

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

Aplicações de Farmacometria no Estudo da Penetração de Antifúngico
no Sistema Nervoso Central

KELI JAQUELINE STAUDT

Porto Alegre, 2023.

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

Aplicações de Farmacometria no Estudo da Penetração de Antifúngico
no Sistema Nervoso Central

Tese apresentada por **Keli Jaqueline Staudt**
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em
Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Bibiana Verlindo de Araújo

Porto Alegre, 2023

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 24/04/2023, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dra. Daiane Heidrich

Universidade do Vale do Taquari

Prof. Dra. Diana Marcela Aragon Novoa (Banca Suplente)

Universidad Nacional de Colombia

Prof. Dra. Francine Johansson Azeredo

University of Florida

Prof. Dra. Roselena Silvestri Schuh

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Staudt, Keli Jaqueline
Aplicações de Farmacometria no Estudo da
Penetração de Antifúngico no Sistema Nervoso Central /
Keli Jaqueline Staudt. -- 2023.
113 f.
Orientadora: Bibiana Verlindo de Araújo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2023.

1. Criptococose. 2. líquido cefalorraquidiano. 3.
líquido intersticial cerebral. 4. microdiálise
cerebral. 5. voriconazol. I. de Araújo, Bibiana
Verlindo, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 405 e no Laboratório de Farmacocinética e Modelagem PK/PD da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre – RS. A autora recebeu bolsa de estudos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

AGRADECIMENTOS

À professora e orientadora Bibiana Verlindo de Araújo, obrigada por ter me aceitado como estagiária no laboratório, ainda como aluna da graduação, e assim, ter me apresentado o mundo fantástico da farmacocinética. Agradeço por todo aprendizado e formação de excelência que tive contigo. Obrigada por ter confiado em mim, me ajudando nessa caminhada, que foi de forma presencial e on-line.

À professora Teresa Dalla Costa, pelo exemplo de liderança, comprometimento, e por toda contribuição científica e pessoal durante esses anos de trabalho junto ao laboratório.

À professora Izabel Almeida Alves, por ter sido minha “mãe científica”, e ter me apresentado o mundo da pesquisa e pós-graduação. Sem dúvida, tu és minha inspiração profissional e pessoal. Obrigada pela confiança que sempre depositou em mim, por cada conselho, dica, auxílio, e por muitas vezes ter segurado minha mão e caminhado junto.

Às *modelers*: por terem dividido esses anos todos comigo, tanto de forma presencial, como pelas reuniões *on-line* de emergência que eram necessárias. Com certeza, os últimos meses foram mais leves com a ajuda e amizade de vocês. À Bruna Bernar Dias, tu sabes da importância que teve nesse trabalho, sempre pronta para me socorrer com algum *code*, revisão do *dataset*, discussão dos resultados, e me acolhendo com muito carinho em sua casa nas idas a Porto Alegre. À Graziela de Araújo Lock, tu foi uma das pessoas que mais tempo convivi e acompanhei no laboratório, foi tu que desde o estágio me ensinou e ajudou, obrigada por essa amizade, pelas palavras de motivação e apoio em qualquer hora e lugar. À Victória Etges Helfer, por também sempre estar aí para o que der e vier, obrigada por todo auxílio e ajuda. À Laura Bem Olivo, por ter sido a melhor IC que eu poderia ter, obrigada por ter me ajudado tanto e sempre. Meninas vocês foram fundamentais e essenciais durante esses anos, obrigada! Que o futuro de vocês seja brilhante, como vocês são.

Ao Laboratório de Farmacocinética e Modelagem PK/PD e a todos que por lá passaram, por ser um lugar que me acolheu desde o estágio final da graduação. Obrigada Ana Lúcia Xavier, por sempre ter um café e uma palavra de apoio nos esperando no laboratório.

À doutora Caroline Portela Peruzzi e a mestra Schaiane Ferri, por serem as melhores amigas que eu poderia ter. Vocês são aquelas amigas que eu não passava um dia sem mandar alguma mensagem, contando sobre alguma novidade, alguma fofoca, pedindo um conselho, uma ajuda, ou só para desabafar e ouvir uma palavra de consolo. Obrigada por terem compartilhado a pós-graduação comigo, ter vivido essa etapa tão importante da nossa vida. Vocês foram e sempre serão essenciais e necessárias na minha vida. Agradeço todo dia por essa amizade verdadeira que tenho com vocês.

À minha família, por todo apoio, incentivo e entendimento. Agradeço aos meus pais, Isolde Staudt e Darci J. R. Weyh, pela formação humana recebida, sempre com amor, alegria e incentivo como auxílio perante os obstáculos encontrados, por não medirem esforços na busca da concretização deste sonho e por acreditarem em mim.

E por fim, o agradecimento mais especial e carinhoso para o meu grande amo, Adriel Schardong, meu companheiro de vida! Obrigada por todos esses anos ao meu lado, me apoiando, motivando, incentivando e por ter sempre acreditado em mim, você foi essencial e necessário nos dias mais difíceis e especiais da minha vida. Essa vitória também é tua. Eu amo você e a nossa família!

Dedico esse trabalho à minha família,
Adriel, Mia e quem ainda está por vir.

