

**UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN DEL DAÑO RENAL
INDUCIDO POR TENOFOVIR EN
PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH**



Cristina Tomás Jiménez

Granada, 2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Cristina Tomás Jiménez
D.L.: GR 1136-2012
ISBN: 978-84-695-1088-9

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral ha sido realizado en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario San Cecilio, Granada, bajo la dirección de los doctores D. Jorge Parra Ruiz, Dña. Mariángeles Martínez Pérez y D. José Hernández Quero

DIRECTORES:

J. Parra Ruiz

MA Martínez Pérez

J. Hernández Quero

AGRADECIMIENTOS:

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Infección por el VIH.

1.1.1. Antecedentes históricos

1.1.2. Características Generales del VIH

1.1.2.1. Taxonomía

1.1.2.2. Estructura del VIH

1.1.2.3. Ciclo Biológico del VIH

1.1.3. Fármacos antirretrovirales.

1.1.3.1. Inhibidores de la transcriptasa inversa.

1.1.3.1.1. Inhibidores de la RT análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN)

1.1.3.1.2. Inhibidores de la RT no análogos de nucleósidos (ITINAN)

1.1.3.2. Inhibidores de la proteasa.

1.1.3.3. Inhibidores de la entrada y la fusión.

1.1.3.4. Inhibidores de la integrasa.

1.1.4. Efectos secundarios del tratamiento antirretroviral.

1.1.4.1. Alteraciones metabólicas y de la distribución de la grasa corporal.

1.1.4.2 Toxicidad cutánea

1.1.4.3. Toxicidad digestiva

1.1.4.4. Toxicidad hepática.

1.1.4.5. Toxicidad neuropsiquiátrica.

1.1.4.5.1. Neuropatía periférica.

1.1.4.5.2. Toxicidad muscular.

1.1.4.6. Toxicidad renal.

1.1.4.6.1. Despistaje y valoración inicial.

1.2. Marcadores de daño renal

1.2.1. Estimación del filtrado glomerular.

1.2.1.1. Creatinina.

1.2.1.2. Utilidad de las fórmulas derivadas del aclaramiento de orina de 24 horas.

1.2.2. Marcadores de daño glomerular.

1.2.2.1 Microalbuminuria.

1.2.1.2. Glucosaminoglucanos.

1.2.3. Marcadores de daño tubular.

1.2.3.1. N-acetil beta-glucosaminidasa.

1.2.3.1. Glucosuria.

1.3. Tenofovir Disoproxil Fumarato (TDF).

1.3.1. Estructura y mecanismo de acción.

1.3.2. Actividad *in vitro*.

1.3.3. Farmacocinética.

1.3.3.1. Absorción.

1.3.3.2. Distribución.

1.3.3.3. Eliminación.

1.3.3.4. Farmacocinética en situaciones especiales.

1.3.3.5. Dosificación.

1.3.4. Interacciones farmacológicas.

1.3.4.1. Antirretrovirales.

1.3.4.2. Otros fármacos.

1.3.5. Eficacia.

2. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo general.

2.2. Objetivos específicos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Población de estudio.

3.2. Diseño del estudio.

3.3. Determinaciones bioquímicas.

3.3.2. Marcadores de daño glomerular.

3.3.3. Marcadores de daño tubular.

3.4. Análisis estadístico.

4. RESULTADOS.

4.1. Características basales del grupo de estudio.

4.2. Evolución del filtrado glomerular

4.3. Evolución de los marcadores de daño glomerular.

4.4. Evolución de los marcadores de daño tubular.

4.5. Relación entre los cambios en la función renal y el tratamiento antirretroviral

4.5. Evolución del daño renal en función del tiempo de exposición a TDF.

5. DISCUSIÓN.

5.1. Efecto del TDF sobre el filtrado glomerular.

5.2. Efecto del TDF sobre función glomerular renal.

5.3. Efecto del TDF sobre la función tubular renal.

6. CONCLUSIONES.

7. RESUMEN.

8. BIBLIOGRAFÍA.

LISTA DE ABREVIATURAS:

3TC: Epivir

ABC: Abacavir

ABCC: Fragmento de genoma C asociado a la unión con ATP

AINEs: Antiinflamatorio no esteroideo

ATVr: Atazanavir potenciado con ritonavir

AZT: Zidovudina

CDC: Centers for Disease Control

CG: Cockcroft et Gault

CPC Cetil-Piridinilo-Cloruro

Cr: Creatinina

CrCl: Aclaramiento de creatinina

CV-VIH: carga viral del VIH

D4T: Estavudina

ddI: didanosina

dNTP: deoxi-nucleótido trifosfato

DRVr: Darunavir potenciado con ritonavir

eCrCl: Aclaramiento de creatinina estimado

EFV: Efavirenz

ENF: Enfuvirtide

ERC: Enfermedad renal crónica

ETR: Etravirina

FG: Filtrado glomerular

FOSr: Fosamprenavir potenciado con ritonavir

FTC: Emtricitavina

GAGs: Glucosaminoglicanos

HIVAN: Nefropatías asociada al VIH

hOAT: Transportador de aniones orgánicos humano

HTLV: Virus linfotrópico humano

IDV: Indinavir

IMC: Índice de masa corporal

IP: Inhibidor de la proteasa

IP/r: Inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir

ITIAN: Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósidos

ITIANt: Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótidos

ITINAN: Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos

LAV: Virus asociado a linfadenopatías.

LPVr: Lopinavir potenciado con ritonavir

MDRD: Ecuación derivada del estudio Modification of Diet in Renal Disease

MRP: Proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos

MVC: Maraviroc

NAGasa: N acetil glucosaminidasa

NFV: Nelfinavir

NVP: Nevirapina

RAL: Raltegravir

RBP: Proteína fijadora de retinol

RT: Transcriptasa inversa

RTV: Ritonavir

SQV: Saquinavir potenciado con ritonavir

TAR: Tratamiento antirretroviral

TARGA: Tratamiento antirretroviral de gran actividad

TDF: Tenofovir disoproxil fumarato

TPV: Tipranavir

TRS: Terapia renal sustitutiva

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Infección por el VIH.

1.1.1 Antecedentes Históricos

Los conocimientos sobre los retrovirus comienzan a principios del siglo XX, cuando varios investigadores identifican en animales ciertos agentes transmisibles que eran capaces de producir leucemias y tumores: los retrovirus.

En el año 1970, Temin (Temin and Mizutani 1970) y Baltimore (Baltimore 1970) descubrieron la transcriptasa inversa (RT) demostrando que el ciclo de vida de los retrovirus (virus ARN) incluía una forma intermedia de ADN, que denominaron provirus.

A finales de los años 70, se comunicó la aparición en hospitales de San Francisco y New York, de varios casos de pacientes jóvenes, previamente sanos, que padecían infecciones oportunistas o tumores hasta entonces sólo descritos en pacientes oncológicos o trasplantados, sometidos a tratamiento con inmunosupresores. Este proceso inmunodepresor, de etiología desconocida, fue denominado Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). En los años posteriores se constató una progresiva extensión de la enfermedad y una amplia distribución geográfica. Esto, junto con los antecedentes epidemiológicos de los pacientes, llevó a sospechar la etiología infecciosa como causa del proceso y a postular que la enfermedad podía transmitirse por contacto sexual, por inyección de sangre o derivados y por vía transplacentaria. Por las características epidemiológicas y el déficit inmunitario, debido a la disminución selectiva de linfocitos CD4, se encauzó la investigación a la búsqueda de un retrovirus como causa del proceso.

El primer retrovirus humano, el virus linfotrópico-T humano de tipo I (HTLV-I), causante de la leucemia de células T del adulto fue aislado en 1980 (Poiesz,

Ruscetti et al. 1980). Dos años después se descubrió el HTLV-II en un enfermo afectado de leucemia de células peludas. En 1983, el grupo de Montagnier (Poiesz, Ruscetti et al. 1980) aisló un virus linfotrópico a partir de un ganglio de un paciente con una linfadenopatía, al que denominaron virus asociado a la linfadenopatía (LAV). Al año siguiente el grupo de Robert Gallo describió otro retrovirus (Gallo, Sarin et al. 1983), al que denominaron virus linfotrópico humano de células T (HTLV-III), para distinguirlo de los dos anteriormente descritos. Posteriormente se confirmó que LAV y HTLV-III eran el mismo virus, admitiéndose internacionalmente una nueva denominación, la de virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), para el agente causal del SIDA. En 1986, Clavel et al. describieron en pacientes con SIDA de África Occidental un virus antigénicamente relacionado con el anterior, que fue denominado VIH-2 para diferenciarlo del inicial, al que se denominó VIH-1 (Clavel, Guetard et al. 1986).

1.1.2. Características generales del VIH.

1.1.2.1. Taxonomía.

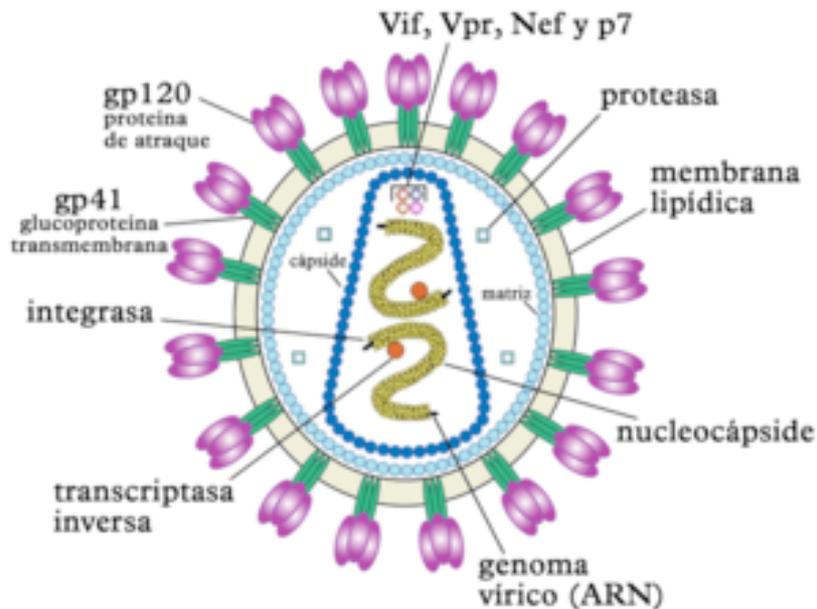
El VIH pertenece a la familia de *Retroviridae*, subfamilia *Lentivirinae*. Los retrovirus se caracterizan por poseer como material genético ARN en la partícula viral y ADN cuando se encuentran en la célula; el cambio de uno a otro tiene lugar por la acción de una enzima presente en la partícula viral, la transcriptasa inversa o retrotranscriptasa (RT). Los retrovirus se clasifican en tres subfamilias: *Oncovirinae*, *Lentivirinae* y *Espumavirinae*.

