise, as concentrações livres após a administração de 500 mg *i.v.* de LEV foram medidas no tecido pulmonar de pacientes submetidos a cirurgia de revascularização cardíaca, onde a $\text{AUC}_{\text{plasma}}$ foi de $32,6 \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\text{AUC}_{\text{pulmão}}$ de $18,6 \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, apresentando um fator de penetração médio de 0,6. Os autores observaram que o LEV nesta dose não gerou concentrações pulmonares suficientes para ser efetivo contra todas as cepas de *Klebsiella pneumoniae* investigadas, sugerindo uma necessidade de aumento de dose,

porém, as concentrações determinadas para o levofloxacino no pulmão podem ter sido influenciadas pelas mudanças na macro e microcirculação, aumento do volume de distribuição e no extravasamento capilar gerado durante o procedimento cirúrgico (HUTSCHALA et al., 2005).

Da mesma maneira Zeitlinger e colaboradores (2007) realizaram microdiálise em humanos após dose *i.v bolus* de 500 mg.kg⁻¹ e descreveram que a AUC do pulmão foi menor que a AUC do músculo esquelético do tecido adiposo apresentando um *ft* de 0,56 para pulmão, de 1,08 para músculo e de 0,86 para tecido adiposo subcutâneo. Após infusão contínua de LEV (1mg.h⁻¹), em ratos saudáveis, foram realizadas coletas de MD pulmonar e muscular, a penetração tecidual calculada foi de 1,06 ± 0,15 e 1,00 ± 0,15, respectivamente (MARCHAND et al., 2008).

Uma sonda de microdiálise foi inserida no parênquima do corpo pancreático para avaliar a penetração de LEV no pâncreas após dose *i.v bolus* ou via oral de 42 mg.kg⁻¹ em ratos, no intuito de avaliar se nas duas vias de administração haveria distribuição semelhante, os autores descreveram que a AUC_{pâncreas}/AUC_{plasma} foi de 0,97 ± 0,02 para via intravenosa e de 0,96 ± 0,03 para via oral (LIU et al., 2014).

3.4 Farmacocinética

3.4.1 Análise não compartimental

As análises não compartimentais são um método alternativo rápido e mais simples para descrever a farmacocinética de um fármaco, sem necessidade de atribuir um modelo compartimental específico. Os modelos não compartimentais têm aproximação com a realidade do organismo interpretando o que ocorre com o fármaco no organismo (DAVANÇO, 2015). Estes modelos são baseados na teoria dos momentos estatísticos, que considera a permanência do fármaco no organismo, ou tempo de residência médio (MRT), que é o tempo necessário para que 63,2% da dose administrada por via *i.v.* sejam eliminados. A relação entre a ASCM (área sob a curva de primeiro momento estatístico) e a AUC é considerada a medida do MRT. Este parâmetro calculado após administração intravenosa é uma analogia à meia vida de eliminação do fármaco, o $t_{1/2}$, que

pode ser calculado pela relação $0,693/K$ (constante de eliminação) (GIBALDI, 1991).

A teoria dos momentos estatísticos é útil para estimar o volume de distribuição de modo independente da eliminação do fármaco do organismo. A distribuição é calculada através do cálculo do volume de distribuição no estado de equilíbrio. Nestes modelos, a eliminação é dada pelo clearance (Cl). O Cl de um fármaco em um órgão representa o volume de sangue que é depurado do fármaco por unidade de tempo, parâmetro que pode ser interpretado como uma constante de proporcionalidade que relaciona a velocidade de eliminação à concentração do fármaco no sangue. Considera-se ainda que após administração *i.v.* do fármaco, a quantidade eliminada do órgão é igual à dose administrada, então pode-se expressar o Clearance, como a razão entre a dose e a AUC (DAVANÇO, 2015; STORPIRTIS et al., 2011; SHARGEL & YU, 2016). Estes modelos, não compartimentais, são utilizados em um primeiro momento para obtenção de parâmetros farmacocinéticos que ajudam a entender a farmacocinética do fármaco no local de coleta e auxilia na construção de modelos mais complexos e multicompartmentais.

