UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

ÁLAN FERNANDES LAURINDO

**Avaliação de marcadores de lesão do túbulo proximal renal e
incidência de redução da filtração glomerular em pacientes
portadores de Hepatite B em uso de tenofovir**

Ribeirão Preto

2015

ÁLAN FERNANDES LAURINDO

**Avaliação de marcadores de lesão do túbulo proximal renal e
incidência de redução da filtração glomerular em pacientes
portadores de Hepatite B em uso de tenofovir**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Clínica
Médica.

Área de Concentração: Clínica Médica

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elen Almeida Romão

Ribeirão Preto

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Laurindo, Álan Fernandes.

Avaliação de marcadores de lesão do túbulo proximal renal e incidência de redução da filtração glomerular em pacientes portadores de Hepatite B em uso de tenofovir / Álan Fernandes Laurindo.

Orientadora: Elen Almeida Romão.
Ribeirão Preto, 2015.

139 p. Il., 30cm.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica).
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1. Tenofovir; 2. Hepatite B; 3. Lesão renal; 4. Tubulopatia proximal renal; 5. Cistatina C; 6. NGAL.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Álan Fernandes Laurindo

Avaliação de marcadores de lesão do túbulo proximal renal e incidência de redução da filtração glomerular em pacientes portadores de Hepatite B em uso de tenofovir

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.

Área de Concentração: Clínica Médica

Data da aprovação:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente a Prof^a. Dr^a. Elen Almeida Romão que abdicou de momentos preciosos e inestimáveis de sua vida profissional e particular para poder me orientar e ao Prof. Dr. Osvaldo Merege Vieira Neto pela inspiração e filosofia de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao HCFMRP que nos forneceu o apoio previsto no projeto da pesquisa, à FAPESP que financiou a pesquisa.

Ao grupo de professores e médicos que auxiliaram desde a elaboração inicial do projeto, a coleta de dados até a análise em conjunto dos resultados obtidos e discussão dos achados clínicos e laboratoriais envolvidos no estudo.

Profa. Dra. Elen Almeida Romão

Prof. Dr. Márcio Dantas

Profa. Dra. Ana de Lourdes Candolo Martinelli

Dra. Márcia Guimarães Villanova

Dra. Fernanda Fernandes Souza

Dra. Andreza Corrêa Teixeira

Dr. Sandro da Costa Ferreira

Ao grupo técnico do Laboratório de Nefrologia e um agradecimento à equipe de enfermagem das provas funcionais da Gastroenterologia do HCFMRP.

“O segredo da existência humana consiste não somente em viver, mas ainda em encontrar um motivo para se viver”.

Fiódor Mikháilovitch Dostoiévski (1821 – 1881)

RESUMO

Laurindo, A.F. Avaliação de marcadores de lesão do túbulo proximal renal e incidência de redução da filtração glomerular em pacientes portadores de Hepatite B em uso de tenofovir. 2015, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2015.

Tenofovir (TDF), um antirretroviral análogo nucleotídeo inibidor da transcriptase reversa, indicado para o tratamento da infecção pelo vírus da Hepatite B em indivíduos HBeAg reagentes, não cirróticos, tem sido implicado na ocorrência de Injúria renal aguda (IRA) e lesão do túbulo proximal renal (TPR), com características semelhantes à Síndrome de Fanconi, caracterizada por glicosúria, bicarbonatúria, fosfatúria, uricosúria e proteinúria de baixo peso molecular. Outros trabalhos sugerem que os pacientes em uso de TDF sofram toxicidade aos glomérulos, com uma pequena, porém significativa redução da taxa de filtração glomerular. O tempo de uso da droga para que ocorra lesão renal é desconhecido. Entretanto, a maioria dos estudos de investigação de nefrotoxicidade do TDF foi realizada em pacientes portadores de infecção pelo HIV. Especula-se que a nefrotoxicidade desta droga possa ser exacerbada ou reduzida pelo uso de outras medicações, frequentemente usadas por pacientes com HIV, que competem com o transporte tubular ou com sua metabolização, aumentando o seu nível sérico. O objetivo geral deste trabalho é avaliar prospectivamente a incidência de lesão renal pelo uso de TDF em pacientes portadores de hepatite B. Os objetivos específicos deste trabalho são: (1) avaliar incidência de lesão do TPR através da avaliação da excreção urinária de ácido úrico, fósforo e da proteína de baixo peso molecular neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL); (2) avaliar a incidência de redução aguda da taxa de filtração glomerular (LRA) ou redução crônica da mesma. **Métodos:** Foram incluídos 24 pacientes portadores de Hepatite B que tiveram indicação de iniciar o uso de TDF com idade superior a 18 anos ou inferior a 75 anos. Neste estudo prospectivo, foi realizado a coleta de dados clínicos (idade, gênero, etnia, tempo de doença, antecedentes pessoais, medicações concomitantes, fator de risco para contaminação do VHB, história familiar de infecção VHB) e a avaliação laboratorial foi feita através da coleta de sangue e urina feitas antes do início do uso do TDF e, posteriormente à sua introdução, semestralmente durante 2 anos. Ao final do seguimento foi avaliada a incidência de lesão renal pelo uso de TDF, através das seguintes dosagens: glicemia, fosfatemia, gasometria, creatinina e Cistatina C séricas, microalbuminúria, proteinúria, proteinúria de baixo peso molecular (NGAL),

clearance de creatinina, fosfatúria, uricosúria e urina rotina. Foi feita análise estatística comparativa entre os pacientes que usaram o TDF pré tratamento e pós tratamento para detectar lesão do TPR ou redução da taxa de filtração glomerular ao longo do tempo. **Resultados:** Não foi identificado aumento significativo da creatinina no decorrer do estudo ($p = 0,09$; $R = 2,4\%$), entretanto, foi observada uma queda significativa nos valores do *clearance* de creatinina em 24 horas ($p < 0,01$; $R = 15,8\%$). Não foi observada tendência de queda da filtração glomerular através das fórmulas MDRD simplificada ($p = 0,11$), CKD-EPI ($p=0,14$), CKD-EPI cystatin C ($p = 0,23$). Em relação à cistatina C sérica também não foi observada sua elevação no decorrer do tempo ($p=0,15$; $R = 2,4\%$). Não foi observado, utilizando-se modelo de regressão linear, aumento na excreção urinária de albumina no decorrer do estudo ($p = 0,97$; $R = 0,00\%$), mas houve aumento significativo na proteinúria de 24h ($p < 0,01$). Foi observada também, redução da uricosúria com o passar do tempo ($p = 0,01$; $R = 6,7\%$) e houve correlação positiva entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a excreção de ácido úrico em urina de 24 horas ($p=0,01$; $r = + 0,60$). A fração de excreção de fósforo (urina de 24h): não foi observada alteração no decorrer do tempo ($p = 0,83$; $R = 0,5\%$), porém houve correlação negativa com entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas ($p = 0,05$; $r = - 0,25$). A detecção de NGAL na urina foi feita pelo índice $U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$ e não foi observado aumento significativo de sua excreção no decorrer do tempo ($p = 0,40$, $r = 0,8\%$). **Conclusão:** em conclusão no presente estudo observou-se desenvolvimento de lesão renal aguda em 10% dos pacientes em uso de tenofovir e redução significativa da filtração glomerular. A fosfatúria e proteinúria observados sugerem que a lesão tenha sido decorrente de tubulopatia proximal e os marcadores mais específicos de lesão renal, cistatina C e NGAL, não foram superiores aos biomarcadores disponíveis na prática clínica na detecção destas alterações.

Palavras-chave: 1. Tenofovir; 2. Hepatite B; 3. Lesão renal; 4. Tubulopatia proximal renal; 5. Cistatina C; 6. NGAL.

ABSTRACT

Laurindo, A. F. Evaluation of markers of renal proximal tubule injury and incidence of reduced glomerular filtration in patients with hepatitis B using tenofovir. Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2015.

Tenofovir (TDF) a nucleotide analog reverse transcriptase inhibitor antiretroviral indicated for the treatment of infection with the hepatitis B virus in reagents HBeAg individuals, non-cirrhotic patients, has been implicated in the occurrence of acute kidney Injury (AKI) and the proximal tubule injury kidney (TPR), with similar to Fanconi syndrome characterized by glucosuria, bicarbonatúria, phosphaturia, proteinuria, uricosuria and low molecular weight characteristics. Other studies suggest that patients using TDF toxicity suffer the glomeruli, with a small but significant reduction in glomerular filtration rate. The time of drug use for kidney damage that occurs is unknown. However, most of the research studies of nephrotoxicity TDF was performed in patients with HIV infection. It is speculated that the nephrotoxicity of this drug may be exacerbated or reduced by the use of other medications, often used by patients with HIV, which compete with the tubular transport or metabolism, increasing its serum level. The overall objective of this study is to prospectively evaluate the incidence of renal injury by the use of TDF in patients with hepatitis B. The specific objectives of this work are: (1) assess the incidence of injury TPR by assessment of urinary excretion of uric acid, phosphorus and protein of low molecular weight neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL); (2) assess the incidence of acute reduction in glomerular filtration rate (IRA) or chronic reduction. **Methods:** 24 patients with hepatitis B who were advised to initiate the use of TDF over the age of 18 years or below 75 years were included. In this prospective study, the collection of clinical data (age, gender, ethnicity, duration of disease, personal history, concomitant medications, risk factor for HBV infection, family history of HBV infection) and laboratory evaluation was done by collect blood and urine samples taken before initiation of the use of TDF and after its introduction, semiannually for 2 years. At final follow-up the incidence of renal injury by the use of TDF was assessed through the following dosages: glucose, phosphatemia, gases, creatinine and serum cystatin C, microalbuminuria, proteinuria, low molecular weight proteinuria (NGAL), clearance creatinine, phosphaturia, uricosuria and urine routine. The comparative statistical analysis of patients using TDF pre-treatment and post treatment to detect the TPR injury or reduced glomerular filtration rate over time.

Results: There was not significant increase in creatinine identified during the study ($p = 0.09$; $R = 2.4\%$), however, a significant decrease was observed in the values of creatinine clearance at 24 hours ($p < 0.01$; $R = 15.8\%$). No downward trend was observed in glomerular filtration through the simplified MDRD formulas ($p = 0.11$), CKD-EPI ($p = 0.14$), CKD-EPI cystatin C ($p = 0.23$). Regarding the serum cystatin C its elevation was not observed over time ($p = 0.15$, $R = 2.4\%$). Increased urinary albumin excretion during the study was not observed using a linear regression model ($p = 0.97$, $R = 0.00\%$), but there was significant increase in 24-hour proteinuria ($p < 0.01$). And there was a positive correlation between creatinine clearance at 24 hour urine and the excretion of uric acid in 24 hour urine ($p = 0.01$, $R = + 0.60$), uricosuria reduction over time was also observed ($p = 0.01$, $R = 6.7\%$). No change was observed over time in the fractional excretion of phosphorus (24 h urine), ($p = 0.83$; $R = 0.5\%$), but there was a negative correlation between creatinine clearance urine dosed at 24 hours and fractional excretion of phosphorus (FePO_4) measured in 24 hour urine ($p = 0.05$, $r = - 0.25$). The detection of NGAL in the urine was taken by $U_{\text{NGAL}} / U_{\text{creat}}$ index and was not observed significant increase in excretion over time ($p = 0.40$, $r = 0.8\%$). **Conclusion:** In conclusion at the present study we observed the development of acute kidney injury in 10% of patients using tenofovir and a significant reduction in glomerular filtration. The phosphaturia and proteinuria observed suggest that the injury has been caused by proximal tubulopathy and more specific markers of renal injury as cystatin C and NGAL were not greater than the available biomarkers in clinical practice for their detection.

Keywords: 1. Tenofovir ; 2. Hepatitis B ; 3. kidney injury ; 4. Proximal tubulopathy kidney ; 5. Cystatin C; 6. NGAL .

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados clínicos, sociais e epidemiológicos dos pacientes com hepatite B crônica em tratamento com tenofovir.	50
Tabela 2 – Glicemia de jejum em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.	52
Tabela 3 – Peso em quilogramas do grupo de indivíduos em estudo.	53
Tabela 4 – Creatinina em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.	54
Tabela 5 – Cistatina C (Cstat) em mg/L do grupo de indivíduos em estudo.	55
Tabela 6 – <i>Clearance</i> de Creatinina (ClCr) em mL/min/1,73m ² do grupo de indivíduos em estudo.	55
Tabela 7 – <i>Clearance</i> de Creatinina estimado pela fórmula MDRD do grupo de indivíduos em estudo.	55
Tabela 8 – <i>Clearance</i> de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI do grupo de indivíduos em estudo.	56
Tabela 9 – <i>Clearance</i> de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI Cystatin C do grupo de indivíduos em estudo.	56
Tabela 10 – <i>Clearance</i> de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI Creatinine-Cystatin C (CKD-EPI-cr/cys) do grupo de indivíduos em estudo.	57
Tabela 11 – Resultados clínico-laboratoriais do paciente 2 que desenvolveu lesão renal aguda.	59
Tabela 12 – Proteinúria em mg/24h do grupo de indivíduos em estudo.	61
Tabela 13 – Microalbuminúria (Microalb) em mcg/min (urina de 12h) do grupo de indivíduos em estudo.	61
Tabela 14 – Índice: Albumina urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (Ualb/Ucr) do grupo de indivíduos em estudo.	62
Tabela 15 – Índice: Proteína urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (Uprot/Ucr) do grupo de indivíduos em estudo.	62
Tabela 16 – Fósforo sérico (PO ₄) em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.	65
Tabela 17 – <i>Clearance</i> de Fósforo (ClPO ₄) em mL/min (urina de 24h) do grupo de indivíduos em estudo.	65
Tabela 18 – Fração de excreção de fósforo (%) (FePO ₄) do grupo de indivíduos em estudo.	66

Tabela 19 – Ácido Úrico sérico (AU) em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.	66
Tabela 20 – Uricosúria em mg/24h do grupo de indivíduos em estudo.	67
Tabela 21 – Fração de excreção de ácido úrico (%) (FeAU) do grupo de indivíduos em estudo.	67
Tabela 22 – Índice: Ácido Úrico urinário (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (UAU/Ucr) do grupo de indivíduos em estudo.	68
Tabela 23 – Índice: concentração de NGAL urinária (ng/dL)/concentração de creatinina urinária (mg/dL) (UNGAL/Ucr).	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Representação gráfica dos valores de glicemia em jejum (mg/dL) no decorrer do tempo.	53
Figura 02. Representação gráfica do <i>clearance</i> de creatinina (mL/min/1,73m ²) no decorrer do tempo.	57
Figura 03. Representação gráfica da proteinúria em 24 horas (mg/24 horas) no decorrer do tempo.	63
Figura 04. Representação gráfica da alteração do índice da proteína urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (Uprot/Ucr) no decorrer do tempo.	63
Figura 05. Representação gráfica da alteração da uricosúria em urina de 24 horas (mg/24h) no decorrer do tempo.	69
Figura 06. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²) e o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI.	70
Figura 07. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²) e o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula MDRD.	71
Figura 08. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²) e a creatinina sérica (mg/dL).	72
Figura 09. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73m ²) e a cistatina C sérica (mg/L).	73
Figura 10. Representação gráfica da correlação entre a excreção de ácido úrico em urina de 24 horas (mg/24h) e o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²).	74
Figura 11. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²) e a fração de excreção de fósforo (FePO ₄) dosada em urina de 24 horas (%).	75
Figura 12. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m ²) e a proteinúria de 24 horas (mg/24h).	76
Figura 13. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada (ml/min/1,73m ²) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Uprot/Ucreat).	77
Figura 14. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada (ml/min/1,73m ²) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat).	78

Figura 15. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada (ml/min/1,73m ²) e a cistatina C sérica (mg/L).	79
Figura 16. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada (ml/min/1,73m ²) e a fração de excreção de ácido úrico (%).	80
Figura 17. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) e a cistatina C sérica (mg/L). ..	81
Figura 18. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) e a fração de excreção de ácido úrico (%).	82
Figura 19. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U _{prot} /U _{creat}).	83
Figura 20. Representação gráfica da correlação entre o <i>clearance</i> de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U _{alb} /U _{creat}).	84
Figura 21. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a cistatina C sérica (mg/L).	85
Figura 22. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U _{alb} /U _{creat}).	86
Figura 23. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a fração de excreção de ácido úrico (%).	87
Figura 24. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a fração de excreção de fósforo (FePO ₄) dosada em urina de 24 horas (%).	88
Figura 25. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a dosagem de fósforo sérico (mg/dL).	89
Figura 26. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a sérica e a fração de excreção de fósforo (FePO ₄) dosada em urina de 24 horas (%).	90
Figura 27. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a excreção de ácido úrico dosada em urina de 24 horas (mg/24h.).	91
Figura 28. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a fração de excreção de ácido úrico dosada em amostra de urina (%).	92
Figura 29. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e o ácido úrico sérico (mg/dL).	93

Figura 30. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{alb}/U_{creat}).	94
Figura 31. Representação gráfica da correlação entre a fração de excreção de fósforo dosado (FePO ₄ %) dosada em urina de 24 horas e a proteinúria de 24 horas (mg/24h.).	95
Figura 32. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{NGAL}/U_{creat}) e a dosagem de ácido úrico sérico (mg/dL).	96
Figura 33. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{NGAL}/U_{creat}) e a fração de excreção de ácido úrico (%).	97
Figura 34. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{NGAL}/U_{creat}) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{prot}/U_{creat}).	98

LISTA DE ABREVIATURAS

TDF	Fumarato Diisoproxil de Tenofovir
NGAL	Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos
NAG	N-acetyl-D-glucosaminidase
HBV	Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
RBP	Proteína ligadora do retinol
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease Study
CG	<i>Cockcroft-Gault equations</i>
FS	<i>Síndrome de Fanconi</i>
OAT	<i>Transportadores de Ânions Orgânicos</i>
MRP	<i>Proteína de Resistência a Multidroga</i>
LRA	<i>Lesão Renal Aguda</i>
IRC	<i>Insuficiência renal Crônica</i>
TFGe	<i>Taxa de Filtração Glomerular estimada</i>
FGF 23	<i>Fator de crescimento de fibroblastos 23</i>
PPAR-γ	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ
Pi	Fósforo
FePO4	Fração de Excreção de Fósforo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
U_{alb}/U_{creat}	Índice albumina por creatinina urinária em amostra isolada de urina
U_{prot}/U_{creat}	Índice proteína por creatinina urinária em amostra isolada de urina
FeAU	
UNGAL/Ucreat	Fração de excreção de ácido úrico Índice NGAL por creatinina urinária em amostra isolada de urina

TPR	Túbulo Proximal Renal
HAART	Terapia antirretroviral de alta atividade
HBeAg	Antígeno “e” do VHB
HBVDNA	Ácido desoxirribonucleico do VHB
antiHBe	Anticorpo “e” do VHB
DNA	Ácido desoxirribonucleico
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto–USP

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 História natural da infecção pelo vírus da hepatite B	21
1.2 O vírus da hepatite B.....	21
1.3 Fases da infecção pelo vírus da hepatite B.....	22
1.4 Tratamento da hepatite B.....	23
1.5 Indivíduos virgens de tratamento, cirróticos, com HBeAg reagente ou não reagente	23
1.6 Indivíduos virgens de tratamento, com HBeAg reagente cirróticos	23
1.7 Indivíduos virgens de tratamento, com HBeAg reagente, não cirróticos	24
1.8 Tenofovir e nefrotoxicidade	24
1.9 Biomarcadores de lesão renal.....	31
2 OBJETIVOS.....	37
2.1 Objetivos gerais.....	38
2.2 Objetivos específicos	38
3 PACIENTES E MÉTODOS	39
3.1 Pacientes e Métodos	40
3.2 Delineamento do Estudo	40
3.3 Critérios de Exclusão.....	40
3.4 Grupo de Pacientes.....	40
3.5 Tempo de seguimento dos pacientes.....	41
3.6 Dados clínicos	41
3.7 Métodos.....	42
3.7.1 Avaliação Bioquímica	42
3.7.2 Metodologia para realização das dosagens dos exames bioquímicos	44
3.7.3 Análise Estatística	46
4 RESULTADOS.....	48
4.1 Variáveis clínicas.....	49
4.2 Variáveis laboratoriais	51
4.2.1 Avaliação da filtração glomerular	54

4.2.2 Ocorrência de lesão renal aguda	58
4.2.3 Avaliação da barreira de filtração glomerular	60
4.2.4 Avaliação da função tubular	64
4.3 Estudo das correlações entre as variáveis laboratoriais estudadas	70
 5 DISCUSSÃO	100
 6 CONCLUSÃO	121
 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
 8 APÊNDICES	134
APÊNDICE A – Valores de referências e metodologias dos exames laboratoriais.....	135
APÊNDICE B – Termo de consentimento informado	136
APÊNDICE C – Termo de pagamento	139

1 INTRODUÇÃO

1.1 História natural da infecção pelo vírus da hepatite B

A infecção pelo vírus da Hepatite B (VHB) representa um problema de saúde pública mundial. Acredita-se que existam cerca de 360 milhões de portadores do VHB no mundo com mais de um milhão de mortes por ano atribuídas às complicações decorrentes da infecção pelo VHB, além de ser responsável por cerca 5-10% dos casos de transplante de fígado (European Association For The Study Of The, 2009).