1.1.2.2. Estructura del VIH-1

El VIH-1 está formado por una partícula esférica de 80 a 100 nm. Posee una

envoltura lípido-proteica derivada de la célula huésped, donde se insertan las glucoproteínas en 72 proyecciones externas y antígenos de histocompatibilidad (MHC) de clases I y II derivadas de las células huésped. La envoltura rodea a una nucleocápside icosaédrica denominada core, en cuyo interior se localiza el material genético y determinadas enzimas necesarias para el ciclo vital (figura 1.1.2.2.1).

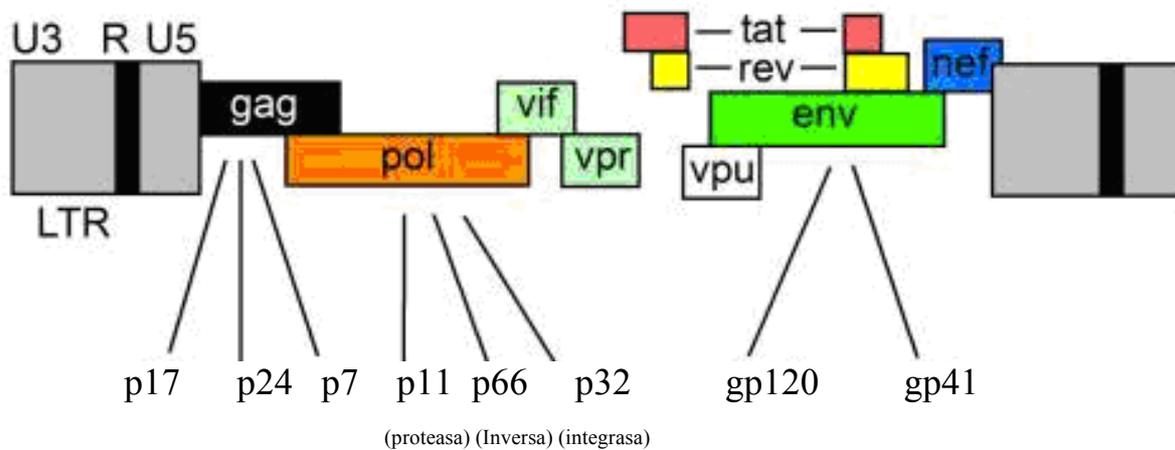
Figura 1.1.2.2.1. Estructura del VIH-1.



El genoma del virus es un ARN de cadena única formado por dos hebras idénticas de 9,8 Kb de polaridad positiva (figura 1.1.2.2.2). Emplea la enzima transcriptasa inversa, presente en el virión para replicarse, dando lugar al ADN proviral que se integra en el genoma de la célula huésped. Este genoma viral posee tres genes estructurales principales, los denominados gag, pol y env; y seis genes reguladores nef, tat, rev, vpr, vif y vpu. Además, en su forma de

provirus, el genoma viral se encuentra flanqueado por unas secuencias repetidas (LTR) que le permiten la integración en el genoma celular, y en las que se localizan los elementos reguladores de la iniciación de la transcripción viral.

Figura 1.1.2.2.2. Genoma del VIH-1.

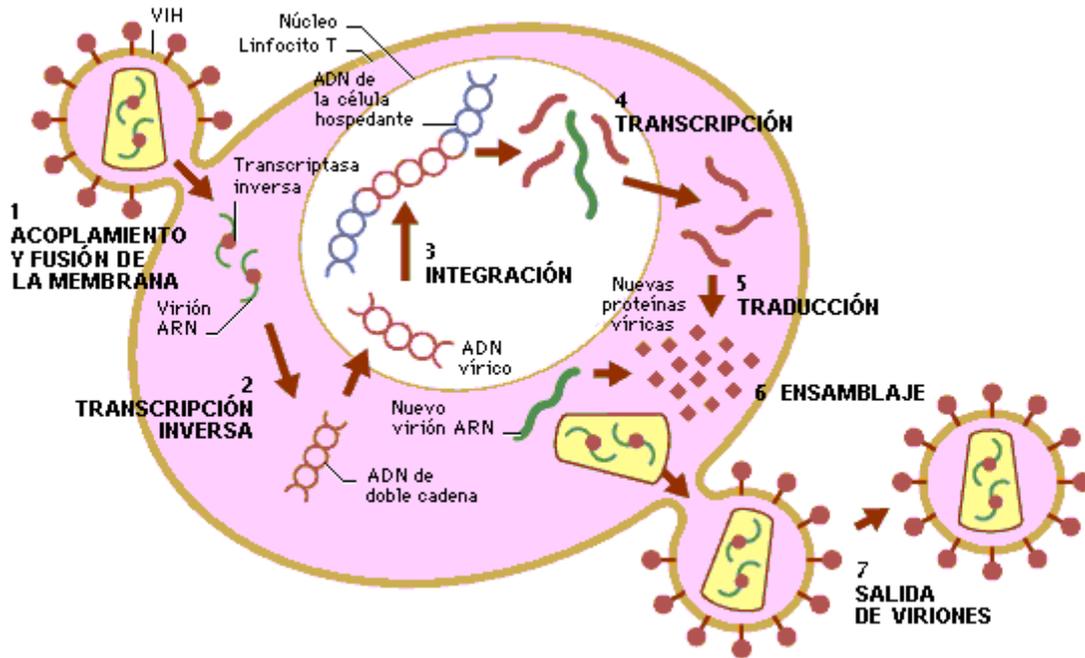


1.1.2.3. Ciclo biológico del VIH-1.

El ciclo biológico del VIH se divide en dos etapas bien diferenciadas (figura 1.1.2.3.1): la fase temprana, que culmina con la integración del ADN proviral en el genoma celular; y la fase tardía, que implica la transcripción del genoma viral y la generación de una progenie infecciosa (Greene 1991).

No se detallará en esta tesis doctoral las diferentes fases del ciclo biológico del VIH por considerarlo fuera de los intereses de este trabajo, remitiendo a los lectores a la literatura detallada al respecto.

Figura 1.1.2.3.1. Ciclo biológico del VIH.



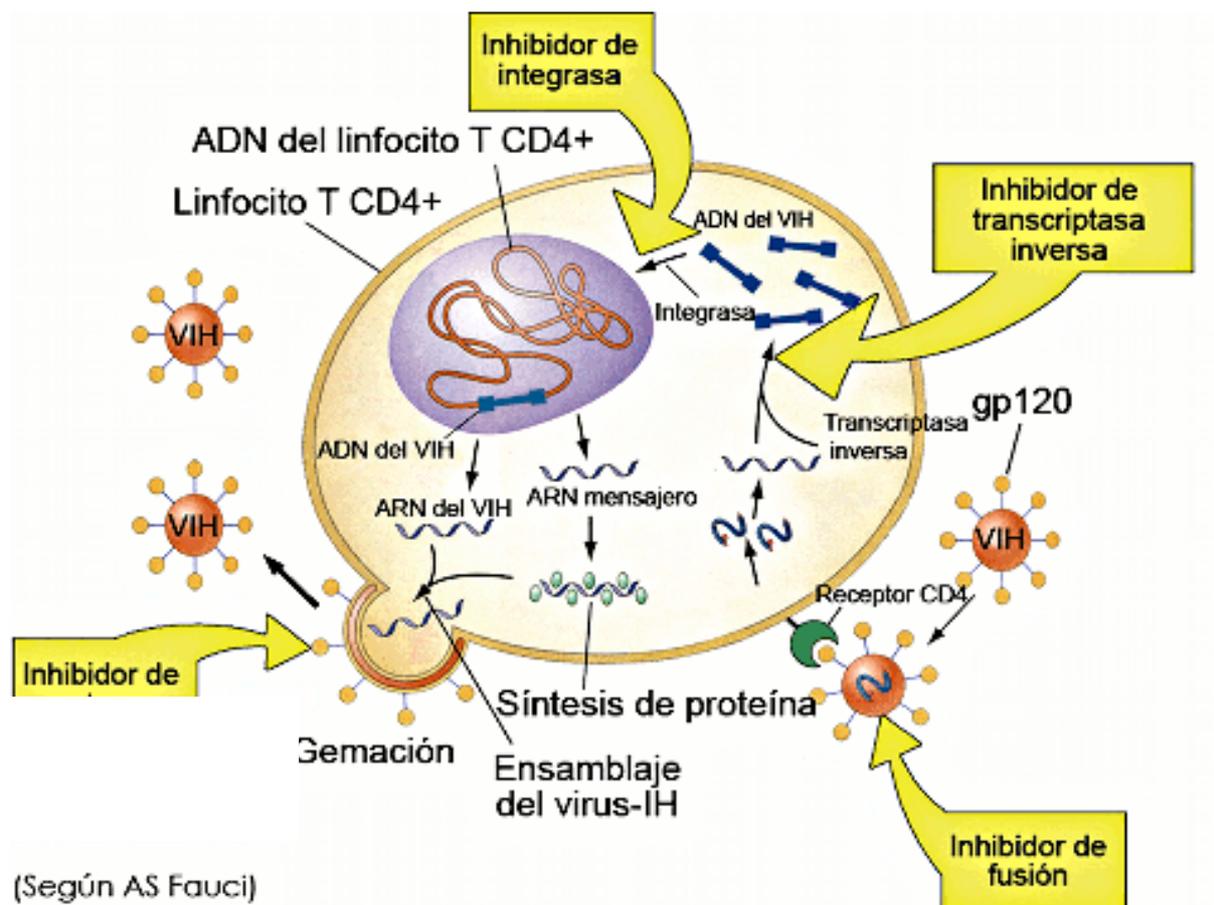
1.1.3. Fármacos antirretrovirales.