3.4.2. Modelagem Farmacocinética Populacional

Os modelos são geralmente representações simplificadas de sistemas, e é a simplificação que pode torná-los úteis. Os modelos são avaliados por sua "adequação ao propósito", em vez de por serem "certos" ou "verdadeiros" (BOX & DRAPER, 1986). Modelos populacionais podem ser desenvolvidos utilizando relativamente poucas observações de cada sujeito, e as estimativas de parâmetros resultantes podem ser comparadas a avaliações anteriores para determinar a consistência entre estudos ou populações de pacientes. Um dos objetivos principais de qualquer avaliação de modelagem populacional é desenvolver uma função matemática que possa descrever o curso de tempo farmacológico de um medicamento na faixa de doses avaliada em ensaios clínicos (MOULD & UPTON, 2013; BRINK, et al., 2017).

Modelos farmacocinéticos são modelos matemáticos empregados para interpretar o destino dos fármacos no organismo, eles podem ser utilizados para resumir o comportamento de grandes quantidades de dados utilizando um

pequeno número de valores numéricos e expressões matemáticas, podendo, ainda, realizar previsões de concentrações em situações que não foram investigadas. Os modelos podem ser descritivos, quando são utilizados para caracterizar dados existentes ou modelos preditivos que permitem simulações baseadas em modelos para condições de teste para as quais os dados observados não estão disponíveis para o pesquisador, podendo ser utilizado para interpolação ou extrapolação de dados (SHARGEL & YU, 2016).

A farmacocinética populacional (PopPK) compreende o estudo da variabilidade e de como ela pode afetar as concentrações plasmáticas e teciduais de um fármaco nos indivíduos da população alvo, após uma dose clínica deste fármaco. A PopPK avalia a relação dos fatores demográficos, genéticos, fisiopatológicos, ambientais e outros fatores relacionados ao fármaco que contribuem para a variabilidade observada na segurança e eficácia do medicamento (SHARGEL & YU, 2016). O bloco de construção de modelos de PK é dividido em compartimentos e pode ser descrito em termos de uma única concentração representativa. Os modelos mamilares geralmente têm um compartimento central que representa o plasma com um ou dois compartimentos periféricos ligados ao compartimento central por constantes de taxa (por exemplo, k_{12} e k_{21}). Os compartimentos nos modelos mamilares podem ser espaços fisiológicos reais no corpo (como o sangue ou fluido extravascular), mas também são conceitos mais tipicamente abstratos que não representam necessariamente qualquer região particular do corpo (WAGNER, 1975; SHARGEL et al., 2012). Os estudos farmacocinéticos tradicionais são, na sua maioria, realizados em voluntários saudáveis, e o comportamento médio de um grupo é o principal foco de interesse. Existem alguns modelos farmacocinéticos populacionais descritos na literatura com diferentes finalidades, avaliando o Levofloxacino, a seguir alguns exemplos.

Através de abordagem populacional Hurtado e colaboradores (2014) descreveram a penetração tecidual do LEV (7 mg.kg^{-1}) na próstata de ratos. Os autores desenvolveram um modelo de três compartimentos para descrever o perfil plasmático, onde a próstata foi considerada o terceiro compartimento. Foi possível visualizar um ótimo ajuste dos dados de plasma e próstata de forma simultânea. Esta abordagem foi capaz de descrever a variabilidade

interindividual dos parâmetros no modelo. Os resultados sugerem que o LEV pode ser um substrato para transportadores de efluxo na próstata, mas ressaltam a importância de mais estudos a fim de comprovar esta hipótese.

Para avaliar a influência do transportador de efluxo P-gp, Zimmermann e colaboradores (2015) realizaram microdiálise pulmonar e prostática em ratos Wistar sadios após administração de LEV (7 mg.kg^{-1}) com e sem a coadministração de um inibidor de P-gp, tariquidar (TAR). O LEV apresentou um fT prostático de 0,68 e no pulmão um fT de 0,69 para o grupo controle. Foi observado um aumento significativo na penetração tecidual prostática quando realizada a administração prévia do TAR apresentando um fT de 1,64 e não foram relatadas diferenças significativas neste grupo, no tecido pulmonar. Foi desenvolvido um modelo farmacocinético populacional, de quatro compartimentos, para descrever de forma simultânea os dados de plasma, pulmão e próstata com ou sem a administração de TAR. Este modelo populacional semi-mecânico que foi desenvolvido permitiu avaliar mais detalhadamente a cinética de distribuição do LEV, sendo capaz de quantificar a variabilidade interindividual.