A história natural da infecção pelo VHB é muito variável, indo desde um estado de portador inativo à hepatite crônica e progressiva, até cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Sabidamente, há fatores relacionados aos vírus, ao ambiente e ao hospedeiro que influenciam na evolução natural da doença, tais como: idade na aquisição da infecção, sexo, ingestão alcoólica abusiva, presença de esteatose hepática, sobrepeso e obesidade, co-infecção com o HIV e resposta imunológica do hospedeiro (European Association For The Study Of The, 2009).

1.2 O vírus da hepatite B

O VHB pertence à família *hepadnaviridae*, com DNA circular e parcialmente duplicado com cerca 3.200 pares de bases, sendo identificados oito genótipos com denominação das letras: A, B, C, D, E, F, G e H, além de vinte e quatro subtipos, que se distinguem pela sequência de nucleotídeos no genoma e é variável de acordo com a distribuição epidemiológica. No Brasil, o genótipo A é o mais prevalente e os genótipos B, C, D, E e F já foram relatados. Sua distribuição varia entre regiões brasileiras, sugerindo uma influência do padrão de migração para cada região (Alcalde et al., 2009).

1.3 Fases da infecção pelo vírus da hepatite B

1ª Fase: Imunotolerância

Caracterizada por elevada replicação viral, sem evidências de agressão hepatocelular. As aminotransferases estão normais ou próximas do normal e há pouca atividade necroinflamatória no fígado. Nesta fase não há indicação de tratamento com as medicações disponíveis até o momento.

2ª Fase: *Imunoclearance*

Esgota-se a tolerância imunológica, há agressão dos hepatócitos com replicação viral, com elevação de aminotransferases e há indicação de tratamento para pacientes HBeAg positivo.

3ª Fase: Portador inativo

Níveis indetectáveis ou muito baixos de ácido desoxirribonucleico do VHB (HBVDNA), normalização das aminotransferases e soroconversão do HBeAg para antiHBe. Há boa resposta imunológica do hospedeiro ao VHB, porém não é suficiente para eliminá-lo.

4ª Fase: Reativação

Reativação da replicação viral, que pode ser decorrente de vários motivos: uso de drogas imunossupressoras, quimioterapia, mutações virais, dentre outras.

1.4 Tratamento da hepatite B

O tratamento da hepatite B objetiva diminuir o risco de progressão da doença hepática e suas complicações como cirrose e carcinoma hepatocelular, para tanto, pretende-se com este negatificação dos marcadores de replicação viral.

Recentemente, o Ministério da Saúde publicou nova portaria com diretrizes para o tratamento da hepatite B no território brasileiro e abaixo algumas dessas novas diretrizes serão destacadas (Saúde, 2011).

1.5 Indivíduos virgens de tratamento, cirróticos, com HBeAg reagente ou não reagente

Os critérios de indicação de tratamento para os cirróticos são: pacientes HBeAg reagentes tem indicação de tratamento, independentemente das aminotransferases, HBV-DNA ou classificação de Child-Pugh; pacientes HBeAg não reagentes, com cirrose Child-Pugh B e C tem indicação de tratamento, independentemente da condição do HBeAg, da carga viral e das aminotransferases e pacientes HBeAg não reagentes, com cirrose Child-Pugh A, tem indicação de tratamento quando as aminotransferases estiverem alteradas e/ou HBV-DNA $\geq 10^3$ cópias/mL (200UI/mL).

1.6 Indivíduos virgens de tratamento, com HBeAg reagente cirróticos

Pacientes que apresentem aminotransferases alteradas, independentemente de outros critérios, ou pacientes com biopsias que apresentem atividade inflamatória e fibrose $\geq A2$ e/ou $\geq F2$, independentemente das aminotransferases são candidatos ao tratamento com interferon-alfa.

1.7 Indivíduos virgens de tratamento, com HBeAg reagente, não cirróticos

Os critérios de indicação de tratamento neste cenário são:

- aminotransferases normais (HBV-DNA $\geq 10^4$ cópias/mL ou ≥ 2.000 UI/mL independentemente da biópsia hepática;
- aminotransferases alteradas [HBV-DNA $\geq 10^3$ (ou ≥ 200 UI/mL) e $< 10^4$ cópias/mL ou < 2.000 UI/mL e biópsia demonstrando atividade inflamatória e/ou fibrose $\geq A2$ e/ou $\geq F2$ ou HBV-DNA $\geq 10^4$ cópias/mL.

Nessa situação a portaria ministerial vigente indica o tenofovir (TDF) como 1ª escolha em pacientes virgens de tratamento, devido a suas características de elevada potência de supressão viral e alta barreira genética de resistência, desde que a função renal esteja preservada e inexistam comorbidades que possam determinar algum grau de disfunção renal.

Nas situações em que houver contraindicação ao uso de tenofovir ou quando se tenha desenvolvido alteração da função renal determinada por seu uso, deve ser indicado o tratamento com entecavir (Alcalde et al., 2009).

1.8 Tenofovir e nefrotoxicidade

Tenofovir Disoproxil Fumarato (TDF) é um análogo da adenosine 5-monofosfato, esta pró-droga é primeiramente convertida por hidrólise no meio intracelular em tenofovir droga, sendo subsequentemente fosforilado em difosfato de tenofovir, configurando-se assim em droga ativa. Classificado como inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleotídeo, sua interação com o RNA do vírus da imunodeficiência humana (HIV), dependente da enzima DNA polimerase, resulta na inibição da replicação viral (Gupta et al., 2005). O tenofovir inibe a replicação do vírus da hepatite B por inibição da VHB polimerase (Lok and McMahon, 2007).

Tenofovir é um nucleotídeo inibidor da transcriptase reversa amplamente utilizado como uma droga antirretroviral efetiva. Embora estudos randomizados controlados tenham mostrado tratar-se de droga segura para uso na prática clínica (Nelson et al., 2007), vários relatos de caso tem demonstrado haver potencial nefrotoxicidade desta droga em pacientes que a usam para tratamento de infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (Peyriere et al., 2004, Rifkin and Perazella, 2004). Estudos recentes de coorte relataram que a disfunção renal ocorre em menos que 1% dos pacientes em uso da droga (Jones et al., 2004), mas a verdadeira extensão deste evento adverso não é conhecida.

O tenofovir pertence à família de nucleotídeos inibidores da transcriptase reversa que inclui o cidofovir e o adenofovir. Estas duas drogas apresentam nefrotoxicidade caracterizada por lesão de células do túbulo renal proximal e insuficiência renal aguda. Estes mesmos efeitos nefrotóxicos não são esperados para o uso do tenofovir, uma vez que trabalhos experimentais *in vitro* demonstraram haver menor interação desta droga com transportadores tubulares e menor toxicidade para o DNA mitocondrial (Tanji et al., 2001). Além disso, a droga mostrou-se segura em estudos clínicos.

O TDF foi aprovado pelo FDA para o uso em pacientes portadores de HIV em 2001 e em 2008, aprovado para o uso em pacientes portadores de hepatite B (Belongia et al., 2008). Desde então, existe o interesse no estudo desta medicação e seus efeitos adversos. O aumento da experiência com seu uso em tratamento de pacientes portadores de HIV tem demonstrado haver risco de nefrotoxicidade com esta classe de medicação, especialmente após relatos da ocorrência de insuficiência renal, diabetes insipidus e lesão tubular proximal, com características semelhantes à Síndrome de Fanconi, secundários ao uso de tenofovir (Izzedine et al., 2003).

A definição clássica da Síndrome de Fanconi foi inicialmente descrita por Lignac em 1924 e definida por Fanconi em 1936. A lesão no túbulo proximal renal apresenta-se como uma síndrome clínica caracterizada por pelo uma das alterações: glicosúria em não-diabéticos, hiperaminoacidúria ou hiperfosfatúria, acompanhados ou não de evidências de outras anormalidades no TCP, tais como: fração de reabsorção tubular de fósforo menor do que 82%; excreção total de fósforo maior que 1.200 mg/dia; hiperaminoacidúria (qualquer aminoácido na urina exceto histidina, glicina e serina); β 2-microglobulinúria urinária maior que 1 mg/dia; fração de excreção de ácido úrico maior que 15% e acidose tubular renal proximal (Roth et al., 1981, Lignac, 1924, Fanconi, 1931, Fanconi, 1936, Rodriguez-Novoa et al., 2009). Em estudo conduzido por Wanner et. al, encontrou-se que a síndrome de Fanconi se desenvolveu após dois anos do uso de TDF em pacientes portadores de HIV. Neste mesmo estudo alguns pacientes adquiriram concomitantemente quadro de osteoporose (Wanner et al., 2009).

Estudo publicado em 2002 por Verhelst et al., tornou-se conhecido por ser o primeiro relato de nefrotoxicidade ao TDF, os autores descrevem um caso de Síndrome de Fanconi e logo após, vários outros relatos foram publicados (Verhelst et al., 2002). Em 2004 Peyriere e colaboradores reportaram mais sete casos de tubulopatia proximal renal secundária ao uso de TDF suscitando interesse dos estudiosos mundiais sobre qual a magnitude desta nefrotoxicidade e quais seriam os fatores de risco associados, assim como seu mecanismo de ação no desenvolvimento da nefrotoxicidade especialmente no túbulo proximal renal (TPR) (Peyriere et al., 2004). Em estudo sobre a nefrotoxicidade do esquema terapêutico HAART, 14% dos casos de lesão renal aguda ocorreram somente após três meses do início do esquema HAART e foram atribuídos às medicações (Kalyesubula and

Perazella). Além disso, em cerca de 0,3 a 2% dos casos, os pacientes desenvolveram um quadro de Síndrome de Fanconi demonstrando que esta droga possui toxicidade tubular. Neste caso, a toxicidade do TDF ocorre no túbulo proximal renal, por ação direta ou depleção do DNA mitocondrial. Dentre as consequências clínicas da toxicidade da célula tubular proximal ao tenofovir podemos citar a diminuição da reabsorção de proteínas de baixo peso molecular, como a proteína carreadora da vitamina D (PAD) e β 2-microglobulina, envolvidos também no sistema megalina-cubilina (MCS), diminuição da reabsorção de glicose através do cotransportador sódio glicose 2 (SGLT2), aminoácidos, fosfato e ácido úrico, além de interferir na síntese de calcitriol pela diminuição da ação α 1-hidroxilase que converte a 25 (OH) vitamina D em vitamina D ativa. Assim, pode-se observar em alguns casos: hipofosfatemia, hipouricemia, acidose tubular renal e insuficiência de vitamina D. Pode ocorrer até mesmo osteomalacia como consequência direta da diminuição tanto da síntese de calcitriol quanto de perdas urinárias de 25 (OH) vitamina D. Persistindo a lesão tubular pode-se evoluir para a perda de células tubulares e eventualmente a diminuição da filtração glomerular e insuficiência renal crônica (Fernandez-Fernandez et al., 2011). Após a suspensão da droga espera-se a reversão total ou parcial da lesão renal (Izzedine et al., 2004) (Wever et al., 2010). Outros estudos atribuem ao TDF nefrotoxicidade em cerca de 0,5 a 2,2% dos casos, incluindo outras alterações tubulares, tais como, diabetes insipidus nefrogênico, hipocalcemia grave e lesão renal aguda (Gupta, 2008) (Coca and Perazella, 2002) (Labarga et al., 2009).

A grande maioria dos estudos tiveram como foco os pacientes portadores do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Como o início do uso de tenofovir em pacientes portadores de hepatite B é mais recente, há poucos trabalhos avaliando o

potencial de nefrotoxicidade desta droga neste grupo de pacientes. Atualmente, as pesquisas sobre o uso de TDF em pacientes portadores de hepatite B vêm se tornando mais frequentes na busca de evidências sobre a hipótese de que esta medicação possa ter os mesmos efeitos adversos e na mesma frequência neste grupo de pacientes comparativamente aos pacientes portadores do HIV (Mauss et al.). Existe uma diferença que pode ter relevância para o desenvolvimento de nefrotoxicidade comparando-se pacientes que utilizam o tenofovir para tratamento do HIV e pacientes que o utilizam para tratamento da hepatite B. O tenofovir é primariamente excretado pelos rins. Seu *clearance* ocorre através tanto da filtração glomerular quanto da secreção tubular ativa. Existem várias medicações que competem com sua secreção tubular, como por exemplo, aciclovir, ganciclovir e outras drogas que são de uso frequente em pacientes portadores de HIV. A administração concomitante destas drogas pode levar a aumento dos níveis séricos de tenofovir podendo ser um fator potencial para o aumento da nefrotoxicidade do tenofovir uma vez que estudos em modelos animais demonstraram que a nefrotoxicidade está relacionada com a dose utilizada e com a duração da terapia. Além disso, o tenofovir inibe o CYP1A2, e os níveis da droga podem estar aumentados quando são usados outros antiretrovirais que utilizam este mesmo citocromo, como o ritonavir, a didanosina e o indinavir (Rifkin and Perazella, 2004). A possibilidade de que nos pacientes portadores de HIV a nefrotoxicidade ao TDF esteja relacionada à associação com outras drogas nefrotóxicas é corroborada por estudos que demonstraram que a associação de TDF com os inibidores de proteases (por exemplo o ritonavir) elevam o risco de nefrotoxicidade (Zimmermann et al., 2006). Também existem relatos sugerindo que a combinação de drogas

Lopinavir, ritonavir e TDF possa diminuir o *clearance* de TDF, contribuindo para o aumento de seu potencial nefrotóxico (Kiser et al., 2008).

Uma meta-análise envolvendo 17 estudos incluindo 09 estudos randomizados controlados, sobre lesão renal aguda em pacientes portadores de HIV em uso de TDF, mostrou que existe um risco maior de diminuição na função renal (queda de 3,92 ml/min) nos pacientes usando a medicação em relação a um grupo controle sem uso de TDF. Nesta, também foram observados, maior risco de desenvolvimento de lesão renal aguda (Cooper et al., 2010, Gallant and Deresinski, 2003). Também existem trabalhos que mostram que, apesar da ausência de proteinúria, já existe evidência de nefrotoxicidade. Isto se explica pelo fato da toxicidade da droga acometer primariamente os túbulos proximais, sem comprometimento glomerular. Hall e *col.* estudaram pacientes infectados pelo HIV, e observaram que aqueles em uso de tenofovir, comparativamente com outros grupos de pacientes sem uso desta droga, desenvolveram lesão tubular caracterizada pelo aumento da excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular [proteína ligadora do retinol e n-acetil- β -(D)-glucosaminidase (NAG)], entretanto não houve diferenças significantes na excreção urinária de proteína total ou de albumina. Rifkin *et al.* publicaram uma série de 5 casos de pacientes em uso de tenofovir para tratamento de HIV. Os autores evidenciaram o surgimento de disfunção tubular renal após 7 a 18 meses do início do uso de 300 mg ao dia de tenofovir. A biópsia de 4 casos mostrou necrose tubular aguda limitada às células dos túbulos proximais (Rifkin and Perazella, 2004).

Além da lesão tubular aguda, alguns trabalhos avaliaram a redução da taxa de filtração glomerular (TFG) em pacientes em uso de tenofovir, Tan e *col.* avaliaram estudo coorte com 39 pacientes, durante um tempo médio de 251 semanas, que eram co-infectados pelo HIV e pelo VHB e que iniciaram uso de tenofovir 245 mg/dia (Tan et

al., 2009). Os autores observaram que neste período ocorreu um declínio de 22,19 mL/min/1,73 m² na taxa de filtração glomerular (TFG), comparado com o valor basal (antes do início do tenofovir). Três pacientes interromperam o uso por piora da função renal (queda média da TFG de 36 mL/min /1,73 m²) e nenhum paciente apresentou evidência de aminoacidúria e hipofosfatemia consistente com a síndrome de Fanconi, mas esta avaliação pode ter sido prejudicada pela natureza retrospectiva da análise dos dados. Estes autores não demonstraram nenhuma diferença na redução da TFG em pacientes que concomitantemente usavam inibidores de protease. Eles discutem o mecanismo responsável pelo declínio da TFG uma vez que foi observado por Blass e colaboradores que um paciente portador de cirrose alcoólica desenvolveu declínio da função renal mais rápido que um paciente portador de cirrose hepática de provável etiologia medicamentosa (Blaas et al., 2006). Estes autores especulam a hipótese de que possam estar envolvidos mecanismos hemodinâmicos semelhantes àqueles que ocorrem na síndrome hepatorenal.

Em metanálise recente Cooper *et al* estudaram, em pacientes infectados por HIV que faziam uso de tenofovir, a segurança relacionada à função renal. Estes autores encontraram diferença pequena, porém significativa, no risco de desenvolvimento de injúria renal aguda associado ao uso de tenofovir, além de significativa perda de função renal avaliada pela taxa de filtração glomerular (Cooper et al., 2010).

A estratégia adequada para a prevenção da nefrotoxicidade associada ao esquema terapêutico antirretroviral, extensamente estudado nos pacientes portadores do HIV, inicia-se com a identificação de fatores de risco para nefropatia, destacando-se os clássicos, tais como *diabetes mellitus* e hipertensão arterial. Além disso, sugere-se a investigação sistemática de causas de doença/lesão renal tais

como: uso crônico de antiinflamatórios, hiperuricemia, glomerulopatias primárias e secundárias (como por exemplo, a glomerulopatia membranosa associada ao vírus da hepatite B) co-infecções, história familiar de doença renal crônica, rins policísticos e o uso de outras drogas nefrotóxicas associadas (aminoglicosídeos, pentamidina, aciclovir, foscarnet, anfotericina, adefovir, cidofovir, sulfametoxazol-trimetropim, rifampicina, didanosina, inibidores da integrase e zidovudina) (Lai et al., 1991). Neste contexto fica evidente que o espectro de possibilidades para o desenvolvimento de lesão renal associado a outras causas, além da própria infecção viral, é muito grande e que o diagnóstico da nefrotoxicidade aos medicamentos torna-se um diagnóstico de exclusão.

Embora exista recomendação por alguns autores de que a função renal seja monitorada regularmente em pacientes que estão em uso de tenofovir, o tempo de uso da droga para que ocorra a redução da filtração glomerular não é bem conhecido (Madeddu et al., 2006). Não há estudos prospectivos que definam exatamente o potencial de nefrotoxicidade em pacientes portadores de Hepatite B, que geralmente utilizam apenas o tenofovir para seu tratamento. Entretanto a identificação precoce de lesão renal é importante para avaliação da necessidade de descontinuidade da droga e redução do risco de progressão para doença renal crônica (Wanner et al., 2009).