La erradicación completa del VIH no es posible con los fármacos antirretrovirales de los que disponemos actualmente, puesto que los virus que se encuentran integrados en el DNA celular, en estado de latencia en los linfocitos T CD4 desde los estadios iniciales de la infección aguda (Chun, Engel et al. 1998), son capaces de persistir durante largo tiempo a pesar de que se logre una supresión prolongada de la replicación viral y de la viremia (Wong, Hezareh et al. 1997). Por tanto, los **objetivos** que llevan a iniciar el tratamiento antirretroviral son: reducir la morbilidad relacionada con el VIH y prolongar la supervivencia, mejorar la calidad de vida del paciente, restaurar y preservar la función inmunológica, lograr una supresión de la CV duradera y prevenir la transmisión vertical de VIH. Se deben diseñar estrategias terapéuticas que eviten o retrasen la selección de mutaciones que causen resistencias cruzadas y que limitarían la eficacia de los regímenes terapéuticos posteriores. Para lograr el

éxito terapéutico, el paradigma actual de tratamiento debe contener 3 fármacos activos, pertenecientes a varias familias farmacológicas (AIDS Study Group/Spanish AIDS Plan 2010). Esto supondrá una barrera genética, farmacocinética y farmacodinámica que dificultará al VIH desarrollar resistencias a los fármacos antirretrovirales (Hammer, Squires et al. 1997; Drusano, Bilello et al. 1998).

Cada clase de antirretrovirales ha sido diseñada para bloquear específicamente alguna de las diferentes fases de replicación del VIH (figura 1.1.6.1)

Figura 1.1.3.1. Mecanismo de acción de los fármacos antirretrovirales.



Los fármacos antirretrovirales aprobados hasta el momento se pueden clasificar en **cuatro grupos** principales: inhibidores de la RT análogos de nucleósidos o nucleótidos (ITIAN), inhibidores de la RT no análogos de nucleósidos (ITINAN), inhibidores de la proteasa (IP), inhibidores de la entrada y la fusión e inhibidores de la integrasa (tabla 1.1.6.1)

1.1.3.1. Inhibidores de la transcriptasa inversa.

La RT, enzima fundamental en el ciclo biológico del VIH, es un heterodímero compuesto de dos subunidades, denominadas p66 y p51. En la subunidad p66 se localiza el sitio activo del enzima, formado por el dominio polimerasa unido al dominio RNasa H. El dominio polimerasa tiene una morfología peculiar, ya que recuerda la forma de una mano derecha, con tres subdominios denominados *fingers* (dedos), *palm* (palma) y *thumb* (pulgar). La RT sintetiza ADN, utilizando como molde ARN (actividad ADN polimerasa ARN-dependiente) o ADN (actividad ADN polimerasa ADN-dependiente), y degrada ARN cuando éste se encuentra formando parte del complejo ARN-ADN (actividad RNasa H).

Los inhibidores de la RT se clasifican en dos grandes grupos en base a sus características moleculares, que determinan mecanismos de inhibición distintos para ambos grupos de fármacos:

- Inhibidores de la RT Análogos de Nucleósidos o Nucleótidos (ITIAN).
- Inhibidores de la RT No Análogos de Nucleósidos (ITINAN).

Tabla 1.1.3.1. Fármacos antirretrovirales aprobados por la FDA (Enero 2010).

INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA
ITIAN: ANALOGOS DE LOS NUCLEOSIDOS/NUCLEOTIDOS
ZIDOVUDINA (AZT)
DIDANOSINA (ddI)
ZALCITABINA (ddC)
ESTAVUDINA (d4T)
EMTRICITABINA (FTC)
LAMIVUDINA (3TC)
ABACAIR (ABC)
TENOFOVIR DF (TDF)
ITINAN: NO ANÁLOGOS DE LOS NUCLEÓSIDOS
NEVIRAPINA (NVP)
DELAVIRDINA (DLV)
EFAVIRENZ (EFV)
ETRAVIRINA (ETV, antes TMC-125)
INHIBIDORES DE LA PROTEASA (IPs)
NELFINAVIR (NFV)
SAQUINAVIR (SQV)
INDINAVIR (IDV)
RITONAVIR (RTV)
LOPINAVIR (LPV)
ATAZANAVIR (ATV)
FOSAMPRENAVIR (FPV)
TIPRANAVIR (TPV)
DARUNAVIR (DRV, antes TMC-114)
INHIBIDORES DE LA ENTRADA Y LA FUSION
ENFUVIRTIDE (ENF, antes T-20)
MARAVIROC (MVC)
INHIBIDORES DE LA INTEGRASA
RALTEGRAVIR (RAL)

1.1.3.1.1. Inhibidores de la RT Análogos de Nucleósidos / Nucleótidos (ITIAN).

Los fármacos inhibidores de la RT Análogos de **Nucleósidos** son estructuralmente semejantes a los nucleósidos naturales y, al igual que éstos, requieren ser trifosforilados en el citoplasma celular por una fosfoquinasa para ser biológicamente activos. Una vez fosforilados, compiten con los dNTPs en su incorporación a la cadena de ADN sintetizada por la RT (Winter, Maeda et al. 1996), interrumpiendo su proceso de síntesis, ya que carecen de grupo hidroxilo en la posición 3' del azúcar y los nuevos nucleótidos no se pueden unir a la cadena de ADN sintetizada.

Los inhibidores de la RT Análogos de **Nucleótidos** actúan de forma similar a los análogos de nucleósidos pero, al estar parcialmente fosforilados, necesitan menos fosforilaciones en el interior de la célula para ser activos.

En este grupo se engloban: **zidotimidina o Zidovudina (AZT, ZDV), Didanosina (ddI), Zalcitabina (ddC), Estavudina (d4T), Lamivudina (3TC), Abacavir (ABC), Emtricitabina (FTC) y Tenofovir (TDF).**

Dentro de ellos, el tenofovir (TDF) es un nucleótido inhibidor de la RT análogo de la timidina, con actividad *in vitro* frente a retrovirus y hepadnavirus. Se administra por vía oral como profármaco, tenofovir disoproxil fumarato, convirtiéndose una vez absorbido en tenofovir, que es su forma activa. A diferencia de los fármacos anteriores, el TDF está monofosforilado, por lo que requiere menos reacciones metabólicas intracelulares para adoptar su forma activa. Por ser objeto de estudio de nuestra tesis, será descrito en más detalle con posterioridad.

1.1.3.1.2. Inhibidores de la RT No Análogos de Nucleósidos (ITINAN).

Los **ITINAN** no requieren activación metabólica intracelular. A diferencia de los ITIAN no se incorporan a la cadena de ADN en formación sino que se unen de forma no competitiva a un lugar cercano al centro catalítico de la enzima, una región hidrofóbica de la subunidad p66 (Spence, Kati et al. 1995). Esta unión conduce a un cambio conformacional en la estructura del enzima, que impide la colocación correcta del complejo molde-iniciador imposibilitando la polimerización del ADN (De Clercq 1999).

Estos fármacos no son activos frente a cepas del VIH-1 del grupo O ni frente al VIH-2. Algunas cepas del subtipo F también parecen mostrar una menor sensibilidad a estos fármacos (Fonjungo, Mpoudi et al. 2002).

Este grupo lo componen: **Nevirapina (NVP)**, **Efavirenz (EFV)**, **Delavirdina (DLV)** y **Etravirina (ETV)**.

1.1.3.2. Inhibidores de la proteasa.

La proteasa del VIH es un homodímero constituido por dos subunidades de 99 aminoácidos codificadas en el extremo 5' del gen *pol* que interaccionan con el sustrato a través de una hendidura situada en la zona de contacto entre ambas subunidades. Esta enzima actúa en la fase final del ciclo de replicación viral, participando en el procesamiento de las poliproteínas *Gag* y *Gag-Pol*.

Los **fármacos inhibidores de la proteasa (IPs)** se unen al centro activo de esta enzima compitiendo con sus sustratos naturales (*Gag* y *Gag-Pol*) lo que resulta en la formación de partículas virales inmaduras y, por consiguiente, no infecciosas (Tomasselli and Heinrikson 2000).

Este grupo de fármacos está compuesto por: **Saquinavir (SQV)**, **Ritonavir**, **Ritonavir (RTV)**, **Indinavir (IDV)**, **Nelfinavir (NFV)**, **Lopinavir (LPV)**, **Fosamprenavir (FOS)**, **Atazanavir (ATV)**, **Tipranavir (TPV)**, **Darunavir (DRV)**.

1.1.3.3. Inhibidores de la entrada y la fusión.

Los inhibidores de la entrada se adhieren a las proteínas de superficie de las células T o a las proteínas de superficie del VIH. Para que el VIH se una y pueda entrar a las células T, las proteínas de la capa externa del VIH deben unirse a las proteínas de superficie de las células T. Los inhibidores de la entrada evitan que este proceso ocurra. Algunos inhibidores de la entrada se adhieren a las proteínas gp120 ó gp41 de la capa externa del VIH. Otros inhibidores utilizan la proteína CD4 ó los receptores CCR5 ó CXCR4 de la superficie de las células T. Si los inhibidores de la entrada logran adherirse eficientemente a las proteínas, éstas quedan bloqueadas y entonces el VIH no puede unirse a la superficie de las células T e ingresar a las mismas.

