

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**JOSÉ ALVES PATRÍCIO JUNIOR**

**TENOFOVIR COMO MONOTERAPIA PARA HEPATITE B: FUNÇÃO RENAL E  
PARATORMÔNIO**

**NITERÓI  
2015**

**JOSÉ ALVES PATRÍCIO JUNIOR**

**TENOFOVIR COMO MONOTERAPIA PARA HEPATITE B: FUNÇÃO RENAL E PARATORMÔNIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Ciências Médicas.

**ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE REIS ALMEIDA**

**COORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. PATRICIA DE FÁTIMA LOPES DE ANDRADE**

Niterói, RJ  
2015

## FICHA CATALOGRÁFICA

P314

Patrício Junior, José Alves

Tenofovir como monoterapia para Hepatite B: função renal e paratormônio / José Alves Patrício Junior. - Niterói, 2015.

**53 f.**

Orientador: Jorge Reis Almeida

Coorientador: Patrícia de Fátima Lopes de Andrade

**Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)– Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Medicina, 2015.**

1. Antirretrovirais. 2. Hormônio Paratireóideo. 3. Hepatite B-tratamento. 4. Rim-efeito de drogas. 5. Fumaratos. I. Título.

CDD 616.3623

JOSÉ ALVES PATRÍCIO JUNIOR

**TENOFOVIR COMO MONOTERAPIA PARA HEPATITE B: FUNÇÃO RENAL E  
PARATORMÔNIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Ciências Médicas.

**BANCA EXAMINADORA**

Professor Dr.

Rubens Antunes da Cruz Filho \_\_\_\_\_

Professora Dra.

Ana Maria Ribeiro dos Santos \_\_\_\_\_

Professor Dr.

Carlos Perez Gomes \_\_\_\_\_

NITERÓI – RJ

2015

**Dedico este trabalho:**

Primeiramente aos meus pais, Patrício e Ivonne, que sempre me ajudaram e incentivaram na minha caminhada.

À minha esposa Vilma, minha incansável incentivadora.

Aos meus familiares e amigos, por acreditarem em meus sonhos, por sempre me darem apoio em minhas decisões e compartilharem as conquistas.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores Jorge Reis Almeida e Patrícia de Fátima Lopes de Andrade pela orientação sem a qual esse trabalho nunca teria sido possível. Muito obrigado! Sem vocês eu nunca teria conseguido!

Aos professores: Jorge Strogoff e Jocemir Lugon do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense, por terem contribuído no meu aprendizado científico até o presente.

A professora Eliane Bordalo Cathala Esberard pela simpatia, paciência e dedicação com que me acompanhou e ajudou nesta obra.

A professora Andréia Alice da Silva pelo incentivo e empurrões nas horas de desânimo.

A Equipe LAMAP que trabalha em conjunto e serve de escora “em tempo integral”.

A Thalia e Leda pela simpatia e competência em me ajudar na organização desta obra.

A Sra. Marlene Firmiano, a Marleninha do Centro de Diálise do Hospital Antônio Pedro, por todo carinho e paciência dedicados a mim e aos pacientes durante todo o processo execução do estudo.

“Aquele que tem uma ideia é um tipo esquisito até que a ideia vença.”

*Mark Twain*

## RESUMO

**Introdução:** A hepatite viral B (HVB) representa um problema importante em saúde pública. O tenofovir (TDF) foi aprovado para o tratamento de pacientes infectados com HIV e em pacientes com HVB. Estudos em pacientes infectados pelo HIV em regime multidroga têm associado a utilização de TDF com a presença de perda urinária de fosfato, dor óssea e osteomalacia, bem como um tipo específico de tubulopatia proximal renal com lesão mitocondrial. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi examinar o efeito do TDF como droga única em pacientes não-HIV, mas com hepatite B, sem comorbidades sistêmicas ou renais, para avaliar a função renal e os níveis de hormônio da paratireóide (PTH) durante um ano. **Métodos:** Foram avaliados pacientes adultos consecutivos com diagnóstico de HVB antes (T0), após três meses (T3) e após doze meses (T12) de TDF em relação à taxa de filtração glomerular (eTFG) estimada por fórmulas baseadas na cistatina C e creatinina séricas, PTH, 25 (OH) vitamina D, excreção urinária fracionada de eletrólitos (FE's), e por biomarcadores tubulares urinários como cistatina C,  $\beta$ 2-microglobulina e NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) corrigidos para a creatinina na urina. Usamos o teste de Friedman com pós-teste de Wilcoxon para os tempos, teste de Fisher para frequências e regressão linear para identificar associações entre variáveis. **Resultados:** Após um ano 32 pacientes completaram o estudo. A média de idade foi de  $44,1 \pm 12,0$  anos, sexo masculino 22 (68,7%) e brancos 12 (37,5%). Não houve diferença nos eletrólitos séricos, incluindo cálcio e fósforo. As FE's não apresentaram diferenças significativas. Não houve alterações estatisticamente significativas na proteinúria, microalbuminúria,  $\beta$ 2-microglobulina urinária e cistatina C urinária. Não houve diferenças estatísticas na eTFG realizadas com cistatina C e creatinina sérica. Houve diferença estatisticamente significativa e aumento progressivo do PTH (Friedman,  $p = 0,012$ ), ainda avaliada pelo post-teste de Wilcoxon: (T0 vs. T12,  $p = 0,002$ ) e (T3 vs. T12,  $p = 0,025$ ). A 25 (OH) vitamina D não apresentou diferença significativa entre os tempos. Não houve correlação de dependência entre baixos níveis iniciais de 25 (OH) vitamina D e os aumentos correspondentes nos valores de PTH. **Conclusão:** Usado como monoterapia, em pacientes com HVB, por um período de 12 meses, TDF não apresentou alterações na eTFG, nem no painel de biomarcadores urinários. TDF também não foi associado com alterações nos eletrólitos séricos ou urinários. Ocorreu aumento estatisticamente significativo do PTH, mas sem associação com os níveis basais de 25 (OH) vitamina D.

**Palavras-chave:** tenofovir • hormônio da paratireóide • rim



## ABSTRACT

**Introduction:** Viral hepatitis B represents a major public health problem. Tenofovir (TDF) was approved for the treatment of HIV infected patients and for patients with viral hepatitis B. Studies from HIV multidrugs patients have associated the use of TDF with the presence of renal phosphate wasting, bone pain and osteomalacia as well as a specific type of renal tubulopathy with mitochondrial injury. **Objective:** The aim of this study was to examine the effect of TDF alone in non-HIV but hepatitis B patients without systemic or renal comorbidities, on the renal function and parathyroid hormone levels during one year. **Methods:** We evaluated adults consecutive hepatitis B patients before (T0), after three months (T3), and after twelve months (T12) of TDF, in relation to the glomerular filtration rate (eGFR) estimated by serum cystatin C and creatinine (CKD-EPI), parathyroid hormone, 25(OH) Vitamin D, fractional urinary excretion of electrolytes and by some urinary tubular biomarkers as urinary cystatin C,  $\beta$ 2-microglobulin and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) corrected for urine creatinine. We used test of Friedman with post test of Wilcoxon. Frequencies were analysed with the Fisher test, and linear regression to identify association between variables. **Results:** At the end of one year, 32 patients completed the study. The mean age was  $44.1 \pm 12.0$  years, male 22 (68.7%), white 12 (37.5%). There was no difference in the serum electrolytes, including calcium and phosphorus. Urinary fractional excretions of electrolytes showed no significant differences. There were no statistically significant changes in proteinuria, microalbuminuria, urinary  $\beta$ 2 microglobulin and urinary cystatin C. There were no statistical differences in the eGFR, performed with the serum cystatin C and creatinine. There was a statistically significant difference in the progressive increase of the parathyroid hormone (Friedman test,  $p = 0.012$ ), further evaluated by the post test of Wilcoxon T0 vs. T12 ( $p = 0.002$ ) and T3 vs. T12 ( $p = 0.025$ ). The 25(OH) Vitamin D differences among the groups was not significant and around the normal range (30 ng/mL as a cut-off). There was no dependence between low initial levels of vitamin D and the corresponding increases in the PTH values. **Conclusion:** If used alone in hepatitis B patients by a 12-month period, tenofovir showed no changes in the eGFR and in a panel of urinary biomarkers. TDF was also not associated with changes in the serum or urinary electrolytes. However, we found significant subclinical increase of the parathyroid hormone, but not dependent of the 25 (OH) Vitamin D initial status.

**Key Words:** tenofovir • parathyroid hormone • kidney

## LISTA DE TABELAS

<b>NÚMERO</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
Tabela 1	Características basais dos pacientes	26
Tabela 2	Valores séricos dos eletrólitos e marcadores bioquímicos no tempo basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir	29
Tabela 3	Excreção fracionada dos eletrólitos e biomarcadores protéicos urinários basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir	30
Tabela 4	Taxa de filtração glomerular estimada basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir	31

## LISTA DE FIGURAS

<b>NÚMERO</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
Figura 1	Taxa de detecção da hepatite B e C no Estado o Rio de Janeiro	16
Figura 2	Estrutura molecular do tenofovir	17
Figura 3	Fluxograma representando a distribuição dos pacientes.	25
Figura 4	Níveis urinários do NGAL corrigidos pela creatinina urinária basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir	32
Figura 5	Níveis séricos de 25(OH)vitD e PTH durante o período de estudo	33
Figura 6	Relação do aumento do PTH pelos níveis séricos basais da 25(OH)vitD > e < 30ng / mL	34
Figura 7	Correlação entre valores da 25(OH) vitamina D basal (T0) com a correspondente taxa de aumento nos níveis séricos do PTH após um ano do estudo (T12).	35

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AHR – Ambulatório Hepatite- Rim

AINE – Anti-Inflamatório Não Hormonal

CKD-EPI - *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

Cr – Creatinina

Cyst – Cistatina

eTFG – Taxa de Filtração Glomerular estimada

FA – Fosfatase Alcalina

FEA – Fração de Excreção da substância “A”

FE – Fração de Excreção

FGF-23 - *Fibroblast growth factor 23*

HIV – *Human immunodeficiency vírus*

HUAP – Hospital Universitário Antônio Pedro

HVB – Hepatite Viral B

KDOQI - *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*

MS – Ministério da saúde

NGAL – *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*

PCR-DNA – *Polymerase Chain Reaction*

PTH – Paratormônio

SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

SUS – Sistema Unico de Saúde

TARV - Terapia Anti-retroviral Altamente Eficaz

TCP – Túbulo Contorcido Proximal

TDF – Tenofovir Disoproxil Fumarato

VDBP – Proteína Ligante da Vitamina D

## SUMÁRIO

	Página
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>PACIENTES E MÉTODOS</b>	<b>21</b>
SELEÇÃO E INCLUSÃO DE PACIENTES	21
ANÁLISES BIOQUÍMICAS E DE BIOMARCADORES	22
ESTIMATIVA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR	23
ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
<b>RESULTADOS</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>36</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>50</b>

## INTRODUÇÃO

A hepatite viral B (HVB) representa um importante problema de saúde pública, que afeta milhões de pessoas em todo o mundo e pode progredir para a hepatite crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular em até 15 a 40% dos pacientes cronicamente infectados (2).

O tenofovir disoproxil fumarato (TDF), ou simplesmente o tenofovir, é um medicamento oral que age inibindo a polimerase de DNA e bloqueia a ação da enzima transcriptase reversa responsável pela replicação do vírus da hepatite B (3). O uso do tenofovir foi aprovado nos Estados Unidos da América (EUA) pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001 para o tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida (4), e para o tratamento do vírus da hepatite B em 2008 (5,6).

Vários estudos têm associado o uso do TDF em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) com a perda tubular renal de fosfato, dor óssea e osteomalácia (7-9). Uma síndrome tubular proximal renal, que não apresenta todas as características para síndrome de Fanconi, mas que inclui glicosúria e fosfatúria, foi descrita em alguns dos indivíduos infectados pelo HIV em terapia com TDF, bem como um tipo específico de tubulopatia renal reconhecida por lesão mitocondrial (10).

Além disso, o aumento dos níveis do PTH foi também recentemente descrito, assim como possíveis envolvimento ou não de alguns fatores dependentes como o *status* da vitamina D, sexo e etnia (11-15).

Com base em um fator de interferência agindo na relação entre osso, glândula paratireóide e os túbulos renais alguns estudos foram realizados, principalmente em pacientes com HIV, para analisar nefrotoxicidade tubular direta ou um efeito endócrino primário originado nos túbulos renais, onde partes do metabolismo da vitamina D e os alvos celulares do PTH e do *fibroblast growth factor 23* (FGF23) estão presentes, com resultados controversos (16-18).

O mecanismo exato, no entanto, para o distúrbio metabólico primário ainda é incerto. Os efeitos diretos do HIV e o incontável número de condições ou drogas que estão presentes concomitantemente poderiam ter efeito aditivo.