RESUMO

A incidência de infecções fúngicas que acometem o sistema nervoso central (SNC) apresenta um grande aumento devido a muitos fatores, que podem incluir o número crescente de pacientes imunocomprometidos, pacientes submetidos a quimioterapia, além do elevado número de pacientes vivendo com o vírus da imunodeficiência humana. A meningite fúngica é a forma mais frequente de apresentação das infecções fúngicas do SNC, que apresenta um difícil diagnóstico, com sintomas inespecíficos e sinais de irritação da meninge que podem estar ausentes. Uma alternativa ao tratamento dessa meningite é o uso do voriconazol, um antifúngico azólico de segunda geração que apresenta uma alta penetração no SNC em animais saudáveis e infectados e em humanos, com concentrações variáveis. Sabendo que para um fármaco atingir concentrações efetivas no local da infecção, sua penetração neste local é um fator necessário, e devido a características como presença ou não de inflamação, características fisiológicas, características farmacocinéticas e parâmetros físico-químicos dos fármacos podemos observar níveis de concentrações variados nas diferentes regiões do SNC. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi aplicar a farmacometria, através de modelos farmacocinéticos populacionais semi-mecanísticos, para entender as diferenças que ocorrem na penetração de antifúngicos no SNC de ratos e humanos. A fim de observarmos e entendermos os modelos que são utilizados para auxiliar o tratamento da criptococose, realizamos uma revisão da literatura sobre esse tema. Foi possível identificar que a maior parte dos artigos se referem a estudos de modelagem farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) e modelagem farmacocinética baseada em (PBPK), que são abordagens importantes que fornecem subsídios para um tratamento adequado. Os estudos que realizaram simulações e que avaliaram a probabilidade de atingir o alvo (PTA) mostram que muitos tratamentos utilizados não são eficazes, sendo necessário investigar novos modelos que incluam mais informações sobre essas infecções de difícil tratamento e novos regimes posológicos. Diante disso, utilizando essas estratégias de modelagem, para desenvolvermos um modelo populacional farmacocinético (popPK) realizamos a coleta de dados da literatura para desenvolver um modelo que permitisse entender a relação da distribuição do voriconazol no SNC, observando duas regiões cerebrais (líquido intersticial cerebral e líquido cefalorraquidiano), juntamente com amostras plasmáticas. Após o desenvolvimento do modelo popPK usamos esse modelo para

realizar simulações e avaliar a PTA utilizando as exposições observadas de voriconazol no líquido cefalorraquidiano (LCR). As concentrações plasmáticas foram descritas por um modelo de dois compartimentos com eliminação de Michaelis-Menten (V_{max} : 1,06 mg/h - Erro Padrão Residual: 13% (RSE); K_m : 4,76 mg/L - RSE 20%; Q_1 : 2,69 L - RSE 18%; V_1 : 1,15 L - RSE 7%; V_2 : 0,37 L - RSE 18%) e a distribuição do voriconazol para o líquido intersticial cerebral (ISF) foi incorporada como um transporte bidirecional parametrizado como clearance intercompartimental de entrada e de saída (Q_{in} : 0,81 L/h - RSE 13% e Q_{out} : 0,63 L/h - RSE 13%, respectivamente e V_3 : 0,00041 L) e as concentrações do LCR foram incluídas como um quarto compartimento conectado ao compartimento do ISF (Q_4 : 0,33 L/h - RSE 19%; V_4 : 0,13 L/h - RSE 17%). A condição infecção foi identificada como covariável significativa para constante de Michaelis-Menten ($K_{minfectado}$: 8,13 mg/L) e *clearance* intercompartimental do compartimento do tecido cerebral para o compartimento central ($Q_{outinfectado}$: 0,388 L/h). Através de simulações, demonstrou-se que os regimes de doses simulados resultam em exposições plasmáticas, no LCR e no ISF foram suficientes para o tratamento de infecções por *Cryptococcus neoformans*. A penetração do voriconazol foi maior no tecido cerebral de ratos infectados por *C. neoformans* em relação ao grupo sadio, e as concentrações de LCR livre apresentaram maior penetração nos animais sadios. A análise de PTA, utilizando um índice PK/PD alvo de $fAUC/MIC > 25$ demonstrou que as concentrações do LCR obtidas após uma dose alométrica em uma escala de humanos a ratos são suficientes para erradicar a infecção. E que as concentrações do LCR podem ser utilizadas como preditores das concentrações observadas no ISF no caso do voriconazol.

Palavras-chave: Criptococose; líquido cefalorraquidiano; líquido intersticial cerebral; meningite; microdiálise cerebral; voriconazol.

ABSTRACT

The incidence of fungal infections that affect the central nervous system (CNS) is increasing due to many factors, which may include the increasing number of immunocompromised patients, patients undergoing chemotherapy, in addition to the high number of patients living with the human immunodeficiency. Fungal meningitis is the most frequent presentation of fungal infections of the CNS, which is difficult to diagnose, with nonspecific symptoms and signs of meningeal irritation that may be absent. An alternative to the treatment of this meningitis is the use of voriconazole, a second-generation azole antifungal that presents a high penetration in the CNS in healthy and infected animals and in humans, with variable concentrations. Knowing that for a drug to reach effective concentrations at the site of infection, its penetration at this site is a necessary factor, and due to characteristics such as the presence or absence of inflammation, physiological characteristics, pharmacokinetic characteristics and physical-chemical parameters of drugs, we can observe concentration levels varied in different regions of the CNS. Thus, the objective of this work was to apply pharmacometry, through semi-mechanistic population pharmacokinetic models, to understand the differences that occur in the penetration of antifungals in the CNS of rats and humans. In order to observe and understand the models that are used to aid the treatment of cryptococcosis, we performed a literature review on this topic. It was possible to identify that most of the articles refer to pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) and physiologically dependent pharmacokinetic (PBPK) modeling studies, which are important approaches that provide subsidies for an adequate treatment. Studies that performed simulations and evaluated the probability of reaching the target (PTA) show that many treatments used are not effective, and it is necessary to investigate new models that include more information about these difficult-to-treat infections and new dosage regimens. Therefore, using these modeling strategies, in order to develop a pharmacokinetic population model (popPK), we collected data from the literature to develop a model that would allow us to understand the relationship between the distribution of voriconazole in the CNS, observing two brain regions (cerebral interstitial fluid and cerebrospinal fluid), along with plasma samples. After developing the popPK model, we used this model to run simulations and evaluate PTA using the observed exposures of voriconazole in cerebrospinal fluid (CSF). Plasma concentrations were described by