Este grupo de antiretrovirales lo componen: **Enfuvirtida (ENF, T-20)**, **Maraviroc (MVC)**.

1.1.3.4. Inhibidores de la integrasa.

Los fármacos de este grupo actúan inhibiendo la acción de la integrasa, lo que bloquea la integración del ADN del VIH en el ADN de la célula. Hasta el momento **raltegravir (RAL)** es el único fármaco de este grupo aprobado por la FDA y la EMEA (2007).

1.1.4. Efectos secundarios del tratamiento antirretroviral.

Los efectos secundarios del tratamiento antirretroviral (TAR) se caracterizan por aparecer con una elevada frecuencia, tener una gravedad moderada-alta (necesitando, por tanto, de un manejo clínico complejo), afectar algunos de ellos y de forma notable, a la adherencia al TAR y ser una de las principales causas de cambio justificado en la terapia de combinación antirretroviral prescrita en el paciente (Knobel, Escobar et al. 2005; Protopopescu, Raffi et al. 2009; Cicconi, Cozzi-Lepri et al. 2010).

Desde el punto de vista clínico, la gravedad de los efectos adversos al TAR (a medio y largo plazo) son una de las principales causas de suspensión y/o modificación del TAR en el paciente *naive*, habiéndose establecido que la toxicidad del TAR puede justificar entre el 58% y el 64% (O'Brien, Clark et al. 2003; d'arminio Monforte, Cozzi-Lepri et al. 2005) de los cambios de tratamiento. Así mismo, se han analizado las causas de ingresos hospitalarios del paciente VIH, encontrando la toxicidad del TAR como responsable de un 6,4% de los mismos (Cicconi, Cozzi-Lepri et al. 2010).

1.1.4.1. Alteraciones metabólicas y de la distribución de grasa corporal.

La etiopatogenia de las alteraciones metabólicas y de distribución de grasa corporal parece multifactorial, siendo el TAR condición necesaria pero no suficiente y existiendo efectos diferenciales para cada familia de antirretrovirales. Ambos efectos adversos han aparecido frecuentemente asociados, aunque no necesariamente tienen por que aparecer juntos y se desconoce cual es la exacta interrelación entre ambos. Su importancia clínica radica, por un lado en su posible capacidad para incrementar el riesgo cardiovascular a largo plazo y por otro en afectar, de forma negativa, a aspectos

psicológicos y sociales de los pacientes que los sufren, sobre todo las alteraciones en la distribución de grasa corporal (Troll 2011).

Aunque las alteraciones metabólicas y de distribución de la grasa corporal fueron descritas inicialmente en pacientes tratados con inhibidores de proteasa (IP) y al poco de introducirse estos fármacos en la práctica clínica, hoy día está establecido que las alteraciones de la grasa corporal pueden aparecer también en pacientes que han sido tratados exclusivamente con ITIAN, solos o en combinación con un inhibidor de transcriptasa inversa no análogo (ITINAN).

En el caso de la dislipemia, la hipertrigliceridemia es la alteración lipídica más característica de la infección por VIH. De echo, en pacientes no tratados, los triglicéridos se elevan con la progresión de la infección por VIH por un mecanismo mediado por citoquinas proinflamatorias. En el paciente que recibe tratamiento antirretroviral, los triglicéridos pueden elevarse particularmente con los inhibidores de la proteasa en general y con el no nucleósido efavirenz en particular. En el caso de los inhibidores de la proteasa, la elevación de los triglicéridos plasmáticos es directamente proporcional a la dosis diaria de ritonavir utilizada como potenciador (Oh and Hegele 2007).

Los incrementos de colesterol total y LDL colesterol y la reducción de HDL colesterol tienen un impacto en el riesgo cardiovascular. La reducción del HDL colesterol es un efecto de la infección por VIH que no logra restablecerse con el tratamiento antirretroviral.

El efecto secundario específico de grupo más importante de los ITIAN es un cuadro de acidosis láctica y esteatosis hepática, de baja incidencia, pero que puede llegar a ser mortal sino se diagnostica con rapidez. La etiología probablemente sea secundaria a la toxicidad mitocondrial descrita de los ITIAN.

1.1.4.2. Toxicidad cutánea.

Todos los grupos de antirretrovirales presentan, en mayor o menor medida, toxicidad a nivel cutáneo: Sequedad cutáneo-mucosa (zidovudina, didanosina y lamivudina), úlceras en mucosa oral (zalcitabina), hiperpigmentación cutánea (zidovudina), exantema (nevirapina, efavirenz y todos los IP), foliculitis, sequedad, descamación, prurito (nelfinavir, indinavir, ritonavir), alopecia (indinavir, ritonavir). La importancia clínica de la toxicidad cutánea es variable, desde trastornos fácilmente controlables con un mayor cuidado e hidratación de la piel, hasta manifestaciones clínicas graves que obligan a la suspensión del antirretroviral implicado. En este sentido, las reacciones adversas clínicamente más importantes son el exantema asociado a efavirenz y la reacción de hipersensibilidad a nevirapina.

1.1.4.3. Toxicidad digestiva.

La toxicidad gastrointestinal asociada al TARGA es muy frecuente y se traduce en náuseas, vómitos y diarrea. Constituyen efectos adversos característicos y muy frecuentes de todos los IP. La etiología es multifactorial y su manejo clínico se basa en informar al paciente (incorporando medidas no farmacológicas de tipo higiénico y dietético) junto con la utilización de antidiarreicos (loperamida, metamucil, fibra soluble) y antieméticos (metoclopramida, domperidona).

1.1.4.4. Toxicidad hepática.

Los ITIAN son los fármacos menos hepatotóxicos (a pesar de que la acidosis láctica y esteatosis hepática son específicas de este grupo farmacológico). Los

IPs también pueden producir elevaciones graves de los enzimas hepáticos, por toxicidad directa o como una manifestación del síndrome de reconstitución inmune en coinfección con VHB y/o VHC. En cuanto a los ITINAN, la hepatotoxicidad es un efecto adverso frecuente de nevirapina y de efavirenz. Esta toxicidad hepática de los ITINAN parece ser más incidente cuando hay coinfección con otros virus hepatotropos como VHB ó VHC (Sulkowski, Thomas et al. 2002). El manejo clínico se basa en descartar otros factores causales (hepatitis virales, alcoholismo...), vigilancia estrecha con controles analíticos periódicos y si el aumento de transaminasas es mayor de 5 veces el valor límite de normalidad, considerar suspensión de tratamiento siendo obligado interrumpirlo si el aumento de transaminasas es mayor de 10 veces el valor límite de normalidad, existe clínica de hipersensibilidad o síntomas de fallo hepático o acidosis láctica.

1.1.4.5. Toxicidad neuropsiquiátrica.

Es el perfil de toxicidad característico de efavirenz. Aparece con una frecuencia del 20-25 % y es dosis dependiente. Se manifiesta en las primeras semanas de tratamiento, siendo su etiología desconocida aunque parece estar relacionada con niveles plasmáticos de efavirenz superiores a > 4 mg/mL (Marzolini, Telenti et al. 2001).

Existen otras toxicidades neurológicas que merece la pena ser comentadas brevemente.

1.1.4.5.1. Neuropatía periférica.

Asociado a algunos ITIAN (zalcitabina, didanosina, estavudina) con una frecuencia elevada: 12 % - 45 %. La etiología puede estar relacionada con una

Interacción entre citoquinas y factores de crecimiento neuronal o con la existencia de neuropatía previa o factores de riesgo (alcoholismo, desnutrición, diabetes...). Las manifestaciones clínicas son hipoestesia, parestesia y dolor en extremidades.

1.1.4.5.2. Toxicidad muscular.

Relacionada con el mecanismo de toxicidad mitocondrial asociado a zidovudina. Es un efecto adverso infrecuente pero potencialmente grave del tratamiento con este fármaco.

1.1.4.6. Toxicidad renal.

La enfermedad renal crónica en pacientes con infección por el VIH se está poniendo de manifiesto como una de las comorbilidades más frecuentes, por lo que actualmente su estudio es un campo abierto. Las manifestaciones que pueden aparecer son muy variadas, por lo que se debe tener alto índice de vigilancia desde la primera visita del paciente, realizando los estudios adecuados para descartarla y evitar el empeoramiento con las medidas diagnósticas o terapéuticas que posteriormente se deban aplicar. Uno de los problemas más habituales es la nefrotoxicidad de algunos fármacos y cada vez son más frecuentes los casos descritos asociados a tenofovir. Lo importante es conocer sus características, los factores colaboradores y controlar de manera adecuada a los pacientes.

La terapia antirretroviral ha motivado cambios en la evolución de los pacientes VIH, entre los que están, junto con la mejoría de parámetros inmuno-virológicos y disminución de la morbimortalidad, el desarrollo de complicaciones que requieren un seguimiento y monitorización a lo largo de la evolución. Una de

ellas es la nefropatía que afecta a más del 20% de pacientes VIH (Fernando, Finkelstein et al. 2008), siendo especialmente importante que cerca del 75% de los casos de enfermedad renal no son diagnosticados, y que su identificación se realiza sólo cuando existe un despistaje adecuado (Fernando, Finkelstein et al. 2008). La prevalencia de enfermedad renal en la población VIH es superior a la existente en la población general (Overton, Nurutdinova et al. 2009), y cuando se estratifica la prevalencia de enfermedad renal de acuerdo a los diferentes grados de deterioro de la función renal, observamos que entre un 3 y un 10% de la población VIH presenta un deterioro de la función renal estadio 3 o superior (Fernando, Finkelstein et al. 2008; Colson, Florence et al. 2010). En la tabla 1.1.4.6.1 se detalla la clasificación de la enfermedad renal crónica.