1.9 Biomarcadores de lesão renal

Função tubular renal

O estudo da excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular tem sido utilizado para avaliação da função tubular em pacientes portadores de lesão renal

aguda (Liangos et al., 2007, Westhuyzen et al., 2003) bem como em outras nefropatias crônicas (Romão et al., 2009). A barreira de filtração glomerular normal tem a propriedade de impedir a passagem, do compartimento intracapilar para o espaço de Bowman de proteínas de alto peso molecular, como a IgG (raio molecular: 55 Å), e aquelas com peso molecular intermediário, como a albumina (raio molecular: 36 Å), devido às restrições pelo tamanho no primeiro caso, e pela carga no segundo. Proteínas plasmáticas com baixo peso molecular (inferior a 40.000 D e raio menor que 30 Å) praticamente não sofrem restrições pela barreira de filtração glomerular e acompanham o ultrafiltrado, alcançando o espaço urinário de Bowman e o túbulo proximal. Uma vez no túbulo proximal, as proteínas de baixo peso molecular e peptídeos filtrados são totalmente reabsorvidos pelas células epiteliais daquele segmento do nefron e praticamente não são detectadas na urina. O mecanismo de absorção envolve a sua ligação à membrana da borda em escova e endocitose, possivelmente mediado por receptor. Um sítio de ligação comum para albumina e proteína de baixo peso molecular nas células do túbulo proximal vem sendo sugerido (Christensen et al., 1998, Thakkar et al., 1998). Em condições normais, os túbulos reabsorvem de 90% a 95% de toda albumina filtrada e pelo menos 99% das proteínas de baixo peso molecular filtradas (Maack et al., 1979). Na presença de lesão do túbulo proximal, as proteínas de baixo peso molecular deixam de ser reabsorvidas e passam a ser identificadas na urina.

Outra situação em que proteínas aparecem na urina decorrente de lesões agudas das células do túbulo proximal ocorre quando proteínas intracelulares são liberadas no lúmen tubular. Dentre estas se destaca a N-acetil-β-(D)-glucosaminidase (NAG). A NAG é uma enzima lisossomal presente predominantemente nas células do túbulo proximal (Price, 1992) (Guder and

Hofmann, 1992). A utilidade da atividade urinária desta enzima como marcador de lesão renal aguda foi descrita há mais de 30 anos (Wellwood et al., 1975) e ela é atualmente considerada um marcador precoce na detecção de lesão renal aguda (Ascione et al., 1999) (Westhuyzen et al., 2003). O aumento da atividade urinária desta enzima tem sensibilidade e razoável especificidade para avaliação de lesão da célula tubular proximal. Devido ao seu peso molecular relativamente alto (130KD) pode-se excluir que tenha ocorrido sua filtração pelo glomérulo (Dittrich et al., 2000) e, portanto seu aparecimento na urina pode ser considerado decorrente da liberação pela célula tubular lesada.

Outra proteína de grande interesse é a *neutrophil gelatinase associated lipocalin* (NGAL). A NGAL é uma proteína de baixo peso molecular que vem sendo amplamente estudada como biomarcador precoce de IRA. A NGAL foi originalmente identificada como uma proteína covalente de 25kDa ligada a gelatinase de neutrófilos. Normalmente ela se expressa em níveis muito baixos em tecidos humanos, como rins, pulmões, estômago e cólon. Quando ocorre lesão do epitélio tubular renal a expressão do gene cujo produto protéico é a NGAL é acentuadamente induzida. A NGAL é identificada como sendo produto de um dos 7 genes cuja expressão está aumentada em mais que 10 vezes nas primeiras horas após injúria renal isquêmica em modelo animal (Xu and Venge, 2000, Mishra et al., 2003). Em humanos, a NGAL já foi estudada como marcador precoce de IRA em pacientes críticos, em transplante hepático, em nefropatia por contraste radiológico e em pacientes após-traumatismos. Em pacientes pediátricos submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, a elevação dos níveis urinários da NGAL duas horas após a cirurgia se correlacionou com alta probabilidade de desenvolvimento de insuficiência renal aguda nos dois dias seguintes ao

procedimento. Em adultos com IRA o aumento das concentrações de NGAL no soro e na urina se correlaciona com o aumento da creatinina sérica. A dosagem da NGAL pode ser feita por ELISA, tanto no soro quanto na urina (Mishra et al., 2005) (Lisowska-Myjak, 2010) (Siew et al., 2011). A NGAL urinária pode variar conforme descrições na literatura entre 10 µg, até mais de 100 µg e pode ser utilizada para identificar pacientes que poderão potencialmente desenvolver LRA. Alguns autores sugerem que o valor de NGAL que melhor se correlaciona com LRA independentemente da etiologia seria acima de 150 µg.

Filtração glomerular

A utilização da dosagem sérica de creatinina para avaliação da redução da TFG, tanto em lesões renais agudas, quanto em doença renal crônica sofre uma série de limitações. Tais limitações incluem a existência de vários fatores que influenciam os níveis séricos de creatinina como a discrepância entre o *clearance* de creatinina e a real taxa de filtração glomerular (TFG) e o tempo decorrente entre a injúria renal aguda e o aumento da concentração sérica de creatinina. Além disso, a produção e liberação da creatinina para o plasma é muito variável: diferenças na idade, sexo e massa muscular podem resultar em variações significativas nas concentrações de creatinina sérica. Soma-se ainda o fato da creatinina sofrer secreção tubular que contribui em 10 a 40% do seu *clearance*. Recentemente, novos biomarcadores renais, por exemplo, a cistatina C e a *neutrophil gelatinase associated lipocalin* (NGAL) têm sido testadas clinicamente e demonstrado superioridade em relação à creatinina na identificação precoce da IRA (Uchino, 2005).

A cistatina C é uma proteína de baixo peso molecular (13kD) constantemente produzida e secretada por todas as células humanas nucleadas. A cistatina C é

livremente filtrada por todos os glomérulos, reabsorvida e catabolizada pelas células do túbulo proximal e não sofre nenhum tipo de secreção tubular (Coll et al., 2000). Seus níveis séricos independem da idade, gênero, raça, massa corporal e nível de hidratação e pode ser facilmente dosada no soro por imunonefelometria (Royakkers et al., 2007). Por estas características ela pode ser usada para avaliar a taxa de filtração glomerular e vários estudos foram realizados para avaliar sua acurácia, sugerindo que a cistatina C é um marcador endógeno de filtração glomerular superior à creatinina, especialmente para detecção de pequenas alterações na taxa de filtração glomerular (Dharnidharka et al., 2002). A cistatina C também pode ser utilizada como biomarcador de lesão renal aguda, demonstrando superioridade em relação à creatinina sérica. Sua meia vida mais curta comparada à creatinina determina estabilidade mais precoce e seu aumento pode ser detectado um a dois dias antes do aumento da creatinina (Sjostrom et al., 2004, Royakkers et al., 2007, Herget-Rosenthal et al., 2004).

Barreira de filtração glomerular

A maioria dos estudos conduzidos para investigar a nefrotoxicidade atribuída ao TDF utiliza-se como método inicial a detecção de proteinúria através do teste por “dipstik” na urina (o que detecta especialmente albuminúria) e a dosagem de creatinina sérica associados à estimativa da filtração glomerular com as fórmulas usualmente empregadas na prática clínica desta forma, priorizando primariamente a detecção de lesão glomerular mas, não necessariamente, de lesão tubular especialmente nas suas formas iniciais ou leves.

A proteinúria de origem tubular é detectada com maior sensibilidade através da dosagem urinária das proteínas de baixo peso molecular, como por exemplo, a

RBP e enzimas como a NAG e NGAL que são consideradas biomarcadores de lesão do Túbulo Proximal Renal (TPR) (Norden et al., 2000).

Para avaliação da excreção urinária de proteínas em geral é utilizada a medida da proteinúria em urina de 24 horas. Entretanto, o uso de amostra isolada de urina para estimar a proteinúria de 24 horas vem sendo utilizada através do índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ginsberg et al., 1983).

Romão e colaboradores quantificaram a excreção urinária da proteína de baixo peso molecular α 1-microglobulina (α 1- μ g) em amostra isolada de urina de pacientes com glomerulopatias, tanto pelo índice concentração urinária de α 1- μ g/concentração urinária de creatinina quanto pela fração de excreção de α 1- μ g. Estes dois métodos mostraram forte correlação positiva, sugerindo que ambas as formas de apresentação da quantificação da excreção urinária de proteína de baixo peso molecular possa ser utilizada (Romão, 2008).

HIPÓTESE: Este estudo se baseia na hipótese de que pacientes com hepatite B possam desenvolver nefrotoxicidade pelo uso de tenofovir. A lesão renal pode manifestar-se como lesão do túbulo proximal renal, como IRA nos casos mais graves ou acarretar em redução lenta e progressiva da taxa de filtração glomerular.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar prospectivamente a incidência de lesão renal pelo uso de tenofovir em pacientes portadores de hepatite B.

2.2 Objetivos específicos

O presente estudo tem como objetivos específicos:

- Avaliar incidência de lesão do túbulo proximal renal através da avaliação da excreção urinária de ácido úrico, excreção urinária de fósforo e da excreção urinária da proteína de baixo peso molecular lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL);
- Avaliar a incidência de redução crônica ou aguda (LRA) da taxa de filtração glomerular através da dosagem sérica de creatinina e cistatina C; *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e *clearance* de creatinina estimado pelas fórmulas: MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) e CKD-EPI cistatina C.

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Pacientes e Métodos

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP (processo HCRP nº 6347/2010).

3.2 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo e transversal, que foi realizado através de coleta de dados clínicos e laboratoriais de pacientes assistidos no Ambulatório de Hepatites da Divisão de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). Foram incluídos os pacientes portadores de Hepatite B que tiveram indicação de iniciar o uso de TDF.

A indicação e prescrição do TDF foram realizadas conforme o protocolo adotado pela equipe da gastroenterologia. A coleta de dados do estudo teve início em março de 2010 e término em abril de 2014.

3.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes que se apresentaram com idade inferior a 18 anos ou superior a 75 anos, gestantes, pacientes diabéticos, cirróticos, pacientes portadores de doença renal crônica de qualquer etiologia e pacientes que não assinaram o termo de consentimento pós-informação.

3.4 Grupo de Pacientes

Todos pacientes apresentavam idade superior a 18 anos e inferior a 75 anos e desconheciam ser portadores de diabetes melito, cirrose hepática, síndrome da imunodeficiência adquirida ou doença renal crônica de qualquer etiologia.

As pacientes do sexo feminino negavam gestação. Para confirmação destas informações foram revisados os prontuários médicos dos pacientes antes de sua

inclusão. Pacientes que não se enquadravam nestes critérios foram excluídos na fase de triagem. Após identificação do paciente, o mesmo foi convidado a participar da pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi aplicado.

Após assinatura do TCLE cada paciente realizou a coleta inicial (basal) de amostras biológicas (sangue e urina), antes do início do TDF. Após o início da droga foram feitas coletas em cada semestre consecutivamente. A dose utilizada em todos os pacientes foi de 300mg/dia. A decisão sobre o manejo clínico do paciente foi feita pela equipe médica da Divisão de Gastroenterologia de modo independente ao andamento da pesquisa. Os médicos assistentes tinham acesso aos resultados laboratoriais dos exames realizados de rotina no HCFMRP-USP.

3.5 Tempo de seguimento dos pacientes

O tempo mínimo de seguimento foi de seis meses e o máximo de seguimento foi 48 meses.

3.6 Dados clínicos

As informações iniciais foram coletadas a partir do prontuário do paciente. Informações adicionais foram coletadas pelo pesquisador em entrevista com o paciente. As seguintes variáveis foram analisadas:

- nome, registro, data de nascimento, sexo, cor de pele (variáveis de identificação do paciente que constavam no prontuário médico fornecido pelo HCFMRP-USP);
- peso [quilogramas (kg)] e altura [metros (m)]: variável obtida toda vez que o paciente retornou aos atendimentos médicos;
- fatores de risco para adquirir a infecção pelo VHB. Consideramos como fatores de risco conhecidos para transmissão: transfusão sanguínea, acidentes com

objetos pérfuro-cortantes, uso de drogas ilícitas injetáveis ou inalatórias com compartilhamento do material utilizado, uso de fortificantes injetáveis em grupo ou em farmácia com material não descartável;

- comorbidade: investigada história médica de patologias e condição clínica associadas, particularmente (hemofilia, talassemia, anemia falciforme, infecção pelo HIV, insuficiência renal crônica, hepatite C, dislipidemia, diabetes mellitus, hiper ou hipotireoidismo, porfiria cutânea tardia, crioglobulinemia e glomerulonefrite), muitas das quais eram critérios de exclusão do estudo previamente descritas;

- idade no momento da infecção;

- tempo de infecção (em anos);

- IMC - calculado a partir da fórmula: $\text{peso (kg)} / [\text{altura (m)}]^2$;

- as variáveis relacionadas à biologia molecular do VHB (carga viral) e exames laboratoriais: gama GT, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), glicemia, albumina;

- histologia hepática: variável obtida através dos laudos de biópsia hepática previamente realizada conforme a indicação, seguindo critérios estabelecidos em consensos nacionais e internacionais na rotina do Ambulatório de Hepatites do HCFMRP-USP. Não foi realizada nenhuma biópsia hepática em função do estudo.

3.7 Métodos

3.7.1 Avaliação Bioquímica

A avaliação laboratorial foi feita através da coleta de sangue e urina feitas antes do início do uso do TDF e, posteriormente à sua introdução, semestralmente durante 2 anos.

Os seguintes exames laboratoriais foram realizados de acordo com a rotina do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMRP-USP: Urina I, proteinúria de 24 horas, creatinina sérica, uricosúria em urina de 24 horas, gasometria venosa, sódio, potássio, cálcio sérico, fósforo, ALT, AST, microalbuminúria em urina de 12 horas, *clearance*/fração de excreção de fósforo em urina de 24 horas, *clearance* de creatinina, hemograma, dosagens séricas de creatinina, albumina e proteínas totais, glicemia de jejum, sorologias de HIV, vírus B da hepatite e vírus C da hepatite.

Amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas por 15 minutos a 3.500 rpm, em torno de 60 minutos após sua coleta. O soro foi separado, aliquotado e armazenado a -80°C até o momento das análises. Amostras de urina, em torno de 60 minutos após sua coleta, foram alcalinizadas com NaOH 1,0 N, para atingir pH entre 7,0 e 8,0. A cada alíquota de 1,0 mL de urina foi adicionado, como estabilizante, 10,0 μL de phenylmethylsulfonyl fluoride 0,1M (0,1742g em 10 mL de álcool isopropanol) (Sigma-Aldrich Cheme GmbH, Steinheim, Germany; código P-7626) e, na seqüência, as amostras foram armazenadas a -80°C até o momento das análises.

As amostras de soro e urina foram utilizadas para realização das seguintes análises, as quais foram realizadas analisadas nos Laboratórios de Pesquisa da FMRP-USP:

- Cistatina C séricas;
- Ácido úrico sérico;
- Fósforo sérico;
- Creatinina sérica;
- Creatinina urinária;
- Microalbuminúria;

- Proteinúria;
- Fosfatúria;
- Uricosúria;
- NGAL urinária.

3.7.2 Metodologia para realização das dosagens dos exames bioquímicos

a) Creatinina: a dosagem de creatinina em amostras de soro, amostras de urina e em urina de 24h foi feita utilizando-se Kit WIENER® através do método cinético - Reação de Jaffé.

b) Microalbuminúria e proteinúria: a dosagem da albumina em amostra de urina e em urina de 12 horas foi feita utilizando-se Kit de microalbuminúria da WIENER® lab., através do método imunoturbidimétrico. A dosagem de proteínas em amostra de urina e em urina de 24 horas foi feita utilizando-se Kit de proteinúria da WIENER® lab., através do método colorimétrico.

A excreção urinária de albumina também foi avaliada pela relação da excreção urinária de albumina corrigida para a excreção urinária de creatinina, conforme o índice:

$$\text{Índice } U_{\text{alb}}/U_{\text{creat}} = \frac{\text{concentração de albumina urinária (mg/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (mg/dL)}}$$

A excreção urinária de proteínas também foi avaliada pela relação da excreção urinária de proteína total corrigida para a excreção urinária de creatinina, conforme o índice:

$$\text{Índice } U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}} = \frac{\text{concentração de proteína urinária (mg/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (mg/dL)}}$$

c) Ácido úrico: a dosagem de ácido úrico em amostras de soro e de urina foi feita utilizando-se Kit de ácido úrico da WIENER® lab (método enzimático). A fração de excreção de ácido úrico (FeAU) representa o valor percentual do ácido úrico (AU) excretado em relação ao *clearance* de creatinina e foi calculada de acordo com a fórmula seguinte:

$$\text{FeAU} = \frac{\text{concentração de AU (mg/dL)} \times \text{concentração de creatinina sérica (mg/dL)}}{100 [\text{AU sérico} \times \text{creatinina urinária (g/dL)}]}$$

Também foi calculado o índice:

$$\text{Índice } U_{\text{AU}}/U_{\text{creat}} = \frac{\text{concentração de ácido úrico urinário (mg/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (g/dL)}}$$

d) Dosagem de fósforo (Pi): O Kit da WIENER® lab para fósforo foi utilizado para a dosagem de fósforo em amostras de soro, amostras de urina e em urina de 24h (método UV). A fração de excreção do fósforo (FePO4) representa o valor percentual do fósforo excretado em relação ao *clearance* de creatinina e foi calculada de acordo com a fórmula seguinte:

$$\text{FePO4} = \frac{\text{concentração de fósforo urinário (mg/dL)} \times \text{concentração de creatinina sérica (mg/dL)}}{100 [\text{fósforo sérico} \times \text{creatinina urinária (g/dL)}]}$$

e) Dosagem de NGAL: Utilizou-se para dosagem de NGAL o Rapid ELISA Kit da BioPorto® Diagnostics (BIOPORTO Gentofte, Denmark). Trata-se de um kit de diagnóstico in vitro usado apenas para fins experimentais contendo anticorpos monoclonais anti-NGAL humana para detecção quantitativa da NGAL no soro humano, plasma, urina ou tecidos, através da técnica de ELISA. O aparelho utilizado para leitura das placas foi o Spectra Max M3. A excreção urinária da NGAL foi calculada pelo índice:

$$\text{Índice } U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}} = \frac{\text{concentração de NGAL urinária (ng/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (g/dL)}}$$

f) Dosagem de cistatina C: para a dosagem de cistatina C foram utilizados o N Latex Cystatin C da SIEMENS® (N-Latex Cistatina C, Dade Behring, Marburg, Germany). Trata-se de um kit de diagnóstico in vitro contendo reagentes para a determinação quantitativa da cistatina C no soro humano ou no plasma heparinizado, através da imunonefelometria de partículas reforçadas nos sistemas BN. Para a leitura foi utilizado o nefelômetro Siems BNII do Laboratório de Imunologia do HCFMRP-USP.

3.7.3 Análise Estatística

Os dados foram armazenados em um banco utilizando-se o software “Microsoft Office Excel 2010”. A análise descritiva dos dados foi realizada calculando-se a frequência absoluta e relativa (percentual) para as variáveis categóricas e cálculo das medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão, mínimo e máximo) de modo a caracterizar a amostra (Blair, R. Clifford, Richard A. Taylor Biostatistics for the health sciences, Pearson Educations Inc., 2013).