a two-compartment model with Michaelis-Menten elimination (V_{\max} : 1.06 mg/h - Residuals Standard Error: 13% (RSE); K_m : 4.76 mg/L - RSE 20%; Q_1 : 2.69 L - RSE 18%; V_1 : 1.15 L - RSE 7%; V_2 : 0.37 L - RSE 18%) and the delivery of voriconazole to the cerebral interstitial fluid (ISF) was incorporated as a bidirectional transport parameterized as inlet and outlet intercompartmental clearance (Q_{in} : 0.81 L/h - RSE 13% and Q_{out} : 0.63 L/h - RSE 13%, respectively and V_3 : 0.00041 L) and concentrations of the CSF were included as a fourth compartment connected to the ISF compartment (Q_4 : 0.33 L/h - RSE 19%; V_4 : 0.13 L/h - RSE 17%). The infection condition was identified as a significant covariate for the Michaelis-Menten constant ($K_{m\text{infected}}$: 8.13 mg/L) and intercompartmental clearance from the brain tissue compartment to the central compartment ($Q_{out\text{infected}}$: 0.388 L/h). Through simulations, it was demonstrated that the simulated dose regimens resulting in plasma, CSF and ISF exposures were sufficient for the treatment of *Cryptococcus neoformans* infections. The penetration of voriconazole was greater in the brain tissue of rats infected by *C. neoformans* in relation to the healthy group, and free CSF concentrations showed greater penetration in healthy animals. PTA analysis using a target PK/PD index of $fAUC/MIC > 25$ demonstrated that CSF concentrations obtained after an allometric dose on a range from human to rat are sufficient to eradicate the infection. And that the CSF concentrations can be used as predictors of the concentrations observed in the ISF in the case of voriconazole.

Keywords: Cryptococcosis; brain microdialysis; cerebrospinal fluid; cerebral interstitial fluid; meningitis; voriconazole.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table I: Main information's of PK evaluation and PK/PD index of antifungals using in treatment of cryptococcosis.....46

Table II: Main information's of NCA of antifungals.....47

Table III: Main information's of PK/PD modeling of antifungals using in treatment of cryptococcal meningitis in animal's models.....49

Table IV: Main information's of popPK models of antifungals using in treatment of cryptococcosis.....51

Table V: Main information's of Monte Carlo simulations of antifungals.....53

Table VI: Main information's of PBPK models of antifungals.....54

Capítulo 2

Table 1. Population pharmacokinetic parameters estimate for the popPK model.....88

Supplementary Material

Table S1. Human dosing regimens allometrically scaled to rat, used in the simulations.....101

Table S2. Number of animals and observations of each experimental group and condition.....102

Table S3. Table 2. Post-hoc analysis comparing $AUC_{0-\infty}$ (mg·h/L) from final popPK model and original studies.....105

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica do tratamento de meningite criptocócica conforme preconizado pela WHO, 2018.....27

Capítulo 1

Fig. 1. Flowchart of literature searching and screening.....40

Fig. 2. Map of co-occurrence keywords related in papers focusing on pharmacokinetics, pharmacodynamics, antifungals, *Cryptococcus*, microdialysis, tissue penetration, Physiologically Based Pharmacokinetic, through PubMed database (between 2010 to 2022).....42

Fig. 3. PK/PD indices used for the classes of antifungals.....44

Fig. 4. Graphic representation of the treatment of cryptococcal meningitis as recommended by WHO (WHO 2018).....61

Capítulo 2

Figure 1. Schematic representation of the structure of the final VRC popPK model.....87

Figure 2. Goodness-of-fit plots from VRC final popPK showing the observations (DV) vs population (PRED) and individual (IPRED) predictions, conditional residuals (CWRES) vs PRED and time.....90

Figure 3. Predicted-corrected visual predictive check of the final popPK model stratified by plasma, healthy and infected brain, and CSF. VPCs are based on 1000 simulations and show a comparison of the observations (dots) with the 10th, 50th, and 90th percentiles of the 1000 simulated profiles (dashed lines and shadow areas).....90

Figure 4. Probability of target attainment for a PK/PD index of $fAUC/MIC > 25$ for *C. neoformans* for VRC dosing regimens considering free plasma, free brain, and free CSF concentrations.....91

Supplementary Material

Figure S1. Voriconazole concentration-time curves in total plasma, free ISF, and CSF after 5, 10 and 30 mg/kg i.v. bolus doses to healthy and infected *C. neoformans* groups. Points are observations..... 101