Tabla 1.1.4.6.1 Clasificación de la enfermedad renal crónica.

ESTADIO	DESCRIPCION	FG (mL/min/1,73m²)
-	Riesgo incrementado para insuficiencia renal crónica	> 60 (con factores de riesgo para ERC*)
1	Daño renal con FG normal o elevado	≥ 90
2	Daño renal con disminución leve del FG	60-89
3	Daño renal con disminución moderada del FG	30-59
4	Daño renal con disminución grave del FG	15-29
5	Fallo renal	< 15 o diálisis
*Factores de riesgo para ERC: Ancianos, historia familiar de insuficiencia renal crónica, HTA, DM, reducción de la masa renal, bajo peso al nacer, enfermedades autoinmunes y sistémicas, infecciones urinarias, litiasis, enfermedades obstructivas de las vías urinarias, uso de fármacos nefrotóxicos, raza afroamericana, bajos nivel educativo o social.		

Modificado de la National Kidney Foundation(National Kidney Foundation 2002).

Por otro lado, es necesario señalar que el número de muertes secundarias a enfermedad renal en esta población está aumentando (Palella, Baker et al. 2006). Asimismo, la prevalencia de hipertensión arterial en estos pacientes oscila entre el 12 y el 34%, y es un factor predictor de mortalidad que también puede influir en la enfermedad renal.

La primera consideración que debe hacerse es establecer si el daño renal ha aparecido de nuevo en un paciente VIH o si bien es un paciente con enfermedad renal previa que se ha infectado posteriormente por el VIH. Por ello, es necesario valorar la función renal y los factores de riesgo de progresión en estos pacientes desde el principio. Si progresa a estadios finales, se deberá plantear la indicación de terapia renal sustitutiva (TRS) y, por último, si el paciente ha entrado en TRS, establecer si cumple los criterios de trasplante renal (Trullas, Mocroft et al. 2010). Si se piensa introducir algún fármaco nefrotóxico hay que adecuarlo al grado de enfermedad renal crónica que presenta.

1.1.4.6.1. Despistaje y valoración inicial.

Al diagnosticarse el VIH, debería evaluarse en todos los pacientes la presencia de nefropatía mediante un análisis de orina para detectar proteinuria, y con una estimación de la función renal a partir de la determinación de la creatinina. En caso de que no hayan signos de proteinuria durante la evaluación clínica, los pacientes con un alto riesgo de desarrollar una nefropatía (diabetes, hipertensión, raza negra, coinfección por el VHC, $CD4 < 200/\mu l$, carga viral VIH > 4.000 copias/ml) deberán someterse a una revisión renal anual (Barril Cuadrado and de Los Santos Gil 2008; Cooper and Tonelli 2011).

La hipofosforemia es uno de los trastornos electrolíticos más frecuentemente asociados al VIH. En la era del TAR de gran actividad se ha llegado a describir

hasta en un 30% de pacientes, posiblemente por la implicación que tienen algunos antirretrovirales. Dentro de las causas de hipofosforemia están: desnutrición, alcoholismo, pérdidas gastrointestinales, osteomalacia, hiperparatiroidismo y síndrome de Fanconi, poco habitual pero que aparece por alteración tubular proximal y debe considerarse su exclusión en el caso que aparezca hipofosforemia (Day, Leake Date et al. 2005; Fux, Simcock et al. 2007). La presentación de los síntomas de hipofosforemia puede darse de forma insidiosa, según se van agotando las reservas, sin apenas síntomas, salvo algunos inespecíficos como astenia, dolores musculares y óseos, o bien de forma aguda que puede llevar a rabdomiolisis, hipotensión y hemólisis.

Ante una hipofosforemia se debe descartar la presencia de síndrome de Fanconi, aunque muchas veces puede ser multifactorial. Como trastorno tubular proximal, el síndrome de Fanconi cursa con hipofosforemia, hipouricemia, acidosis metabólica, hipopotasemia, glucosuria, hiperaminoaciduria, proteinuria < 2 g/l. y glucemia normal, ya que la glucosuria aparece sólo por alteración tubular proximal. No obstante, conviene recordar que hay una serie de etiologías de hipofosforemia que pueden darse en pacientes VIH solas o junto al síndrome de Fanconi, lo que a veces hace que la disminución del fósforo sea multifactorial: trastornos del aparato digestivo (anorexia, náuseas, vómitos, diarrea crónica, alcoholismo, antiácidos), cambios intracelulares (síndrome de realimentación), alcalosis metabólica, (aumento de la excreción urinaria: síndrome de Fanconi, diuréticos) y alteraciones óseas.

El TDF, objeto de este trabajo de investigación se elimina, al igual que el fósforo, por el riñón a través de balance glomérulo-tubular, por lo que su homeostasis se altera si hay patología tubular, y fundamentalmente tubular proximal. El balance glomérulo-tubular se da cuando la sustancia se filtra a nivel glomerular y los ajustes de excreción se hacen a través de mecanismos de

reabsorción-secreción, principalmente, en el túbulo proximal y, en menor grado, en el túbulo distal.

1.2. Marcadores de daño renal.

Las alteraciones estructurales y funcionales del riñón van a dar origen a una serie de modificaciones analíticas, tanto séricas como urinarias, que nos van a orientar sobre la importancia y localización de la lesión renal.

Conocer lo antes posible la repercusión del tratamiento antirretroviral sobre el riñón, es de gran utilidad de cara al pronóstico y tratamiento, con el fin de retrasar en lo posible la evolución de la insuficiencia renal crónica. Hay una serie de alteraciones analíticas que reflejan el grado de afectación renal y que denominamos "marcadores de daño renal". Algunos de ellos son más precoces y detectan las lesiones renales incipientes.

1.2.1. Estimación del filtrado glomerular.

La estimación del filtrado glomerular (FG) es esencial para la detección y el manejo de cualquier daño renal tanto crónico como agudo y para la correcta dosificación del tratamiento antirretroviral. El biomarcador ideal sería aquel que se filtrara libremente por el glomérulo pero no se reabsorbiera ni se secretara por el túbulo renal. El más usado es la creatinina plasmática que, si bien no cumple a la perfección estos requisitos, es el marcador biológico más adecuado.

1.2.1.1. Creatinina.

La creatinina es una sustancia derivada del metabolismo de la creatina y la fosfocreatina, que se encuentra casi de forma exclusiva en el tejido muscular y se filtra libremente en el glomérulo. Durante mucho tiempo se ha utilizado la creatinina plasmática como marcador rápido y sencillo para la medición de la función renal. Sin embargo, sabemos que la creatinina sérica se encuentra

asociada a todo un conjunto de factores que limitan su utilización, entre los cuales cabe destacar una producción proporcional a la masa muscular, la influencia de la edad y el sexo en sus valores y modificaciones en la secreción y reabsorción tubulares, por lo que resulta poco sensible a modificaciones iniciales del FG. Por último, también se encuentra sujeta a mecanismos de eliminación extrarrenal. Especial atención merecen las interferencias de laboratorio producidas por los denominados «cromógenos» (Bacon and Pardue 1989). Sustancias como la glucosa, cuerpos cetónicos, fructosa, piruvato, ácido ascórbico y proteínas plasmáticas pueden producir una falsa elevación plasmática, de hasta un 20%, en algunas situaciones, como la cetoacidosis diabética, lo cual ocasiona una falsa subestimación en el cálculo del FG determinado por el aclaramiento de creatinina. Así pues, a modo de conclusión, el clínico no debe emplear la creatinina plasmática como único marcador de función renal.

1.2.1.2. Aclaramiento de creatinina

Es probablemente una de las ecuaciones predictivas más utilizadas para el seguimiento ambulatorio de la función renal y el ajuste de dosis en la administración de fármacos potencialmente nefrotóxicos. Esta ecuación se obtuvo de la estimación del aclaramiento de creatinina en una población de 236 pacientes canadienses de raza blanca (209 varones) con función renal normal o estadios 2-3 de ERC. La fórmula tiene en cuenta el incremento de la creatinina plasmática que tiene lugar con el aumento del peso y el sexo, así como la disminución de la producción de creatinina que se produce con la edad. La fórmula de Cockcroft-Gault presenta una buena relación con el verdadero FG, si bien se produce una cierta sobrestimación en situaciones de insuficiencia renal avanzada y, sobre todo, en pacientes obesos.

Por otro lado, una fórmula más novedosa para la estimación del FG se obtuvo a partir de los datos obtenidos en un estudio epidemiológico norteamericano: el Modification of Diet in Renal Disease Study (MDRD) que combina todo un conjunto de variables sociodemográficas, analíticas y nutricionales para la estimación de la función renal (Levey, Bosch et al. 1999). La fórmula MDRD-7 se desarrolló a partir de la estimación del FG calculado con ^{125}I -iotalamato en una población de 1.628 pacientes con ERC en estadios 3 y 4, con una media (desviación estándar) de FG de 39,8 (21,2) ml/min/1,73 m². Posteriormente se desarrolló la versión simplificada del MDRD y se comparó con otros métodos de cálculo para la estimación de la función renal en pacientes no diabéticos con o sin insuficiencia renal (Lin, Knight et al. 2003; Buitrago, Calvo et al. 2008), fundamentalmente de raza blanca. Estudios transversales recientes han validado la aplicación de la ecuación MDRD-7 en pacientes diabéticos con ERC en estadios 3-4 (Poggio, Wang et al. 2005) y afroamericanos no diabéticos con insuficiencia renal crónica terminal (Kuan, Hossain et al. 2005). Sin embargo, esta ecuación no se ha validado en edades infantiles (< 18 años), mujeres embarazadas, ancianos (> 70 años) y sujetos con función renal normal sobre la base de la determinación de la creatinina plasmática, según la aplicación de los métodos analíticos convencionales.