Capítulo 1

Neste capítulo consta a revisão sistemática realizada com o intuito de melhor entender o impacto da patofisiologia da sepse na penetração tecidual de antimicrobianos cujos dados foram obtidos através da técnica de microdiálise, assim como apontar as alterações farmacocinéticas e farmacodinâmicas decorrentes da doença em pacientes ou em modelos animais de sepse. Esse artigo de revisão foi publicado na Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Review Article

The influence of sepsis on antimicrobials tissue penetration: The use of microdialysis technique to access free drug distribution

Karolina Torres Santos-Borges¹, Pricilla Henz¹, Bibiana Verlindo de Araújo^{1*}

1-Pharmaceutical Sciences Graduate Program, College of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

Sepsis is described as a life-threatening organ dysfunction caused by a host's response to infection, leading to an unbalance in body homeostasis. It is one of the leading causes of death in developed countries. Considering that in critically ill patients, such as those with sepsis, plasma concentrations do not necessarily reflect tissue concentrations, one way to assess tissue concentrations is through the microdialysis technique, which allows direct measurements of free drug at the site of action. This review was carried out after searching the Pubmed, Scielo and Web of Science databases, using the following descriptors: (microdialysis AND (sepsis OR septic shock OR severe sepsis OR septicemia)) OR (microdialysis AND (sepsis OR septic shock OR severe sepsis) OR septicemia) AND (antimicrobial OR antibiotic OR antifungal)). The physiological changes generated by sepsis may imply changes in pharmacokinetic parameters, such as in clearance, which may be reduced in these patients and in volume of distribution, which presents an expansion, mainly due to edema. Both events contribute to a high interindividual variability in tissue penetration of antimicrobials which is generally observed in patients with sepsis. Keywords: Sepsis. Antimicrobials. Microdialysis. Tissue penetration. Pharmacokinetics. Pharmacodynamics

Capítulo 2:

O texto completo do capítulo 2, que no texto na íntegra da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 65 – 78, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em fase de escrita para publicação em periódico científico. Neste capítulo estão descritos os resultados obtidos através de microdiálise realizada em plasma, rim, músculo e pulmão de ratos Wistar saudáveis, cujos dados foram usados na análise farmacocinética não compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos do LEV foram comparados por análise estatística entre concentrações livres plasmáticas e concentrações em diferentes tecidos de animais anestesiados e acordados, a fim de observar o impacto da anestesia na farmacocinética do LEV.

Capítulo 3:

O texto completo do capítulo 3, que no texto na íntegra da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 79 – 103, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em fase de finalização a ser submetido para apreciação em periódico científico. O presente estudo desenvolveu um modelo farmacocinético populacional semi-mecanístico (popPK) com o intuito de entender a relação da distribuição do Levofloxacino no sistema nervoso central, observando as análises de microdiálises cerebrais, juntamente com amostras plasmáticas.

Brain Penetration and Pharmacokinetics of Levofloxacin in Health Rats from Microdialysis Evidence and Semi-Mechanistic Population Pharmacokinetic Model

Karolina Torres Santos¹, Pricilla de Oliveira Henz¹, Raiza Lima do Carmo², Laura ben Olivo¹, Estevan Zimmerman⁴, Teresa Dalla Costa¹, Iñaki Trocóniz³, Bibiana Verlindo de Araujo¹.

Affiliations

1 - Pharmaceutical Sciences Graduate Program, College of Pharmacy, University os Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

2 - Medical Graduate Program, College of Medicine, University os Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

3 – Pharmacometrics & systems Pharmacology Research Unit, Department of Pharmaceutical Technology and Chemistry, School of Pharmacy and Nutrition, Universidad de Navarra, Pamplona, Spain.

4 – Center for Pharmacometrics & systems Pharmacology, College of Pharmacy, University of Fda, Orlando, USA.