Para a verificação do comportamento das variáveis ao longo do tempo, foram utilizadas todas as coletas (incluindo dosagens de até 48 meses de seguimento). Utilizou-se para esta análise o modelo de regressão linear univariado e paralelamente, utilizou-se a análise dos coeficientes de determinação e não determinação (Blair; Taylor, 2013), com objetivo de verificar a influência simultânea das variáveis independentes, previamente selecionadas, de acordo com os resultados significativos da análise univariada e por dados conhecidos da literatura, sobre as variáveis com influência na progressão da lesão tubular, lesão renal aguda e crônica. Para avaliação das relações entre as variáveis utilizou-se o cálculo dos

coeficientes de correlação de *Pearson* adotou-se o seguinte procedimento: primeiramente foi avaliada a normalidade das variáveis pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Posteriormente, quando ambas as variáveis não rejeitaram a hipótese de normalidade calculou-se o coeficiente de correlação de *Pearson*; quando uma ou as duas variáveis rejeitaram a hipótese de normalidade calculou-se o coeficiente de correlação de *Spearman*. Para todas as análises citadas, foi estabelecido $\alpha=5\%$, o que equivale a considerar significativas as associações com $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Assinaram o termo de consentimento e foram incluídos no grupo de estudo 24 pacientes. Um paciente foi excluído após a análise dos exames iniciais (antes do início do uso do TNF), devido nível glicêmico elevado e ter sido feito o diagnóstico de diabetes melitus. Dois pacientes assinaram o TCLE e não compareceram para a coleta de exames. Um paciente fez a coleta inicial e perdeu o seguimento ambulatorial. Mantiveram o seguimento até o final do estudo 20 pacientes.

4.1 Variáveis clínicas

A partir da realização da história clínica, após a inclusão do paciente no estudo e da obtenção de dados do prontuário médico, as seguintes variáveis clínicas foram coletadas e estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Dados clínicos, sociais e epidemiológicos dos pacientes com hepatite B crônica em tratamento com tenofovir.

Variáveis	N (20)
Tempo de diagnóstico da hepatite B (anos)*	12 (1 - 47)
Tempo de seguimento no ambulatório HCFMRP-USP (meses)*	36 (6 - 48)
Idade (anos)*	40 (19 - 61)
Sexo	
Homens	14
Mulheres	06
Raça ^{&}	
Branços	16
Negros	03
Mulatos	01
Possíveis Fatores de risco associados à infecção pelo VHB	
Vertical/Intrafamiliar	09
Tatuagem	04
Promiscuidade sexual	01
Histologia hepática (METAVIR)	
Atividade necroinflamatória	
A1/A2/A3	09/09/00
Fibrose	
F1/F2/F3/F4	08/09/01/00
IMC (Kg/m ²)*	25 (21-30)

* valores apresentados em mediana e variação; [&] a raça foi definida conforme informação contida no prontuário do paciente.

Visando avaliar possíveis fatores de risco que pudessem predispor a lesão renal aguda ou crônica no grupo de pacientes estudado, foi investigada a presença das seguintes condições (clínica e laboratorialmente, conforme o caso): hipertensão arterial, hemofilia, talassemia, anemia falciforme, outras alterações hematológicas, dislipidemia, antecedente IRA, uso abusivo de AINES, tireoidopatia, co-infecção pelo vírus da hepatite C ou pelo HIV. Nenhum dos pacientes estudados apresentava alguma destas condições.

Não foram identificados pacientes em uso das seguintes medicações: estatina, fibrato, ácido acetil salicílico, antiinflamatórios, bloqueador do receptor de angiotensina II, inibidor da enzima de conversão de angiotensina, diurético, beta-bloqueador, bloqueador de canal de cálcio, inibidor alfa-central. Um paciente usava carbamazepina e outro usava fluoxetina. Não houve relato de uso contínuo de outros medicamentos ou de uso esporádico de medicações no decorrer do estudo.

4.2 Variáveis laboratoriais

Não se observou alterações no sedimento urinário em cada tempo do estudo.

Nenhum paciente apresentou hepatite aguda ou co-infecção viral no decorrer do estudo. A função hepática dos mesmos se manteve estável. Nenhum paciente apresentou acidose metabólica, não sendo necessária a dosagem de cloro para cálculo do *ânion gap*.

As tabelas abaixo mostram os resultados dos exames laboratoriais no decorrer do estudo. Os resultados estão expressos em média (e desvio padrão) e em mediana (e valores máximos e mínimos). **N** representa o número de pacientes que realizou a coleta em cada tempo. Embora a maior parte dos pacientes tenham

sido seguidos por pelo menos 24 meses, alguns pacientes não compareceram em uma ou mais coletas.

O período em que cada coleta foi realizada está representado nas tabelas do seguinte modo:

pré	Antes do início do TDF
1	Coleta do 1º semestre
2	Coleta do 2º semestre
3	Coleta do 3ª semestre
4	Coleta do 4º semestre

A tabela 2 e a figura 01 mostram o comportamento dos níveis glicêmicos durante o estudo. Todos os pacientes apresentaram glicemias dentro da faixa de normalidade no momento de sua inclusão. Foi observado aumento em cada ano de 2,38mg/dL no nível glicêmico ($p = 0,01$, $r = 0,07$), mas que não correspondeu ao surgimento de diabetes melito.

Tabela 2 – Glicemia de jejum em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.

	glicemia pré	glic1	glic 2	glic 3	glic 4
N	18	16	18	8	8
média	85,3	87,0	89,9	89,6	89,0
Desvio padrão	6,5	6,8	9,5	4,6	7,7
Mediana	83,5	86,5	90,0	90,0	88,0
Mínimo	74,0	77,0	69,0	81,0	80,0
Máximo	100,0	101,0	103,0	96,0	102,0

Figura 01. Representação gráfica dos valores de glicemia em jejum (mg/dL) no decorrer do tempo.

Também não foi identificada alteração significativa do peso dos indivíduos ($p = 0,75$, $R = 0,1\%$) conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3 – Peso em quilogramas do grupo de indivíduos em estudo.

	peso pré	peso 1	peso 2	peso 3	peso 4
N	20	20	18	17	17
média	73,7	74,0	75,2	74,7	73,7
Desvio padrão	9,7	10,2	9,2	10,3	10,5
Mediana	75,0	75,0	77,0	76,0	73,0
Mínimo	58,0	57,0	63,0	57,0	57,0
Máximo	88,0	91,0	90,0	90,0	90,0

4.2.1 Avaliação da filtração glomerular

A avaliação da filtração glomerular foi feita através do estudo das seguintes variáveis: creatinina sérica, cistatina C sérica, *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas, *clearance* de creatinina estimado pelas fórmulas: MDRD, CKD-EPI, CKD-EPI cystatin C, CKD-EPI creatinine-cystatin C. Os resultados estão apresentados nas tabelas 4 a 10 e na figura 02.

- **Creatinina sérica:** não foi identificado aumento significativo da creatinina no decorrer do estudo. Entretanto, houve uma tendência à significância ($p = 0,09$; $R = 2,4\%$). A cada ano, em média, houve um aumento de $0,033 \text{ mg/dL}$ na creatinina sérica. Estes achados foram corroborados pela análise da evolução do *clearance* de creatinina dosado em urina de 24h. Foi observada uma queda significativa em seus valores ($p < 0,001$; $R = 15,8\%$). A cada ano, em média, houve uma queda de $12,31 \text{ mL/min/1,73m}^2$ no *clearance* de creatinina (figura 1). Porém, quando foram utilizadas fórmulas para a estimativa da taxa de filtração glomerular, não foi observada tendência de queda da filtração glomerular: MDRD simplificada ($p = 0,11$), CKD-EPI ($p=0,14$), CKD-EPI cystatin C ($p = 0,23$), CKD-EPI creatinine-cystatin C ($p = 0,18$). Em relação à cistatina C sérica também não foi observada sua elevação no decorrer do tempo ($p=0,15$; $R = 2,4\%$).

Tabela 4 – Creatinina em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.

	creat pré	creat 1	creat 2	creat 3	creat 4
N	20	20	18	17	17
média	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9
Desvio padrão	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
Mediana	0,9	0,8	0,8	0,8	0,9
Mínimo	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4
Máximo	1,1	1,3	1,6	1,3	1,6

Tabela 5 – Cistatina C (Cistat) em mg/L do grupo de indivíduos em estudo.

	cistat pré	cistat 1	Cistat 2	Cistat 3	cistat 4
N	20	18	17	10	10
média	0,7	0,7	0,8	0,7	0,8
Desvio padrão	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2
Mediana	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8
Mínimo	0,4	0,5	0,5	0,6	0,6
Máximo	1,1	1,1	1,1	0,9	1,3

Tabela 6 – Clearance de Creatinina (CICr) em mL/min/1,73m² do grupo de indivíduos em estudo.

	CICrpré	CICr 1	CICr 2	CICr 3	CICr 4
N	15	19	19	10	11
média	152,4	119,3	113,6	130,3	98,6
Desvio padrão	43,4	28,9	26,9	26,8	38,9
Mediana	151,6	113,2	112,0	127,5	97,7
Mínimo	85,6	71,7	72,4	85,0	44,2
Máximo	220,0	164,0	182,5	166,4	176,0

Tabela 7 – Clearance de Creatinina estimado pela fórmula MDRD do grupo de indivíduos em estudo.

	MDRD pré	MDRD 1	MDRD 2	MDRD 3	MDRD 4
N	20	20	18	17	17
média	99,2	96,1	96,9	98,6	90,5
Desvio padrão	21,9	21,1	25,3	22,3	29,5
Mediana	93,0	93,0	92,5	97,0	89,0
Mínimo	63,0	56,0	42,0	59,0	46,0
Máximo	145,0	145,0	144,0	126,0	157,0

Tabela 8 – *Clearance* de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI do grupo de indivíduos em estudo.

	CKD-Epi pré	CKD-Epi 1	CKD-Epi 2	CKD-Epi 3	CKD-Epi 4
N	20	20	18	17	17
média	104,3	103,1	102,5	104,1	95,0
Desvio padrão	16,2	18,9	21,4	18,9	24,8
Mediana	105,0	105,0	103,0	111,0	101,0
Mínimo	73,0	58,0	43,0	64,0	47,0
Máximo	130,0	137,0	136,0	128,0	132,0

Tabela 9 – *Clearance* de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI *Cystatin C* do grupo de indivíduos em estudo.

	CKD-EPI Cys C pré	CKD-EPI Cystatin C 1	CKD-EPI Cystatin C 2	CKD-EPI Cystatin C 3	CKD-EPI Cystatin C 4
N	20	18	17	10	10
média	111,0	118,0	114,0	114,5	109,5
Desvio padrão	18,7	19,1	18,1	10,6	22,3
Mediana	111,0	118,0	114,0	114,5	109,5
Mínimo	68,0	66,0	67,0	92,0	55,0
Máximo	148,0	144,0	139,0	127,0	127,0

Tabela 10 – *Clearance* de Creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI Creatinine-Cystatin C (CKD-EPI-cr/cys) do grupo de indivíduos em estudo.

	CKD-EPI-cr/cys pré	CKD-EPI-cr/cys 1	CKD-EPI-cr/cys 2	CKD-EPI-cr/cys 3	CKD-EPI-cr/cys 4
N	20	18	10	10	1
média	116,0	115,0	108,0	118,5	103,5
Desvio padrão	16,7	19,8	20,0	16,3	26,9
Mediana	116,0	115,0	108,0	118,5	103,5
Mínimo	74,0	62,0	55,0	84,0	52,0
Máximo	142,0	132,0	133,0	134,0	141,0

Figura 02. Representação gráfica do *clearance* de creatinina (mL/min/1,73m²) no decorrer do tempo.

4.2.2 Ocorrência de lesão renal aguda

A ocorrência de lesão renal aguda foi feita considerando-se alterações clínicas e laboratoriais. Dois pacientes (10% da amostra estudada) interromperam o uso da medicação por lesão renal aguda, conforme descrito a seguir:

a) Paciente 1: aos 44 anos estava em uso de TDF há 10 meses, desenvolveu quadro clínico de fraqueza muscular, perda de 8 Kg de peso em 30 dias, concomitantemente às alterações laboratoriais: aumento da Fração de Excreção de Fósforo de 15 para 49%, aumento da proteinúria de 4,9 mg/24h para 232 mg/24h e redução do *clearance* de creatinina dosado de 171 mL/min/1,73m² para 85 mL/min/1,73m². Uma semana após a suspensão da droga o paciente estava assintomático e com recuperação gradativa do peso em 60 dias e da função renal (*clearance* de creatinina dosado de 152 mL/min/1,73m², proteinúria 157 mg/24h e FePO4 19%).

b) Paciente 2: aos 61 anos, em uso de TDF há 6 meses, iniciou elevação de marcadores de lesão renal, entretanto manteve-se assintomático, após 30 meses de uso da droga ainda assintomático, optou-se por interromper o uso por queda no *clearance* de creatinina de 24 horas, acompanhada das demais alterações compatíveis com lesão renal (tabela 11). O tenofovir foi suspenso havendo a necessidade da conversão da medicação, sendo prescrito entecavir.

Em ambos os casos, foram excluídas outras possíveis etiologias para a lesão renal. Os pacientes foram mantidos em seguimento. Os dados laboratoriais após interrupção da droga não foram utilizados nas análises do estudo.

Tabela 11 – Resultados clínico-laboratoriais do paciente 2 que desenvolveu lesão renal aguda.

	Pré-TDF	Coleta 1 6 meses	Coleta 2 12 meses	Coleta 3 18 meses	Coleta 4 24 meses	Coleta 5 30 meses	Coleta 6 36 meses	Coleta 7 42 meses
Peso (kg)	65	65	65	-	66	65	64	
Creatinina (mg/dL)	1,07	1,3	1,68	-	1,54	1,32	1,28	1,04
ClCr	109,7	71,7	72,4	-	71,6	61	60	86,2
MDRD	70	56	42	-	46	55	57	72
CKD-EPI	75	58	43	-	47	57	59	76
CKD-EPI Cystatin C	68	66	67	-	55	51	61	68
CKD-EPI Cr-cys	74	62	55	-	52	54	62	74
Cistatina C (mg/L)	1,1	1,13	1,11	-	1,28	1,37	1,19	1,1
Proteinúria 24h (mg/dia)	9,8	15,3	33,3	-	270,7	36,8	424	41
Microalbum (mg/dia)	1,6	21	48,5	-			54,2	1,6
U_{NGAL}/U_{Cr}	243,8	345,3	210,9	-	344,5	547,4	520,0	243,8
Fosfatemia (mg/dL)	4,2	2,8	2,9	-	3,2	2,9	3	2,8
FePO₄	2,5	2,0	1,4	-	1,9	3,2	3,1	2,5
CIPO₄(mL/min) – urina 24h	12	21,7	25	-	15,6	29,2	21,7	13,8
Uricemia (mg/dL)	6,11	5,39	4,96	-	4,90	4,39	5,27	6,11
Uricosúria (mg/24h)	344,24	360,8	375,5	-	407,55	472,44	454,48	1270
FeAU	4,8	3,9	2,3	-	3,1	5,2	4,4	4,8

4.2.3 Avaliação da barreira de filtração glomerular

Para avaliar a barreira de filtração glomerular: foram estudadas as seguintes variáveis:

- Microalbuminúria (em urina de 12h);
- Proteinúria (em urina de 24h);
- Índice $U_{alb}/U_{creat} = \frac{\text{concentração de albumina urinária (mg/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (g/dL)}}$
- Índice $U_{prot}/U_{creat} = \frac{\text{concentração de proteína urinária (mg/dL)}}{\text{concentração de creatinina urinária (g/dL)}}$

Os resultados obtidos estão apresentados nas tabelas 12 a 15 e nas figuras 3 e 4.

Não foi observado, utilizando-se modelo de regressão linear, aumento na excreção urinária de albumina (microalbuminúria de 12h) no decorrer do estudo ($p = 0,97$; $R = 0,00\%$). Entretanto houve aumento significativo na proteinúria de 24h ($p < 0,01$). Foi observado que a cada ano, houve um aumento da proteinúria, em média, de 29,09 mg/dL. A excreção urinária de proteínas, quando estudada pelas relações albumina(mg)/creatinina(g) e proteína(mg)/creatinina(g), demonstrou resultados semelhantes: não houve aumento nos valores de albumina (mg)/creatinina(g) no decorrer do tempo ($p = 0,73$; $R = 0,00\%$) e foi observado aumento na excreção renal de proteína. Observou-se aumento anual de 11,01 na relação proteína (mg)/creatinina (g) ($p < 0,01$ e $R = 4,7\%$).

Tabela 12 – Proteinúria em mg/24h do grupo de indivíduos em estudo.

	Upt 24h pré	Upt 24h 1	Upt 24h 2	Upt 24h 3	Upt 24h 4
N	14	16	18	8	10
média	30,3	74,4	146,3	113,2	131,6
Desvio padrão	56,5	92,3	97,7	88,0	71,7
Mediana	6,8	10,9	182,5	117,3	128,7
Mínimo	1,4	0,0	0,3	1,0	38,0
Máximo	196,0	221,7	274,0	279,4	270,7

Tabela 13 – Microalbuminúria (Microalb) em mcg/min (urina de 12h) do grupo de indivíduos em estudo.

	Microalb pré	Microalb 1	Microalb 2	Microalb 3	Microalb 4
N	13	10	11	5	7
média	9,7	8,7	19,2	11,3	9,0
Desvio padrão	5,9	6,9	22,5	16,4	10,1
Mediana	9,3	9,6	10,2	4,0	4,0
Mínimo	1,6	0,0	2,0	1,0	1,5
Máximo	20,1	21,0	75,0	40,3	29,5

Tabela 14 – Índice: Albumina urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (U_{alb}/U_{cr}) do grupo de indivíduos em estudo.

	U_{alb}/U_{cr} pré	U_{alb}/U_{cr} 1	U_{alb}/U_{cr} 2	U_{alb}/U_{cr} 3	U_{alb}/U_{cr} 4
N	20	20	17	10	8
média	73,5	120,5	47,5	187,6	50,9
Desvio padrão	135,8	281,7	89,5	458,2	125,7
Mediana	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo	560,4	1100,3	298,7	1545,7	383,1

Tabela 15 – Índice: Proteína urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (U_{prot}/U_{cr}) do grupo de indivíduos em estudo.

	U_{prot}/U_{cr} pré	U_{prot}/U_{cr} 1	U_{prot}/U_{cr} 2	U_{prot}/U_{cr} 3	U_{prot}/U_{cr} 4
N	20	20	17	10	8
média	11,1	16,8	22,0	13,1	15,1
Desvio padrão	7,9	16,2	27,2	7,7	11,1
Mediana	9,2	10,4	10,5	11,6	9,4
Mínimo	1,7	2,4	1,8	2,6	6,2
Máximo	33,5	59,1	99,6	23,4	37,2

Figura 3. Representação gráfica da proteinúria em 24 horas (mg/24 horas) no decorrer do tempo.

Figura 4. Representação gráfica da alteração do índice da proteína urinária (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) ($U_{\text{prot}}/U_{\text{cr}}$) no decorrer do tempo.

4.2.4 Avaliação da função tubular

As seguintes variáveis foram estudadas para a avaliação da função tubular:

- avaliações séricas: fósforo, ácido úrico;
- excreção urinária de fósforo: *clearance* de fósforo em urina de 24h, fração de excreção de fósforo (amostra isolada de urina);
- excreção urinária de ácido úrico: uricosúria em urina de 24h, fração de excreção de ácido úrico (amostra isolada de urina); índice U_{AU}/U_{creat} ;
- excreção urinária de NGAL: índice U_{NGAL}/U_{creat} .

Os resultados obtidos estão apresentados nas tabelas 16 a 23 e na figura 5.