1.2.1.2. Utilidad de las fórmulas derivadas del aclaramiento en orina de 24 h

La creatinina sérica se produce a través de la metabolización de la creatina del músculo esquelético y de la ingesta diaria de proteínas, siendo constante su eliminación al torrente circulatorio. En condiciones de equilibrio la excreción de creatinina es proporcional a su producción, si bien varía inversamente con el FG (curva hiperbólica). Dentro de las fórmulas obtenidas en orina de 24 h, el aclaramiento de creatinina ha sido la más utilizada para la estimación del FG. La fiabilidad en la estimación del FG mediante la utilización de las fórmulas que

calculan el aclaramiento en orina de 24 h cuenta con importantes limitaciones, fundamentalmente a expensas de la variabilidad en los mecanismos de secreción tubular de creatinina, mecanismos de eliminación extrarrenal, errores en la recogida de la muestra y sensibilidad de los métodos de laboratorio para la determinación de la creatinina.

En situaciones de ERC en estadio 4, el aclaramiento de creatinina produce una sobrestimación del FG como consecuencia de un aumento de la secreción tubular de creatinina. En contrapartida, se ha demostrado que en este grado de función renal el aclaramiento de urea subestima el FG, ya que el 40-50% de la urea filtrada se reabsorbe en el túbulo. Por dicho motivo, en situaciones de ERC avanzada resulta más acertado el cálculo de la media del aclaramiento de ambos.

1.2.2. Marcadores de daño glomerular.

1.2.2.1. Microalbuminuria.

En 1.982 en el Guy's Hospital de Londres se introdujo el concepto de microalbuminuria. Se define como el aumento de la excreción urinaria de albúmina, en ausencia de proteinuria detectada por métodos convencionales de laboratorio. Se admite unánimemente que el término "microalbuminuria" hace referencia a la excreción urinaria de albúmina comprendida entre 30 y 300 mg/día o entre 20 y 200 microgramos/minuto, considerándose a partir de esta cifra la proteinuria.

Su presencia es un factor de progresión de ERC y es importante delimitar si existe o no, y si está presente valorar si es glomerular o tubular. Si es glomerular, será fundamentalmente albúmina, y si es tubular, pueden ser otras proteínas. Si es positiva habrá, que descartar procesos que puedan dar falsos

positivos, como infecciones de orina. Si es positiva una muestra de orina de la mañana, midiendo el cociente albúmina/Cr y/o proteínas/ Cr nos dará una idea más exacta de si es glomerular o tubular.

1.2.2.2. Glucosaminoglucanos

Los glucosaminoglucanos (GAGs) son el grupo más abundante de heteropolisacáridos encontrados en el organismo. Están localizados primariamente en la matriz extracelular o en la superficie de las células (Lauver and Lucchesi 2006). Además de su papel como principal fuente de energía en los organismos vivos, los monosacáridos se encuentran a menudo como componentes de macromoléculas más complejas tales como los oligo y polisacáridos, glucoproteínas, glucolípidos y proteoglicanos.

Existen siete GAGs fundamentales que difieren en las unidades de disacáridos que los constituyen (Hassell, Kimura et al. 1986) y son, ácido hialurónico, condroitín-4-sulfato, condroitín-6-sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato, heparán sulfato y heparina. De todos ellos el ácido hialurónico es el único que no está sulfatado y que no se une a cadenas peptídicas formando proteoglicanos. Se encuentra en una amplia variedad de tejidos de los organismos mamíferos tales como el líquido sinovial, tejido conectivo y embrionario, pero también es sintetizado por bacterias y forma parte, por ejemplo, de la membrana de los estreptococos del grupo A.

Los GAGs pueden encontrarse en la orina en forma libre o bien combinada, formando los proteoglicanos (Parthasarathy and Spiro 1981). Se considera que los GAGs urinarios libres son productos metabólicos de los proteoglicanos de diferentes tejidos. La degradación incluye la proteólisis de los péptidos de los proteoglicanos del tejido conectivo. A continuación esos fragmentos

experimentan una despolimerización enzimática incompleta y procesos de desulfatación en los lisosomas del hígado. Finalmente la excreción renal tiene lugar por filtración glomerular ya que no se tiene evidencia de que se produzca excreción o absorción tubular.

Los GAGs urinarios libres también pueden proceder de las propias paredes internas del riñón debido a una destrucción de los proteoglicanos que provienen del material intercelular del tejido conectivo. Estos GAGs no han sufrido despolimerización enzimática ni desulfatación y, consecuentemente, su peso molecular es mayor.

Los GAGs se han considerado marcadores de enfermedades renales y sistémicas tales como la glomerulonefritis, síndrome nefrótico, litiasis renal, hipertensión arterial, diabetes mellitus, y un largo etcétera que muestra la importancia en el diagnóstico diferencial de estos GAGs (Bower, Warren et al. 1992; Mitsuhashi, Tsukada et al. 1993; Rodriguez-Cuartero, Perez-Blanco et al. 1997; Perez-Blanco, Morales-Camacho et al. 1999).

1.2.3. Marcadores de daño tubular.

Existen dos grandes grupos de marcadores de daño tubular. Las proteínas de baja masa molecular atraviesan con rapidez la membrana glomerular y se reabsorben en el túbulo proximal (beta-2 microglobulina, lisozima, retinol binding protein, cistatina C etc.). La disfunción tubular proximal produce elevación de la concentración urinaria de estas proteínas, constituyendo un criterio útil para diferenciar tubulopatías proximales de enfermedades glomerulares. Del mismo modo, diferentes moléculas, como la glucosa, el fósforo, etc., son reabsorbidas en los túbulos una vez que se han filtrado en el glomérulo, por lo que su

presencia en la orina en ausencia de cifras patológicas en suero es un marcador de daño tubular.

Por otro lado existen marcadores denominados de daño estructural del epitelio, compuestos fundamentalmente por enzimas urinarios. La mayoría de los enzimas urinarios por su alto peso molecular, no se filtran por el glomérulo y se segregan por el túbulo proximal. La cuantificación de su actividad urinaria es un buen método para detectar lesiones tubulares. Alanina aminopeptidasa y N-acetil-beta-glucosaminidasa son las que se utilizan con mayor frecuencia por ser las más sensibles al daño tubular renal en las fases tempranas de la lesión renal.

1.2.3.1. N-Acetil beta-glucosaminidasa.

La N-acetil beta-glucosaminidasa (NAGasa) es un enzima lisosómico que se sintetiza en las células tubulares proximales renales, que por su alto peso molecular no se filtra por el glomérulo y se excreta por la orina, por lo que la NAGsa que aparece en la orina procede exclusivamente de los túbulos. Está implicada en la degradación de los mucopolisacáridos y glucoproteínas.

Está presente en multitud de tejidos en forma de dos isoenzimas, A y B. En la orina el 85% del NAGasa es de tipo A y el resto B, aunque el último componente aumenta en determinadas enfermedades parenquimatosas y renales, especialmente en las de etiología infecciosa, como las pielonefritis (Morita, Numata et al. 1998). La excreción urinaria de NAGasa varía a lo largo del día, siguiendo un ritmo circadiano (Price, Dance et al. 1970). Del mismo modo existen diferencias en la excreción de NAGasa en función del sexo (Lakatua, Blomquist et al. 1982), existiendo en las mujeres un pico de excreción máximo entre las 7 y 9 horas de la mañana, y un mínimo a las 20 horas. Este ritmo circadiano esta prácticamente ausente en el varón, siendo su excreción a lo largo

del día muy homogénea. Finalmente, existen también diferencias en cuanto a la edad, siendo mayor la eliminación en recién nacidos y lactantes, disminuyendo progresivamente, presentando el mínimo de eliminación renal en los adolescentes y adultos jóvenes de entre 18-30 años (Jung, Hempel et al. 1990).

Al igual que sucede con los GAGs, se ha demostrado un aumento de la eliminación renal de NAGasa en diferentes patologías. Así, desde el año 1978 se conoce el aumento de la eliminación de este enzima en los pacientes con hipertensión arterial, estando esta elevación presente en el 64% de los pacientes con lesión renal y en el 36% de los que no tenían lesión renal (Mansell, Jones et al. 1978) mostrando así su capacidad para detectar precozmente el daño renal. Estos datos se han confirmado posteriormente, siendo considerada en la actualidad la elevación de la NAGasa un marcador muy sensible de daño tubular en pacientes con HTA esencial (Tylicki, Manitus et al. 2003).

También se ha demostrado la elevación de la NAGasa en otras patologías como el trasplante renal, la nefrolitiasis, las glomerulonefritis o la nefropatía diabética entre otras (Perez-Blanco, Garbin-Fuentes et al. 1997; Rodriguez-Cuartero, Lopez-Fernandez et al. 1998; Perez-Blanco, Arrabal-Martin et al. 2000).

1.2.3.2. Glucosuria

Aunque el riñón no está considerado como un órgano importante en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, una revisión detallada de la fisiopatología renal nos llevaría a una conclusión diferente. El riñón juega un papel mayor en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, y lo hace de dos maneras diferentes, mediante la gluconeogénesis y mediante el filtrado y reabsorción de la glucosa en el túbulo contorneado proximal.

Estudios recientes han demostrado que el riñón no solo es responsable de gluconeogénesis en situaciones de acidosis, cuando la gluconeogénesis hepática está atenuada (Gullans 2000), si no también en situaciones fisiológicas normales, pudiendo ser responsable de hasta el 25% de la producción sistémica de glucosa (Stumvoll, Meyer et al. 1997). A pesar de ello, el papel más importante del riñón en la homeostasis de la glucosa lo realiza mediante el filtrado glomerular y la reabsorción posterior.