Figure S2. Simulated concentration versus time profile for recommended dose - initial dose of 6 mg/kg/12 h of VRC on the first day and maintenance dose of 4 mg/kg/12 h on each subsequent day, with median (line) and 32nd and 68th percentiles (shadow area) for free plasma, free ISF, and free CSF (shadow area in red - healthy animals; shadow area in blue - infected animals)..... 102

Figure S3. Simulated concentration versus time profile for recommended dose - initial dose of 3 mg/kg/12 h of VRC on the first day and maintenance dose of 2 mg/kg/12 h on each subsequent day, with median (line) and 32nd and 68th percentiles (shadow area) for free plasma, free ISF, and free CSF (shadow area in red - healthy animals; shadow area in blue - infected animals)..... 103

Figure S4. Individual pharmacokinetic profiles from observed data (points), populational and individual predictions (line and dashed line) for the final popPK model for voriconazole total plasma (ID 101 – 306: 5 mg/kg; ID 401 – 406: 10 mg/kg; ID 501: 30 mg/kg)..... 103

Figure S5. Individual pharmacokinetic profiles from observed data (points), populational and individual predictions (line and dashed line) for the final popPK model for voriconazole free ISF after dose of 5 mg/kg i.v..... 104

Figure S6. Individual pharmacokinetic profiles from observed data (points), populational and individual predictions (line and dashed line) for the final popPK model

for voriconazole total plasma (A) and total CSF (B) after dose of 30 mg/kg
i.v.....104

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	23
2.	OBJETIVOS.....	31
2.1	Objetivo Geral	33
2.2	Objetivos específicos.....	33
3.	CAPÍTULO 1.....	35
4.	CAPÍTULO 2.....	79
5.	CONCLUSÕES GERAIS	107
6.	REFERÊNCIAS GERAIS.....	111

1. INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas do sistema nervoso central (SNC) podem apresentar variações clínicas, como meningite, hidrocefalia, encefalite, abscessos cerebrais e síndromes de acidente vascular cerebral (GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; JIA; THAKUR, 2019). A principal via de transmissão é a inalação ou através da inoculação por trauma ou cirurgia, com posterior disseminação hematogênica (KOUTSOURAS; RAMOS; MARTINEZ, 2017; GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018). Dentre os fatores etiológicos dessas infecções estão as leveduras (*Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp., *Trichosporon* spp.), os bolores (*Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.), os fungos dimórficos (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides* spp., *Histoplasma capsulatum*) e fungos demáceos (*Cladophialophora bantiana*, *Exophiala dermatitidis*) (BELLMANN; SMUSZKIEWICZ, 2017; GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; JIA; THAKUR, 2019).

A incidência de infecções fúngicas que acometem o SNC está aumentando devido a muitos fatores, que incluem o número crescente de pacientes imunocomprometidos, de pacientes submetidos a quimioterapia, além do elevado número de pacientes vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (*HIV - Human Immunodeficiency Virus*) e síndrome da imunodeficiência adquirida (*AIDS - Acquired Immunodeficiency Syndrome*). Entretanto, fungos como *Cryptococcus*, *Coccidioides* e *Histoplasma*, também podem causar infecção em pacientes imunocompetentes (BLOCH; BAILIN, 2019; CAROD-ARTAL, 2018; GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; PAGLIANO et al., 2020).

Meningite e meningoencefalite são as formas mais frequentes de apresentação das infecções fúngicas do SNC (CAROD-ARTAL, 2018). A meningite fúngica é uma infecção do SNC de difícil diagnóstico, pois apresenta sintomas inespecíficos e os sinais de irritação da meninge podem estar ausentes. Essa dificuldade em realizar o diagnóstico da meningite fúngica ocasiona um atraso no tratamento correto e um aumento da morbimortalidade (GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; PAGLIANO et al., 2020).

A meningite criptocócica é a causa mais comum de meningite fúngica e a causa mais comum de criptococose extrapulmonar em todo o mundo, com mais de 220.000 casos e 181.000 mortes anualmente (FISHER et al., 2021;), no entanto, essa infecção ainda é negligenciada pelas autoridades de saúde pública. O reconhecimento precoce da infecção é um desafio, principalmente em locais com recursos limitados,

juntamente com o tratamento que pode ser caro e não está igualmente disponível em todos os países (BONGOMIN et al., 2017; TENFORDE et al., 2018; WILLIAMSON et al., 2016).

A meningite criptocócica é uma meningoencefalite subaguda (WILLIAMSON et al., 2016), causada através da inalação do *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*), sendo considerada uma doença infecciosa grave do SNC que pode ocorrer tanto em pacientes imunocomprometidos quanto em imunocompetentes (CAROD-ARTAL, 2018; FISHER et al., 2021; TSAI et al., 2019; WILLIAMSON et al., 2016). Clinicamente, ao contrário da meningite bacteriana aguda, os pacientes com meningite criptocócica, apresentam início mais lento dos sintomas, evoluindo em dias a algumas semanas (TSAI et al., 2019).