O presente trata-se de um estudo prospectivo observacional, original para analisar algumas dessas perguntas sem o ambiente multidrogas comumente visto em pacientes infectados pelo HIV. Uma vez que o tenofovir foi usado como monoterapia em pacientes com HBV, o objetivo deste estudo foi examinar o efeito e a segurança do tenofovir isolado sobre os níveis de PTH, cálcio e fosfato, excreção fracionada de eletrólitos, alterações da função tubular

renal e disfunção glomerular. Esta por estimativa usando equações com cistatina C e creatinina sérica (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration - CKD-EPI*) (1), bem como medidas urinárias de alguns biomarcadores moleculares tubulares como a cistatin C, a  $\beta$ 2-microglobulina e o NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*).

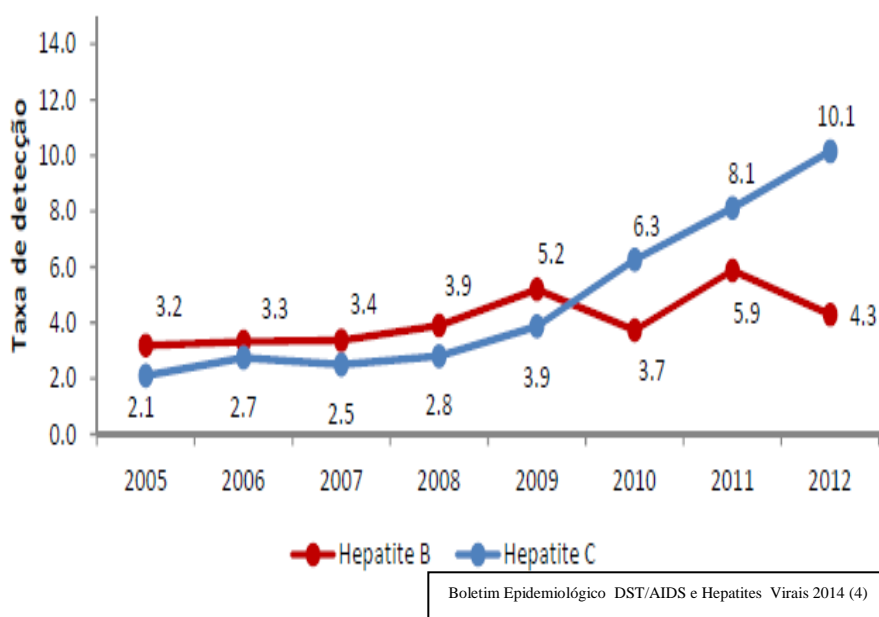
A monoterapia com TDF proporciona um modelo onde pode ser explorada melhor a toxicidade desta droga com menor interferência de outros fármacos e questionar se a toxicidade é da própria droga, de associações feitas para o tratamento antiviral ou uma reação com o próprio vírus do HIV ou da hepatite. No modelo apresentado é estudado a taxa de filtração glomerular e as excreções urinárias dos principais íons, de marcadores biológicos urinários e séricos da prática diária e alguns biomarcadores mais sensíveis, a fim de fazer uma correlação entre estes marcadores e os habitualmente utilizados na prática clínica quanto à nefrotoxicidade e, então poder traçar um perfil de antecipação dos pacientes que, potencialmente, viessem a apresentar toxicidade renal. Também é explorado o eixo vitamina D-PTH para melhor compreensão dos achados em literatura.

## REVISÃO DA LITERATURA

As hepatites virais B e C representam um grave problema de saúde pública tanto no Brasil quanto no mundo. Assim como as demais hepatites virais são doenças infecciosas sistêmicas que afetam o fígado podendo evoluir para a hepatite crônica e, têm como principais complicações a cirrose hepática e o carcinoma hepatocelular em até 15 a 40% dos que evoluem para cronicidade. A partir do ano de 1996, as hepatites virais foram incluídas na Lista de Doenças de Notificação Compulsória no país. Desde então, a coleta de dados sobre a ocorrência dessas doenças passou a compor as ações de vigilância epidemiológica. A maioria dos pacientes afetados agudamente pela hepatite viral não é notificada porque pode passar despercebida por se apresentar frequentemente de forma sutil e subclínica, mas estima-se cerca de 350 milhões de indivíduos cronicamente infectados no mundo (2).

No Brasil, a taxa de detecção da hepatite B no ano de 2011 foi de 7,6 casos por 100 mil habitantes segundo o Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais do Ministério da Saúde(3) estando a região sudeste pouco abaixo da média nacional. No Estado do Rio de Janeiro esta taxa é de cerca de 5,9 casos por cada 100 mil habitantes e encontra-se razoavelmente estável, diferente da taxa da hepatite C que mostra-se ascendente (Figura 1) (4).

**Figura 1. Taxa de detecção da hepatite B e C por 100 mil habitantes no Estado do Rio de Janeiro(4).**

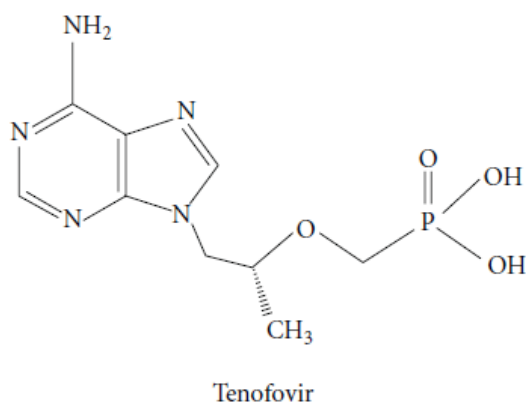




A vacinação contra a hepatite B é uma realidade e faz parte do calendário oficial de vacinação infantil e do adulto do Ministério da Saúde. Em 2001, a vacinação pública fornecida pelo SUS foi ampliada para todos os menores de 20 anos, em 2011 contemplou a faixa etária de 20 a 24 anos, em 2012 para a população de 25 a 29 anos e em 2013 para a faixa etária de 30 e 49 anos. Finalmente, todos os indivíduos considerados “grupo de risco” (3), de qualquer faixa etária, podem solicitar nos Postos de Saúde a vacinação. Em Nota Técnica (Nota Técnica Conjunta nº 02/2013/CGPNI/DEVEP e CGDHR/DST – AIDS/SVS/MS) há a recomendação para vacinação de todo indivíduo acima de 50 anos que buscar a vacina independente da comprovação da indicação, englobando, então, toda a população. Espera-se que, com estas medidas, a médio e longo prazo haja redução de forma importante na incidência da infecção.

O Tenofovir é uma pró-droga de uso oral. Trata-se de um análogo diéster fosfonato nucleotídeo acíclico (Figura 2) da adenosina 5'-monofosfato. Durante sua absorção no trato gastrointestinal é hidrolisado a tenofovir e, nos hepatócitos, fosforilado para sua forma ativa tenofovir difosfato (TDF). O TDF é uma estrutura análoga à dioxiadenosina 5'- trifosfato, o substrato usual para polimerase DNA viral e um fraco inibidor da *mammalian DNA  $\alpha$  e  $\beta$  polimerase* e *DNA  $\gamma$ -polimerase mitocondrial* (2, 5, 6). Seu mecanismo de ação é bloqueando a ação da enzima transcriptase reversa, a responsável pela replicação do HVB. Foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001 para tratamento da AIDS (7) e para tratamento da hepatite B em 2008 (8). No Brasil foi introduzido para tratamento do HIV em 2001 e no arsenal terapêutico para HVB em 2009 (Portaria MS nº 2561, de 28 de outubro de 2009).

**Figura 2. Estrutura molecular do tenofovir.**



AIDS Research and treatment-2011 (5)

No Brasil, Europa e nos EUA diretrizes de tratamento consideram o TDF como parte de todos os regimes preferenciais para tratamento de adultos e adolescentes com AIDS no início do tratamento (3, 5). No Brasil, faz parte dos três medicamentos iniciais para tratamento da hepatite B, junto com interferon e entecavir e é a principal droga utilizada em casos de resistência no tratamento da HVB (3). Sua eliminação se processa *in natura* na urina por combinação de filtração glomerular e secreção tubular proximal. Cerca de 20 a 30% da droga é transportada para as células tubulares proximais na membrana baso-lateral. Posteriormente é secretada para o lúmen tubular por transportadores de membrana apical (5). Interações medicamentosas com estes transportadores podem alterar o fluxo da droga favorecendo acúmulo sérico ou intracelular e aumentando a chance de nefrotoxicidade (9).

Há relatos de controle da população viral da HVB e, também, com regressão histológica da cirrose hepática demonstrando a crescente importância do TDF no tratamento desta patologia (10, 11). A associação do TDF para tratamento da AIDS compondo o esquema TARV (terapia antirretroviral altamente eficaz) tem gerado muitos relatos da toxicidade do TDF com nefrotoxicidade tubular e sobre a TFG, osteomalácia e toxicidade no eixo vitamina D-PTH-osso-rim. São relatos conflitantes demonstrando que ainda não existem todas as respostas e não se compreende, na totalidade, a fisiopatologia destes achados. Sua toxicidade pode estar relacionada ao tempo de exposição da droga, idade, massa corporal do paciente e às associações medicamentosas (12). Quanto à experiência do uso do TDF no tratamento da HVB o número de relatos é muito menor.

Trabalho multicêntrico europeu estudou associação entre TDF e Emtricitabina, associação mais comum em tratamento da AIDS, para pacientes com HVB crônica e concluiu que há segurança renal e excelente resposta no controle viral (13, 14). Mauss e col (14) estudaram pacientes com HVB em monoterapia com lamivudina, adefovir, tenofovir ou entecavir e comparou com pacientes HIV positivos sem o vírus da hepatite tratados com tenofovir ou zidovudina (como componentes da combinação terapêutica) para alterações na TFG e concluiu que não houve alteração com o uso de TDF para tratamento da HVB (-0,92 ml/min de redução da TFG ao ano), mas houve quando tratou pacientes com AIDS (-2,64 ml/min/ano). Em outro relato, dezessete pacientes foram acompanhados quanto à eficácia e segurança do uso de TDF para HVB (15). Destes, apenas três estiveram sob monoterapia e só foram avaliados quanto à função renal com acompanhamento da creatinina sérica, mas os autores concluíram que há segurança em seu uso. Mallet e col (16) estudaram pacientes retrospectivamente com uso de antirretrovirais (lamivudina, entecavir, adefovir e tenofovir) em diversas associações para pacientes com AIDS, hepatite B e C, mas também com TDF

isolado, este por período médio de 1,8 anos, e não encontraram redução significativa na função renal. Nenhum dos trabalhos estudou a função tubular.

## OBJETIVOS

### Geral:

- Em pacientes portadores de hepatite B crônica com indicação para tratamento com tenofovir estudar a taxa de filtração glomerular e biomarcadores de função tubular num período de um ano.

### Específicos:

- analisar da taxa de filtração glomerular estimada utilizando fórmulas baseadas na creatinina e cistatina C séricas;

- estudar dos níveis séricos e fração de excreção urinária de eletrólitos;

- estudar de alguns biomarcadores urinários (NGAL, cistatina C,  $\beta$ 2microglobulinas, microalbuminúria) corrigidos pela creatinina urinária;

- estudar relações entre a 25(OH) vitamina D e o paratormônio.

## PACIENTES E MÉTODOS

### Seleção e inclusão dos pacientes

Foram selecionados pacientes adultos consecutivos (idade > 18 anos) com diagnóstico de infecção por HVB, com indicação do uso do tenofovir, antes do início da terapia antiviral. Foram convidados a partir da unidade de gastroenterologia do HUAP para o ambulatório de nefrologia, numa unidade especificamente criada para o estudo (AHR – ambulatório hepatite- rim) no HUAP onde foram clínica e laboratorialmente avaliados e, então, convidados a participar deste estudo, que recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Antônio Pedro / Universidade Federal Fluminense (CEP CMM / HUAP 234/2010, CAAE 0190.0.258.000-10).

Todos os pacientes incluídos neste estudo concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e tiveram dados antropométricos, anamnese, exame físico e ultrassonografia abdominal realizados, assim como coletavam sangue e uma amostra de urina padrão obtido a partir da primeira urina da manhã. A primeira avaliação, no tempo T0, ocorreu pouco tempo (entre 1 e 2 semanas) antes do início de qualquer terapia antiviral. Após o início da monoterapia com tenofovir os pacientes foram, de novo, avaliados no terceiro e décimo segundo mês, tempo T3 e T12, a fim de estabelecer três fases de estudo: T0, T3 e T12. As características basais dos pacientes estão apresentadas na Tabela 1.

Os pacientes foram recrutados entre fevereiro de 2011 e agosto de 2013. Foram avaliados 64 pacientes com hepatite B. Vinte deles foram excluídos devido à aplicação de qualquer dos critérios de exclusão ou a equipe médica assistente escolheu outro antiviral de acordo com as regras contidas nos critérios de as diretrizes do Ministério da Saúde para o tratamento da HVB. Dos 44 pacientes restantes, cinco foram retirados do estudo (seja por negação, gravidez, por ter iniciado a droga antes da primeira consulta, ou abandono). Sete pacientes não completaram, ainda, todas as etapas do estudo. Assim, no final do primeiro ano, 32 pacientes completaram os critérios (Figura 3). Eles foram submetidos às três avaliações propostas e completaram o estudo. O número de pacientes da amostra obtida não foi baseada em cálculo amostral, mas sim na disponibilidade de uma série consecutiva de pacientes com a conveniência do tempo e do centro médico que utilizamos.