Un riñón sano filtra aproximadamente unos 180 g de glucosa al día (Neumiller, White et al. 2010). Habitualmente toda esa glucosa filtrada es reabsorbida resultando en una excreción urinaria inferior al 1% (Wright 2001; Neumiller, White et al. 2010). La reabsorción tubular de la glucosa en el túbulo es muy compleja, involucrando muchos mecanismos de transporte que incluye el transporte de la glucosa desde el túbulo y a través de la membrana basolateral hasta los capilares peritubulares. Bajo circunstancias normales, cuando la carga tubular de glucosa se sitúa en torno a los 120 g/min. no se excreta glucosa en la orina, sin embargo, cuando se exceden los 220 g/min. una pequeña cantidad de glucosa comienza a aparecer en la orina (Neumiller, White et al. 2010). Existe un rango de valores de glucosa capilar muy amplio para producir la carga de glucosa necesaria para comenzar a eliminar glucosa por la orina, oscilando entre los 130 mg/100 mL y los 300 mg/100 mL (Butterfield, Keen et al. 1967).

La causa más frecuente de glucosuria es la diabetes mellitus, y por norma general, unos valores de glucemia inferiores a 180 mg/dL no se asocian con la aparición de glucosuria. Sin embargo existen otras causas de glucosuria, como las alteraciones de los transportadores sodio-glucosa, proteínas de membrana que se encargan del transporte de la glucosa desde el túbulo hasta el interior de la célula epitelial tubular (Bakris, Fonseca et al. 2009), o las propias alteraciones del túbulo.

1.3. Tenofovir

El tenofovir disoproxil fumarato (TDF) es el primer inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de los nucleótidos comercializado para el tratamiento de la infección por el VIH. Tiene actividad frente a las diferentes variantes del VIH-1 y VIH-2; y también frente al VHB.

1.3.1 Estructura y mecanismo de acción.

Tenofovir es un fármaco antirretroviral con estructura de nucleótido acíclico (9-[(R)-2-(fosfonometoxi)propil] adenosina monohidrato) desarrollado por Gilead Sciences. El tenofovir tiene un profármaco, el tenofovir disoproxil fumarato (GS-4331-05, PMPA oral, Bis-POC-PMPA), que permite su administración por vía oral. La fórmula molecular es $C_{19}H_{30}N_5O_{10}P \cdot C_4H_4O_4$ y su peso molecular es de 635.52 daltons, mientras que el peso molecular del tenofovir es de 287.2 daltons. El profármaco precisa de la hidrólisis del diéster para convertirse en tenofovir y las posteriores fosforilaciones por enzimas intracelulares para convertirse en tenofovir difosfato. A diferencia de los análogos de nucleósidos, el tenofovir sólo precisa dos fosforilaciones para ser activo (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

El tenofovir difosfato inhibe la transcriptasa inversa del VIH compitiendo con el sustrato natural, deoxiadenosina 5'-trifosfato. Tras su incorporación a la cadena de ADN da lugar a la terminación de ésta. El tenofovir difosfato es un inhibidor débil de las ADN-polimerasas α y β humanas, así como de la ADN polimerasa γ mitocondrial. Ensayos in vitro han demostrado que tenofovir no tiene efecto sobre la síntesis de ADN mitocondrial ni en la producción de lactato a concentraciones de hasta 300 $\mu\text{mol/l}$ (Gallant and Pham 2003; Pham and Gallant 2006; Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

1.3.2 Actividad in vitro.

Tiene actividad antiviral in-vitro frente a retrovirus y hepadnavirus. La concentración sérica necesaria para inhibir un 50% (CI₅₀) de la cepa silvestre de VIH de referencia en el laboratorio es de 1-6 µmol/l en líneas celulares linfoides. Tenofovir actúa frente a los diferentes subtipos del VIH-1, incluyendo el grupo O. Es activo también frente al VIH-2 con una CI₅₀ de 4'9 µmol/l. Su actividad frente al VHB ocurre con una CI₅₀ 1'1 µmol/l en células HepG22.2.15 (Pham and Gallant 2006; Perry and Simpson 2009).

El tenofovir pertenece a una nueva clase de fármacos antirretrovirales, aunque actúa inhibiendo la transcriptasa inversa por un mecanismo similar a los análogos de los nucleósidos. De este modo, se han comunicado resistencias cruzadas con estos fármacos en el VIH. Sin embargo, muestra plena actividad frente al VIH resistente a los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos. No presenta resistencia cruzada con los inhibidores de la proteasa, debido a su diferente mecanismo de acción.

El tenofovir es activo frente al VHB resistente a lamivudina y que presenta mutaciones en la región YMDD. La evidencia actual sugiere que el desarrollo de resistencias frente al TDF en el VHB es muy poco frecuente y las observaciones comunicadas derivan de pacientes coinfectados por VIH-1 y el VHB (Pham and Gallant 2006; Perry and Simpson 2009).

1.3.3. Farmacocinética.

La farmacocinética del TDF ha sido evaluada en voluntarios sanos y en pacientes VIH, sin encontrarse diferencias entre ambos grupos de sujetos.

1.3.3.1. Absorción

La molécula de tenofovir presenta una baja biodisponibilidad. Sin embargo, administrado como profármaco, tenofovir DF, presenta una biodisponibilidad mayor, del 25% si se toma en ayunas. Administrado con alimentos ricos en grasas, la biodisponibilidad aumenta hasta un 40% (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008). El profármaco es estable en medio ácido, por lo que se mantiene inalterado en el estómago. En el plasma, el profármaco es hidrolizado por esterasas plasmáticas y se convierte en tenofovir y formaldehído. La farmacocinética es independiente de la dosis en el rango 75-300 mg/día y no se modifica con la administración de tomas múltiples. Con las dosis de 75, 150 y 300 mg de TDF junto con alimentos las concentraciones plasmáticas máximas (C_{max}) de tenofovir son de 62, 148 y 362 ng/ml (0'2, 0'5, 1'2 μM), respectivamente. Las áreas bajo la curva de concentraciones plasmáticas frente al tiempo de tenofovir son de 0'7, 1'5, 3'3 μg/h/ml (2'4, 4'2, 11'4 μM/h), respectivamente. El tiempo necesario para alcanzar la concentración plasmática máxima (T_{max}) es de 1±0'4h en ayunas y de 2 h con alimentos (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

1.3.3.2. Distribución

El tenofovir apenas se une a proteínas plasmáticas (<7'2%) y presenta un volumen de distribución elevado en estado de equilibrio estacionario. Se distribuye por la mayoría de los tejidos y las concentraciones más altas se encuentran en el riñón, hígado y contenido intestinal. Es captado por las células donde se convierte en su forma disfosfato activa. El profármaco es más lipofílico por lo que, in vitro, penetra fácil y rápidamente al interior del linfocito, donde se convierte en tenofovir. Las concentraciones de tenofovir

difosfato que se alcanzan en el interior del linfocito son 1000 veces superiores a las plasmáticas (Deeks, Barditch-Crovo et al. 1998).

Puede que su capacidad lipofílica, así como el contener una fosforilación, le proporcione ventajas sobre los análogos de los nucleósidos para inhibir la replicación viral. Estas características son más relevantes en los macrófagos, ya que estas células tienen una capacidad de fosforilación reducida y son muy importantes en el establecimiento de la infección por VIH en el sistema nervioso central.

Tenofovir es sustrato de la glucoproteína-P, así que su absorción y distribución se pueden ver alteradas en presencia de fármacos u otras sustancias que puedan aumentar o reducir la eficacia del transportador (van Gelder, Deferme et al. 2002).

1.3.3.3. Eliminación

El metabolismo sistémico del tenofovir es escaso. El tenofovir no es sustrato del citocromo P450, por lo tanto no altera el metabolismo de otros fármacos a este nivel¹. La mayor parte del fármaco (70-80%) se excreta inalterado a través de la orina por filtración glomerular y secreción tubular activa a través del transportador de aniones orgánicos humanos 1 (hOAT1). El aclaramiento renal es de unos 150 ml/h/Kg y no está relacionado con la dosis. Su aclaramiento total es de 203 ml/h/Kg tras una dosis única de 3 mg/Kg y después de 7 días de tratamiento continuado se reduce a 153 ml/h/Kg (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

La vida media de eliminación es de 4 a 8 horas tras su administración por vía intravenosa, de 12 a 13 horas tras su administración oral en ayunas como

profármaco y para los intervalos de dosis de 75-300 mg y de 10-14 h tras su administración oral con alimentos. La vida media de eliminación del tenofovir difosfato en el interior del linfocito activado es de 12-15 horas y de 33 a 55 horas en el resto de linfocitos (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

1.3.3.4. Farmacocinética en situaciones especiales

Estudios realizados en pacientes infectados por el VIH y en voluntarios sanos no han demostrado diferencias en los parámetros farmacocinéticos de TDF. Tampoco se modifican en función del sexo, la edad o el peso corporal. No hay datos definitivos de estudios en niños o ancianos (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

En pacientes no infectados por el VIH con insuficiencia hepática moderada-grave no se ha demostrado una alteración de la farmacocinética de TDF, por lo que no es necesario ajuste de dosis.

En la insuficiencia renal, dada su eliminación renal, se altera la farmacocinética del TDF y es necesario aumentar el intervalo posológico. Se han realizados estudios en pacientes con infección VIH y diferentes grados de afectación renal para determinar el ajuste de dosis. Así en pacientes con aclaramiento de creatinina <50ml/min es necesaria una modificación de la dosis² (Tabla 2). Tenofovir se elimina a través de la hemodiálisis en una ratio de extracción aproximadamente del 50%. En los períodos inter-diálisis la concentración de tenofovir aumenta sustancialmente tras 48h, alcanzando una C_{max} de 1032 ng/ml. No se ha estudiado la farmacocinética del tenofovir DF en pacientes con aclaramiento de creatinina menor a 10 ml/min sin hemodiálisis ni en pacientes con diálisis peritoneal u otros tipos de diálisis (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

1.3.3.5. Dosificación

Tenofovir está comercializado en España por Gilead Sciences con el nombre comercial de Viread®. Cada comprimido contiene 300 mg de TDF, que equivalen a 245 mg de tenofovir disoproxil y a 136 mg de tenofovir.