A infecção primária envolve o acometimento dos pulmões, entretanto, a infecção geralmente se espalha, através das vias hematogênica e linfóide, resultando no envolvimento de órgãos internos e do SNC (CAROD-ARTAL, 2018; FISHER et al., 2021; GÓRALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; ZARAGOZA, 2019). O *C. neoformans* atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) através de vários mecanismos, como o trânsito paracelular, transcitose ou como “cavalo de Tróia” dentro de macrófagos alveolares. Dessa forma, o *C. neoformans* coloniza o parênquima cerebral e provoca lesões que são conhecidas como criptocomas ou granulomas, que consistem em células da levedura cercadas por grandes quantidades de polissacarídeos, que são responsáveis por desencadear a meningite criptocócica (CAROD-ARTAL, 2018; FISHER et al., 2021; KOUTSOURAS; RAMOS; MARTINEZ, 2017; WILLIAMSON et al., 2016; WOO; MARTINEZ, 2021; ZARAGOZA, 2019).

O tratamento das infecções fúngicas invasivas ainda apresenta dificuldades na prática clínica, tanto em relação ao restrito número de agentes antifúngicos disponíveis, quanto às dificuldades do diagnóstico correto, o que pode propiciar a utilização incorreta dos fármacos, não apresentando sucesso terapêutico e levando cada vez mais a causas de resistência o que diminui ainda mais a opção de antifúngicos para o tratamento (NETT; ANDES, 2016; VIEIRA; NASCIMENTO, 2017). Além disso, relatos da literatura mostram que os antifúngicos apresentam problemas em relação à toxicidade, baixa tolerância a altas doses, espectro de atividade estreito, propriedades farmacocinéticas e efeitos adversos indesejáveis (CAMPOY; ADRIO, 2017; NETT; ANDES, 2016).

Dito isso, conforme o Consenso em Criptococose e a Organização Mundial da Saúde a terapia medicamentosa empregada no tratamento da meningite criptocócica compreende: anfotericina B, formulações lipídicas contendo anfotericina B (complexo lipídico e lipossomal), fluconazol (FLU), voriconazol (VRC), itraconazol e flucitosina (5-FC) em combinações variadas (KON, 2008; WHO, 2018).

O tratamento da meningoencefalite, compreende inicialmente a fase de indução que visa à negatização ou uma redução efetiva da carga fúngica e tem duração mínima de duas semanas de tratamento. Em seguida, tem-se a fase de consolidação que além de abranger a manutenção da negatização micológica visa normalizar os parâmetros clínicos e laboratoriais. E a última fase do tratamento consiste na supressão ou manutenção, que tem duração de no mínimo 1 ano, e é preconizada principalmente pelo alto risco de recaídas em pacientes com elevada imunossupressão ou em pacientes com AIDS (figura 1) (KON, 2008; WHO, 2018).

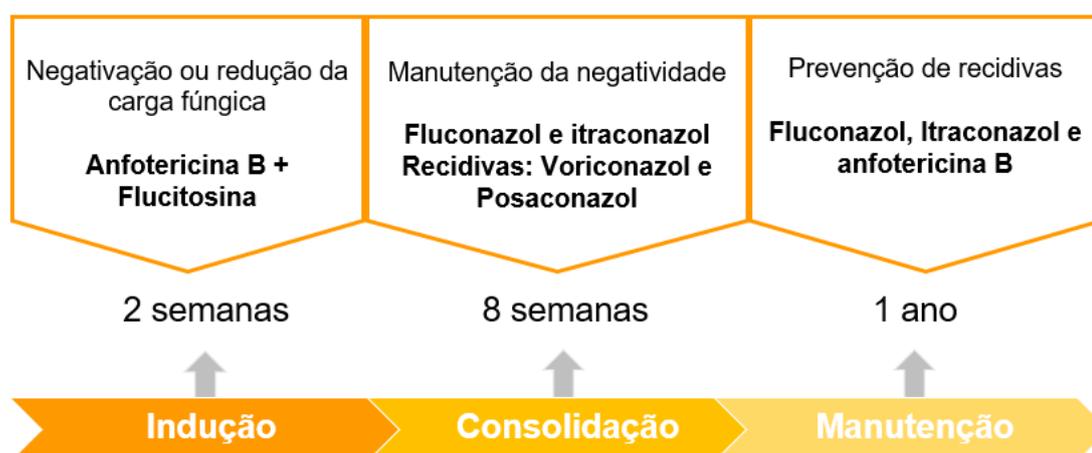


Figura 1. Representação gráfica do tratamento de meningite criptocócica conforme preconizado pela WHO, 2018.

No Brasil e outros continentes como a África não se tem disponível para uso a 5-FC, devido ao seu alto custo e disponibilidade limitada, sendo que ela é considerada uma das melhores opções para o tratamento, pois apresenta uma boa penetração em vários compartimentos, principalmente no líquido cefalorraquidiano (LCR), onde observou-se um alcance de 71–85% das concentrações séricas. Entretanto a resistência é um problema comum na terapia com 5-flucitosina, devido a isso ela é raramente utilizada, e quando é utilizada deve ser usada em combinação com outros antifúngicos, principalmente com anfotericina B (BELLMANN; SMUSZKIEWICZ, 2017;

NGAN et al., 2021). E entre os azóis indicados temos disponíveis para uso o FLU e o VRC. O FLU é o antifúngico mais utilizado no Brasil, e em áreas com recursos limitados devido seu baixo custo, entretanto seu uso de forma isolada apresenta baixo sucesso terapêutico e está relacionado a uma alta mortalidade devido a ineficácia do tratamento (NGAN et al., 2021; TENFORDE et al., 2018; ZHAO et al., 2018). Como alternativa, temos o VRC que é um antifúngico azólico de segunda geração. É mais potente do que o FLU e penetra nas células fúngicas de forma mais eficaz (LIU et al., 2022). Em modelos animais saudáveis e infectados o VRC apresentou uma alta penetração tecidual (cérebro e LCR) (ALVES et al., 2018; LIU et al., 2022; LUTSAR; ROFFEY; TROKE, 2003). Em humanos, as concentrações de VRC no LCR são variáveis (LUTSAR; ROFFEY; TROKE, 2003). Recentemente, relatos de casos mostraram que o VRC poderia ser utilizado como um tratamento alternativo para pacientes com meningite criptocócica cujo tratamento padrão falhou (ASHLEY, 2019; LIU et al., 2022; NAKAO et al., 2021).