Os critérios de exclusão foram história de diabetes, hipertensão arterial sistêmica, o uso de qualquer anti-hipertensivo ou antidiabético, gravidez, passado recente (menos de um ano) ou uso atual de quaisquer fármacos potencialmente nefrotóxicos (incluindo outros

antivirais, anti-inflamatórios não hormonais - AINE, etc), neoplasia, infecção pelo HIV, HCV, sífilis, disfunção hepática significativa (que apresentassem sinais clínicos), alteração renal laboratorial ou clínica ( $TFG \leq 60\text{ml/min}$ , proteinúria  $> 150\text{ mg} / 24\text{h}$ , microalbuminúria  $> 30\text{mg/g}$  de creatinina urinária, hematuria, história de litíase renal) ou resultados renais ultrasonográficos alterados (ecogenicidade cortical alterada, diminuição da massa renal, doenças císticas, rim único, urolitíase e quaisquer outras imagens suspeitas). Um fluxograma da distribuição dos pacientes é apresentado na Figura 3.

Os pacientes foram mantidos sob acompanhamento com a equipe de gastroenterologia que supervisionavam a função hepática, indicação e interpretação das biópsias hepáticas e a carga viral. A dose preconizada pelo Ministério da Saúde e prescrita foi de uma cápsula de 300mg por dia. O fornecimento do TDF foi efetuado regularmente pelo Ministério da Saúde por meio de emissão do Laudo de Medicamentos Excepcionais realizado pelo ambulatório de hepatologia do HUAP e dispensado pelo Departamento de Farmácia do Estado de Rio de Janeiro.

Todas as coletas de exames para estudo bioquímico foram acompanhadas da coleta em dois frascos de urina de amostra. Um foi encaminhado para o laboratório de rotina clínica do hospital e a outra para o laboratório de pesquisa para dosagem de substância fora da prática clínica diária (cistatina C e NGAL). As dosagens dos íons e eletrólitos foram fornecidas e as frações de excreção foram calculadas por fórmulas já demonstradas em parágrafos anteriores.

### Análises bioquímicas e de biomarcadores

As concentrações sérica e urinária da cistatina C (Cat No.: RD1910091000), e da lipocalin-2 / NGAL (Cat No: RD191102200R, BioVendor, República Checa) foram avaliadas por um conjunto de insumos para diagnóstico comerciais cujo ensaio foi imunoenzimático. As alíquotas de urina e de sangue foram centrifugadas e os sobrenadantes foram armazenados em freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para permitir as medições dentro de um período de armazenamento máximo de dois meses. Os resultados da cistatina C e do NGAL foram corrigidos pela creatinina urinária para criar a relação cistatina C / creatinina urinária e NGAL / creatinina urinária.

As dosagens sanguínea e urinária de sódio, potássio, cálcio, fósforo, cloreto de magnésio, bicarbonato, fosfatase alcalina, creatinina, albumina e ácido úrico foram realizadas por métodos automatizados usando o equipamento Siemens Dimension RxL Max®. As dosagens acima serviram para realizar as análises das taxas de filtração glomerular e excreções fracionadas das substâncias.

O PTH e a  $\beta$ 2-microglobulina urinária e sérica foram quantificadas pelo método de quimioluminescência, sendo utilizados, respectivamente, os equipamentos Immulite 2000 (referência L2KPP2) e o Liaison Analyser XL (ref 314501). Já a microalbuminúria foi realizada por imunoturbidimetria utilizando a automação via equipamento Siemens Dimension (ref DF114). Todas as dosagens bioquímicas foram realizadas pelo Serviço de Patologia Clínica do HUAP/UFF.

A excreção fracionada de uma determinada substância "a" (FEA) foi estimada através da equação  $[FEA = \text{Cla} / \text{ClCr}]$ , onde Cla indica a eliminação da substância "a", e ClCr indica a eliminação da creatinina. Para efeitos práticos, foi usada amostra isolada da urina da manhã com 12 horas de jejum durante a noite que permitiu eliminar a necessidade de um volume urinário de 24 horas. A equação acima pode ser reescrita como  $[FEA = (\text{Ua} \times \text{SCr}) / (\text{UCr} \times \text{Sa})]$ , onde Ua e Sa significam, respectivamente, concentração urinária e sérica de substância "a", UCr e SCr significam concentração sérica e urinária de creatinina. Assim, por exemplo, para a fração de excreção do sódio a equação funciona como o seguinte:  $[\text{FENa}^+ = (\text{UNa}^+ \times \text{SCr}) / (\text{UCr} \times \text{SNa}^+)]$ .

#### Estimativa da taxa de filtração glomerular

Três equações diferentes derivadas da *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) para estimar a taxa de filtração glomerular (eGFR) foram utilizadas com base na creatinina sérica (CKD-EPI-Cr), cistatina C sérica (CKD-EPI-CYSC) ou ambos (CKD-EPI-CYSC-Cr). A medição da creatinina sérica foi realizada por meio de um método de Jaffé rastreável (Roche Diagnostic). Além da creatinina sérica e da cistatina C, só foram utilizados nas equações as idades e sexo. Não foi usado qualquer fator de correção para a etnia devido ao grau de miscigenação presente na população brasileira.

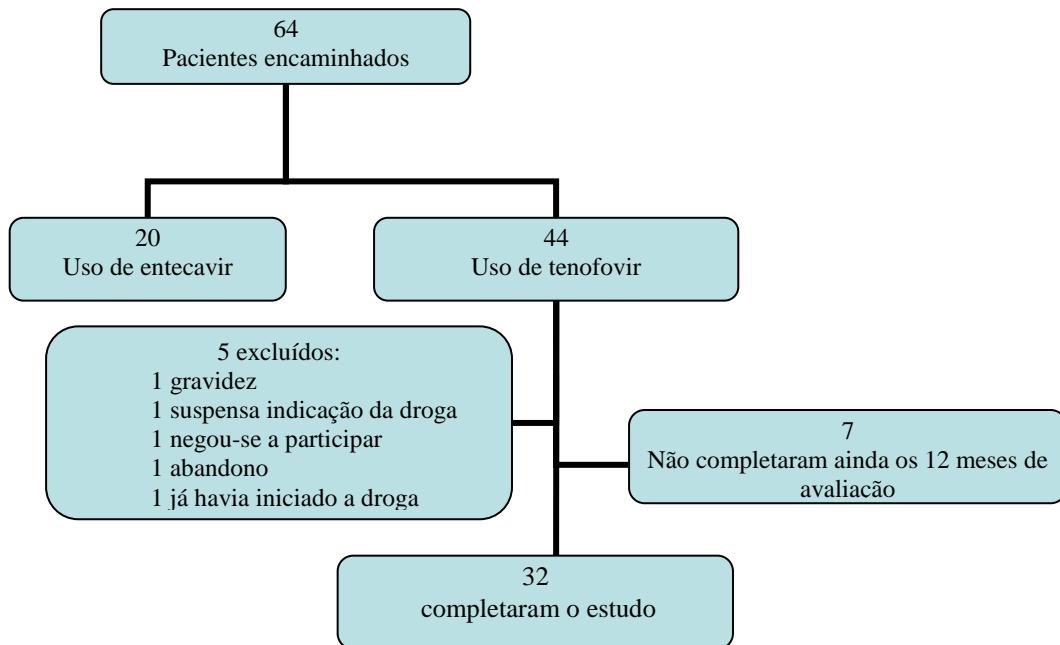
## **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  SD ou medianas com intervalos. Os tempos foram considerados como sendo constituídos de variáveis dependentes e foram analisados simultaneamente através do teste não-paramétrico de Friedman. Diferenças antes e após o tratamento entre os tempos foram analisados par-a-pares com o teste de Wilcoxon para dados relacionados de acordo com o padrão de distribuição. Frequências foram analisadas com o teste de Fisher. Regressão linear foi utilizada para identificar associação entre

variáveis. Valores de  $p$  inferiores a 0,05 foram considerados significantes. As análises estatísticas foram realizadas através do programa Prisma (*Prism for Windows – version 5,0 - trial*).



**Figura 3. Fluxograma representando a distribuição dos pacientes.**



**Tabela 1 – Características basais dos pacientes**

Gênero	M: 68,7% (n = 22) F: 31,3% (n = 10)
Etnia	Branco: 37,5% (n = 12) Não branco: 62,5% (n = 20)
Idade (média ± DP)	44,03 ± 12,43

## RESULTADOS

A média de idade dos pacientes foi de  $44,1 \pm 12,0$  anos, com predomínio do sexo masculino ( $22/32 = 68,7\%$ ). Doze de trinta e dois pacientes,  $37,5\%$ , eram brancos (Tabela 1). Não houve diferença significativa na comparação das dosagens dos eletrólitos séricos (sódio, potássio, cálcio, fósforo, magnésio, cloreto e bicarbonato) nos tempos 0, 3 e 12 meses, bem como em relação aos valores de creatinina, ureia, ácido úrico, fosfatase alcalina, albumina e  $\beta 2$ -microglobulina (Tabela 2).

Dos 32 pacientes estudados, em 19 foi realizado o estudo histopatológico do fígado antes do início do uso do TDF. As biópsias hepáticas revelaram em 100% dos casos a presença de atividade inflamatória analisada pela escala Metavir (17). Quanto à fibrose portal, classificada por um *score* variando de F0 a F4, encontrou-se: F0 -  $5,3\%$ , F1 -  $31,6\%$ , F2 -  $42,1\%$ , F3 -  $15,8\%$  e F4 -  $5,3\%$  dos casos. Nenhum caso foi re-biopsiado até o fim desta pesquisa. A análise da quantificação viral foi realizada antes e após o primeiro ano do uso do tenofovir. Somente um paciente não teve redução da carga viral. Em  $72\%$  ( $23/32$ ) dos pacientes a carga viral foi indetectável ao final do primeiro ano.

Achados urinários tais como densidade, pH e as excreções fracionadas (FE) de sódio, magnésio, ácido úrico, fósforo, cálcio, potássio e cloreto não apresentaram diferenças significativas. A excreção fracionada de magnésio ( $FEMg^{+2}$ ) mostrou aumento progressivo quando observamos os níveis basais de T0 em comparação com T3 e T12, mas essa tendência não foi estatisticamente confirmada no teste de Friedman ( $p = 0,09$ ). Apesar de não ser uma premissa deste estudo, para melhor compreender a  $FEMg^{+2}$  foi utilizado o teste t de Student para amostras dependentes apenas entre os pares iniciais e finais (T0 e T12). Encontramos um resultado significativo ( $p < 0,05$ , não apresentado). Em relação à função glomerular e aos biomarcadores de proteínas tubulares, não houve alterações estatisticamente significativas quando estudamos a proteinúria total, microalbuminúria,  $\beta 2$  microglobulina e a cistatin C urinárias (todas corrigidos pela creatinina urinária). A Tabela 3 resume os resultados dos eletrólitos urinários e biomarcadores. Dos biomarcadores observou-se aumento significativo na razão da NGAL urinária corrigida pela creatinina urinária entre os períodos T0 e T3 ( $p = 0,048$ ), mas com subsequente redução significativa entre T3 e T12 ( $p = 0,020$ ), de modo que entre o início (T0) e o fim (T12) do estudo não se observou diferença significativa entre os valores (Figura 4).

A Tabela 3 mostra as variações na taxa de filtração glomerular durante os períodos de estudo. Não houve diferença estatística nos parâmetros CKD-EPI quando usamos estimativas

de cálculos realizados com a creatinina sérica (CKD-EPI-Cr), com a cistatina C sérica (CKD-EPI-Cy) e, finalmente, também com a creatinina sérica e cistatina C juntas (CKD-EPI-CrCy). Durante o período do estudo, nenhum dos pacientes teve redução significativa na taxa de filtração glomerular para ser reclassificado de seu estágio inicial quando utilizado o sistema de estágios do KDOQI-CKD para avaliação da doença renal crônica.