Uricosúria em urina de 24 horas: foi observada redução da uricosúria com o passar do tempo ($p = 0,01$; $R = 6,7\%$). A cada ano houve uma redução de 54,8 m/dL de ácido úrico excretado. Não foi observada alteração na fração de excreção de ácido úrico no decorrer do tempo ($p = 0,62$; $R = 0,3\%$) bem como alteração no Índice U_{AU}/U_{cr} ($p = 0,64$; $R = 0,3\%$). Os níveis séricos de ácido úrico também não se alteraram no decorrer do tempo ($p = 0,77$; $R = 0,0\%$).

Fração de excreção de fósforo em urina de 24 horas: não foi observada alteração da fração de excreção de fósforo em urina de 24h ($ClPO_4$) no decorrer do tempo ($p = 0,83$; $R = 0,5\%$). Mesmo comportamento foi observado para a fração de excreção de fósforo em amostra isolada de urina ($p = 0,62$; $R = 0,5\%$). Também não houve alteração significativa na fosfatemia ($p=0,14$; $R = 2,0\%$).

Excreção urinária de NGAL: a detecção de NGAL na urina foi feita pelo índice $U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$ e não foi observado aumento significativo de sua excreção no decorrer do tempo ($p = 0,40$, $R = 0,8\%$).

Tabela 16 – Fósforo sérico (PO_4) em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.

	PO_4 pré	PO_4 1	PO_4 2	PO_4 3	PO_4 4
N	20	20	18	13	14
média	3,2	3,1	3,1	3,0	3,1
Desvio padrão	1,0	0,7	0,4	0,8	0,8
Mediana	3,2	3,1	3,2	3,3	3,4
Mínimo	1,3	1,7	2,3	1,7	1,4
Máximo	5,1	4,7	3,8	3,9	4,3

Tabela 17 – *Clearance* de Fósforo (CIPO_4) em mL/min (urina de 24h) do grupo de indivíduos em estudo.

	CIPO_4 pré	CIPO_4 1	CIPO_4 2	CIPO_4 3	CIPO_4 4
N	20	19	16	8	11
média	11,6	14,9	16,5	12,8	11,8
Desvio padrão	4,1	4,0	10,0	7,9	3,6
Mediana	11,4	14,2	13,9	9,7	10,8
Mínimo	5,6	9,3	7,9	7,6	6,7
Máximo	18,7	22,4	49,0	31,5	17,2

Tabela18 – Fração de excreção de fósforo (%) (FePO_4) do grupo de indivíduos em estudo.

	FePO_4 pré	FePO_4 1	FePO_4 2	FePO_4 3	FePO_4 4
N	20	20	18	13	14
média	3,57	2,43	4,48	3,91	3,36
Desvio padrão	2,02	1,72	2,83	1,42	2,29
Mediana	3,42	2,34	3,30	3,95	2,06
Mínimo	1,17	0,00	1,41	1,49	1,71
Máximo	9,91	6,12	9,97	5,95	7,68

Tabela 19 – Ácido Úrico sérico (AU) em mg/dL do grupo de indivíduos em estudo.

	AU pré	AU 1	AU 2	AU 3	AU 4
N	20	18	18	11	8
média	4,6	4,8	4,7	4,9	4,7
Desvio padrão	1,1	1,3	0,9	1,1	1,4
Mediana	4,6	4,9	4,5	4,7	4,8
Mínimo	2,8	2,7	3,6	3,3	2,7
Máximo	7,0	7,3	7,1	7,0	7,5

Tabela 20 – Uricosúria em mg/24h do grupo de indivíduos em estudo.

	uricosúria pré	uricosúria 1	uricosúria 2	uricosúria 3	uricosúria 4
N	13	17	17	7	9
Média	413,8	344,9	474,7	289,0	232,5
Desvio padrão	740,7	380,2	706,6	266,9	144,8
Mediana	96,7	181,7	190,2	136,4	232,2
Mínimo	24,3	34,6	22,8	30,8	22,4
Máximo	3285,0	1501,8	2775,9	787,1	491,8

Tabela 21 – Fração de excreção de ácido úrico (%) (FeAU) do grupo de indivíduos em estudo.

	FeAU pré	FeAU 1	FeAU 2	FeAU 3	FeAU 4
N	20	18	18	11	8
Média	10,32	8,67	11,74	7,19	10,06
Desvio padrão	10,95	4,32	8,78	4,80	11,43
Mediana	6,50	9,01	8,44	6,47	7,48
Mínimo	2,67	0,58	2,31	1,21	2,86
Máximo	46,68	16,81	37,77	16,71	37,46

Tabela 22 – Índice: Ácido Úrico urinário (mg/dL)/creatinina urinária (g/dL) (U_{AU}/U_{cr}) do grupo de indivíduos em estudo.

	U_{AU}/U_{cr} pré	U_{AU}/U_{cr} 1	U_{AU}/U_{cr} 2	U_{AU}/U_{cr} 3	U_{AU}/U_{cr} 4
N	20	20	18	18	18
Média	294,6	307,0	427,6	271,5	247,9
Desvio padrão	129,6	126,8	286,9	181,0	128,2
Mediana	240,4	292,2	336,4	252,3	226,6
Mínimo	173,0	43,1	131,1	38,0	0,0
Máximo	677,3	591,5	1190,6	701,9	399,4

Tabela 23 – Índice: concentração de NGAL urinária (ng/dL)/concentração de creatinina urinária (mg/dL) (U_{NGAL}/U_{cr})

	U_{NGAL}/U_{cr} pré	U_{NGAL}/U_{cr} 1	U_{NGAL}/U_{cr} 2	U_{NGAL}/U_{cr} 3	U_{NGAL}/U_{cr} 4
N	20	18	18	11	8
média	413,8	344,9	474,7	289,0	232,5
Desvio padrão	740,7	380,2	706,6	266,9	144,8
Mediana	96,7	181,7	190,2	136,4	232,2
Mínimo	24,3	34,6	22,8	30,8	22,4
Máximo	3285,0	1501,8	2775,9	787,1	491,8

Figura 5. Representação gráfica da alteração da uricosúria em urina de 24 horas (mg/24h) no decorrer do tempo.

4.3 Estudo das correlações entre as variáveis laboratoriais estudadas

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI está apresentada na figura 6. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = + 0,40$).

Figura 6. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (mL/min/1,73 m²) e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula CKD-EPI.

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula MDRD está apresentada na figura 7. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = + 0,37$).

Figura 7. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (mL/min/1,73 m^2) e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula MDRD.

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a dosagem sérica de creatinina está apresentada na figura 8. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,05$; $r = -0,20$).

Figura 8. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m²) e a creatinina sérica (mg/dL).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a dosagem sérica de cistatina C está apresentada na figura 9. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = -0,37$).

Figura 9. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m²) e a cistatina C sérica (mg/L).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a excreção de ácido úrico em urina de 24 horas está apresentada na figura 10. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = + 0,60$).

Figura10. Representação gráfica da correlação entre a excreção de ácido úrico em urina de 24 h (mg/24h) e o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (ml/min/1,73 m²).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas está apresentada na figura 11. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = - 0,25$).

Figura 11. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (mL/min/1,73 m^2) e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas (%).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas e a proteinúria de 24 horas está apresentada na figura 12. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = - 0,24$).

Figura 12. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas (mL/min/1,73 m²) e a proteinúria de 24 horas (mg/24h.).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Uprot/Ucreat) está apresentada na figura 13. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = -0,23$).

Figura 13. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Uprot/Ucreat).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat) está apresentada na figura 14. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = -0,36$).

Figura 14. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada e a cistatina C sérica está apresentada na figura 15. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = -0,55$).

Figura 15. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e a cistatina C sérica (mg/L).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada e a fração de excreção de ácido úrico (FeAU) em amostra isolada de urina está apresentada na figura 16. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = + 0,45$).

Figura 16. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada (ml/min/1,73m^2) e a fração de excreção de ácido úrico (%).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI e a cistatina C sérica está apresentada na figura 17. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = - 0,37$).

Figura 17. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e a cistatina C sérica (mg/L).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI e a fração de excreção de ácido úrico está apresentada na figura 18. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = + 0,36$).

Figura 18. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e a fração de excreção de ácido úrico (%).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}}$) está apresentada na figura 19. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = - 0,27$).

Figura 19. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada ($U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}}$).

A representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{alb}/U_{creat}) está apresentada na figura 20. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = - 0,40$).

Figura 20. Representação gráfica da correlação entre o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI ($\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{alb}/U_{creat}).

A representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica e a cistatina C sérica está apresentada na figura 21. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = + 0,54$).

Figura 21. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a cistatina C sérica (mg/L).

A representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat) está apresentada na figura 22. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = + 0,35$).

Figura 22. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat).

A representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica e a fração de excreção de ácido úrico (FeAU) dosada em amostra de urina está apresentada na figura 23. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = -0,50$).

Figura 23. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a fração de excreção de ácido úrico (%).

A representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas está apresentada na figura 24. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,05$; $r = 0,24$).

Figura 24. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas (%).

A representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica e a dosagem de fósforo sérico está apresentada na figura 25. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = -0,29$).

Figura 25. Representação gráfica da correlação entre a creatinina sérica (mg/dL) e a dosagem de fósforo sérico (mg/dL).

A representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica e a sérica e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas está apresentada na figura 26. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p=0,01$; $r = + 0,35$).

Figura 26. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a sérica e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas (%).

A representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica e a excreção de ácido úrico dosada em urina de 24 horas está apresentada na figura 27. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = -0,35$).

Figura 27. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a excreção de ácido úrico dosada em urina de 24 horas (mg/24h.).

A representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica e a fração de excreção de ácido úrico (FeAU) dosada em amostra de urina está apresentada na figura 28. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,05$; $r = -0,25$).

Figura 28. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e a fração de excreção de ácido úrico dosada em amostra de urina (%).

A representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica e o ácido úrico sérico está apresentada na figura 29. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,05$; $r = 0,24$).

Figura 29. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e o ácido úrico sérico (mg/dL).

A representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat) está apresentada na figura 30.

Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = 0,38$).

Figura 30. Representação gráfica da correlação entre a cistatina C sérica (mg/L) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (Ualb/Ucreat).

Não foi observada correlação entre a cistatina C sérica e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina (U_{prot}/U_{creat}), entre estas variáveis ($p = 0,06$; $r = 0,20$).

Foi observada correlação negativa entre fração de excreção de fósforo dosado em urina de 24 horas e a dosagem de fósforo sérico ($p = 0,44$; $r = - 0,08$).

A representação gráfica da correlação entre a fração de excreção de fósforo dosado ($FePO_4$) dosada em urina de 24 horas e a proteinúria de 24 horas está apresentada na figura 31. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,05$; $r = + 0,22$).

Figura 31. Representação gráfica da correlação entre a fração de excreção de fósforo dosado ($FePO_4$ %) dosada em urina de 24 horas e a proteinúria de 24 horas (mg/24h).

Foi observada correlação positiva entre a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{alb}}/U_{\text{creat}}$) ($p < 0,05$; $r = 0,29$).

A representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a dosagem de ácido úrico sérico está apresentada na figura 32. Foi observada correlação negativa entre estas variáveis ($p < 0,05$; $r = - 0,27$).

Figura 32. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a dosagem de ácido úrico sérico (mg/dL).

A representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a fração de excreção de ácido úrico (FeAU) dosada em amostra de urina está apresentada na figura 33. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p < 0,01$; $r = +0,36$).

Figura 33. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a fração de excreção de ácido úrico (%).

A representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}}$) está apresentada na figura 34. Foi observada correlação positiva entre estas variáveis ($p = 0,06$; $r = 0,29$).

Figura 34. Representação gráfica da correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e o índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}}$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e o índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{alb}}/U_{\text{creat}}$) ($p = 0,03$; $r = 0,72$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a creatinina sérica ($p = 0,78$; $r = -0,03$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de MDRD simplificada ($p = 0,25$; $r = - 0,13$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de CKD-EPI simplificada ($p = 0,27$; $r = - 0,12$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a cistatina C sérica ($p = 0,65$; $r = 0,05$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a fração de excreção de fósforo (FePO_4) dosada em urina de 24 horas fração de excreção de fósforo ($p = 0,49$; $r = - 0,08$).

Não houve correlação entre o índice NGAL urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina ($U_{\text{NGAL}}/U_{\text{creat}}$) e a dosagem sérica de fósforo ($p = 0,75$; $r = 0,03$).

5 DISCUSSÃO

Várias terapias antivirais podem levar à normalização da alanina aminotransferase (ALT), supressão do DNA do VHB, soroconversão do antígeno da hepatite B (HBeAg), clareamento do antígeno de superfície (HBsAg) e melhora histológica hepática. O principal objetivo da terapia para a hepatite B é evitar a progressão para as fases mais avançadas da doença como cirrose hepática e suas complicações, bem como o carcinoma hepatocelular, diminuindo portanto a morbimortalidade associada à doença.

O sucesso no tratamento da hepatite B significa não apenas controlar a evolução da hepatopatia, como também, prevenir as complicações clínicas da doença e os possíveis eventos adversos das medicações envolvidas no seu tratamento.

Os novos análogos de nucleotídeos tais como entecavir e tenofovir podem efetivamente suprimir o VHB com mínimo risco de resistência viral à droga. Tenofovir é eficiente em pacientes com resistência à lamivudina e exposição prévia a outros agentes. Sua eficácia como monoterapia, em longo prazo neste cenário, ainda necessita ser estudada (Wong and Chan, 2009). Apesar de sua eficácia, o tenofovir tem sido associado ao desenvolvimento de disfunção renal em pacientes portadores de HIV e, mais recentemente, estudos com pacientes portadores de hepatite B também sugerem que este tipo de evento adverso à droga possa ocorrer (Mauss et al., 2008) (Tan et al., 2009) (Wever et al. 2010) (Kelly et al., 2013).

Visando avaliar a possível toxicidade renal ao tenofovir, nesta pesquisa foram estudados 20 pacientes portadores de VHB, não cirróticos, que fizeram uso de tenofovir 300mg ao dia como monoterapia para tratamento da hepatite B.

Em que pese o número pequeno de pacientes, os dados clínicos, sociais e epidemiológicos do presente estudo refletem com fidelidade as características

populacionais da região atendida pelo HCFMRP-USP, conforme previamente publicado por Chacha *et al.* (Chacha *et al.*, 2011). A predominância do sexo masculino entre os indivíduos com infecção crônica pelo VHB foi previamente descrita em estudos realizados na região de Ribeirão Preto, em diversas regiões do Brasil e do mundo, em proporções semelhantes àsquelas encontradas na casuística do presente estudo (Asim *et al.*, 2010, Mota *et al.*, 2009, Chacha *et al.*, 2011, Valente *et al.*, 2005, Pereira *et al.*, 2009). Tal achado, ainda não está totalmente esclarecido, possivelmente possa estar relacionado com as formas de transmissão da infecção, considerando-se as formas de aquisição da infecção que são mais prevalentes entre os indivíduos do sexo masculino, tais como: promiscuidade sexual, uso de drogas injetáveis ilícitas e não ilícitas. Por outro lado, poderia estar relacionado com as estratégias de rastreamento da infecção, como por exemplo, o perfil doadores de sangue que é o de indivíduos jovens, do sexo masculino e saudáveis (Chacha *et al.*, 2011, Valente *et al.*, 2005). Em estudo previamente realizado no ambulatório de Hepatites do HCFMRP-USP, encontrou-se em 34,2% dos casos novos foram encaminhados do Hemocentro de Ribeirão Preto (Chacha *et al.*, 2011).

A mediana de idade no momento da inclusão no estudo foi de 40 anos, variando de 10 a 61 anos. Pela própria característica da população atendida no ambulatório onde o estudo foi realizado, não foram incluídos indivíduos menores de 18 anos. Trabalhos da população brasileira, com pacientes cronicamente infectados pelo HBV também encontraram idade semelhante (Chacha *et al.*, 2011, Tonetto *et al.*, 2009, Ribeiro *et al.*, 2006). Considerando a história natural da hepatite B, que pode ter um curso silencioso e passar assintomática por vários anos, pode-se aventar a hipótese de que o diagnóstico esteja sendo realizado, na maioria dos

casos, por formas de rastreamento comuns à vida adulta, como: doação de sangue, avaliações de pré-natal, diante do relato de comportamentos de risco ou mesmo durante a investigação clínica de outras doenças crônicas em indivíduos saudáveis, quando são dosadas as aminotransferases (Chacha et al., 2011).

Quanto aos possíveis fatores de risco associados à infecção pelo VHB, observou-se o predomínio de indivíduos com risco para a transmissão vertical/intrafamiliar, pela presença de mãe e/ou irmãos com marcadores positivos para a infecção pelo VHB (45%). Apesar de dados semelhantes terem sido previamente encontrados em estudo epidemiológico realizado na região de Ribeirão Preto (Chacha et al., 2011), o número de pacientes incluído no presente estudo limita a análise mais detalhada desta variável. Entretanto, vale a pena ressaltar que é feita no ambulatório de hepatite B do HCFMRP-USP, de maneira rotineira e há vários anos, a realização do rastreamento para a infecção pelo HBV em familiares e pessoas residentes no mesmo domicílio de pacientes com hepatite B. Fato este, pode estar diretamente relacionado com a proporção de indivíduos história familiar positiva para hepatite B encontrada na presente casuística.

Os pacientes incluídos no estudo foram pacientes em seguimento clínico no Ambulatório de Hepatite B do HCFMRP-USP. Este é um serviço universitário, de caráter terciário e quaternário, que se configura como uma das principais referências para tratamento de hepatites virais para a rede primária e secundária do Sistema Único de Saúde (SUS) pertencente à XIII Regional de Saúde da Secretaria do Estado de São Paulo, a qual abrange 26 municípios. No período em que se deu a coleta de dados para o presente estudo, a escolha terapêutica foi baseada no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica B e Coinfecções (Saúde, 2011). Ressalta-se que neste protocolo, o tenofovir

é a primeira escolha para pacientes virgens de tratamento não cirróticos e o entecavir é a primeira escolha para pacientes cirróticos o que explica a ausência de pacientes cirróticos no estudo.

Os pacientes estudados não apresentavam fatores de risco evidentes para desenvolvimento de lesão renal, como comorbidades ou uso de medicamentos. Fine e colaboradores sugerem que a ocorrência de lesão renal possa ser mais frequente em pacientes de maior risco para desenvolvê-la, tais como os hipertensos, diabéticos e pacientes com co-infecções. Estes e outros autores recomendam que estes indivíduos devam ser avaliados em média a cada três meses (Fine, 2007).

Recentemente os estudos vêm demonstrando que a interação de TDF com alguns inibidores de proteases, comumente utilizados no tratamento de pacientes com HIV, pode estar associada à alta frequência de impacto negativo na filtração glomerular. Em nossa pesquisa, como já comentado, no interrogatório inicial afastou-se a associação com outras drogas, mesmo as mais comumente utilizadas, tais como antibióticos aminoglicosídeos ou tetraciclina e mesmo a ranitidina, pois já foram descritos nefropatias e mesmo a Síndrome de Fanconi secundário a estas medicações (Czuba et al., 1990, Neelakantappa et al., 1993, Humes et al., 1982)

No presente estudo, a avaliação da função renal mostrou uma tendência ao aumento da creatinina sérica (aumento anual de 0,03mg/dL) e uma redução significativa do *clearance* de creatinina dosado em urina de 24h, com redução anual de 12,31 mL/min/1,73m². Dois pacientes descontinuaram o TDF por redução importante da função renal, iniciada antes de um ano do início do TDF. Nunez *et al* (2002), em um estudo de 12 pacientes co-infectados HIV/VHB, seguidos por 24 semanas observaram apenas uma descontinuação do TDF por alteração de função renal, sendo que o paciente já apresentava elevação basal de creatinina (Nunez et

al., 2002). Em uma *coorte* de 39 pacientes, estudada por Tan e colaboradores (2005), com pacientes também co-infetados em uso de TDF 245 mg em média por 251 semanas, 3 pacientes descontinuaram a medicação por redução da filtração glomerular (declínio médio de $36 \text{ mL/min/1,73m}^2$) após 40,5 meses de uso da droga (Tan et al., 2009). De modo semelhante, em nosso estudo, uma dos pacientes descontinuou a medicação após 40 meses de uso da droga, embora já houvesse pequeno aumento da creatinina identificado 6 meses após o início do TDF. Tan e colaboradores também descrevem, em sua *coorte*, que descontinuaram a droga em um paciente, sem alteração de função renal, por queixa de dor óssea e osteopenia (Tan et al., 2009). Estas manifestações não foram por nós observadas, porém, um paciente apresentou além da disfunção renal queixas relevantes de perda de peso e astenia.