Diante disso, sabe-se que para um fármaco atingir concentrações efetivas no local da infecção, a penetração do mesmo é um fator necessário (ASHLEY, 2019; FELTON; TROKE; HOPE, 2014). Em relação a isso, um fator importante relacionado à penetração de fármacos no SNC é a presença ou não de inflamação na BHE. pois as concentrações que são medidas de fármacos na ausência de inflamação nas meninges são geralmente inferiores às concentrações que são encontradas quando se tem uma infecção no SNC. Assim, para o sucesso terapêutico é necessário o alcance de concentrações efetivas tanto na presença quanto na ausência da inflamação (ALVES et al., 2017; ASHLEY, 2019; NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010).

O VRC apresenta penetração no tecido cerebral humano (homogeneizado de tecido) alcançando concentrações totais semelhantes ou até superiores às que são observadas no plasma. Entretanto, as concentrações de VRC que são observadas no LCR de humanos tendem a ser menores, apresentando razões de concentração LCR/plasma de 0,22 a 1,0 (FELTON; TROKE; HOPE, 2014; LUTSAR; ROFFEY; TROKE, 2003). Em ratos, Alves e colaboradores, através da técnica de microdiálise, observaram que a infecção causada por *C. neoformans* causou um aumento da penetração cerebral de VRC nos animais infectados, com uma razão de $ASC_{\text{cerebral}}/ASC_{\text{plasmática}}$ de $1,86 \pm 1,05$ para o grupo infectado e $0,85 \pm 0,22$ para o

grupo hígido (ALVES et al., 2017), mostrando que a hipótese de que a inflamação nas meninges pode ocasionar o aumento da concentração de antifúngicos no SNC.

Até o surgimento da microdiálise cerebral, a única forma de estudar a farmacocinética cerebral era através de coletas de amostras do LCR. Acreditava-se que no *steady state* as concentrações de LCR assemelhavam-se às concentrações do líquido intersticial (SHEN; ARTRU; ADKISON, 2004). Entretanto, a BHE que separa o parênquima cerebral do sangue, cuja principal função é a de proteção do SNC, e a barreira sangue-líquido cefalorraquidiano (BSLCR) que separa o LCR do sangue, e cuja principal função é produzir o LCR, são consideradas barreiras diferentes em relação ao transporte ativo de fármacos.

Considerando esse fator, não se pode presumir que as concentrações do LCR sejam iguais ou substituam as concentrações do líquido intersticial sem antes investigar a distribuição e concentração nesses compartimentos (HAMMARLUND-UDENAES et al., 2008; SATO et al., 2021). Além disso, essa diferença nas concentrações nos diferentes locais do SNC (LCR, cérebro total, líquido intersticial, fluido intracelular) podem estar relacionadas à fração livre do plasma, do cérebro e do LCR (f_{plasma} ; $f_{\text{cérebro}}$; f_{LCR}), às concentrações livres em cada um desses locais, à razão de concentração de fármaco cérebro-plasma livre ($K_{p,uu,\text{cérebro}}$), à razão de concentração de fármaco LCR-plasma livre ($K_{p,uu,\text{LCR}}$) (HAMMARLUND-UDENAES et al., 2008; SATO et al., 2021). Além disso, é descrito na literatura que o LCR apresenta baixos níveis de proteínas derivadas do plasma, apresentando concentrações de proteínas em torno de 0,5% ou menos que as observadas nas concentrações plasmáticas, o que pode impactar em uma maior fração livre disponível no LCR, resultando em maiores concentrações livres (SHEN; ARTRU; ADKISON, 2004).

Diante dessas informações, percebemos que a aplicação da microdiálise cerebral juntamente com a amostragem de LCR é fundamental para entendermos a farmacocinética dos antifúngicos no SNC, pois são descritos mecanismos que governam de forma conjunta a cinética de distribuição de fármacos entre os compartimentos fisiológicos e anatômicos do SNC.

Visando entender como ocorre essa distribuição do VRC entre os compartimentos do SNC, buscou-se na literatura estudos com dados disponíveis de concentrações plasmáticas, concentrações intersticiais (microdialisado) e concentrações de LCR após doses intravenosas de VRC, a fim de construir um

modelo único agrupando os dados plasmáticos e de duas regiões do SNC, que permita uma melhor avaliação dos cenários clínicos e entender se as concentrações de LCR sozinhas, que são utilizadas na clínica, são preditores suficientes da disponibilidade de fármacos no SNC.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Aplicar a farmacometria, através de modelos farmacocinéticos populacionais semi-mecanísticos, a fim de entender as diferenças que ocorrem na penetração do antifúngico voriconazol no sistema nervoso central de ratos e humanos.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão da literatura com foco em estudos que utilizaram modelagem matemática e simulação de dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos de antifúngicos utilizados no tratamento da criptococose;
- Coletar dados de concentrações plasmáticas e cerebrais após administração de voriconazol em estudos farmacocinéticos da literatura;
- Desenvolver um modelo popPK semi-mecanístico para descrever a distribuição do voriconazol no interstício cerebral e no líquido cefalorraquidiano de ratos, a fim de utilizar esse modelo para realizar uma avaliação dos cenários clínicos;
- Realizar simulações de Monte Carlo para avaliar a probabilidade de alcance do alvo (PTA) comparando a exposição no plasma, no espaço intersticial cerebral e no LCR, após diferentes regimes de dosagem do voriconazol.