No entanto, houve diferença estatisticamente significativa com aumento progressivo dos níveis do PTH entre os três períodos de estudo (teste de Friedman,  $p = 0,012$ ). As diferenças entre os tempos foram, também, avaliadas pelo pós-teste de Wilcoxon, comparando-as par a par, e mostrou diferenças significativas entre os períodos T0 vs. T12 ( $p = 0,002$ ) e T3 vs. T12 ( $p = 0,025$ ), como apresentado na Figura 5. Com base nos mesmos períodos concomitantes, as variações da 25(OH) vitamina D entre os tempos não foram significativas e apresentam suas médias aproximadamente dentro da faixa normal clínica (30 ng / ml como cut-off), Figura 5. Assim, decidimos separar os pacientes por seus níveis basais de vitamina D em dois subgrupos: acima e abaixo do ponto de corte usando arbitrariamente o valor deste ponto em 30 ng / mL (um valor usado para fins clínicos práticos em nosso grupo de trabalho). Usando essa abordagem, os dois grupos de vitamina D 25 (OH) recém-criados apresentaram os seguintes valores médios  $\pm$  SD: abaixo do ponto de corte,  $21,43 \pm 5,73$  ng / mL,  $n = 21$ ; e o grupo acima ponto de corte,  $39,96 \pm 8,57$  ng / mL,  $n = 11$  (t-teste,  $p < 0,0001$ ). O grupo abaixo de 30 ng / mL de corte teve um aumento percentual do nível de hormônio da paratireóide de 137%, enquanto o grupo acima do cut-off estabelecido teve média maior, mas não significativa (teste qui-quadrado) de 157% - Figura 6. Além disso, para melhor compreender a correlação entre o aumento dos níveis de PTH em T12 e o estado inicial de vitamina D, estabelecemos um estudo de correlação entre os valores de vitamina D no início do estudo (T0) com seus casos correspondentes de PTH em T12. A dispersão dos pontos foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson. Houve uma correlação positiva fraca ( $r^2 = 0,129$ ,  $p = 0,043$ ), de modo que não foi encontrada nenhuma dependência entre baixos níveis iniciais de vitamina D e os aumentos correspondentes nos valores de PTH (Figura 7).

**Tabela 2. Valores séricos dos eletrólitos e marcadores bioquímicos no tempo basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir**

Parâmetros	Tempos			Teste Friedman
	T0	T3	T12	Valor p
Sódio (mEq/L)	139,3 ± 2,19	139,6 ± 2,38	139,4 ± 2,35	0,962
Potássio (mEq/L)	4,28 ± 0,35	4,36 ± 0,33	4,34 ± 0,32	0,750
Cálcio (mg/dL)	8,73 ± 0,36	8,69 ± 0,44	8,74 ± 0,46	0,629
Fósforo (mg/dL)	3,20 ± 0,54	3,21 ± 0,67	3,18 ± 0,65	0,787
Magnésio (mg/dL)	1,95 ± 0,18	2,03 ± 0,19	1,99 ± 0,19	0,087
Cloro (mEq/L)	102,4 ± 2,69	102,6 ± 2,66	103,1 ± 2,13	0,706
Bicarbonato (mEq/L)	26,34 ± 2,90	26,77 ± 4,13	26,62 ± 2,27	0,809
Creatinina (mg/dL)	0,94 ± 0,15	0,94 ± 0,14	0,97 ± 0,16	0,306
Ácido Úrico (mg/dL)	4,60 ± 1,68	4,32 ± 1,07	4,19 ± 1,20	0,119
Fosfatase Alcalina (U/L)	103,6 ± 48,66	103,8 ± 37,68	104,8 ± 34,88	0,259
Albumina (g/dL)	3,98 ± 0,32	3,98 ± 0,31	3,94 ± 0,33	0,522
β2-microglobulina (mg/L)	1,49 ± 0,71	2,14 ± 0,75	1,73 ± 0,42	0,111

Todos os valores são expressos como média ± DP

T0 – Valores basais; T3 – Valores aos três meses; T12 – Valores aos 12 meses

**Tabela 3. Excreção fracionada urinária (FE) dos eletrólitos e biomarcadores protéicos urinários basais (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir**

Parâmetros	Tempos			Friedman
	T0	T3	T12	Valor p
Densidade	1018 ± 4,0	1018,2 ± 6,1	1019,8 ± 7,7	0,922
pH	6,11 ± 0,89	5,97 ± 0,66	5,87 ± 0,68	0,835
FENa <sup>+</sup>	0,74 ± 0,34	0,70 ± 0,47	0,70 ± 0,35	0,792
FEMg <sup>+2</sup>	1,90 ± 0,85	2,23 ± 1,16	2,63 ± 1,9	0,093
FEAcUr	9,12 ± 5,26	8,0 ± 2,99	8,97 ± 3,75	0,905
FEP <sup>-3</sup>	11,25 ± 6,21	9,95 ± 5,48	11,50 ± 6,86	0,215
FECa <sup>+2</sup>	0,77 ± 0,4	0,72 ± 0,37	0,87 ± 0,72	0,427
FEK <sup>+</sup>	8,04 ± 3,81	8,38 ± 3,63	8,81 ± 4,20	0,792
FECl <sup>-</sup>	1,25 ± 0,53	1,26 ± 0,72	1,31 ± 0,61	0,772
UProteína /UCr (mg/g)	71,04 ± 34,91	78,2 ± 46,36	82,3 ± 31,14	0,340
UAlbumina/UCr (mg/g)	6,56 ± 7,37	6,05 ± 5,05	6,75 ± 5,36	0,368
Uβ2-microglobulina /UCr (ng/mg)	1,08 ± 0,19	1,44 ± 0,28	2,07 ± 0,37	0,563
UCysC /UCr (mg/mg)	0,12 ± 0,05	0,12 ± 0,08	0,09 ± 0,06	0,239

Todos os valores são expressos como média ± desvio padrão.

Ucr – creatinina urinária; Uβ2-microglobulina - β2-microglobulina urinária; UCysC - cistatina C urinária; FE - excreção fracionada (%); Uproteína – proteínas urinárias; UAlbumina – albumina urinária.

T0 – Valores basais; T3 – Valores aos três meses; T12 – Valores aos 12 meses

**Tabela 4. Taxa de filtração glomerular estimada (mL/min por 1.73m<sup>2</sup>) basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após Tenofovir**

e-GFR equação (ml/min)	Tempos			Friedman
	T0	T3	T12	Valor <i>p</i>
CKD-EPI-CysC	90,43 ± 17,38	91,47 ± 16,32	89,27 ± 18,24	0,990
CKD-EPI-CysC-Cr	94,83 ± 16,27	94,63 ± 16,36	93,03 ± 18,16	0,376
CKD-EPI-Cr	98,57 ± 17,65	99,83 ± 17,47	95,80 ± 17,46	0,147

Todos os valores são expressos como média ± desvio padrão.

CKD-EPI, *Chronic Kidney Diseases Epidemiology Collaboration*; Cr, creatinina; CysC, cistatina C; eGFR, Taxa de Filtração Glomerular Estimada.

T0 – Valores basais; T3 – Valores aos três meses; T12 – Valores aos 12 meses

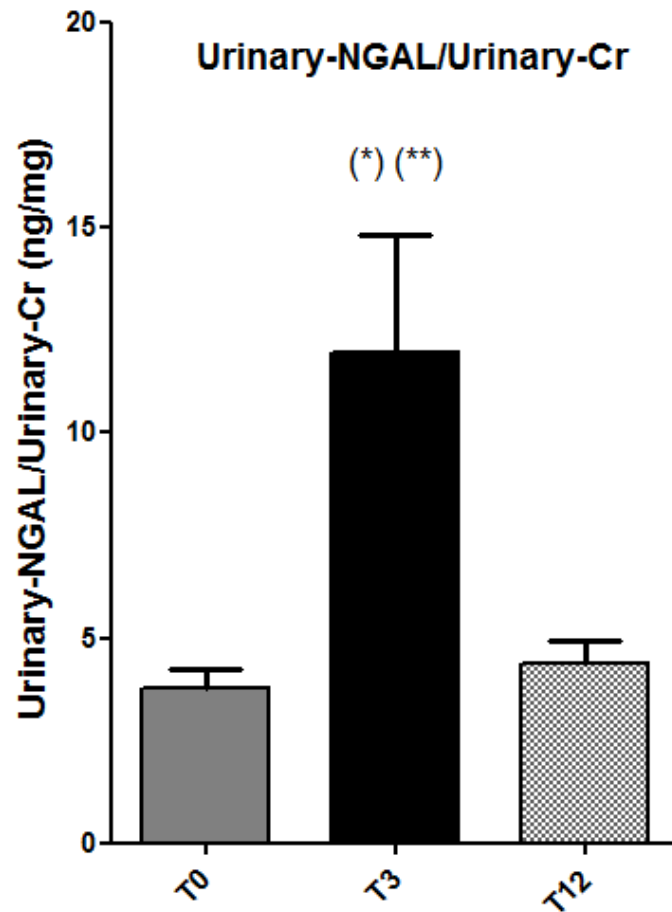


Fig. 4. NGAL<sub>urinário</sub>/Cr<sub>urinária</sub>: Níveis urinários de NGAL corrigidos pela creatinina urinária (Cru) basal (T0), três meses (T3) e um ano (T12) após tenofovir. (\*) Wilcoxon T0 vs. T3 -  $p = 0,048$ ; (\*\*) Wilcoxon T3 vs. T12 -  $p = 0,02$ . Teste de Friedman  $p = 0,021$ .



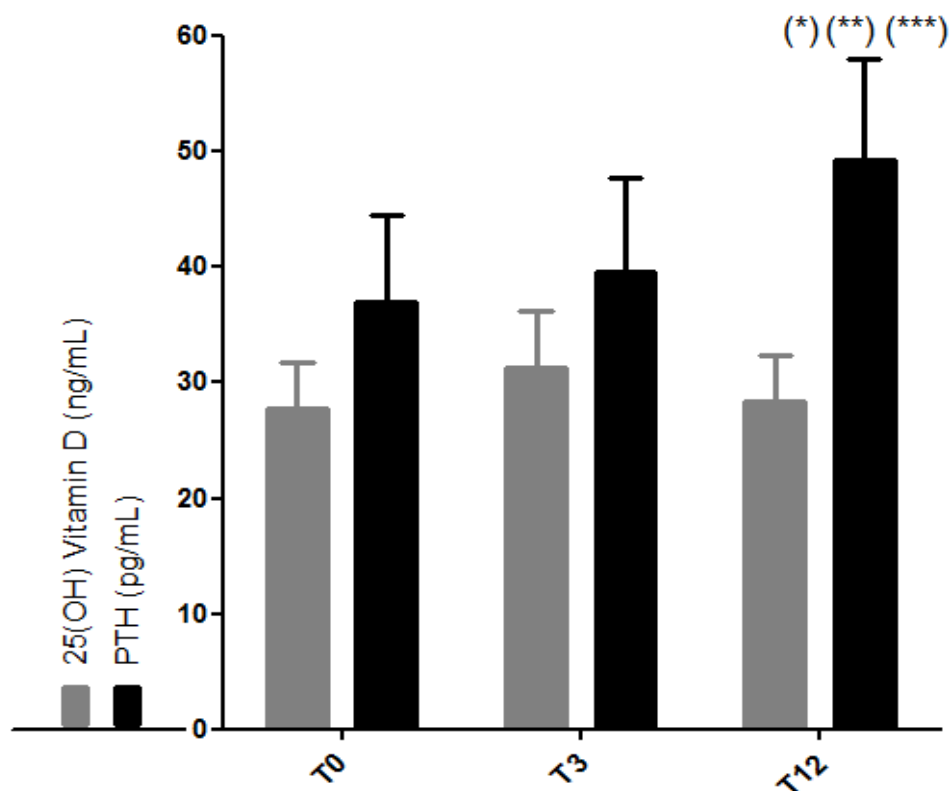


Fig. 5. Nível Sérico de 25(OH) vitamina D e PTH durante o período do estudo. Todos os valores são expressos como média e intervalo de confiança de 95%. 25(OH) Vitamina D não foi significativa (NS). Nos valores do PTH os símbolos significam: (\*) valor  $p < 0,05$  para o teste de Friedman. (\*\*) e (\*\*\*) são valores de  $p$  para o pós-teste de Wilcoxon respectivamente para os pares: T0 vs.T12 -  $p = 0,002$ ; T3 vs.T12 -  $p = 0,025$ ; T0 vs.T3 = NS.

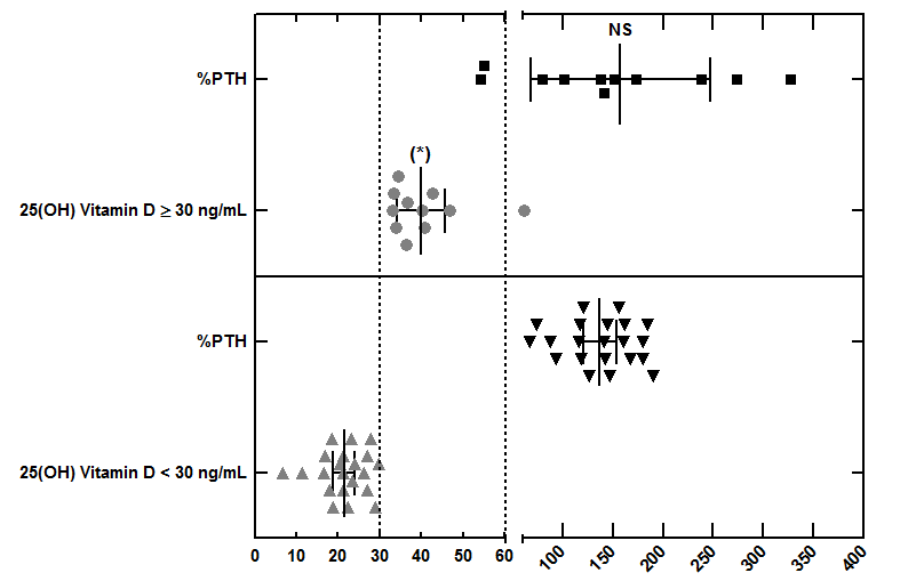


Fig. 6. Relação do aumento do PTH pelos níveis séricos basais da 25(OH)vitD  $\geq$  e  $<$  30ng / mL. Aumento no percentual do nível sérico do PTH no final do estudo em relação ao nível basal (PTH em T12 / PTH em T0), plotado em função dos níveis basais da 25(OH)Vitamina D separados em dois grupos de acordo com o *cutoff* de 30 ng/mL. O símbolo (\*) representa  $p < 0,0001$  (t-test) usado para confirmar diferenças estatísticas entre os dois grupos abaixo e acima do *cutoff* da vit D. NS – não significante (qui-quadrado para comparar o aumento dos percentuais).