ABSTRACT

This work investigated total, free plasma and free brain levels of levofloxacin in healthy rats after a single intravenous bolus dose of 7 and 40 mg/kg (equivalent to 500 and 1000 mg allometrically escale from humans). Microdialysis were employeed to assess the brain exposure reached by levofloxacin. A threecompartmental population pharmacokinetic model was built to describe the drug pharmacokinetics in plasma and the brain. Plasma data was described as a twocompartment and brain data was added to the model as a third compartment, by Clearance in and Clearance out. (CLin and CLout). The CLin was approximately 50% smaller than Clout, leading to a smaller brain exposure to levofloxacin in the brain. Our results indicate that levofloxacin brain penetration was influenced by efflux transporters, resulting in mean penetration of about 44% (CLin/CLout) in the brain.

Keywords: microdialysis, quinolones, brain exposure,rats

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A revisão sobre a influência da sepse na penetração tecidual antimicrobianos, demonstrou as alterações que podem ocorrer na farmacocinética destes fármacos em pacientes e cobaias com sepse.
- A metodologia analítica que foi adaptada para análise dos dados de microdiálise plasmática, renal, muscular, pulmonar e cerebral, foi adequada para quantificar o levofloxacino.
- Um modelo PopPK semimecanístico de três compartimentos com variabilidade interindividual para o CL foi capaz de descrever bem os dados de plasma total, plasma livre e tecido cerebral em ratos wistar saudáveis.
- Houveram diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos quando comparados aos animais que foram submetidos a anestesia com animais acordados durante os experimentos.

6. REFERÊNCIAS GERAIS

- ALVAREZ, A. I. et al. Fluoroquinolone efflux mediated by ABC transporters. **J. Pharma. Sci.** v. 97, p. 3483-3493, 2008.
- AZEREDO, F. J. et al. Role of microdialysis in pharmacokinetics and pharmacodynamics: current status and future directions. **Clin Pharmacokinet.** v. 53, p. 205–212. 2014.
- BELLMANN, R. et al. Tissue pharmacokinetics of levofloxacin in human soft tissue infections. **Br J Clin Pharmacol.** v. 57:5 p. 563–568, 2003.
- BENVENISTE, H. Brain microdialysis. **J Neurochem.** v. 52, p. 1667-79, 1989.
- BLOT, S. I.; PEA, F.; LIPMAN, J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient d concepts appraised by the example of antimicrobial agents. **Adv Drug Deliv.** 2014.
- BOLON, M. K. The newer fluoroquinolones. **Med Clin North Am.** v. 95, p. 793–817, 2011.
- BRUNNER M & DERENDORF H. Clinical microdialysis: current applications and potential use in drug development. **Trend in Analytical Chemistry**, v. 25, p 674-680, 2006.
- CHAURASIA, C.S. et al. Microdialysis principles, application and regulatory perspectives. **The AAPS Journal.** v. 9, p. E48-E59, 2007.
- CHAUZY A. et al. Microdialysis Study of Aztreonam-Avibactam Distribution in Peritoneal Fluid and Muscle of Rats with or without Experimental Peritonitis. **Antimicrob. Agents Chemother.** 2018.
- CHENG F. C. et al. P harmacokinetic study of levofloxacin in rat blood and bile by microdialysis and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography.** v. 961, p. 131–136, 2002.
- CHIEN S. C. et al. Pharmacokinetic profile of levofloxacin following once-daily 500-miligram oral or intravenous doses. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 41(10), p. 2256-2260, 1997.
- DARVESH, A. S. et al. In vivo brain microdialysis: advances in neuropsychopharmacology and drug discovery. **Expert Opin Drug Discovery**, v. 6, p. 109–127, 2011.
- DAVANÇO, M. G. **Farmacocinética do benzonidazol administrado em coelhos na forma de comprimidos de liberação imediata e comprimidos de liberação prolongada.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista. 151p, 2015.
- DELGADO, J. M. R. et al. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. **Archives International Pharmacodynamie et Therapie**, v. 198, p. 9–21, 1972.