Para o alcance dos objetivos específicos desta tese, os resultados foram organizados na forma de dois capítulos que correspondem a artigos científicos, sendo que um deles é uma revisão de da literatura e, o outro compreende um artigo com introdução do tema, materiais e métodos, resultados e discussão. Os artigos encontram-se na sequência do texto da seguinte maneira:

Capítulo 01: “The role of modeling and simulation to improve the treatment of fungal infections caused by *Cryptococcus*: a literature review”, que reúne os resultados referentes ao objetivo específico 1.

Capítulo 02: “Modeling and simulation as a tool to assess voriconazole exposure in the CNS”, que reúne os resultados referentes aos objetivos específicos 2, 3 e 4.

3. CAPÍTULO 1

THE ROLE OF MODELING AND SIMULATION TO IMPROVE THE TREATMENT OF FUNGAL INFECTIONS CAUSED BY *Cryptococcus*: A LITERATURE REVIEW

The role of modeling and simulation to improve the treatment of fungal infections caused by *Cryptococcus*: a literature review

Keli Jaqueline Staudt¹, Laura Bem Olivo¹, Izabel Almeida Alves², Bibiana Verlindo de Araújo¹

¹Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

Keywords: Antifungals; cryptococcosis; mathematical modeling; pharmacodynamics; pharmacokinetics.

O texto completo do capítulo 1, que no texto completo da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 37 – 78, foi suprimido por tratar-se de manuscrito submetido para publicação em periódico científico. O presente estudo realizou uma revisão da literatura a fim de fornecer uma atualização sobre os modelos farmacocinéticos e simulações que são utilizadas para o tratamento de infecções causadas por *Cryptococcus*.

4. CAPÍTULO 2

MODELING AND SIMULATION AS A TOOL TO ASSESS VORICONAZOLE EXPOSURE IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Modeling and simulation as a tool to assess voriconazole exposure in the central nervous system

Keli Jaqueline Staudt¹, Bruna Bernar Dias¹, Izabel Almeida Alves², Jean-Philippe Bouchara³, Bénédicte Lelièvre³, Bibiana Verlindo de Araújo^{1*}

¹Pharmaceutical Sciences Graduate Program of Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil.

²Pharmacy, Federal University of Bahia - UFBA, Salvador, 40170-115, BA, Brazil;

³Université d'Angers, Université de Bretagne Occidentale, Institut de Biologie en Santé, Angers, France.

Keywords: Cryptococcosis; cerebrospinal fluid; voriconazole; meningitis; brain microdialysis; interstitial space fluid.

O texto completo do capítulo 2, que no texto completo da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 79 – 106, foi suprimido por tratar-se de manuscrito aceito para publicação em periódico científico. O presente estudo desenvolveu um modelo farmacocinético populacional semi-mecanístico (popPK) para entender a relação da distribuição do voriconazol no sistema nervoso central (SNC) observando duas regiões cerebrais, juntamente com amostras plasmáticas. E por fim, utilizar esse modelo desenvolvido para realizar simulações e avaliar a probabilidade de atingir o alvo terapêutico utilizando as exposições observadas de voriconazol no SNC.

5. CONCLUSÕES GERAIS

- Com o artigo de revisão foi possível identificar que a maior parte dos artigos se referem a estudos de modelagem PK/PD E PBPK, que são abordagens importantes que fornecem subsídios para um tratamento adequado.
- Os estudos que realizaram simulações de Monte Carlo e que avaliaram a probabilidade de atingir o alvo (PTA) mostram que muitos tratamentos utilizados não são eficazes, sendo necessário investigar novos modelos que incluam mais informações sobre essas infecções de difícil tratamento.
- Modelo popPK desenvolvido permitiu relacionar as concentrações livres de voriconazol no plasma, líquido intersticial cerebral e no líquido cefalorraquidiano de ratos;
- O modelo popPK desenvolvido permitiu identificar que a infecção causada por *C. neoformans* causa alterações na penetração do voriconazol;
- A penetração do voriconazol foi maior no tecido de ratos infectados por *C. neoformans* em relação ao grupo sadio, e as concentrações de LCR livre apresentaram maior penetração nos animais sadios.
- As simulações realizadas com o modelo popPK para determinar a probabilidade de atingir o alvo terapêutico de $fAUC > MIC=25$ mostraram que o voriconazol apresenta exposição tecidual suficiente no plasma, líquido intersticial e no líquido cefalorraquidiano para o tratamento de infecções fúngicas nos MICs prevalentes;
- As concentrações do LCR podem ser utilizadas como preditores das concentrações observadas no ISF no caso do voriconazol, já que ambas as concentrações apresentaram resultado semelhante quanto ao alcance do PTA (> 90%) em ambas as condições e doses testadas.