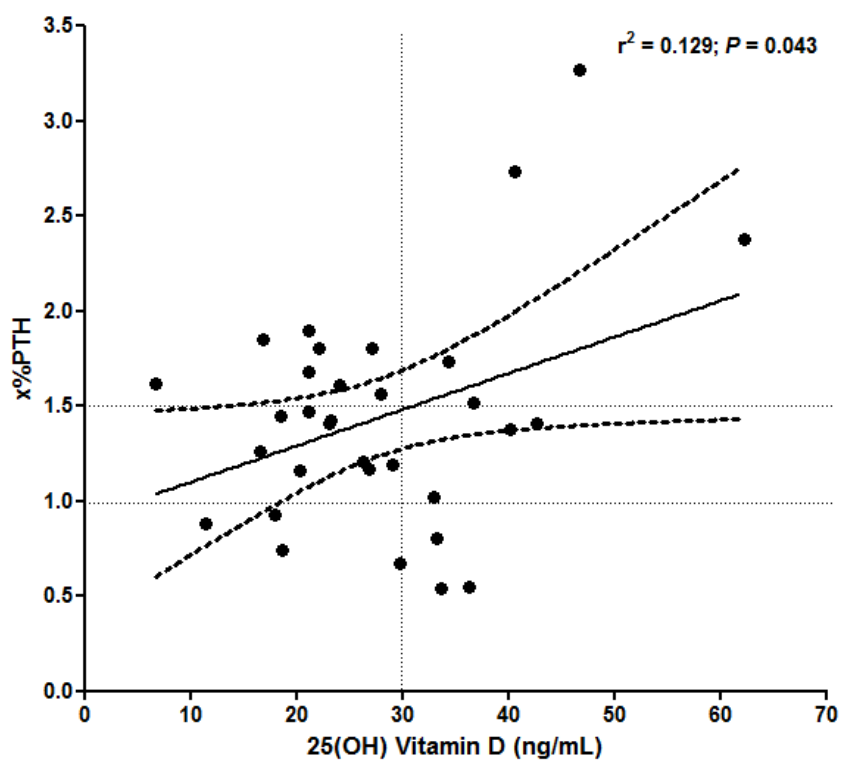


Fig. 7. Correlação entre valores da 25(OH)vitamina D (eixo do x) basal (T0) com a correspondente taxa de aumento nos níveis séricos do PTH (%PTH, eixo y) após 1 ano do estudo (T12). A taxa do PTH foi calculada dividindo os valores de T12 do PTH pelo correspondente valor do PTH em T0.

## DISCUSSÃO

A VHB é uma doença com progressiva redução da incidência principalmente depois do advento da vacinação e da introdução desta no calendário básico de vacinação da criança, adolescente e do adulto no Sistema Único de Saúde (SUS). A vacinação gratuita (pública) ainda contempla restrição a uma determinada população preferencial (pacientes imunodeprimidos, profissionais de saúde e outros), mas desde 2013 foi estendida a toda população até os 49 anos de idade. Há uma Norma Técnica do MS (02/2013/CGPNI/DEVEP e CGDHRV/DST – AIDS/SVS/MS) que recomenda que qualquer indivíduo acima de 50 anos que se apresente para vacinação seja vacinado sem ser questionado qual grupo de risco ele pertence. Espera-se que a incidência diminua ainda mais com o passar do tempo, já que a extensão da gratuidade à grande parte da população mais exposta ao vírus ocorreu há pouco tempo e, a única parcela da população cuja vacinação é obrigatória é a infantil.

Não se observa na prática, até o momento, redução da notificação de casos novos segundo o relatório do ano de 2014 do Departamento de DST-AIDS RJ - Figura 1 (4). O registro demonstra relativa estabilidade de novas comunicações, diferente da hepatite C que apresenta notificação de novos casos de forma crescente. A indicação do tratamento com drogas anti-virais é regida pelo “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções” do Ministério da Saúde, de 2011 (18). A principal indicação é quando o vírus se encontra em fase replicativa e quando há risco de contaminação vertical. Tenofovir é uma das principais drogas indicadas, junto com interferon e entecavir. O emprego do TDF, no entanto, não se restringe ao uso do tratamento da VHB. Sua utilização é mais antiga e mais frequente como parte integrante no TARV (terapia anti-retroviral altamente eficaz) para tratamento da AIDS (síndrome de imunodeficiência adquirida). Está presente neste coquetel sob várias combinações deixando evidente sua importância nestas associações. Os relatos de toxicidade, na sua maioria, são oriundos de relatos em utilização no TARV podendo haver fatores confundidores e/ou potencializadores nestas associações. Neste modelo a administração do TDF como monoterapia permite realizar uma avaliação de sua toxicidade sem a combinação com outros antirretrovirais.

A prevalência média da positividade do HBsAg nas populações das capitais brasileiras varia de 0,6% a 0,4% (0,1% - 0,7%) na região sudeste, sendo considerada de baixa prevalência na nossa região (3). O HUAP é o Centro de Referência para Tratamento da

Hepatite B e C da região geo-política Metropolitana II do Estado do Rio de Janeiro, que compreende as cidades de Niterói, São Gonçalo, Maricá, Itaboraí, Tanguá e Rio Bonito. Não há restrição legal para tratar HVB em ambulatórios públicos ou privados de qualquer cidade do Estado, mas quando se trata de casos crônicos com necessidade de acompanhamento de longo prazo, discussão clínica sobre a indicação e a realização de coleta de material para histopatologia (biópsia hepática) e sua interpretação, realização de PCR-DNA ou subtipagens, mais frequentemente o paciente é encaminhado para serviço de referência, geralmente com grande experiência, oficial e, comumente, também universitário - recomendação Ministério da Saúde (18). Este fluxo pode ter influenciado na incidência de casos neste estudo. Com estas características o HUAP recebe comumente pacientes que vêm, inclusive, de outras áreas além das fronteiras geo-políticas da Região Metropolitana II, por exemplo, das Regiões Serrana e dos Lagos. Assim sendo, é o local de maior poder de captação provável de casos com HVB crônica com potencial para tratamento anti-viral. Ainda assim, num período de aproximadamente três anos e meio, somente 64 casos com indicação do tratamento com TDF ocorreram. Dos pacientes excluídos, um apresentou hiperemese. A paciente estava grávida no sexto mês e já se queixava de náuseas. Foi indicado o uso do tenofovir para reduzir as chances de contaminação vertical, mas passou a apresentar vômitos logo nos primeiros dias de uso e foi suspensa a medicação. Esta paciente permaneceu com hiperemese até o final da gestação tornando dúbia se os vômitos seriam por efeito colateral do TDF ou secundários à própria gravidez. Somente pela gravidez já cumpriria critérios de exclusão, mas a citamos como possível efeito colateral da droga. No ano de 2014 esta mesma paciente foi re-encaminhada para o ambulatório para retornar ao uso do TDF. Encontra-se em uso atualmente, e sem efeitos colaterais. Um paciente, enquanto era preparado para iniciar TDF, apresentou exames que indicavam o vírus não estar em fase replicativa, levando a equipe que o assistia no ambulatório de hepatologia a rever a indicação da droga.

A distribuição por gênero com 68,7% dos casos masculino segue a maior probabilidade do sexo masculino de se expor ao vírus da HVB em nossa região, com relação M/F aproximada de 1,2/1 (4). A idade média de nossa população foi de 44 anos com DP de 12 anos. Este dado coincide com os dados estatísticos para idade veiculados pelo Ministério da Saúde (4). A distribuição da incidência em boletins regulares publicados pelos órgãos oficiais brasileiros (Estaduais e Federais) divide a incidência por faixas de idade com a maior incidência sempre na faixa adulta - 19 a 30 e 30 anos e mais (4).

Diversos artigos vêm mostrando a miscigenação de raças em nosso país (19, 20). No Rio de Janeiro esta mistura de raças parece ser marcante (20). Recente dissertação de

mestrado questiona a validade da estratificação por raças em nosso meio, prioritariamente na população do Estado do Rio de Janeiro (21). Neste estudo optamos por definir a etnia em brancos e não brancos, de modo a reduzir esta margem de erro. Considerados não brancos somaram 62,5% da amostra.

Em nosso estudo não houve nenhum paciente em uso de outro agente anti-viral. Três pacientes, no entanto, apresentaram histórico de uso de outra medicação (2 adefovir e 1 interferon), mas não mais usavam há mais de um ano. Não houve pacientes hipertensos ou diabéticos. Nenhum fazia uso de diurético (com poder de confundimento para excreção renal de íons). Um paciente, no curso do uso de tenofovir, foi diagnosticado tuberculose esplênica (diagnóstico por laparotomia exploradora). Apesar de usar o esquema preconizado pelo MS para tratamento deste tipo de doença, não foi retirado do estudo e tornou-se o único paciente em uso de multi-fármacos. Nenhuma das medicações usadas no tratamento para tuberculose faz parte da composição do TARV.

A maior preocupação quando se avalia nefrotoxicidade do TDF repousa sobre lesão tubular proximal, a qual é consistentemente relatada em vários artigos (5, 22-24). Distúrbios em alguns eletrólitos séricos relacionados ao uso de TDF estão quase sempre relacionados à síndrome de Fanconi ou a injúria renal aguda com casos de insuficiência renal aguda e necessidade de terapia dialítica. As alterações séricas que acompanham a síndrome de Fanconi ocorrem na dependência do grau de envolvimento tubular podendo variar entre alterações parciais do sedimento urinário até a síndrome de Fanconi completa. Kinai e cols (23) relatam relação entre uso de TDF e alterações renais compatíveis com diabetes insipidus, Fanconi incompleta e injúria renal aguda com poucas alterações na excreção de substâncias urinárias e com muito discreta ou ausente repercussão sérica. Estes autores sugerem que seja necessário o uso de marcadores mais sensíveis dos que usamos na prática ambulatorial diária (creatinina) com finalidade de detectar as alterações mais precocemente e evitar a progressão da toxicidade. Além disso, apontam que alterações discretas não são percebidas pela prática clínica, mas que exames mais aprofundados poderiam evidenciar alterações séricas e urinárias. Estes sim poderiam levar ao diagnóstico de síndromes incompletas.

Elegante experimento foi realizado por Libório e cols (22) em modelo animal (ratos) com altas doses de TDF comparando com doses mais baixas e placebo. Os autores demonstraram que alta dose de TDF (300mg/Kg) concorre com injúria renal grave e é acompanhada de redução da óxido nítrico sintetase endotelial e intensa vasoconstrição (levando a necrose tubular), e que doses mais baixas não alteram a filtração glomerular, mas produzem efeito tubular com fosfatúria, acidose tubular proximal, poliúria e redução da

capacidade de concentração da urina. Estas alterações estariam relacionadas à infra-regulação do co-transportador sódio-fósforo, trocador sódio-hidrogênio e a aquaporina 2. Apesar destas alterações documentadas, não houve alteração eletrolítica sérica significativa, a não ser nos casos que concorriam com insuficiência renal. Nesse experimento não houve glicosúria ou proteinúria afastando a síndrome de Fanconi.

Em nossa amostra, o estudo do Na, K, Ca,  $PO^4$ , Cl e Mg não verificou alteração sérica. A magneemia apesar de não apresentar significância estatística, mostrou aumento no terceiro mês com  $p = 0,087$  (Friedman), mas ao final do décimo segundo mês os níveis não apresentavam alterações significativas.

Casos de hipomagneemia foram relatados, mas todos em pacientes com AIDS. Biagioni (25) e cols relacionaram magnésio sérico baixo como fator de risco de não recuperação de insuficiência renal aguda e também de mortalidade em pacientes internados e com AIDS, mas não conseguiram demonstrar relação causal. Os pacientes faziam uso de tenofovir, mas não houve relação direta de toxicidade. Prosser e cols (26) relataram caso de *Torsade de pointes* em paciente em uso de TDF e hipomagneemia, e Fung e cols (27) sugeriram monitorização do magnésio sérico em pacientes sob uso do TDF, mas sempre relacionando as alterações à síndrome completa ou incompleta de Fanconi.

No atual estudo, alterações nos dados bioquímicos séricos medidos não mostraram significância estatística. Quanto à excreção de fósforo e hipofosfatemia, muitos estudos mostram hipofosfatemia e a relacionam à doença óssea (6, 24, 28, 29), assim como o aumento da excreção do  $PO^4$  e do ácido úrico, mas sem que estas alterações urinárias se reflitam nos seus respectivos níveis séricos (23).