O presente estudo foi realizado de modo prospectivo em pacientes portadores de hepatite B, sem nenhum histórico ou fator de risco para desenvolvimento de lesão renal e observou-se que 10% da amostra estudada apresentou declínio importante da função renal acompanhado, em um caso, de manifestações clínicas relevantes provavelmente associadas à tubulopatia. Estas alterações iniciaram-se antes de um ano de uso da droga. De modo semelhante, Rifkin e Perazzella descrevem que em sua série de casos, bem como em outros relatos da literatura, a insuficiência renal foi evidenciada antes de um ano e meio de uso de TDF (Rifkin and Perazella, 2004).

Em uma revisão sistemática e meta-análise realizada com o objetivo de determinar a segurança renal do uso de TDF em regimes de tratamento para o HIV, Cooper *et al* incluíram dados de 17 estudos e encontraram que, embora o TDF tenha sido associado a um significativo declínio na função renal, esta redução foi

pequena e os autores não recomendaram uso restrito da medicação mesmo em regiões onde a monitorização da função renal e da fosfatemia fossem inviáveis (Cooper et al., 2010). Hall *et al* destacam a heterogeneidade dos estudos incluídos nesta metanálise citada, no que se refere ao desenho e análises estatísticas, além da inclusão de estudos patrocinados pela indústria e ressaltam que a ocorrência de redução de filtração glomerular tem sido relatada em estudos observacionais enquanto *trials* clínicos geralmente tendem a não mostrar redução da função renal (Hall et al., 2011).

Estudo de 2011, Mauss e colaboradores analisaram os efeitos dos antirretrovirais na terapia em pacientes portadores de HIV e Hepatite B. Os autores observaram que, em pacientes caucasianos, independentemente do tipo de medicação utilizada (lamivudina, adefovir, entecavir, tenofovir) existiu uma queda na função renal que não foi estatisticamente significativa entre os grupos que usaram as medicações. Porém, quando comparado ao grupo que não recebeu medicação neste grupo houve queda, estatisticamente significativa, na função renal. Neste mesmo estudo também, comparando-se o uso de zidovudina e TDF, em pacientes portadores de HIV, observou-se que nos pacientes em uso de TDF como parte da terapia do esquema HAART, houve uma queda da função renal estatisticamente significativa em relação aos pacientes que utilizaram a zidovudina, ou mesmo ao grupo não tratado e, portanto, não expostos ao uso de TDF (Mauss et al., 2011).

Estudo do uso TDF em mais de 10.000 pacientes portadores de HIV mostrou aumento gradativo da creatinina em 2,2% dos pacientes (Nelson et al., 2007). Embora o efeito do TDF pareça ser pequeno neste grande estudo, seu efeito não pode ser desconsiderado diante do grande número de pessoas em uso desta droga na atualidade. Estudo mais recente com 10841 pacientes infectados pelo HIV, que

iniciaram terapia anti-viral de 1997 a 2007, identificou 33% de risco de desenvolvimento de doença renal crônica associado ao uso de TDF (Scherzer et al., 2012). Ressaltamos que existe uma importante diferença no tratamento dos pacientes em uso de TDF portadores de HIV, pois são expostos a diversas combinações de medicamentos o que provavelmente aumentam as chances de maior nefrotoxicidade comparativamente aos pacientes em monoterapia com TDF, que são geralmente os pacientes portadores de HBV (Goicoechea et al., 2008) (Mocroft et al., 2010).

Em nosso estudo, apesar da amostra de pacientes ter sido pequena, foi possível identificar redução da filtração glomerular no decorrer de 2 anos na proporção de 12,31 mL/min/1,73m². Poderia ser esperada menor nefrotoxicidade pelo uso da monoterapia com TDF no grupo estudado, entretanto encontramos redução da TGF maior que em alguns estudos com pacientes portadores de HIV (Nelson et al., 2007). Atribuímos a magnitude da redução da TGF ao fato de um dos pacientes que apresentou redução do *clearance* e aumento da creatinina, já identificados após 6 meses de uso da droga, ter mantido seu uso até 30 meses de tratamento.

Neste estudo foi observada redução anual significativa do *clearance* de creatinina (12,31 mL/min/1,73m²). Sabe-se que, com o envelhecimento, ocorre redução esperada da taxa de filtração glomerular. Neste estudo a média de idade dos pacientes foi de 40 anos. Pela magnitude da redução da TGF ocorrida nos dois anos de estudo, esta não pode ser atribuída ao envelhecimento (Hoang et al., 2003) (Glasscock and Winearls, 2009) (Xu et al., 2010).

A avaliação da taxa de filtração glomerular, feita pelas fórmulas de estimativa da função renal, teve o objetivo de encontrar maneiras mais práticas de avaliação da

depuração da creatinina, sem a necessidade de coleta de urina de 24h. Por ser influenciada pela massa muscular, idade e peso, a equação de Cockcroft-Gault é aquela que apresenta as maiores limitações. Em estudo conduzido por Levey *et al*, os autores ressaltam que a estimativa da função renal através das fórmulas de Cockcroft-Gault ou MDRD são mais confiáveis quando a função renal já está significativamente alterada e que, naqueles que possuem função renal discretamente alterada, a fórmula que se mostrou como a mais adequada para a estimativa da função renal foi a CKD-EPI (Levey et al., 2009). Apesar de não haver consenso de qual a fórmula mais adequada, em alguns subgrupos de pacientes nos estudos envolvendo portadores de HIV, a CKD-EPI se mostrou com maior acurácia do que a MDRD simplificada (Stevens et al., 2010).

Neste estudo, como já citado, foi observada redução estatisticamente significativa do *clearance* de creatinina dosado em urina de 24h no decorrer do tempo. Entretanto, nenhuma das estimativas de *clearance* por fórmulas (MDRD simplificada e CKD-EPI) apresentou comportamento semelhante. Por outro lado, houve correlação positiva e estatisticamente significante do *clearance* dosado com ambas estimativas: MDRD e CKD-EPI, porém com o coeficiente de correlação (r) pequeno para uma associação que se espera alta. Sabe-se que a coleta de urina de 24 horas é um método trabalhoso para o paciente e passível de erros. Avaliando o volume urinário de cada paciente em cada dosagem, aparentemente estes estavam adequados sugerindo coleta apropriada. Além disso, a estimativa da filtração glomerular pela fórmula de MDRD simplificada ou pela fórmula de CKD-EPI foi validada para a população americana de indivíduos saudáveis e sua aplicação na população brasileira esbarra na dificuldade encontrada para a definição precisa da raça do paciente, dada a grande miscigenação em nosso país. Estudos de

validação desta fórmula na nossa população, em especial em pacientes com outras patologias como a hepatite B, são escassos ou ausentes. Outras questões falam a favor da coleta correta do volume de urina de 24 horas neste estudo: observamos uma tendência de elevação da creatinina e os achados deste estudo são compatíveis com os descritos na literatura (Levey et al., 2009, Stevens et al., 2010).

Em nosso estudo a redução do *clearance* de creatinina dosado em urina de 24 horas foi estatisticamente significativa, enquanto houve apenas uma tendência, não significativa para o aumento da creatinina sérica. Um aspecto interessante, que começa a ser mais estudado atualmente, é o fato de que cerca de 10 até 40% da creatinina é secretada pelo TCP e por isso drogas que interferem no TCP, tais como cimetidina e trimetropin, podem alterar a secreção de creatinina e, portanto, a estimativa da TFG baseada no *clearance* de creatinina ou na estimativa da taxa de filtração glomerular através das fórmulas comumente utilizadas, tais como a MDRD e a CKD-EPI que são baseadas na creatinina sérica (Gallant Gallant & Parish MA et. al., 2005).

Soma-se a isto, como observado por Gallant et al., que na maioria dos estudos identificou-se que o declínio da função renal ocorre mais comumente após 2 a 3 meses do início do uso de TDF e após este período poucas alterações na função renal são percebidas, corroborando com nossos achados, onde a alteração nos níveis de creatinina foi pouco significativa na grande maioria dos pacientes (Arribas et al., 2008).

Para explorar a hipótese de que o TDF possa interferir na secreção de creatinina e não diretamente na taxa de filtração glomerular, alguns estudos estão se propondo a avaliar a função renal através de radioisótopos comparativamente à estimativa da função renal a partir da creatinina, na tentativa de realmente identificar

se esta anormalidade se deve a lesão renal propriamente dita, ou apenas à diminuição na secreção de creatinina através do túbulo proximal renal e, assim, tentar diferenciar de modo mais adequado o momento em que a lesão renal propriamente dita se instalará (Vrouenraets et al., 2011).

Em estudos pequenos já se demonstrou que a queda na filtração glomerular estimada pela creatinina é um reflexo de mecanismos do TDF na diminuição da secreção de creatinina e não necessariamente da nefrotoxicidade direta da droga. O TDF é excretado predominantemente pelos rins através da filtração glomerular e secreção tubular ativa, adentra através das células tubulares renais pela membrana basolateral via transportadores de ânions orgânicos (OAT-1 e OAT-3) e deixa as células para o lúmen tubular através de glicoproteínas P (MRP2 e/ou MRP4: proteína de resistência a multidroga) (Kiser et al., 2008, Imaoka et al., 2007). Apesar da baixa afinidade de metabólitos do tenofovir (TDF) por polimerases gama mitocondriais, a alta concentração intra-tubular de TDF gerada pelos OATs interfere com a replicação de mtDNA (Herlitz et al., 2010). Estes dados também são confirmados pela fisiopatologia já estudada onde se atribui aos OATs (transportadores de ânions orgânicos) um papel importante na secreção tubular de creatinina, sítio de ação do TDF e de outros antirretrovirais (Cihlar et al., 2001). Além disso, outras pesquisas demonstraram que a probenecida impede a entrada de TDF nas células do TPR através da inibição do OAT 1, sendo descrito que isto diminuiu a possível nefrotoxicidade ao TDF. Outra droga que possui efeitos antagônicos ao TDF é a rosiglitazona (agonista PPAR- γ), aumentando a expressão de co-transportadores sódio-fósforo IIa (NaPi-IIa) e sódio-hidrogênio trocador 3 (NHE3), em casos de intoxicação ao TDF o uso da rosiglitazona eleva a expressão de NaPi-IIa e de NHE3 revertendo os efeitos eletrolíticos e ácido-base que ocorrem como

parte da FS, se mostrando um tratamento promissor nestes casos. Por outro lado, um exemplo de que estes efeitos nefrotóxicos dependem em parte da concentração intracelular do TDF, o ritonavir inibe o MRP4, elevando a concentração de TDF dentro das células tubulares o que, em última análise, potencializa os seus efeitos nefrotóxicos (Liborio et al., 2008, Guan, 2004).

Em nosso estudo a taxa de filtração glomerular foi também avaliada por outros biomarcadores que poderiam ser mais sensíveis e precoces na detecção da lesão renal do que a creatinina. Utilizamos então a cistatina C e subsequentemente as fórmulas para estimativa da taxa de filtração glomerular que a utilizam.

Levey et al observaram que quando comparadas as equações da estimativa do *clearance* de creatinina com a dosagem de cistatina C e também com o *clearance* de creatinina dosado em 24 horas, com o método ideal considerado o padrão ouro para se estimar a taxa de filtração glomerular (como por exemplo o *clearance* de inulina), a cistatina C foi aquela que melhor se correlacionou com a função renal, sendo superior às outras equações (Levey et al., 2009, Stevens et al., 2010). Além disso, diretrizes atuais como o KDIGO (2012), recomendam usarmos fórmulas para estimar a filtração glomerular que utilizem a cistatina C (CKDEPi cistatina C e CKDEPi cistatin C- creatinina) ao invés do uso isolado da cistatina C.

Não foi observado declínio significativo na função renal no decorrer do nosso estudo pelas fórmulas de estimativa da filtração glomerular. Contudo, o aumento da cistatina C foi evidenciado no paciente que descontinuou a medicação, acompanhando a redução do *clearance* de creatinina em urina de 24 horas. O outro paciente com lesão renal aguda renal não dosou cistatina C no dia da retirada da droga.

Apesar das características favoráveis da cistatina C, e de se considerar a sua produção constante, algumas circunstâncias podem levar a alterações na sua produção. Doses elevadas de glicocorticoides estão associadas ao seu aumento. Seus níveis são mais baixos em indivíduos hipotireoideos e mais altos nos hipertireoideos. Outras situações como neoplasias malignas, mieloma múltiplo e cirrose hepática foram identificadas como associadas ao aumento da cistatina C sem correlação com a taxa de filtração glomerular (Chew et al., 2008, Nishida, 2010). Em nosso estudo não havia pacientes portadores de doenças sistêmicas ou em uso de outros medicamentos.

É também interessante notar que Mauss *et al* (2008) estudaram 261 pacientes soropositivos para o HIV e observaram correlação positiva dos valores de cistatina C com a carga viral do HIV e correlação negativa com a contagem de células CD4. Após introdução da terapia antirretroviral os níveis de cistatina C reduziram e o *clearance* (estimado por fórmulas que utilizam cistatina C para seu cálculo) aumentou. A creatinina não se alterou substancialmente nos pacientes estudados. Estes pesquisadores concluem que a infecção ativa do HIV leva ao aumento da Cistatina C (Mauss et al., 2008). Desconhecemos trabalho semelhante que correlacione a atividade da infecção pelo VHB e os níveis séricos de cistatina C em pacientes portadores de hepatite B.

Nossos dados mostraram que a cistatina C e a creatinina sérica, se correlacionaram negativamente com o *clearance* de creatinina dosado em 24 horas, ou seja, conforme o *clearance* de creatinina se reduziu, houve um incremento na cistatina C e creatinina sérica no decorrer do tempo. Embora este aumento não tenha atingido, em ambos os casos, significância estatística, especulamos que isto possa dever-se ao tempo de uso a droga ou ao tamanho da amostra. Além disso, a

cistatina C se correlacionou positivamente com a creatinina sérica e se correlacionou negativamente com o *clearance* estimado pelas fórmulas CKD-EPI e MDRD simplificada. Deste modo, à medida que a cistatina C aumentou, ocorreu aumento da creatinina sérica e diminuição na estimativa da filtração glomerular pelas fórmulas CKD-EPI e MDRD simplificada, corroborando com os dados da literatura, onde a cistatina C se mostra um bom marcador para a filtração glomerular.

Também houve correlação negativa entre cistatina C e a uricosúria, cistatina C e a FeAU e correlação positiva entre a cistatina C e o ácido úrico sérico, apontando para uma situação onde o aumento da cistatina C é acompanhado da diminuição da excreção renal de ácido úrico. De modo semelhante, encontrou-se correlação negativa da creatinina sérica e a FeAU. Por outro lado, a correlação tanto da cistatina C quanto da creatinina foi positiva com a fração de excreção de fósforo em urina de 24 horas e negativa com as medidas de estimativa de *clearance* (MDRD simplificada e CKD-EPI), apontando para uma situação onde o aumento da cistatina C/creatinina é acompanhado da diminuição da excreção renal de fósforo. Estudos de fisiologia renal demonstraram que quando existe redução da filtração glomerular na doença renal crônica de etiologias variadas, ocorre como consequência desta, a redução da excreção urinária de ácido úrico e de fósforo. Nesta pesquisa, nos pacientes em uso de tenofovir, encontramos redução da excreção urinária de ácido úrico e aumento da excreção urinária de fósforo, com redução concomitante da fosfatemia. Assim, este efeito sobre a fosfatúria pode ser atribuído à toxicidade do TDF. Porém, embora a toxicidade do TDF seja descrita como síndrome de Fanconi símile, não observamos nesta pesquisa aumento da excreção de ácido úrico. Também não observamos desenvolvimento de acidose metabólica que também estaria presente nesta síndrome. Desse modo, nossos achados sugerem que a

lesão tubular do tenofovir é caracterizada principalmente pela fosfatúria e, menos relevante, pelo do aumento da excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular como será discutido a seguir. Nossos dados são corroborados pelos dados da literatura que apontam para uma lesão tubular proximal renal, como ponto de partida para nefrotoxicidade atribuída ao TDF. Estudos envolvendo portadores de HIV expostos ao TDF estiveram associados ao aumento da excreção de fosfato, no entanto, não à hipofosfatemia (Labarga et al., 2009). O mecanismo através do qual o TDF pode levar ao aumento da excreção urinária de fosfato pode ser explicado por efeito inibitório direto na reabsorção tubular proximal de fosfato ou em vias alternativas hormonais que regulam a fosfatúria, assim como o metabolismo da vitamina D, diminuindo a sua produção por lesão no sítio de conversão da 25OH vitamina D em vitamina D ativa: 1,25 OH vitamina D₃, ou mesmo secundário ao hipoparatiroidismo (Essig et al., 2007). Além destes mecanismos, também foram postuladas teorias que a ação do FGF 23 poderia contribuir para a fosfatúria e até osteomalácia (Wesseling-Perry, 2010). Mas em estudos onde foram dosados o FGF 23 em pacientes que desenvolveram FS secundário ao TDF, os níveis encontrados foram baixos ou normais (Saidenberg-Kermanac'h et al., 2011) (Haverkort et al., 2011) (Bech et al., 2012). Em um estudo envolvendo 542 pacientes portadores de hepatite B em monoterapia com TDF, onde se avaliou a segurança do uso desta medicação com duração de três anos de seguimento, apenas 0,4% dos pacientes desenvolveram elevação de creatinina sérica superior a 0,5 mg/dl e apenas 0,7% dos pacientes acusaram hipofosfatemia < 2 mg/dl. Em ambas as alterações descritas neste estudo não houve nível de significância estatística (Heathcote et al., 2011).

Seja de forma aguda ou mesmo cronicamente, nos casos em que mantida esta agressão à célula tubular proximal renal, pode-se levar a declínio gradativo da filtração glomerular e perda definitiva da função renal. Em estudo publicado por Herlitz et al, foi avaliado o comportamento da recuperação da função renal após a suspensão do TDF em pacientes portadores de HIV que desenvolveram nefrotoxicidade atribuída ao uso de TDF, havendo a recuperação total ou parcial da função renal com a suspensão da droga, mesmo em pacientes que necessitaram de terapia renal substitutiva (hemodiálise) por um período de 1 mês até 4 meses (Herlitz et al.). Em biópsias renais de pacientes portadores de HIV que desenvolveram LRA ou proteinúria associado ao uso de TDF, as alterações mais evidentes encontradas foram anormalidades mitocondriais, especialmente inclusões eosinofílicas citoplasmáticas representando mitocôndrias gigantes, confirmadas na microscopia eletrônica por anormalidades ultraestruturais, como rarefação ou perda das cristas mitocondriais e mitocôndrias gigantes (Herlitz et al., Kohler et al., 2009). Em 2010, um estudo da Universidade de Columbia demonstrou que a nefrotoxicidade ao TDF se manifestava como necrose tubular aguda (incluindo alguns casos de Síndrome de Fanconi) apresentando características peculiares na biópsia renal, especialmente o achado de mitocondriopatia como já descrito, à microscopia de luz comum e na microscopia eletrônica, apontando-se para alterações ultraestruturais das mitocôndrias. Uma limitação deste estudo foi o tempo de seguimento destes pacientes de cerca de 96 semanas, haja visto que os relatos de Síndrome de Fanconi ocorrem geralmente após este período de observação após o início do uso de TDF (Herlitz et al., 2010).