6. REFERÊNCIAS GERAIS

ALVES, I. A. *et al.* Influence of experimental cryptococcal meningitis in wistar rats on voriconazole brain penetration assessed by microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 61, n. 7, p. 1–8, 2017.

ALVES, I. A. *et al.* Population Pharmacokinetic Modeling to Describe the Total Plasma and Free Brain Levels of Fluconazole in Healthy and *Cryptococcus neoformans* Infected Rats: How Does the Infection Impact the Drug's Levels on Biophase? **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 35, n. 7, p. 1–10, 2018.

ASHLEY, E. D. Antifungal drugs: Special problems treating central nervous system infections. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 5, n. 4, 2019.

BELLMANN, R.; SMUSZKIEWICZ, P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. **Infection**, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 737–779, 2017.

BLOCH, K. C.; BAILIN, S. S. Update on fungal infections of the central nervous system: Emerging pathogens and emerging diagnostics. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 277–284, 2019.

BONGOMIN, F. *et al.* Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 3, n. 4, 2017.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 133, p. 86–96, 2017.

CAROD-ARTAL, F. J. Fungal infections of the central nervous system. **CNS Infections: A Clinical Approach: Second Edition**, [s. l.], p. 129–156, 2018.

FELTON, T.; TROKE, P. F.; HOPE, W. W. **Tissue penetration of antifungal agents**. [S. l.: s. n.], 2014.

FISHER, K. M. *et al.* Cryptococcal meningitis: a review for emergency clinicians. **Internal and Emergency Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 1031–1042, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02619-2>.

GÓRALSKA, K.; BLASZKOWSKA, J.; DZIKOWIEC, M. Neuroinfections caused by fungi. **Infection**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 443–459, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-018-1152-2>.

HAMMARLUND-UDENAES, M. *et al.* **On the rate and extent of drug delivery to the brain**. [S. l.: s. n.], 2008.

JIA, DAN TONG; THAKUR, K. Fungal Infections of the Central Nervous System.

Aminoff's Neurology and General Medicine, [s. l.], v. 39, p. 343–357, 2019.

KON, A. S. Rev Sociedade Bras de Medicina Tropical. **Consenso em criptococose - 2008**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 524–544, 2008.

KOUTSOURAS, G. W.; RAMOS, R. L.; MARTINEZ, L. R. Role of microglia in fungal infections of the central nervous system. **Virulence**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 705–718, 2017.

LIU, Junyu *et al.* Amphotericin B plus fluorocytosine combined with voriconazole for the treatment of non-HIV and non-transplant-associated cryptococcal meningitis: a retrospective study. **BMC Neurology**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 1–11, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12883-022-02803-1>.

LUTSAR, I.; ROFFEY, S.; TROKE, P. Voriconazole concentrations in the cerebrospinal fluid and brain tissue of guinea pigs and immunocompromised patients. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 728–732, 2003.

NAKAO, M. *et al.* Treatment of cryptococcus gattii infection using voriconazole. **Internal Medicine**, [s. l.], v. 60, n. 22, p. 3635–3638, 2021.

NAU, R.; SÖRGE, F.; EIFFERT, H. **Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections**. [S. l.: s. n.], 2010.

NETT, J. E.; ANDES, D. R. Antifungal Agents: Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 51–83, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.012>.

NGAN, N. T. T. *et al.* An open label randomized controlled trial of tamoxifen combined with amphotericin B and Fluconazole for cryptococcal meningitis. **eLife**, [s. l.], v. 10, p. 1–39, 2021.

PAGLIANO, P. *et al.* Burden of fungal meningitis. **Future Microbiology**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 469–472, 2020.

SATO, S. *et al.* Translational CNS Steady-State Drug Disposition Model in Rats, Monkeys, and Humans for Quantitative Prediction of Brain-to-Plasma and Cerebrospinal Fluid-to-Plasma Unbound Concentration Ratios. [s. l.], p. 1–12, 2021.

SHEN, D. D.; ARTRU, A. A.; ADKISON, K. K. Principles and applicability of CSF sampling for the assessment of CNS drug delivery and pharmacodynamics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 56, n. 12, p. 1825–1857, 2004.

TENFORDE, M. W. *et al.* Treatment for HIV-associated cryptococcal meningitis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [s. l.], v. 2018, n. 7, 2018.

TSAI, W. C. *et al.* The clinical characteristics and therapeutic outcomes of cryptococcal meningitis in elderly patients: A hospital-based study. **BMC Geriatrics**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 1–6, 2019.

VIEIRA, FRANCISCA; NASCIMENTO, T. Resistência a Fármacos Antifúngicos por *Candida* e Abordagem Terapêutica. **Revista Portuguesa de Farmacoterapia**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 29–36, 2017.

WHO. **Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease**. [S. l.: s. n.], 2018.

WILLIAMSON, P. R. *et al.* Cryptococcal meningitis: Epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nature Reviews Neurology**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 13–24, 2016.

WOO, YEON HWA; MARTINEZ, L. R. *Cryptococcus neoformans*–astrocyte interactions: effect on fungal blood brain barrier disruption, brain invasion, and meningitis progression. **Physiology & behavior**, [s. l.], v. 47, p. 206–223, 2021.

ZARAGOZA, O. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. **Virulence**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 490–501, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1614383>.

ZHAO, H. Z. *et al.* High dose fluconazole in salvage therapy for HIV-uninfected cryptococcal meningitis. **BMC Infectious Diseases**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 1–8, 2018.