- DESTACHE, C. J. et al. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of levofloxacin in an experimental rabbit meningitis model. **J. of Antim. Chemoth.**, v. 47, p. 611-615, 2001.
- ELMQUIST, W. F. & SAWCHUK, R. J. Use of microdialysis in drug delivery studies. **Adv. Drug Deliver. Rev.** v. 45, p. 123-124, 2000.
- ERGIN B. et al. The renal microcirculation in sepsis. **Nephrol Dial Transplant.** v. 30, p. 169-177, 2015.
- FALZON D. et al. World Health Organization treatment guidelines for drug-resistance tuberculosis, 2016 update. **Eur Respir J.** v. 49(3), 2017.
- FISH D. & NORTH D.; S. Gatiloxacin, an advanced 8-methoxy fluoroquinolone. **Pharmacother.** v. 21, p. 35-59, 2001.
- FISH D.N.; CHOW A.T. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. **Clin Pharmacokinet.** 32 (2): 101-19, 1997.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Initial U.S. approval, 1996. **Levaquin® full prescribing information.** FDA, Rockville, MD, 2008.
- FREDDO, R. J. **Estudos para obtenção e caracterização de sistemas nanoparticulados contendo ácido valproico e avaliação da penetração na barreira hematoencefálica. Tese de doutorado.** Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 124 p, 2009.
- FRIEDLAND I. R. et al. Evaluation of antimicrobial regimens for treatment of experimental penicillin and cephalosporin resistant pneumococcal meningitis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 37, p. 1630-1636, 1993.
- GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics.** 4.^a ed. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1991.
- GOTTS J. E. & MATTHAY M. A. Sepsis: pathophysiology and clinical management. **BMJ.** v. 353, p. i1585, 2016.
- HAWKEY, P. M. Mechanisms of quinolone action and microbial response. **J. Antimicrob. Chemother.** v. 51, p. 29–35, 2003.
- HOLLENSTEIN, U. M. et al. Soft tissue concentrations of ciprofloxacin in obese and lean subjects following weight-adjusted dosing. **International Journal of Obesity,** v. 25, p. 354-358, 2001.
- HURTADO, F. K. et al. Population pharmacokinetic modeling of the unbound levofloxacin concentrations in rat plasma and prostate tissue measured by microdialysis. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 58(2), p. 678-86, 2014.
- HUTSCHALA, D. et al. In vivo measurement of levofloxacin penetration into lung tissue after cardiac surgery. **Antim. Agents and Chemother.** v. 49, p. 5101-5111, 2005.

JAGER, N. G. L. et al. Antibiotic exposure at the site of infection: principles and assessment of tissue penetration. **Expert Review of Clinical Pharmacology**. V.12, p. 623–634, 2019.

Jackson S, Weingart J, NduomEK, et al. The effect of an adenosine A2A Agonist on intra-tumoral concentrations of temozolomide in patients with recurrent glioblastoma. **Fluids Barriers CNS**. v.15:2. 2018.

JAEHDE, U. et al. Cerebrospinal fluid transport and disposition of the quinolones ciprofloxacin and pefloxacin in rats. **J Pharmacol Exp Ther**. v. 263, p. 1140–1146, 1992.

JOHANSEN, M. J; NEWMAN RA; MADDEN T. The use of microdialysis in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacotherapy*, v17. n 3 p.464-481, 1997.

JOUKHADAR, C. et al. Microdialysis, a novel tool for clinical studies of anti-infective agents. **Eur. J. Clin. Pharmacol**. v. 57, p. 211–219, 2001.

JOUKHADAR, C. et al. Plasma and tissue pharmacokinetics of cefpirome in patients with sepsis. **Critical Care Medicine**. v. 30, p. 1478–82, 2002.

KARJAGIN J. S. et al. Pharmacokinetics of Meropenem Determined by Microdialysis in the Peritoneal Fluid of Patients With Severe Peritonitis Associated With Septic Shock. **Nature**. v. 83(3), p. 452-459, 2007.

Kirbs C, et al. High voriconazole target-site exposure after approved sequence dosing due to nonlinear pharmacokinetics assessed by long-term microdialysis. **Eur J Pharm Sci**. v.131, p.218–29, 2019.

LI, Y.; PERIS, J.; ZHONG, L.; DERENDORF, H. Microdialysis as a Tool in Local Pharmacodynamics. **The AAPS Journal**, v.8, n.2, p.E222-E224, 2006.