A barreira de filtração glomerular em nosso estudo foi avaliada através do estudo da excreção renal de proteínas. Não foi observado aumento na excreção

urinária de albumina no decorrer do tempo (microalbuminúria dosada em urina de 12 horas e índice U_{alb}/U_{creat}). Por outro lado, foi identificado aumento a cada ano de 29 mg/dL na proteinúria dosada em urina de 24 horas e um aumento de 11,01 no índice U_{prot}/U_{creat} . Foi também observado por nós que a estimativa da filtração glomerular pelas fórmulas MDRD simplificada e CKD-EPI também se correlacionaram de maneira negativa com o índice U_{prot}/U_{creat} . Conforme houve queda da estimativa da filtração glomerular, houve aumento da relação U_{prot}/U_{creat} . Estes dados sugerem integridade da barreira de filtração glomerular e lesão das células tubulares proximais responsáveis pela reabsorção das proteínas de baixo peso molecular.

Os biomarcadores de lesão renal vem se tornando cada vez mais estudados, tais como a RBP (proteína carreadora do retinol), NAG (N acetil beta D glucosaminidase) e a NGAL (lipocalína associada a gelatinase de neutrófilos). Já se demonstraram em estudos em pacientes portadores de HIV que pacientes em uso de TDF sem proteinúria ao teste do dipstick apresentavam altos níveis de RBP (Kuwabara et al., 2009, Bernard et al., 1982) (Price, 1992) (Hall et al., 2009).

Uma meta-análise de 19 estudos, incluindo 2500 pacientes de estudos observacionais, foi realizada para estimar o diagnóstico e prognóstico preciso da NGAL e seu valor na LRA. Os dados sugerem que a NGAL pode ser um bom preditor para LRA, porém nestes estudos havia muita heterogenicidade nas amostras, incluindo adultos e crianças, além de serem selecionados pacientes de pós-operatório de cirurgia cardíaca, até pós-nefrotoxicidade atribuída ao contraste radiológico.

O fato é que existem limitações para o valor da NGAL como um preditor de doença renal aguda e sua gravidade, sendo mais sensíveis e específicos na

previsão de LRA em estudos de pacientes homogêneos, com uma única doença aguda. A NGAL parece ser menos sensível e específica em estudos com causas multifatoriais para LRA. Também não está claro se níveis da NGAL são capazes de contribuir para o diagnóstico diferencial de causas potencialmente reversíveis de LRA, por exemplo, diferenciar uma azotemia pré-renal de uma lesão mais grave nos rins. Outro fator de interferência no nível de NGAL urinária é a ocorrência de infecções do trato urinário, identificado em modelos utilizando a NGAL para diagnosticar infecções precoces do trato urinário, na ausência de LRA (Shemin and Dworkin, 2011) (Peres et al., 2013).

Em nosso estudo foi encontrado, correlação positiva entre $U_{\text{Ngal}}/U_{\text{cr}}$ e FeAU. O fato de não ter ocorrido aumento na excreção urinária de albumina sugere integridade da barreira de filtração glomerular e a ocorrência de proteinúria pode ser justificada pela lesão das células do túbulo proximal permitindo a eliminação de proteínas de baixo peso molecular na urina. Embora neste estudo não tenha sido observado aumento significativo da excreção urinária de NGAL o aumento da proteinúria pode estar associado a excreção de um *pool* de proteínas de baixo peso molecular. Neste contexto, inúmeras proteínas de baixo peso molecular vêm sendo estudada, inclusive por nosso grupo (Romao et al., 2009) tais como a β 2-microglobulina, α 1-microglobulina, a proteína ligadora do retinol (RBP) dentre outras. Hall e colaboradores em estudo de 99 pacientes portadores de HIV sob terapia antiviral (sendo 47 em uso de TDF), não encontraram elevação da excreção urinária de albumina de modo semelhante ao nosso achado. Como nós, eles encontraram elevação maior da excreção de $U_{\text{prot}}/U_{\text{creat}}$ nos pacientes em uso de TDF. Em relação ao estudo das proteínas de baixo peso molecular, eles observaram que a relação RBP urinária/creatinina urinária foi maior nos pacientes em uso de TDF comparado

àqueles em uso de outras terapias anti-virais. Já a excreção de N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG) mostrou-se aumentada em todos os pacientes (em uso ou não de TDF). Eles observaram que a concordância entre os resultados dos testes urinários foi baixa (Hall et al., 2009).

Nosso estudo encontrou correlação positiva do índice U_{alb}/U_{creat} , com a creatinina sérica, cistatina C e *clearance* de fósforo e correlação negativa deste índice com CKDEPi e MDRD. Não houve correlação entre proteinúria de 24 horas e microalbuminúria de 24 horas.

Embora não tenha sido observada redução estatisticamente significativa na fosfatemia e na fosfatúria no grupo de pacientes estudado, a hipofosfatemia e o aumento da fosfatúria foram observados nos dois casos de lesão renal aguda pelo TDF. Nos dois casos, após a suspensão da droga foi evidenciado aumento da fosfatemia e redução da fosfatúria. Consideramos que as alterações relacionadas ao fósforo foram mais evidentes que a oscilação da creatinina nestes dois pacientes. Com a redução da filtração glomerular, esperava-se (de modo semelhante ao que ocorreu com o ácido úrico) uma redução na eliminação de fósforo. Entretanto, houve aumento na sua excreção urinária (tanto no *clearance* de fósforo quanto na fração de excreção de fósforo) com repercussão nos níveis séricos (hipofosfatemia). Woodward *et al* (2009) encontraram hipofosfatemia em 86,4% dos pacientes com diagnóstico de lesão renal pelo TDF em um grupo de 22 pacientes portadores de HIV referenciados ao nefrologista (Woodward et al., 2009). A hipofosfatemia pode ser multifatorial em pacientes portadores de HIV (Hall et al., 2011), entretanto em nosso estudo não foram identificados outros fatores que pudessem levar a hipofosfatemia além do uso do TDF. Outros autores também associaram a fosfatúria ao uso de TDF em pacientes portadores de HIV (Labarga et al., 2009, Woodward et

al., 2009), corroborando plenamente com os resultados do nosso estudo onde em relação ao *clearance* de fósforo foi encontrada correlação negativa com o *clearance* de creatinina. Na medida em que o *clearance* de creatinina reduziu houve aumento do *clearance* de fósforo, da mesma maneira em que houve correlação negativa entre a creatinina sérica e fósforo sérico. Ocorreu elevação de creatinina e ao mesmo tempo houve diminuição do fósforo sérico. Estes dados mostraram claramente que, ao contrário do que se esperava na fisiopatologia habitual, onde com diminuição do *clearance* de creatinina levaria a uma diminuição concomitante do *clearance* de fósforo, pela consequente fosfatúria atribuída ao TDF no contexto de sua nefrotoxicidade, ocorreu elevação do fósforo urinário e consequente queda do fósforo sérico.

Foi encontrado, além disso, correlação positiva entre *clearance* de fósforo com a cistatina C, creatinina sérica, U_{alb}/U_{cr} e proteinúria de 24 horas, denotando que o *clearance* de fósforo é um biomarcador e pode se alterar conjuntamente com outros marcadores clássicos de lesão renal, tais como citados, a cistatina C e proteinúria de 24 horas.

Para a prevenção à nefrotoxicidade ao TDF deve ser adotada uma estratégia que permita em última análise monitorar efetivamente e apropriadamente os efeitos renais ao medicamento de forma a propiciar a adequação da dose ou mesmo a substituição do TDF antes que seus efeitos se tornem irreversíveis. A chave da prevenção é a detecção precoce evitando-se sequelas na função renal, como descrito por Markowitz *et. al* (Herlitz *et al.*, 2010). Sendo assim, vários protocolos em pacientes portadores de HIV em tratamento com TDF foram propostos fazendo-se a dosagem a cada três meses no primeiro ano após o início do uso da droga e a cada seis meses após o primeiro ano, das seguintes variáveis laboratoriais:

dosagem de RBP, índice albumina urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina, FePO_4 , glicosúria em urina rotina, dosagem de 25OH vitamina D ou 1,25 vitamina D e dosagem de fósforo sérico. A dosagem do fósforo sérico é pouco utilizada pois a fosfatemia pode ser compensado pela reabsorção óssea e não se exteriorizar laboratorialmente como hipofosfatemia (Hall et al., 2009) (Hall et al., 2011) (Gupta et al., 2005) (Post et al., 2010).

Em nossa opinião, a prescrição de tenofovir para pacientes portadores do VHB, deve ser acompanhada da monitorização periódica da função renal, através da creatinina sérica e do *clearance* de creatinina. Também consideramos que a associação de hiperfosfatúria nestes pacientes possa ser um biomarcador de lesão tubular precoce útil no seguimento e monitorização da nefrotoxicidade ao tenofovir, com o objetivo de identificar e evitar a progressão para lesão renal irreversível. Assim, a monitorização da fosfatúria e da proteinúria, quer seja através de urina de 24 horas ou do índice proteína urinária por creatinina urinária em amostra isolada de urina, pode ser útil na detecção precoce de lesão tubular renal. Esta monitorização é importante para a tomada de decisão entre o benefício da terapêutica *versus* a descontinuação da medicação.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo prospectivo de 20 pacientes portadores de hepatite B, não cirróticos, sem doença renal prévia e sem fatores de risco para seu desenvolvimento observou-se desenvolvimento de lesão renal aguda em 10% dos pacientes em uso de tenofovir e redução significativa da filtração glomerular. A fosfatúria e proteinúria observados sugerem que a lesão tenha sido decorrente de tubulopatia proximal. Para os demais pacientes foi observada elevação anual na excreção urinária de proteínas acompanhada de redução na depuração de creatinina e tendência ao aumento da creatinina sérica. Marcadores mais específicos de lesão renal, cistatina C e NGAL, não foram superiores aos biomarcadores disponíveis na prática clínica na detecção destas alterações.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcalde, R., Melo, F. L., Nishiya, A., Ferreira, S. C., Langhi Junior, M. D., Fernandes, S. S., *et al.* 2009. Distribution of hepatitis B virus genotypes and viral load levels in Brazilian chronically infected patients in Sao Paulo city. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, **51**, 269-72.
- Ascione, R., Lloyd, C. T., Underwood, M. J., Gomes, W. J. & Angelini, G. D. 1999. On-pump versus off-pump coronary revascularization: evaluation of renal function. *Ann Thorac Surg*, **68**, 493-8.
- Asim, M., Malik, A., Sarma, M. P., Polipalli, S. K., Begum, N., Ahmad, I., *et al.* 2010. Hepatitis B virus BCP, Precore/core, X gene mutations/genotypes and the risk of hepatocellular carcinoma in India. *J Med Virol*, **82**, 1115-25.
- 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 Med*, **13**, 2012 Oct., 558-63.
- Belongia, E. A., Costa, J., Gareen, I. F., Grem, J. L., Inadomi, J. M., Kern, E. R., *et al.* 2008. NIH consensus development statement on management of hepatitis B. *NIH Consens State Sci Statements*, **25**, 1-29.
- Bernard, A. M., Moreau, D. & Lauwerys, R. 1982. Comparison of retinol-binding protein and beta 2-microglobulin determination in urine for the early detection of tubular proteinuria. *Clin Chim Acta*, **126**, 1-7.
- Blaas, S., Schneidewind, A., Gluck, T. & Salzberger, B. 2006. Acute renal failure in HIV patients with liver cirrhosis receiving tenofovir: a report of two cases. *AIDS*, **20**, 1786-7.
- Chacha, S. G., Ferreira Sda, C., Costa, T. V., Almeida Filho, L. C., Villanova, M. G., Souza, F. F., *et al.* 2011. Clinical, demographic and epidemiological characteristics of patients with hepatitis B followed at a university hospital in southeastern Brazil: predominance of HBeAg negative cases. *Rev Soc Bras Med Trop*, **44**, 13-7.
- Chew, J. S., Saleem, M., Florkowski, C. M. & George, P. M. 2008. Cystatin C--a paradigm of evidence based laboratory medicine. *Clin Biochem Rev*, **29**, 47-62.
- Christensen, E. I., Birn, H., Verroust, P. & Moestrup, S. K. 1998. Membrane receptors for endocytosis in the renal proximal tubule. *Int Rev Cytol*, **180**, 237-84.

- Cihlar, T., Ho, E. S., Lin, D. C. & Mulato, A. S. 2001. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 641-8.
- Coca, S. & Perazella, M. A. 2002. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci*, **324**, 342-4.
- Coll, E., Botey, A., Alvarez, L., Poch, E., Quinto, L., Saurina, A., *et al.* 2000. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis*, **36**, 29-34.
- Cooper, R. D., Wiebe, N., Smith, N., Keiser, P., Naicker, S. & Tonelli, M. 2010. Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*, **51**, 496-505.
- Czuba, M. A., Morgan, D. J., Ching, M. S., Mihaly, G. W., Hardy, K. J. & Smallwood, R. A. 1990. Ontogeny of fetal renal organic cation excretion: a study with cimetidine and ranitidine during the latter half of gestation in the pregnant ewe. *J Pharmacol Exp Ther*, **255**, 1177-82.
- Dharnidharka, V. R., Kwon, C. & Stevens, G. 2002. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*, **40**, 221-6.
- Dittrich, S., Kurschat, K., Dahnert, I., Vogel, M., Muller, C., Alexi-Meskishvili, V., *et al.* 2000. Renal function after cardiopulmonary bypass surgery in cyanotic congenital heart disease. *Int J Cardiol*, **73**, 173-9.
- Essig, M., Duval, X., Kaied, F. A., Iordache, L., Gervais, A., Longuet, P., *et al.* 2007. Is phosphatemia the best tool to monitor renal tenofovir toxicity? *J Acquir Immune Defic Syndr*, **46**, 256-8.
- European Association For The Study Of The, L. 2009. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol*, **50**, 227-42.
- Fanconi, G. 1931. Die nicht diabetischen glykosurien und hyperglykamien des altern Kindes. . *Jahrb Kinderheilk* 257-300.
- Fanconi, G. 1936. Der Fru" infantile Nephrotischglykosurische Zwergwuchs Mit Hypophosphatämischer Rachitis. 147:299, 1936). *Jahrbuch Ninderhrilkunde*, **147**, 229.

- Fernandez-Fernandez, B., Montoya-Ferrer, A., Sanz, A. B., Sanchez-Nino, M. D., Izquierdo, M. C., Poveda, J., *et al.* Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. *AIDS Res Treat*, **2011**, 354908.
- Fine, D. M. 2007. Editorial comment: Fanconi syndrome and tenofovir--understanding proximal tubular function. *AIDS Read*, **17**, 326-7.
- Gallant, J. E. & Deresinski, S. 2003. Tenofovir disoproxil fumarate. *Clin Infect Dis*, **37**, 944-50.
- Gallant JE, Parish MA, Keruly JC, Moore RD. 2005. Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis* 40:1194–1198
- Ginsberg, J. M., Chang, B. S., Matarese, R. A. & Garella, S. 1983. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med*, **309**, 1543-6.
- Glasscock, R. J. & Winearls, C. 2009. Ageing and the glomerular filtration rate: truths and consequences. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, **120**, 419-28.
- Goicoechea, M., Liu, S., Best, B., Sun, S., Jain, S., Kemper, C., *et al.* 2008. Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis*, **197**, 102-8.
- Guan, Y. 2004. Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, **15**, 2801-15.
- Guder, W. G. & Hofmann, W. 1992. Markers for the diagnosis and monitoring of renal tubular lesions. *Clin Nephrol*, **38 Suppl 1**, S3-7.
- Gupta, S. K. 2008. Tenofovir-associated Fanconi syndrome: review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS*, **22**, 99-103.
- Gupta, S. K., Eustace, J. A., Winston, J. A., Boydston, II, Ahuja, T. S., Rodriguez, R. A., *et al.* 2005. Guidelines for the management of chronic kidney disease in HIV-infected patients: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, **40**, 1559-85.

- Hall, A. M., Edwards, S. G., Lapsley, M., Connolly, J. O., Chetty, K., O'Farrell, S., *et al.* 2009. Subclinical tubular injury in HIV-infected individuals on antiretroviral therapy: a cross-sectional analysis. *Am J Kidney Dis*, **54**, 1034-42.
- Hall, A. M., Hendry, B. M., Nitsch, D. & Connolly, J. O. Tenofovir-associated kidney toxicity in HIV-infected patients: a review of the evidence. *Am J Kidney Dis*, 2011 May., **57**, 773-80.
- Haverkort, M. E., van der Spek, B. W., Lips, P., Slieker, W. A., ter Heine, R., Huitema, A. D., *et al.* Tenofovir-induced Fanconi syndrome and osteomalacia in two HIV-infected patients: role of intracellular tenofovir diphosphate levels and review of the literature. *Scand J Infect Dis*, 2011, **43**, 821-6.
- Heathcote, E. J., Marcellin, P., Buti, M., Gane, E., De Man, R. A., Krastev, Z., *et al.* Three-year efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate treatment for chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, **140**, 2011 Jan., 132-43.
- Herget-Rosenthal, S., Marggraf, G., Husing, J., Goring, F., Pietruck, F., Janssen, O., *et al.* 2004. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*, **66**, 1115-22.
- Herlitz, L. C., Mohan, S., Stokes, M. B., Radhakrishnan, J., D'Agati, V. D. & Markowitz, G. S. Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int*, **78**, 2010 Dec., 1171-7.
- Hoang, K., Tan, J. C., Derby, G., Blouch, K. L., Masek, M., Ma, I., *et al.* 2003. Determinants of glomerular hypofiltration in aging humans. *Kidney Int*, **64**, 1417-24.
- Humes, H. D., Weinberg, J. M. & Knauss, T. C. 1982. Clinical and pathophysiologic aspects of aminoglycoside nephrotoxicity. *Am J Kidney Dis*, **2**, 5-29.
- Imaoka, T., Kusuhara, H., Adachi, M., Schuetz, J. D., Takeuchi, K. & Sugiyama, Y. 2007. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. *Mol Pharmacol*, **71**, 619-27.
- Izzedine, H., Isnard-Bagnis, C., Hulot, J. S., Vittecoq, D., Cheng, A., Jais, C. K., *et al.* 2004. Renal safety of tenofovir in HIV treatment-experienced patients. *AIDS*, **18**, 1074-6.

- Izzedine, H., Launay-Vacher, V., Isnard-Bagnis, C. & Deray, G. 2003. Drug-induced Fanconi's syndrome. *Am J Kidney Dis*, **41**, 292-309.
- Jones, R., Stebbing, J., Nelson, M., Moyle, G., Bower, M., Mandalia, S., *et al.* 2004. Renal dysfunction with tenofovir disoproxil fumarate-containing highly active antiretroviral therapy regimens is not observed more frequently: a cohort and case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **37**, 1489-95.
- Kalyesubula, R. & Perazella, M. A. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat*, **2011**, 562790.
- Kelly, M. D., Gibson, A., Bartlett, H., Rowling, D. & Patten, J. Tenofovir-associated proteinuria. *AIDS*, 2013 Jan., **27**, 479-81.
- Kiser, J. J., Carten, M. L., Aquilante, C. L., Anderson, P. L., Wolfe, P., King, T. M., *et al.* 2008. The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther*, **83**, 265-72.
- Kohler, J. J., Hosseini, S. H., Hoying-Brandt, A., Green, E., Johnson, D. M., Russ, R., *et al.* 2009. Tenofovir renal toxicity targets mitochondria of renal proximal tubules. *Lab Invest*, **89**, 513-9.
- Kuwabara, T., Mori, K., Mukoyama, M., Kasahara, M., Yokoi, H., Saito, Y., *et al.* 2009. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int*, **75**, 285-94.
- Labarga, P., Barreiro, P., Martin-Carbonero, L., Rodriguez-Novoa, S., Solera, C., Medrano, J., *et al.* 2009. Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *AIDS*, **23**, 689-96.
- Lai, K. N., Li, P. K., Lui, S. F., Au, T. C., Tam, J. S., Tong, K. L., *et al.* 1991. Membranous nephropathy related to hepatitis B virus in adults. *N Engl J Med*, **324**, 1457-63.
- Levey, A. S., Stevens, L. A., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Castro, A. F., 3rd, Feldman, H. I., *et al.* 2009. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*, **150**, 604-12.
- Liangos, O., Perianayagam, M. C., Vaidya, V. S., Han, W. K., Wald, R., Tighiouart, H., *et al.* 2007. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*, **18**, 904-12.