Em pacientes com AIDS, alterações na função renal com necrose tubular aguda são acompanhadas de aumento da uréia e principalmente da creatinina e podem acontecer já com 12 semanas de uso do TDF, mas não são frequentes (23).

A fosfatase alcalina (FA) pode estar aumentada e está associada à maior excreção de  $PO^4$  e às alterações na ação da vitamina D (28). Brim e cols (28) relacionam o uso do TDF em associação com algumas drogas do esquema TARV (ritonavir/lopinavir) com o aumento do nível sérico do tenofovir e aumento do seu potencial de toxicidade com aumento da FA, da excreção de fósforo e maior detecção de patologia óssea. O grupo sugere que pacientes com TFG acima de 50 ml/min têm risco reduzido de toxicidade. De acordo com De Socio e cols (30) tenofovir está associado à osteomalácia hipofosfatêmica e os autores também sugerem que fósforo sérico e urinário e FA sejam monitorados nos pacientes em uso de TDF.

A  $\beta$ 2-microglobulina é uma proteína de 11.800 D associada a cadeias pesadas do complexo de histocompatibilidade e existe em todas as células nucleadas. Costuma estar elevada em doenças associadas com aumento do *turnover* celular. Pode estar aumentada também em condições como inflamação crônica, doença hepática, disfunção renal e algumas doenças virais. A normalidade é haver alta taxa de reabsorção tubular proximal por endocitose e, então, ser degradada em aminoácidos (31), com baixa taxa de excreção urinária. Em doenças tubulares renais é esperado nível sérico baixo e urinário elevado (alta filtração glomerular e baixa taxa de reabsorção tubular proximal). Em nosso estudo não houve alteração significativa nos níveis séricos ou urinários.

As relações fisiológicas envolvendo rins, paratireóide, dinâmica óssea, cálcio e fósforo são complexas (32). Há diversos relatos de aumento do PTH em pacientes com HIV sob uso do esquema TARV (33-37). A fisiopatologia ainda não é completamente conhecida. Alguns trabalhos demonstram alterações em marcadores de *turnover* ósseo (36) com alterações na excreção de cálcio e fósforo. Grande parte, no entanto, não encontra alterações que relacionam como causa e efeito alterações do PTH, FGF23, do eixo da Vit D com alteração das excreções de cálcio e fósforo ou com marcadores da dinâmica óssea (34, 35, 38-40). A hipótese de haver doença óssea desmineralizante relacionada ao aumento do PTH com maior excreção de cálcio e fósforo não foi confirmada na maioria dos trabalhos realizados. Associação entre uso de TDF e elevação no PTH e total 1,25OH(2)D (vitamina livre e ligada à proteína ligante da vit D e a albumina) é relatada (41, 42). Alguns estudos recentes (35) ressaltam que pacientes com níveis basais subótimos de Vit D (menores que 20ng/ml (34), ou menores que 30ng/ml (38) são os que concorrem com maiores níveis de PTH. Níveis aumentados de PTH basais e progressivamente maiores durante o uso do TDF estão relacionados com níveis baixos de Vit D nas medições basais.

A administração de Vit D em doses altas (50 mil UI a cada 4 semanas por 3 meses) é acompanhada de redução dos níveis de PTH nos pacientes sob uso de TDF, mas não em quem faz o esquema terapêutico sem tenofovir (33, 34, 38), mas a diminuição do nível sérico do PTH não se correlaciona com alteração da Tm (taxa máxima de reabsorção tubular renal) do PO<sup>4</sup> urinário ou com o nível de FGF23 (32, 40), como seria esperado. Em resumo, estudos mostram que o PTH é mais alto em quem inicia o tratamento com Vit D baixa e estes pacientes tendem a ter, também, maior aumento dos níveis de PTH durante o tratamento. Isto não acontece quando o esquema terapêutico não contempla tenofovir. A administração de doses altas mensais de Vit D reduz o PTH já nos três primeiros meses, independentemente da vit D sérica basal estar baixa ou não (32, 42). A redução é discreta, mas com significância



estatística segundo Havens e cols (34). A magnitude do declínio do nível sérico do PTH é semelhante em pacientes com e sem deficiência ou insuficiência de Vit D basais sob tratamento com a Vit D. Apesar de todos estes achados, não houve interação significativa entre a suplementação com Vit D e o uso do TDF sobre marcadores renais tubulares ou função glomerular ou ainda alteração nos marcadores de dinâmica óssea - fosfatase alcalina e telopeptídeo C (39, 40).

Tenofovir está associado, em pacientes com AIDS sob tratamento com TARV, com toxicidade tubular renal incluindo fosfatúria que, postula-se causar reabsorção óssea causando perda de massa óssea (43), mas nem todos os estudos de alterações ósseas relacionadas ao TDF têm encontrado uma relação entre a disfunção tubular renal e marcadores da dinâmica óssea (35, 38).

Aumento da proteína ligante da vitamina D e da albumina fixam a 1,25(OH)vitD e reduzem sua concentração livre plasmática (ativa) mimetizando quadro de hipovitaminose D. Fisiologicamente níveis séricos baixos de 1,25(OH)vit D reduzem a absorção de cálcio e fósforo da luz intestinal. A síntese do PTH é, então, estimulada (pela baixa da vitamina D e pela hipocalcemia) e eleva seu nível sérico. O aumento do PTH estimula a reabsorção do cálcio e fósforo ósseos e a reabsorção de cálcio nos túbulos renais distais, além de aumentar a absorção intestinal. O PTH aumentado também reduz a reabsorção de fósforo nos túbulos renais proximais e com isso tende a ocasionar hipercalcemia e hipofosfatemia como mecanismo de compensação. Fisiologicamente significa fenômeno de *feedback* negativo com a 1,25(OH)vitD.

FGF23 é sintetizado pelos osteócitos e esta síntese é estimulada pelo aumento do  $PO^4$  sérico e pela 1,25(OH)vitD. O aumento do FGF 23 inibe a reabsorção do  $PO^4$  pelo túbulo renal proximal causando fosfatúria. Reduz, por sua vez, a síntese da vitD e aumenta seu clearance, num movimento de *feedback* negativo. Esta dinâmica fisiológica mantém a estabilidade corpórea (44).

A proteína ligante da vit D (VDBP) é sintetizada nos hepatócitos junto com a albumina e outras proteínas hepáticas e é regulada por hormônios sexuais, nutrição, entre outros. Tem papel na imunidade inata (quimiotaxia e ativação de macrófagos) e resposta à dano tecidual (clareia actina nas células danificadas). Estas atividades podem influenciar no seu nível sérico. Somente a porção da vitamina D não ligada a esta proteína ou à albumina (1,25OH(2)D livre) é ativa. Os pacientes em uso de TDF têm, de forma significativa, a concentração plasmática de VDBP mais elevada em relação aos que não estão em uso do TDF (32). O nível sérico da 1,25OH(2)D total está aumentado nos pacientes em uso de TDF, o que

leva à hipótese de haver aumento do nível da vit D ligada a VDBP e haver, conseqüentemente, redução do nível sérico da 1,25OH(2)D livre (porção ativa da vitamina D) mimetizando uma situação de hipovitaminose D.

Pacientes em uso de TDF têm maior concentração da proteína ligante da vitD. Uma hipótese da redução dos níveis séricos do PTH com a administração da vitD seria porque a ligação da 1,25(OH)vitD com a proteína ligante da vitD e com a albumina é uma ligação competitiva fraca (não estável), e a oferta de maiores quantidades de vitD poderia aumentar o nível sérico da 1,25vitD livre e esta, em fenômeno de *feedback* negativo, inibiria a síntese de PTH reduzindo seu nível sérico (32-34, 38, 40).

A administração de Vit D em doses altas não altera o nível de VDBP. Com o aumento da Vit D nos pacientes que fazem reposição e o não aumento da VDBP haveria um aumento da Vit D livre (fisiologicamente ativa) e compensaria o status de deficiência funcional de vit D (44). O tratamento com Vit D pode reduzir o nível sérico do PTH em indivíduos usando TDF mesmo na ausência de deficiência medida da Vit D. O aumento de 1,25-OHD (42) poderia, assim, ser responsável pela redução do nível de PTH em seu efeito fisiológico.

Havens e cols (34) demonstraram que o declínio do PTH quando tratado com doses altas de Vit D não é acompanhado da melhora da taxa de reabsorção do fosfato, e não há alteração significativa dos níveis séricos do FGF23 (44), não relacionando, desta forma, o nível sérico destes hormônios com as alterações tubulares encontradas. Seria, então, possível um efeito direto do TDF sobre a função tubular renal? Isto pode sugerir que um misto de disfunção tubular renal e alteração endócrina podem estar contribuindo para as alterações bioquímicas associadas ao uso do TDF? Bech e cols (40) chegam a propor que haja um fator *PTH-like* envolvido, mas ainda não identificado.

Nível sérico de FGF23 em indivíduos HIV positivo sob uso de TDF não está significativamente alterado em alguns relatos (32, 40), mas nos pacientes com maior nível intracelular de TDF a redução do FGF23 é mais acentuada, mesmo que, ainda, de forma não significativa (32). Isto pode ser explicado por possível efeito tóxico direto do TDF sobre os osteócitos ou poderia ser uma resposta compensatória ao menor nível sérico da 1,25OH(2)D livre. A situação simula deficiência de vitamina D. Estes dados sugerem que a associação do TDF com o aumento da proteína ligante da vit D está associada à diminuição da 1,25OH(2)D livre e funciona como deficiência funcional da vitamina D, que por sua vez leva a aumento da secreção de PTH. Ainda assim, como a  $T_m$  (taxa máxima de reabsorção) do  $PO_4$  não está associada com aumento do PTH (32, 33, 35, 39, 42), a fosfatúria não parece ser primariamente causada por este hormônio. Resultados de estudos com FGF23 também não

mostram relação positiva entre seu nível sérico e a TmP (40). A explicação para o fenômeno ainda está em estudo.

Apesar da dose do tenofovir para pacientes adultos sem necessidade de ajuste para insuficiência renal ser sempre 300mg/dia, o nível sérico pode variar muito. Pode alcançar 50% de diferença entre pacientes e há diferença de intensidade nas ações da droga quando se avalia também os níveis do tenofovir intracelulares (32). A grande variabilidade do nível sérico relacionado à diferença de peso corpóreo, função renal e associações medicamentosas (2) que pode evidenciar diferenças em suas ações, e poderia, também, provavelmente, apresentar diferenças em seus efeitos adversos. Havens e cols (32), sempre usando modelo de paciente HIV positivo, dosaram nível sérico e intra-celular do TDF em uma amostra de 203 pacientes adultos jovens comparando uso e não uso de tenofovir (118 usando TDF) e relacionando com dosagens de PTH, vitamina D hidroxilada e di-hidroxilada, proteína ligante da vitamina D, FGF-23 e outros. Comparado com o grupo não-TDF, o grupo TDF mostrou menor TFG e menor taxa de reabsorção tubular de fosfato, também maiores níveis séricos de PTH e 1,25(OH)D. Dividiram, então, o resultado do nível sérico do tenofovir em quintis e concluiu que comparando o menor quintil (Q1) com o maior (Q5) houve maior calcemia, maior 25(OH)vitD, maior nível de proteína ligante da vit D e menor nível de 1,25-OH(2)D livre. O maior quintil de concentração de TDF intra-celular estava associado com menor nível sérico de FGF23.

A Vitamina D e o PTH se comportam fisiologicamente através de mecanismo de *feedback* negativo, de acordo que o aumento do nível da vitamina D leva à redução do nível sérico do PTH. Neste modelo foi realizada a razão entre o nível sérico do PTH no tempo 12 com seu correspondente no tempo zero, assim foi obtido o número de vezes que o nível sérico do PTH aumentou paciente-a-paciente no período do estudo. Foram comparados, então, estes resultados com seus respectivos valores basais da Vit D e houve uma correlação positiva (Pearson  $r^2 = 0,129$ ;  $p = 0,043$ ) – Figura 6. Os pacientes foram, então, divididos em dois sub-grupos. Um com níveis basais da vitamina D abaixo de 30ng/mL e outro com níveis iguais ou acima deste *cut-off* e feita uma nova correlação com suas correspondentes variações do PTH entre o T12 e o basal. Nos dois grupos houve aumento do PTH, mas no sub-grupo com nível sérico basal acima de 30 ng/mL, o aumento do PTH foi maior, apontando para uma resposta não fisiológica em ambos os sub-grupos. A elevação dos níveis do PTH está relacionada ao uso de tenofovir e é independente da vitamina D (34, 35, 42), mas níveis subótimos da Vit D, em alguns trabalhos se correlacionam com maiores níveis de PTH ao longo do tempo.