LIU, D. et al. Quantitative determination of unbound levofloxacin by simultaneous microdialysis in rat pancreas after intravenous and oral doses. *Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 66, p. 1215–1221, 2014.

LONNROTH, P. A. & JANSSON, U. S. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. **Am J Physiol**. v. 253, p. E228-231, 1987.

LOSCHER, W. & POTSCHKA H. Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. **NeuroRx**, v. 2, p. 86–98, 2005.

MACHADO, F. R. et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. **Lancet Infect Dis**. v. 17, p. 1180-89, 2017.

MAGGI, CA & MELI, A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. Part 1 General considerations. **J Experiment** 42:109–114, 1986.

MARCHAND, S. et al. Lung microdialysis study of levofloxacin in rats following intravenous infusion at steady state. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 52, p. 3074– 3077, 2008.

MAURIC, O. et al. The Ability of Fluconazole to Penetrate into Ventilated, Healthy and Inflamed Lung Tissue in a Model of Severe Sepsis in Rats. **Pharmacology.** v. 87, p. 130–134, 2011.

MEHTA D. & MALIK A. B. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability, **Physiological reviews.** v. 86(1), p. 279-367: 2006.

MOULD, D. R & UPTON, R. N. Introductory Overview of Population Pharmacokinetic Modeling. **Pharmacometrics & Systems Pharmacology.** v. 2, e38, 2013.

MÜLLER, M. Microdialysis in clinical drug delivery studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* v. 45, p. 255–269, 2000.

MURATA, M. et al. Efflux transport as a new quinolone antibacterial agent, HSR-903, across the blood-brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther.* v. 290, p. 51-57, 1999.
NANDI, P. & LUNTE, S. M. Recent trends in microdialysis sampling integrated with conventional and microanalytical systems for monitoring biological events: A review. **Analytica Chimica Acta**, v.651, p.1-14, 2009.

NAU R, SORGEL F, EIFFERT H. Penetration of Drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. **Clinical Microbiology Reviews.** v. 23(4), p. 858–883, 2010.

NGUYEN, H. B. et al. Critical Care in the Emergency Department: a physiologic assessment and outcome evaluation. **Acad Emerg Med.** v. 7(12), p.1354-61, 2007.

NOWAK, H. et al. Repeated determination of moxifloxacin concentrations in interstitial space fluid of muscle and subcutis in septic patients. **J Antimicrob Chemother.** 2019.

O'DONNELL, J. A. & GELONE, S. P. The newer fluoroquinolones. **Infect. Dis. Clin. North. Am.** v. 18, p. 691–716, 2004.

OOIE, T. et al. Quantitative brain microdialysis study on the mechanism of quinolones distribution in the central nervous system. **Drug Metab Dispos.** v. 25, p. 784–789, 1997.

PACHALY J. R. & DE BRITO, H. F. V. Interspecific Allometric Scaling. **BIOLOGY, Medicine and Surgery Of South American Wild Animals.** p. 475-481, 2001.

PISCITELLI S. C.; SPOONER K.; BAIRD B.; et al. Pharmacokinetics and safety of high-dose and extended-interval regimens of levofloxacin in human immunodeficiency virus-infected patients. **Antimicrob Agents Chemother.** v. 43 (9): p. 2323-2327, 1999.

PLOCK, N. & KLOFT, C. Microdialysis - Theoretical Background and recent implementation in applied life-sciences. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 25, p. 1-24, 2005.

RARITAN, N. T. Levaquin (package insert). **Ortho-McNeil Pharmaceutical Corporation**; December 1996.

ROBERTS, J. A. et al. First-dose and steady-state population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin by continuous or intermittent dosing in critically ill patients with sepsis. **Int J Antimicrob Agents**. v. 35, p. 156 e 63, 2010.

RUSSELL, J. A. Management of sepsis. **The New England journal of medicine**. v. 355(16), p. 1699-1713, 2006.

SALOMÃO, R. et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso – controle do foco infeccioso e tratamento antimicrobiano. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v. 23(2), p. 145-157, 2011.