- Liborio, A. B., Andrade, L., Pereira, L. V., Sanches, T. R., Shimizu, M. H. & Seguro, A. C. 2008. Rosiglitazone reverses tenofovir-induced nephrotoxicity. *Kidney Int*, **74**, 910-8.
- Lignac, G. O. E. 1924. Storis der cystine-stofwisseling byj kinderen *Ned Tijdschr Geneeskde*, **68**, 2987-2995.
- Lisowska-Myjak, B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif*, **29**, 357-65, 2010.
- Lok, A. S. & McMahon, B. J. 2007. Chronic hepatitis B. *Hepatology*, **45**, 507-39.
- Maack, T., Johnson, V., Kau, S. T., Figueiredo, J. & Sigulem, D. 1979. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int*, **16**, 251-70.
- Madeddu, G., Quirino, T., Carradori, S., Ricci, E., Grosso, C., Penco, G., *et al.* 2006. [Renal toxicity in HIV-infected patients receiving HAART including tenofovir]. *Infez Med*, **14**, 125-34.
- 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. *J Hepatol*, 2011., **55**, 1235-40.
- Mauss, S., Berger, F., Kuschak, D., Henke, J., Hegener, P., Wolf, E., *et al.* 2008. Cystatin C as a marker of renal function is affected by HIV replication leading to an underestimation of kidney function in HIV patients. *Antivir Ther*, 2008, **13**, 1091-5.
- Mishra, J., Dent, C., Tarabishi, R., Mitsnefes, M. M., Ma, Q., Kelly, C., *et al.* 2005. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*, **365**, 1231-8.
- Mishra, J., Ma, Q., Prada, A., Mitsnefes, M., Zahedi, K., Yang, J., *et al.* 2003. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*, **14**, 2534-43.
- Mocroft, A., Kirk, O., Reiss, P., De Wit, S., Sedlacek, D., Beniowski, M., *et al.* Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS*, **24**, 2010 Jul., 1667-78.

- Mota, A., Guedes, F., Areias, J., Pinho, L. & Cardoso, M. F. 2009. Epidemiological study of genotypes of hepatitis B virus in northern Portugal. *J Med Virol*, **81**, 1170-6.
- Neelakantappa, K., Gallo, G. R. & Lowenstein, J. 1993. Ranitidine-associated interstitial nephritis and Fanconi syndrome. *Am J Kidney Dis*, **22**, 333-6.
- Nelson, M. R., Katlama, C., Montaner, J. S., Cooper, D. A., Gazzard, B., Clotet, B., et al. 2007. The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: the first 4 years. *AIDS*, **21**, 1273-81.
- Nishida, G. M. K. a. S. K. 2010. Avaliação da função renal. In: KIRSZTAJN, G. M. (Ed.) *Diagnóstico Laboratorial em Nefrologia*. São Paulo.
- Norden, A. G., Scheinman, S. J., Deschodt-Lanckman, M. M., Lapsley, M., Nortier, J. L., Thakker, R. V., et al. 2000. Tubular proteinuria defined by a study of Dent's (CLCN5 mutation) and other tubular diseases. *Kidney Int*, **57**, 240-9.
- Nunez, M., Perez-Olmeda, M., Diaz, B., Rios, P., Gonzalez-Lahoz, J. & Soriano, V. 2002. Activity of tenofovir on hepatitis B virus replication in HIV-co-infected patients failing or partially responding to lamivudine. *AIDS*, **16**, 2352-4.
- Pereira, L. M., Martelli, C. M., Merchan-Hamann, E., Montarroyos, U. R., Braga, M. C., de Lima, M. L., et al. 2009. Population-based multicentric survey of hepatitis B infection and risk factor differences among three regions in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, **81**, 240-7.
- Peres, L. A., Cunha Junior, A. D., Schafer, A. J., Silva, A. L., Gaspar, A. D., Scarpari, D. F., et al. Biomarkers of acute kidney injury. *J Bras Nefrol*, 2013, **35**, 229-36.
- Peyriere, H., Reynes, J., Rouanet, I., Daniel, N., de Boever, C. M., Mauboussin, J. M., et al. 2004. Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: report of 7 cases. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **35**, 269-73.
- Post, F. A., Moyle, G. J., Stellbrink, H. J., Domingo, P., Podzamczar, D., Fisher, M., et al. Randomized comparison of renal effects, efficacy, and safety with once-daily abacavir/lamivudine versus tenofovir/emtricitabine, administered with efavirenz, in antiretroviral-naive, HIV-1-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010 Sep., **55**, 49-57.
- Price, R. G. 1992. The role of NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity. *Clin Nephrol*, **38 Suppl 1**, S14-9.

- Ribeiro, N. R., Campos, G. S., Angelo, A. L., Braga, E. L., Santana, N., Gomes, M. M., *et al.* 2006. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection. *Liver Int*, **26**, 636-42.
- Rifkin, B. S. & Perazella, M. A. 2004. Tenofovir-associated nephrotoxicity: Fanconi syndrome and renal failure. *Am J Med*, **117**, 282-4.
- Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., Soriano, V., Egan, D., Albalater, M., Morello, J., *et al.* 2009. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis*, **48**, e108-16.
- Romão, E. A. 2008. Avaliação do envolvimento de alguns mecanismos funcionais, inflamatórios e morfológicos na fisiopatologia da excreção urinária de $\alpha 1$ -microglobulina em pacientes com glomerulopatias.) *Departamento de Clínica Médica*. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Romao, E. A., Coimbra, T. M., Costa, R. S., Vieira Neto, O. M., Reis, M. A., Rodrigues Junior, A. L., *et al.* 2009. Renal disorders involved in the pathophysiology of urinary excretion of $\alpha 1$ microglobulin in patients with glomerulopathies. *Clin Nephrol*, **72**, 473-81.
- Roth, K. S., Foreman, J. W. & Segal, S. 1981. The Fanconi syndrome and mechanisms of tubular transport dysfunction. *Kidney Int*, **20**, 705-16.
- Royakkers, A. A., van Suijlen, J. D., Hofstra, L. S., Kuiper, M. A., Bouman, C. S., Spronk, P. E., *et al.* 2007. Serum cystatin C-A useful endogenous marker of renal function in intensive care unit patients at risk for or with acute renal failure? *Curr Med Chem*, **14**, 2314-7.
- Saidenberg-Kermanac'h, N., Souabni, L., Prendki, V., Prie, D. & Boissier, M. C. Normal plasma FGF23 levels kinetic in tenofovir-related hypophosphatemic osteomalacia in an HIV-infected patient with von Recklinghausen disease. *Joint Bone Spine*, **78**, 2011 May., 306-8.
- Saúde, M. d. 2011. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas para o Tratamento da Hepatite Viral Crônica e Coinfecções. *Normas e Manuais Técnicos*. Ministérios da Saúde Brasil., 1-132.
- Scherzer, R., Estrella, M., Li, Y., Choi, A. I., Deeks, S. G., Grunfeld, C., *et al.* Association of tenofovir exposure with kidney disease risk in HIV infection. *AIDS*, 2012 Apr., **26**, 867-75.

- Shemin, D. & Dworkin, L. D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury. *Crit Care Clin*, **27**, 2011 Apr., 379-89.
- Siew, E. D., Ware, L. B. & Ikizler, T. A. Biological markers of acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*, **22**, 810-20, 2011.
- Sjostrom, P., Tidman, M. & Jones, I. 2004. The shorter T1/2 of cystatin C explains the earlier change of its serum level compared to serum creatinine. *Clin Nephrol*, **62**, 241-2.
- Stevens, L. A., Schmid, C. H., Greene, T., Zhang, Y. L., Beck, G. J., Froissart, M., *et al.* 2010. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis*, **56**, 486-95.
- Tan, L. K., Gilleece, Y., Mandalia, S., Murungi, A., Grover, D., Fisher, M., *et al.* 2009. Reduced glomerular filtration rate but sustained virologic response in HIV/hepatitis B co-infected individuals on long-term tenofovir. *J Viral Hepat*, **16**, 471-8.
- Tanji, N., Tanji, K., Kambham, N., Markowitz, G. S., Bell, A. & D'Agati V, D. 2001. Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondrial DNA depletion. *Hum Pathol*, **32**, 734-40.
- Thakkar, H., Lowe, P. A., Price, C. P. & Newman, D. J. 1998. Measurement of the kinetics of protein uptake by proximal tubular cells using an optical biosensor. *Kidney Int*, **54**, 1197-205.
- Tonetto, P. A., Goncales, N. S., Fais, V. C., Vigani, A. G., Goncales, E. S., Feltrin, A., *et al.* 2009. Hepatitis B virus: molecular genotypes and HBeAg serological status among HBV-infected patients in the southeast of Brazil. *BMC Infect Dis*, **9**, 149.
- Uchino, S. Creatinine. *Curr Opin Crit Care*, 2005.
- Valente, V. B., Covas, D. T. & Passos, A. D. 2005. [Hepatitis B and C serologic markers in blood donors of the Ribeirao Preto Blood Center]. *Rev Soc Bras Med Trop*, **38**, 488-92.
- Verhelst, D., Monge, M., Meynard, J. L., Fouqueray, B., Mougenot, B., Girard, P. M., *et al.* 2002. Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: a first case report. *Am J Kidney Dis*, **40**, 1331-3.

- Vrouenraets, S. M., Fux, C. A., Wit, F. W., Garcia, E. F., Furrer, H., Brinkman, K., et al. 2011. Persistent decline in estimated but not measured glomerular filtration rate on tenofovir may reflect tubular rather than glomerular toxicity. *AIDS*, **25**, 2149-55.
- Wanner, D. P., Tyndall, A. & Walker, U. A. 2009. Tenofovir-induced osteomalacia. *Clin Exp Rheumatol*, **27**, 1001-3.
- Wellwood, J. M., Ellis, B. G., Price, R. G., Hammond, K., Thompson, A. E. & Jones, N. F. 1975. Urinary N-acetyl- beta-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J*, **3**, 408-11.
- Wesseling-Perry, K. FGF-23 in bone biology. *Pediatr Nephrol*, **25**, 2010 Apr., 603-8.
- Westhuyzen, J., Endre, Z. H., Reece, G., Reith, D. M., Saltissi, D. & Morgan, T. J. 2003. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant*, **18**, 543-51.
- Wever, K., van Agtmael, M. A. & Carr, A. Incomplete reversibility of tenofovir-related renal toxicity in HIV-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **55**, 78-81, 2010.
- Wong, V. W. & Chan, H. L. Chronic hepatitis B: a treatment update. *Semin Liver Dis*, **33**, 122-9, 2009 Nov.
- Woodward, C. L., Hall, A. M., Williams, I. G., Madge, S., Copas, A., Nair, D., et al. 2009. Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV Med*, **10**, 482-7.
- Xu, R., Zhang, L. X., Zhang, P. H., Wang, F., Zuo, L. & Wang, H. Y. Gender differences in age-related decline in glomerular filtration rates in healthy people and chronic kidney disease patients. *BMC Nephrol*, 2010 Aug., **11**, 20.
- Xu, S. & Venge, P. 2000. Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochim Biophys Acta*, **1482**, 298-307.
- Zimmermann, A. E., Pizzoferrato, T., Bedford, J., Morris, A., Hoffman, R. & Braden, G. 2006. Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis*, **42**, 283-90.

APÊNDICE A – Valores de referências e metodologias dos exames laboratoriais

Nome do exame	Valor de referência	Método utilizado
Creatinina sérica	0,7 – 1,5 mg/dl	Reação de Jaffe
<i>Clearance</i> de creatinina	94 – 140 ml/min/1,73m ²	Colorimétrico cinético
<i>Clearance</i> de fósforo	Fração de Excreção de fósforo: até 20%	Colorimétrico UV
Fósforo sérico	2,5 – 5,6 mg/dL	Ultra Violeta
Uricosúria 24 h.	150 – 990 mg em 24 horas	Enzimático
Gasometria venosa	Bicarbonato: 20 – 30 mEq/L	Eletrodo seletivo
Albumina	3,5 – 5 g/dL	Colorimétrico
ALT	ALT: Fem.: até 31 U/L, Masc.: até 41 U/L	Enzimático
AST	AST: Fem.: até 31 U/L, Masc.: até 37 U/L	Enzimático
Urina I	Não se aplica	Reflectância e Sedimntoscopia
Proteinúria de 24 h.	30 – 140 mg em 24 horas	Colorimétrico
Microalbuminúria de 24 h.	Até 20 mg/ml	Imunoturbidimétrico
Ácido úrico	2,5 – 6,0 mg/dL	Enzimático
Glicemia	70 – 100 mg/dL	Enzimático
Uréia	10 – 50 mg/dL	Enzimático
Cloro	98 – 107 mmol/L	Eletrodo seletivo
Potássio sérico	3,5 - 5,1 mEq/L	Eletrodo seletivo
Sódio sérico	136 a 145 mEq/L	Eletrodo seletivo
Cálcio total	8,4 – 10,5 mg/dL	Arcenzo III
HBV DNA	< 10	Abbott Real time V 3.0
HBsAg/HBeAg	Não se aplica	Quimioluminiscência
Paratormônio intacto	10 – 69 pg/ml	Quimioluminiscência
Cistatina C	0,53 - 0,95 mg/l	Imunonefelometria: Kit N Latex cistatina C SIEMENS
NGAL	Não se aplica	Rapid Elisa: Kit Bio Porto

APÊNDICE B – Termo de consentimento informado

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE LESÃO DO TÚBULO PROXIMAL RENAL EM PACIENTES PORTADORES DE HEPATITE B EM USO DE TENOFOVIR

O Sr(a) é portador(a) de uma doença crônica no fígado causada pelo vírus da hepatite B. Essa doença se caracteriza por inflamação e formação de cicatrizes (fibrose) no fígado. A hepatite crônica pode se apresentar com diferentes graus de inflamação. Algumas pessoas apresentam uma doença leve durante toda a vida, e outras pessoas podem ter a inflamação do fígado mais acentuada. Nesses casos existem diferentes formas de tratamento para tentar diminuir a inflamação no fígado e tentar diminuir a quantidade do vírus no organismo. A escolha do tipo de medicação depende de alguns fatores como idade do paciente, inflamação e cicatrizes no fígado, quantidade de vírus no sangue (carga viral) e outras doenças associadas. No caso do sr.(a) o tratamento escolhido foi uma medicação (comprimido) chamada TENOFOVIR, que tem como objetivo diminuir a replicação do vírus da hepatite B e conseqüentemente tentar diminuir a inflamação no fígado. De acordo com estudos anteriores, o tenofovir é um medicamento seguro no que se refere a seus efeitos colaterais, mas que raros pacientes podem perder pequenas proteínas na urina quando estão tomando o Tenofovir. Para controle do tratamento e detecção de possíveis efeitos adversos são solicitados exames de sangue e urina a cada 3 meses durante o período em que o paciente está tomando o tenofovir.

O Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar de um projeto de pesquisa que pretendemos avaliar se tenofovir que o sr. (a) está usando ou começará a usar possa provocar alguma alteração renal. Essa alteração renal será avaliada através de exames de sangue e de urina. Alguns desses exames já são feitos de rotina durante o tratamento (uréia, creatinina, glicemia, etc) e outros serão específicos para a pesquisa (dosagens de microalbuminúria, proteinúria de 24 horas, *clearance* de creatinina, urina rotina, *clearance* de fósforo, uricosúria, creatinina urinária, gasometria venosa, cloremia, NGAL, Cistatina C.

O que eu devo fazer se quiser participar do estudo?

Caso o (a) senhor (a) concorde participar da pesquisa, deverá ser incluído nas seguintes etapas:

1. Coleta de informações que serão retiradas do seu prontuário médico, relacionadas à doença, tais como tratamentos já utilizados, resultados de exames e dados pessoais.
2. Coleta de uma pequena amostra de sangue, a cada 6 meses, da veia do braço (quantidade igual a mais ou menos duas colheres das de sopa). O único incômodo será a “picada” e eventualmente uma pequena mancha arroxeadada no local da punção.
3. Coleta de uma amostra cerca de 20 mL (mais ou menos meio copo de café) da minha urina a cada 6 meses
4. O sangue e urina serão coletados no mesmo dia da consulta e o(a) sr.(a) não terá que vir em consultas extras por estar participando desta pesquisa.

Quais são os benefícios desta pesquisa?

Acredita-se que esses exames possam fornecer informações que poderão facilitar o entendimento do mecanismo pelo qual o tenofovir, em alguns pacientes, pode provocar alteração renal. Com isso, os médicos poderão fazer esse diagnóstico mais cedo e avaliar se deva ou não continuar tomando o remédio ou se será melhor trocá-lo por outro. Acredita-se também que quando for preciso suspender o uso do remédio, os rins voltam ao normal e não há mais perda de proteínas.

E se eu não quiser participar da pesquisa?

A participação neste trabalho é voluntária. Caso o(a) senhor(a) não queira participar desta pesquisa, isto não trará qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento. Do mesmo modo, o(a) senhor(a) poderá, a qualquer momento retirar o seu consentimento em participar da pesquisa, sem que isto lhe traga qualquer consequência. Caso concorde em participar o(a) senhor(a) terá:

1. A garantia de receber respostas a qualquer pergunta ou a qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa;
2. A liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa, sem que isto traga prejuízo à continuação do seu tratamento médico;
3. A segurança de que não será identificado nesta pesquisa e que será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à sua privacidade;

4. O direito de receber informações atualizadas durante a pesquisa, ainda que isto possa afetar a sua vontade em continuar participando da mesma.

Caso concorde em participar, por favor, assine abaixo:

Paciente _____

Pesquisadores: Elen Romão/ Ana Martinelli/ Fernanda Fernandes/ Andreza Teixeira/ Marcia Villanova

Telefones para contato: (16)3602 2892/ (16)3062 2454/ (16)3602 2462/ (16)

Data: ____/____/20____.

APÊNDICE C – Termo de pagamento

RECIBO PARA PAGAMENTO DE TRANSPORTE AOS PACIENTES PARTICIPANTES DA PESQUISA: "AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE LESÃO DO TÚBULO PROXIMAL RENAL E INCIDÊNCIA DE REDUÇÃO DA FILTRAÇÃO GLOMERULAR EM PACIENTES PORTADORES DE HEPATITE B EM USO DE TENOFOVIR"

RECIBO: R\$ 20 Reais

Recebi de Elen Almeida Romão, à importância de R\$ 20,00 (vinte reais), referente à ressarcimento para fins de transporte e dia de trabalho, para desenvolvimento do projeto de pesquisa relativo ao processo FAPESP nº 2012/04617-0.

Ribeirão Preto, de de 20__.

Nome:

Assinatura: _____

RG:

CPF:

Endereço:

Rua:

Bairro:

Cidade:

NOTA: Estou ciente de que a importância supra, recebida nesta data, deverá constar de minha Declaração de Imposto de Renda.

Recebi cópia, que servirá como documento de Declaração da Fonte Pagadora.

Assinatura: _____