Em nossa observação houve aumento significativo na dosagem do PTH entre os tempos zero, 3 e 12 ( $p = 0,012$ ). Pós-teste Wilcoxon confirmou a diferença entre o nível basal e T12 e o terceiro e décimo segundo mês ( $p = 0,002$  e  $0,025$ , respectivamente). Houve grande variação nas dosagens da Vit D. As dosagens não respeitaram a estação do ano para serem colhidas já que a admissão de novos pacientes se deu por período prolongado e foi sequencial. Na média da admissão, pelos parâmetros utilizados, os pacientes foram considerados com níveis subótimos ( $27,80 \pm 11,17$ ), mas próximos ao valor considerado de suficiência ( $30 \text{ ng / mL}$ ). Não foi administrada Vit D em nenhum paciente e só foi dosada a 25(OH)D. Durante o acompanhamento dos pacientes não houve variação significativa do nível sérico nas três dosagens realizadas. Apesar disto, não observamos relação entre o nível sérico basal da vitD e a proporção do aumento do PTH ao longo do primeiro ano de acompanhamento. Estraticamos então os pacientes em dois grupos a partir dos níveis séricos de base. Um grupo com nível da 25(OH)vitD abaixo de  $30 \text{ ng / mL}$  e outro com os níveis acima de  $30 \text{ ng / mL}$ . Houve diferença significativa entre estes grupos, mas, mesmo assim não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos no que tange ao aumento dos níveis do PTH. Em nossa amostragem o nível basal da 25(OH)vitD não influenciou o aumento dos níveis do PTH no período avaliado.

Há relatos da toxicidade tubular do tenofovir há alguns anos. O primeiro relato de caso datou de 2002 onde foram relacionados insuficiência renal aguda, diabetes nefrogênico e Síndrome de Fanconi com uso da droga, recentemente, à época, liberado para uso junto com outros antirretrovirais nos EUA. Houve melhora parcial da função renal com a retirada do TDF (7). Os relatos dão ênfase à Síndrome de Fanconi completa e incompleta e perda isolada de fosfato na urina (5, 6, 23, 24) acompanhando ou não de perda da função renal (45). Alterações no sedimento urinário, em algumas publicações podem acontecer já nas primeiras semanas do uso do TDF, mas a maioria ocorre entre o quinto e décimo primeiro mês do uso (5, 23, 24). A ênfase dada no início com publicações de relatos de casos de Síndrome de Fanconi, hipofosfatemia e osteomalácia em pacientes com sorologia positiva para HIV sob tratamento com TARV, vem dando lugar a publicações demonstrando que, na maioria dos casos, as alterações do sedimento urinário não compõem a síndrome completa e os muitos casos não apresentam sintomas (5, 24, 30). Relatos mais recentes evidenciam pouca redução da função renal com doses habituais de tenofovir e alterações assintomáticas da excreção urinária de fósforo. Esta, provavelmente ocasionadas pelo aumento do PTH e alterações no eixo da vitamina D (28, 35). Publicações que procuram estudar a fisiopatologia das alterações encontradas desvinculam a nefrotoxicidade da osteopatia (39), e do aumento do PTH (34).

Uma das teorias é que haja um bloqueio funcional da vitamina D ativa, mimetizando um quadro de hipovitaminose D e aumento do FGF23 nos casos com maior concentração sérica do TDF (32, 42, 44).

Evidências sugerem que as mitocôndrias do túbulo contorcido proximal (TCP) são as organelas alvo da toxicidade do tenofovir. O TCP é o sítio renal de principal reabsorção de glicose, sódio e várias outras moléculas. No TCP é onde é ativada a 25 em 1,25OH(2)D pela  $\alpha$ -hidroxilase e este fenômeno ocorre nas mitocôndrias (9). Há síntese e liberação de amônia no lúmen tubular, importante substrato para sistema ácido-base renal. Por fim, a lesão mitocondrial pode levar à apoptose celular (5). Todos estes fenômenos se correlacionam com a lesão tubular proximal e seus efeitos e síndromes. Há evidência, em experimento animal, de infra-regulação do co-transportador Na/H, trocador Na/H e da aquaporina 2 e de redução da oxido nítrico sintetase endotelial com consequente vasoconstricção arterial. Casos de necrose tubular aguda e insuficiência renal aguda seriam, também, explicados por esse mecanismo. Houve proteção e, até reversão desta toxicidade com o uso de rosiglitazona. Estes experimentos foram realizados com ratos se alimentando por 30 dias de uma dieta muito rica em tenofovir - 300mg/Kg. Este grupo de ratos evoluiu, inclusive com falência renal. Com dose menor de tenofovir (50mg/Kg) também houve alterações no túbulo proximal. Os ratos apresentaram fosfatúria, tendência à acidose metabólica e houve menor capacidade da concentração urinária (22). No entanto, não há, até o momento, publicação com uso da rosiglitazona em humanos com a finalidade de proteção da nefrotoxicidade do TDF. Estudos histopatológicos de ultra-estrutura tubular em humanos (biópsia renal com estudo por microscopia óptica e eletrônica) evidenciam alterações morfológicas mitocondriais na nefropatia por tenofovir (29, 46, 47).

A Síndrome de Fanconi completa acontece com pouca frequência. Relato da incidência de 0,1% (40). A toxicidade tubular se dá entre 17-22%, hipofosfatemia (abaixo de 2mg%) em cerca de 16,7% e o risco de injúria renal aguda (aumento de 50% da creatinina sérica) em 2,2% em revisão sobre a toxicidade do tenofovir publicada por Fernandez e cols em 2011 (5).

Na amostra que acompanhamos não houve alteração significativa da excreção de nenhum dos íons estudados. A medida do pH foi realizado em laboratório clínico geral do hospital. É possível que se a medição sido realizada com aparelhagem de maior sensibilidade os resultados poderiam se mostrar diferentes. Houve progressivo aumento nas três coletas realizadas da excreção fracionada de magnésio, mas não alcançou significância estatística.

Todas as proteínas dosadas na urina foram realizadas em urina de amostra (*spot*). Diversos marcadores são utilizados para avaliar alterações na filtração glomerular ou dos

túbulos renais. Diferentes mecanismos determinam seu aparecimento na urina. A lesão de células tubulares induz o escape de enzimas e microproteínas para a luz tubular, e a magnitude da elevação dos biomarcadores na urina vai depender da natureza do insulto e da gravidade da lesão das células tubulares. Os principais locais relacionados à liberação desses biomarcadores são: citoplasma, lisossomo ou membrana. Outro mecanismo para o aparecimento desses biomarcadores na urina é a diminuição da reabsorção de proteínas de baixo peso molecular, que são normalmente filtradas no glomérulo e reabsorvidas totalmente pelas células tubulares proximais (9, 46, 47).

A cistatina C é uma proteína não-glicosilada, de baixo peso molecular (13,36 Kda), produzida a uma taxa constante por todas as células nucleadas. É livremente filtrada no glomérulo sendo reabsorvida e metabolizada no túbulo renal proximal, mas não ocorrendo secreção renal ou extra-renal. Dessa forma, a cistatina C sérica reflete exclusivamente a filtração glomerular e seu aumento está associado à redução da TFG (48). Em estudos clínicos, tanto a cistatina C plasmática como a urinária foram capazes de “prever” IRA e são consideradas marcadores (1) precoces da injúria renal. O aumento da sua concentração urinária reflete não reabsorção no TCP e, conseqüentemente tubulopatia. Aumento do nível sérico está relacionado à redução da TFG e aumento da concentração urinária à defeitos tubulares.

A Lipocalina Associada com Gelatinase de Neutrófilos Humanos (NGAL) é uma proteína de 25-kD, originalmente sintetizada em neutrófilos. Também livremente filtrada nos glomérulos e, quase que totalmente reabsorvida no TCP, é um marcador precoce de injúria renal. Em publicações recentes tem sido usada em terapia intensiva, como marcador precoce de insuficiência renal em pós-operatório de cirurgia cardíaca e, até, em salas de emergência com antecipação de 24 a 48 h do aparecimento da injúria renal comparando com marcadores habituais – creatinina (49, 50). Exposição a agentes tóxicos e drogas evoluindo com nefrotoxicidade também aumentam NGAL urinário (50). NGAL se compara à cistatina C na precocidade da detecção da injúria renal (51).

A proteinúria é um marcador clássico de doenças glomerulares (48) e o aumento da albumina na urina significa um marcador precoce do aumento da proteinúria na maioria das vezes. O aumento da proteína na urina, no entanto não é obrigatoriamente oriunda dos glomérulos, podendo ser não seletiva (diferente da albumina) e ser composta de proteínas de origem tubular e sinalizar, assim, uma patologia tubular. A proteinúria não está frequentemente associada à nefrotoxicidade do TDF (52), mas chama atenção para a possibilidade da síndrome de Fanconi, mesmo que incompleta (28).

A  $\beta 2$  microglobulina é uma proteína de 11.800 D associada à cadeia pesada do complexo de histocompatibilidade HLA de classe I. Encontra-se em todas as células nucleadas. Seu pequeno tamanho permite que passe livremente pela membrana glomerular, mas é praticamente completamente (99,9%) reabsorvida nos túbulos proximais. Seu nível sérico está elevado em doenças associadas ao aumento da replicação celular, mas também a várias condições benignas como inflamação crônica, hepatopatia, disfunção renal, infecções virais agudas, e outras. Na doença tubular renal o nível sérico é baixo e o urinário alto (48). É considerado um excelente marcador de doença tubular renal e foi superior à RBP (proteína ligante do retinol) como marcador de nefrotoxicidade por droga (31).

Nossos resultados mostram alteração significativa nos níveis urinários da NGAL. Esta alteração mostrou-se em forma de prisma com aumento significativo da amostra basal para T3 e retorno ao nível de base em T12 – Teste de Friedman  $p = 0,021$  e Pós-teste Wilcoxon  $p = 0,048$  (T0\_T3) e  $0,02$  (T3\_T12). Os demais marcadores não mostraram alterações nas três dosagens realizadas. Não encontramos uma explicação para o aumento da NGAL isoladamente em T3, mas se for replicado em futuras pesquisas deve estar associado à alterações tubulares proximais.

Publicações são conflitantes quanto à alteração da taxa de filtração glomerular e o uso do TDF. Algumas relatam redução da TFG e relacionam fatores de risco para desenvolvimento da injúria renal, como raça negra, idade acima de 51 anos, hipertensão arterial ou pré-presença de alterações urinárias como hematuria ou proteinúria (53), outros que ela não se altera ou que há alteração fugaz nos primeiros seis meses com retorno ao normal em pacientes acompanhados até 2 anos (54). Ainda outros que há uma relação direta entre o nível sérico do TDF e a redução da TFG – dose dependência (22) e alguns que a alteração está relacionada à associação de algumas drogas utilizadas no esquema TARV e sugere monitorização frequente da função renal enquanto estiver em uso do TDF (55). Mas mesmo com as mesmas drogas, outros estudos não mostram resultados semelhantes (56). Os trabalhos publicados são no modelo multidroga em pacientes soropositivos para HIV. As drogas variam, mas todos os esquemas têm o tenofovir em sua composição. Um relato da Korea (15) sobre terapia de resgate da HVB crônica estuda 17 pacientes em uso de tenofovir. Apenas três como monoterapia e os demais 14 com TDF associado à lamivudina. Os pacientes são acompanhados por mediana de 42 meses e não houve alteração da função renal. Estudos mais recentes vêm comprovando a não alteração da TFG com o uso do tenofovir em monoterapia.

Em nossa amostragem não houve alteração da função renal avaliada pelo CKDEPI com creatinina, cistatina C e creatinina-cistatina. Também não houve alterações significativas usando o método MDRD. Não houve alteração nos primeiros meses ou até o final do acompanhamento dos pacientes.

Reconhecemos uma fraqueza do trabalho não termos aferido o pH urinário com aparelhagem mais sensível e não termos realizado as dosagens de FGF23 e 1,25OH(2)D, que poderiam fornecer informações valiosas neste modelo.



## CONCLUSÃO

O uso isolado do tenofovir em pacientes com hepatite B por um período de 12 meses:

- 1) não foi associado com alterações da função renal avaliadas por estimativas da taxa de filtração glomerular baseadas nas fórmulas CKD-EPI (creatinina, cistatina C e creatinina-cistatina C), em nenhum momento do estudo;
- 2) não foi associado com alterações em um painel de biomarcadores urinários, tais como microalbuminúria, proteinúria total,  $\beta$ 2microglobulina e cistatina C urinárias, mesmo após correção pela creatinina urinária;
- 3) não foi associado com alterações dos níveis séricos nem nas frações de excreção de metabólitos e eletrólitos de uso corrente (sódio, potássio, cálcio, fosfato, magnésio e ácido úrico);
- 4) foi associado a um aumento pequeno e isolado da NGAL urinária corrigida pela creatinina urinária no terceiro mês de tratamento, mas que voltou aos níveis basais ao fim do estudo;
- 5) foi associado com a presença de elevação subclínica, porém significativa, do PTH, que em nosso estudo não pareceu ter sido correlacionada aos níveis séricos basais da 25(OH) vitamina D.