SAUERMAN, R. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefpirome in subcutaneous adipose tissue of septic patients. **Antimicrob Agents Chemother**. v. 49, p.650–655, 2005.

SHARGEL, L. & YU, A. B. C. **Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**. 7 ed, 2016.

SHARGEL, L.; WU-PONG, S.; YU, A. B. C. **Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics**. 6. ed. New York: McGraw-Hill. 811 p, 2012.

SLOBODIN, G. et al. Levofloxacin-induced delirium. **Neurol Sci**. v. 30, p. 159–161, 2009.

SPECTOR, R. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. **J. Neurochem**. v. 112, p. 13–23, 2010.

STAHL, M. et al. Human microdialysis. **Curr Pharmacol. Biotechnol**. v. 3(2), p. 165-178, 2002.

STIMAC J. & PAXTON J. The “Golden Hour” of volume resuscitation: pilot data from the Shock Access for Emergent Resuscitation (SAFER) study. **Ann Emerg Med**:66(4s): S110: 2015.

STORPIRTIS, S. **Farmacocinética Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro, 222p, 2011.

TAMAI, I. et al. Limited Distribution of New Quinolone Antibacterial Agents into Brain Caused by Multiple Efflux Transporters at the Blood-Brain Barrier. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**. v. 295(1), 2000.

TATSUTA, T. Functional involvement of P-glycoprotein in blood-brain barrier. **J Biol Chem**. v. 267, p. 20383–20391, 1992.

TSUJI, A. Effect of antiinflammatory agent fenbufen on the quinolone-induced inhibition of g-aminobutyric acid binding to receptor sites in rat brain membranes in vitro. **Biochem Pharmacol.** v. 37, p. 4408–4411, 1988.

TURNIDGE, J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. **Drugs**, v. 58, p. 29–36, 1999.

ULLDEMOLINS, M.; ROBERTS, J.A.; RELLO, J. The effects of hypoalbuminaemia on optimizing antibacterial dosing in critically ill patients. **Clin Pharmacokinet.** v. 50, p. 99-110, 2011.

UNGERSTEDT, U. & PYCOCK, C. Functional correlates of dopamine neurotransmission. **Bull Schweiz Akad Med Wiss**, v. 30, p. 44-55, 1974.

UNGERSTEDT, U. Microdialysis-principles and applications for studies in animals and man. **J Int Med.** v. 230, p. 365-73, 1991.

VAN DER ZEYDEN, M. et al. Microdialysis of GABA and glutamate: analysis, interpretation and comparison with microsensors. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 90, p. 135-47, 2008.

WAGNER, J.G. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. Drug Intelligence Publications Inc., Hamilton, 1975.

WIMER, S. M. & GARRISON, M. W. Levofloxacin: a therapeutic review. **Clin Therap.** v. 20(6), p. 1049-1070, 1988.

XU, J. et al. Deaths: final data for 2013. **National Vital Statistics Reports.** 64(2): 2016.

ZEITLINGER, M, Muller M, Joukhadar C. Lung Microdialysis - A powerful tool for the determination of exogenous and endogenous compounds in the respiratory tract (mini-review). **AAPS J**, v. 7(3), p. E600-E608, 2005.

ZEITLINGER, M. A. et al. A pilot study testing whether concentrations of levofloxacin in interstitial space fluid of soft tissues may serve as a surrogate for predicting its pharmacokinetics in lung. **Int J Antimicrob Agents**, v. 29, p. 44-50, 2007.

ZHANEL, G. G. et al. A critical review of the fluoroquinolones: focus on respiratory tract infections. **Drugs**, v. 62(1), p. 13-59, 2002.

ZHOU, Q. & GALLO, J. M. In vivo microdialysis for PK and PD studies of anticancer drugs. **AAPS J**, v. 7, p. 659-667, 2005.

ZIMMERMANN, E. S. Simultaneous Semimechanistic Population Analyses of Levofloxacin in Plasma, Lung, and Prostate To Describe the Influence of Efflux. **Biomedical Chromatography.** v. 60, p. 946–954, 2015.

Agradecimento a FAPERGS pelo fomento para auxiliar o desenvolvimento teste trabalho e ao CNPq pela bolsa de pesquisa.