## BIBLIOGRAFIA

1. Shlipak MG, Matsushita K, Arnlov J, Inker LA, Katz R, Polkinghorne KR, et al. Cystatin C versus creatinine in determining risk based on kidney function. *The New England journal of medicine*. 2013;369(10):932-43. Epub 2013/09/06.
2. Heathcote J, Derek Y. Tenofovir in the treatment of chronic hepatitis B. *Therapy* 2011;8(5):527-44.
3. Pereira GFMG, J. M.; Coelho, R. A.; Oliveira, S. B.; Amorim, T. R. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. In: Departamento MdS-SdVeS-, de DST AeHV, editors. 2011.
4. Pedro AFP, C. L. S.; Lemos, K. R. V. Boletim Epidemiológico DST/AIDS e Hepatites Virais. In: Ambiental. GdEdRdJ-SdEdS-SdVEe, editor. 2014.
5. Fernandez-Fernandez B, Montoya-Ferrer A, Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Izquierdo MC, Poveda J, et al. Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. *AIDS research and treatment*. 2011;2011:354908. Epub 2011/07/01.
6. Karras A, Lafaurie M, Furco A, Bourgarit A, Droz D, Sereni D, et al. Tenofovir-related nephrotoxicity in human immunodeficiency virus-infected patients: Three cases of renal failure, Fanconi syndrome, and nephrogenic diabetes insipidus. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;36(8):1070-3.
7. Verhelst D, Monge M, Meynard JL, Fouqueray B, Mougenot B, Girard PM, et al. Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: A first case report. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;40(6):1331-3.
8. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic Hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*. 2009;50(3):661-2.
9. Hall AM. Update on tenofovir toxicity in the kidney. *Pediatric nephrology*. 2013;28(7):1011-23. Epub 2012/08/11.
10. Marcellin PG, E.; Buti, M. et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *The Lancet*. 2013;381:468-75.
11. Tsai NC MP, Buti M, Washington MK, Lee SS, Chan S, Trinh H, Flaherty JF, Kitrinou KM, Dinh P, Charuworn P, Subramanian GM, Gane E. Viral suppression and cirrhosis regression with tenofovir disoproxil fumarate in asians with chronic hepatitis B. *Digestive diseases and sciences*. 2015;60(1):260-8.
12. Scherzer R, Estrella M, Li Y, Choi AI, Deeks SG, Grunfeld C, et al. Association of tenofovir exposure with kidney disease risk in HIV infection. *Aids*. 2012;26(7):867-75. Epub 2012/02/09.
13. Si-Ahmed SN, Pradat P, Zoutendijk R, Buti M, Mallet V, Cruziat C, et al. Efficacy and tolerance of a combination of tenofovir disoproxil fumarate plus emtricitabine in patients with chronic hepatitis B: a European multicenter study. *Antiviral research*. 2011;92(1):90-5. Epub 2011/07/20.
14. Mauss S, Berger F, Filmann N, Hueppe D, Henke J, Hegener P, et al. Effect of HBV polymerase inhibitors on renal function in patients with chronic hepatitis B. *Journal of hepatology*. 2011;55(6):1235-40.
15. Lee CI, Kwon SY, Kim JH, Choe WH, Lee CH, Yoon EL, et al. Efficacy and safety of tenofovir-based rescue therapy for chronic hepatitis B patients with previous nucleo(s/t)ide treatment failure. *Gut and liver*. 2014;8(1):64-9. Epub 2014/02/12.
16. Mallet V, Schwarzinger M, Vallet-Pichard A, Fontaine H, Corouge M, Sogni P, et al. Effect of Nucleoside and Nucleotide Analogues on Renal Function in Patients With Chronic Hepatitis B Virus Monoinfection. *Clinical gastroenterology and hepatology* : the

- official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2014. Epub 2014/12/03.
17. Rossi E, Adams LA, Bulsara M, Jeffrey GP. Assessing liver fibrosis with serum marker models. *Clin Biochem Rev.* 2007;28(1):3-10. Epub 2007/07/03.
  18. Silva CRNS, L. A.;Santi, L. Q.;Lara, L. T. R.;Thomazoni, N. P. N. V.;Abreu, R. G. Protocolo Clínico e Dircetrizes para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções. In: Departamanto de DST AeHV, editor.: Editora MS; 2011.
  19. Schwarcz LM. Espetáculo da Miscigenação. *Estudos Avançados.* 1994;8(20).
  20. Bernardo S, Hermida R, Desiderio M, Silva DA, de Carvalho EF. MtDNA ancestry of Rio de Janeiro population, Brazil. *Mol Biol Rep.* 2014;41(4):1945-50. Epub 2014/01/15.
  21. Barcellos RCB. Análise Comparativa dos Níveis Séricos de Creatinina entre Brancos, Pardos e Negros de uma População Brasileira [Dissertação de Mestrado em Medicina]: Universidade Federal Fluminense; 2014.
  22. Liborio AB, Andrade L, Pereira LV, Sanches TR, Shimizu MH, Seguro AC. Rosiglitazone reverses tenofovir-induced nephrotoxicity. *Kidney international.* 2008;74(7):910-8. Epub 2008/06/20.
  23. Kinai E, Hanabusa H. Renal tubular toxicity associated with tenofovir assessed using urine-beta 2 microglobulin, percentage of tubular reabsorption of phosphate and alkaline phosphatase levels. *Aids.* 2005;19(17):2031-3. Epub 2005/11/02.
  24. James CW, Steinhaus MC, Szabo S, Dressler RM. Tenofovir-related nephrotoxicity: Case report and review of the literature. *Pharmacotherapy.* 2004;24(3):415-8.
  25. Santos MSBS, A. C.; Andrade, L. Hypomagnesemia is a risk factor for nonrecovery of renal funtion and mortality in AIDS patients with acute kidney injury. *The Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2010;43(3):316-23.
  26. Prosser JMM, A.; Rhim, E. S.; Perrone, J. Torsade de pointes caused by polypharmacy and substance abuse in a patient with immunodeficiency virus. *Int J Emerg Med.* 2008;1.
  27. Fung HB, Stone EA, Piacenti FJ. Tenofovir disoproxil fumarate: a nucleotide reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Clinical therapeutics.* 2002;24(10):1515-48. Epub 2002/12/05.
  28. Brim NM C-US, Hu SL, O'Bell JW. Bone disease and pathologic fractures in a patiente with tenofovir-induced Fanconi syndrome. *The AIDS reader.* 2007;17(6):322-8.
  29. Zaidan M, Lescure FX, Brocheriou I, Dettwiler S, Guiard-Schmid JB, Pacanowski J, et al. Tubulointerstitial Nephropathies in HIV-Infected Patients over the Past 15 Years: A Clinico-Pathological Study. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2013;8(6):930-8.
  30. De Socio GV, Fabbriani G, Massarotti M, Messina S, Cecchini E, Marasini B. Hypophosphatemic Osteomalacia Associated with Tenofovir: a Multidisciplinary Approach is Required. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases.* 2012;4(1):e2012025. Epub 2012/06/19.
  31. Szymanek-Pasternak AM, Z.; Szymanska, B. et al. Assessment of the usefullnes of B2-microglobulin and retinol binding protein for the purpose of testing kidney function in HIV-positive patients. *HIV & AIDS Review.* 2014;13:40-5.
  32. Havens PL1 KJ, Stephensen CB, Hazra R, Flynn PM, Wilson CM, Rutledge B, Bethel J, Pan CG, Woodhouse LR, Van Loan MD, Liu N, Lujan-Zilbermann J, Baker A, Kapogiannis BG, Gordon CM, Mulligan K; Adolescent Medicine Trials Network for HIV/AIDS Interventions (ATN) 063 Study Team. Association of higher plasma vitamin D binding protein and lower free calcitriol levels with tenofovir disoproxil fumarate use and plasma and intracellular tenofovir pharmacokinetics: cause of a functional vitamin D deficiency? *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2013;57(11):5619-28.

33. Childs KE, Fishman SL, Constable C, Gutierrez JA, Wyatt CM, Dieterich DT, et al. Short communication: Inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *AIDS research and human retroviruses*. 2010;26(8):855-9. Epub 2010/08/03.
34. Havens PL, Stephensen CB, Hazra R, Flynn PM, Wilson CM, Rutledge B, et al. Vitamin D3 decreases parathyroid hormone in HIV-infected youth being treated with tenofovir: a randomized, placebo-controlled trial. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012;54(7):1013-25. Epub 2012/01/24.
35. Masia M, Padilla S, Robledano C, Lopez N, Ramos JM, Gutierrez F. Early changes in parathyroid hormone concentrations in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy with tenofovir. *AIDS research and human retroviruses*. 2012;28(3):242-6. Epub 2011/06/07.
36. Foca E, Motta D, Borderi M, Gotti D, Albini L, Calabresi A, et al. Prospective evaluation of bone markers, parathormone and 1,25-(OH)(2) vitamin D in HIV-positive patients after the initiation of tenofovir/emtricitabine with atazanavir/ritonavir or efavirenz. *BMC infectious diseases*. 2012;12:38. Epub 2012/02/16.
37. Klassen K, Martineau AR, Wilkinson RJ, Cooke G, Courtney AP, Hickson M. The effect of tenofovir on vitamin D metabolism in HIV-infected adults is dependent on sex and ethnicity. *PloS one*. 2012;7(9):e44845. Epub 2012/09/18.
38. Mascolini M. Vitamin D supplements may limit Tenofovir bone toxicity. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Boston, MA2011.
39. Samarawickrama A, Jose S, Sabin C, Walker-Bone K, Fisher M, Gilleece Y. No association between vitamin D deficiency and parathyroid hormone, bone density and bone turnover in a large cohort of HIV-infected men on tenofovir. *Journal of the International AIDS Society*. 2014;17:54-5.
40. Bech A, Van Bentum P, Nabbe K, Gisolf J, Richter C, De Boer H. Fibroblast growth factor 23 in hypophosphataemic HIV-positive adults on tenofovir. *HIV medicine*. 2012;13(9):558-63.
41. Rosenvinge MM, Gedela K, Copas AJ, Wilkinson A, Sheehy CA, Bano G, et al. Tenofovir-linked hyperparathyroidism is independently associated with the presence of vitamin D deficiency. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2010;54(5):496-9. Epub 2010/07/31.
42. Bech A VBP, Telting D, Gisolf J, Richter C, De Boer H. Treatment of calcium and vitamin D deficiency in HIV-positive men on tenofovir-containing antiretroviral therapy. *HIV clinical trials*. 2012;13(6):350-56.
43. Fux CA, Rauch A, Simcock M, Bucher HC, Hirschel B, Opravil M, et al. Tenofovir use is associated with an increase in serum alkaline phosphatase in the Swiss HIV Cohort Study. *Antiviral therapy*. 2008;13(8):1077-82.
44. Havens PL, Hazra R, Stephensen CB, Kiser JJ, Flynn PM, Wilson CM, et al. Vitamin D3 supplementation increases fibroblast growth factor-23 in HIV-infected youths treated with tenofovir disoproxil fumarate. *Antiviral therapy*. 2014;19(6):613-8. Epub 2014/02/19.
45. Woodward CL, Hall AM, Williams IG, Madge S, Copas A, Nair D, et al. Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV medicine*. 2009;10(8):482-7. Epub 2009/05/23.
46. Herlitz LC, Mohan S, Stokes MB, Radhakrishnan J, D'Agati VD, Markowitz GS. Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney international*. 2010;78(11):1171-7. Epub 2010/09/03.
47. Perazella MA. Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondriopathy. *Kidney international*. 2010;78(11):1060-3. Epub 2010/11/16.
48. Gooptu M. Beta2-microglobulin. *MEDSCAPE2012* [cited 2014 15 ago].

49. Antonucci E, Lippi G, Ticinesi A, Pigna F, Guida L, Morelli I, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a promising biomarker for the early diagnosis of acute kidney injury (AKI). *Acta Biomed.* 2014;85(3):289-94. Epub 2015/01/09.
50. Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2012;50(9):1505-17.
51. Ralib A, Pickering JW, Shaw GM, Than MP, George PM, Endre ZH. The clinical utility window for acute kidney injury biomarkers in the critically ill. *Crit Care.* 2014;18(6):601. Epub 2014/11/05.
52. Izzedine H, Isnard-Bagnis C, Hulot JS, Vittecoq D, Cheng A, Jais CK, et al. Renal safety of tenofovir in HIV treatment-experienced patients. *Aids.* 2004;18(7):1074-6. Epub 2004/04/21.
53. Neto LFSPB, A. C.; Rocha, J. A. et al. Fatores de risco associados a alterações renais em pacientes infectados por HIV-1. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2011;44(1).
54. Gallant JE, Moore RD. Renal function with use of a tenofovir-containing initial antiretroviral regimen. *Aids.* 2009;23(15):1971-5.
55. Zimmermann AE, Pizzoferrato T, Bedford J, Morris A, Hoffman R, Braden G. Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2006;42(2):283-90. Epub 2005/12/16.
56. Kearney BP, Mathias A, Mittan A, Sayre J, Ebrahimi R, Cheng AK. Pharmacokinetics and safety of tenofovir disoproxil fumarate on coadministration with lopinavir/ritonavir. *Journal of acquired immune deficiency syndromes.* 2006;43(3):278-83. Epub 2006/11/03.