La dosis habitual de TDF es de 300 mg una vez al día junto con alimentos, preferiblemente ricos en grasas. Es conveniente tener especial precaución en pacientes mayores de 65 años, prestando atención a la función renal. No se ha establecido de forma definitiva la eficacia ni la seguridad en niños. En los pacientes con aclaramiento de creatinina menor de 50 ml/min es necesario un ajuste de dosis.

Con el uso de TDF se ha descrito ocasionalmente insuficiencia renal, daño tubular, así como hipofosfatemia (Perazella 2010). Por tanto, es necesario monitorizar la función renal antes y durante el tratamiento con este fármaco. Además, es conveniente evitar el uso concomitante con otros fármacos nefrotóxicos (Rodríguez-Novoa, Alvarez et al. 2010). En pacientes con insuficiencia hepática no es necesario el ajuste de dosis.

En cuanto al embarazo y la lactancia, el TDF pertenece a la categoría B de la FDA. Los estudios realizados en roedores a dosis muy superiores a las usadas en humanos no han mostrado reducción de la fertilidad o de la toxicidad fetal. En macacos se ha visto una reducción del peso al nacer y de la longitud de algunos huesos, así como una reducción del fósforo sérico. En estos estudios experimentales se ha demostrado una tasa de transferencia placentaria de tenofovir en todos los estadios prenatales evaluados. No se han realizado estudios bien controlados en mujeres embarazadas, si bien de los datos obtenidos en diferentes estudios algunos autores han propuesto su uso habitual

en la prevención de la transmisión materno-fetal (Foster, Lyall et al. 2009). La lactancia materna está contraindicada en mujeres infectadas por el VIH en los países desarrollados, debido al riesgo de transmisión postnatal. Estudios en animales han mostrado que el tenofovir es excretado a través de la leche.

1.3.4. Interacciones farmacológicas.

1.3.4.1. Antirretrovirales.

El TDF se excreta por vía renal y no es sustrato del citocromo P450, así que no son de esperar interacciones con fármacos que utilizan esta vía de metabolización. Tan sólo se ha observado una reducción de la actividad del CYP1A con dosis de tenofovir 300 veces superior a la dosis que se utiliza habitualmente.

Estavudina, lamivudina y emtricitabina en asociación con TDF en voluntarios sanos has demostrado ausencia de interacción. Tampoco se ha observado entre TDF y abacavir, aunque se ha demostrado fracaso virológico temprano en pacientes en tratamiento con abacavir, TDF y lamivudina (Barreiro, Jimenez-Nacher et al. 2005). Asimismo se ha demostrado que TDF aumenta las concentraciones de didanosina, por un mecanismo de inhibición de la purina-nucleósido-fosforilasa (PNP), reduciendo el metabolismo de primer paso y aumentando la absorción (Robbins, Wilcox et al. 2003). Se recomienda ajuste de dosis de didanosina en pacientes que toman TDF. En aquellos de más de 60 Kg se recomienda reducir la dosis de 400 mg a 250 mg al día; se ha observado una eficacia similar con ambas dosis de didanosina (Bongiovanni and Tordato 2006). En pacientes de menos de 60 Kg no se dispone de información suficiente, aunque muchos utilizan dosis de didanosina de 200 mg/día. Ambos fármacos pueden administrarse juntos en ayunas o con una comida ligera y debe

monitorizarse estrechamente la toxicidad por didanosina (Bongiovanni and Tordato 2006). Se han publicado múltiples trabajos que han estudiado la toxicidad de didanosina en combinación con TDF (Barrios, Rendon et al. 2005). Los efectos secundarios más destacables son pancreatitis, hiperlactatemia, diabetes, disminución del recuento de linfocitos CD4 y descompensación hepática en cirróticos.

En voluntarios sanos no se ha demostrado interacción del TDF con el efavirenz. La administración de TDF con lopinavir/ritonavir aumenta el área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas del TDF de 2.870 a 3.740/ng/h/ml y la concentración plasmática mínima de 60'8 a 91'8 ng/ml, mientras que la concentración plasmática máxima y la vida media del TDF no se alteran, presumiblemente por una disminución del aclaramiento renal del TDF (Kiser, Carten et al. 2008). Estos cambios no tiene significación clínica y no requieren ajuste de dosis. El TDF no altera de manera significativa la farmacocinética de LPV/r

Se ha demostrado una interacción entre tenofovir DF y atazanavir, en sentido negativo para este último. En administración conjunta se aconseja atazanavir potenciado con ritonavir. Los mecanismos de esta interacción no están claros, pero parece que ocurren en el momento de la absorción (Taburet, Piketty et al. 2004).

1.3.4.2. Otros fármacos.

Dada su eliminación renal, la asociación de TDF con fármacos que pueden afectar la función renal obliga a prestar mayor atención, ya que pueden aumentar las concentraciones del TDF o de los otros fármacos. En estos casos siempre es necesario un control estrecho de la función renal.

El cidofovir es un antiviral que se elimina a través del mismo transportador renal que el TDF, por lo que la farmacocinética de ambos fármacos puede verse modificada si se administran conjuntamente (Azanza, Garcia Quetglas et al. 2008).

El tenofovir no interacciona con la metadona (Smith, Kearney et al. 2004) o los anticonceptivos orales (Kearney and Mathias 2009). La infección con el VHC es frecuente en los pacientes con el VIH y el tratamiento con ribavirina más interferón pegilado es el tratamiento de elección. En estudios in vitro no se ha demostrado interacción entre TDF y ribavirina, que es también un análogo de las purinas, por lo que es improbable la aparición de toxicidad con esta asociación (Ramanathan, Cheng et al. 2006). En un estudio clínico reciente no se demostró mayor toxicidad renal en pacientes coinfectados por VIH y VHC que recibieron tratamiento de la hepatitis C mientras tomaban TDF (Sanchez-Conde, Gil et al. 2005).

En cuanto a la terapia inmunosupresora en pacientes VIH transplantados, debe valorarse la ventaja del uso del micofenolato mofetilo, ya que ha demostrado in vitro aumentar el efecto antirretroviral de abacavir, didanosina y TDF en función de la dosis (Hossain, Coull et al. 2002). En pacientes transplantados hepáticos no se han observado interacciones entre TDF y tacrólimus.

1.3.5. Eficacia

La experiencia clínica inicial con TDF se generó en pacientes multitratados y sin respuesta al TAR, mediante estrategias en las que el fármaco se añadía como optimización de tratamientos parcialmente activos o en el diseño de regímenes de rescate (Mulato and Cherrington 1997; Robbins, Srinivas et al. 1998; Gilden

2001). En este escenario TDF se combinó con prácticamente todos los antirretrovirales disponibles, incluyendo los IP potenciados (IP/r). Pero el diseño de estos estudios, en los que los fármacos acompañantes utilizados se individualizan en función de los antecedentes de cada paciente y del perfil de resistencias, hace muy difícil extraer conclusiones acerca de la eficacia y tolerancia de combinaciones concretas. Posteriormente se demostró la utilidad de TDF para el tratamiento de pacientes *naïve* (Harrigan, Miller et al. 2002).

En la actualidad el TDF es uno de los ITIAN/Nt recomendados en combinación con FTC o 3TC junto con un ITINAN o un IP para el inicio del tratamiento antirretroviral en pacientes *naïve*. Un metanálisis realizado en el año 2007 que incluyó los estudios publicados en pacientes *naïve* con EFV, tras analizar los datos de 7 ensayos clínicos con 3.807 pacientes, concluye que la combinación de TDF con FTC o 3TC fue la combinación que mejores resultados daba en un algoritmo de tiempo hasta el fracaso virológico (Bartlett, Chen et al. 2007). Desde su autorización en Europa por la EMEA en febrero de 2002, se dispone de una gran cantidad de información acerca de la eficacia y seguridad del fármaco. La mayor parte de esta información viene derivada de dos grandes estudios que han evaluado la eficacia del TDF asociado a ITINAN.

El estudio 903 (Gallant, Staszewski et al. 2004), ensayo clínico fase III, de no inferioridad, aleatorizado, multicéntrico y doble ciego, que se comparó la eficacia y la seguridad de TDF más 3TC frente a d4T más 3TC, ambos en combinación con EFV en 602 pacientes sin tratamiento antirretroviral previo, mostrando la no inferioridad de la combinación TDF+3TC frente a d4T+3TC.

Por otro lado, el estudio 904 (Gallant, DeJesus et al. 2006), ensayo clínico en fase III, de no inferioridad, aleatorizado, multicéntrico, abierto y de brazos paralelos, que comparó la eficacia y la seguridad de TDF más FTC con la de 3TC más AZT coformulados, ambos en combinación con EFV, en 517 pacientes

sin tratamiento antirretroviral previo, mostrando una mayor eficacia de la combinación TDF+3TC vs. AZT+3TC (84% vs. 73%; IC95% 4-19%; p=0,002).

La ausencia inicial de información acerca de la utilización de TDF en regímenes basados en IP y la comunicación de algunos casos de nefrotoxicidad en pacientes tratados con TDF que recibían concomitantemente IP generaron algunas dudas acerca de su uso conjunto. Sin embargo, la selección de TDF en la combinación de nucleósidos empleada en un número creciente de ensayos clínicos que utilizan los IP/r como tercer agente ofrece una oportunidad inmejorable para analizar la eficacia y la seguridad de estas combinaciones.

El TDF, o su combinación con FTC en dosis fijas, es un fármaco sencillo de tomar y bien tolerado, que ha demostrado suprimir de forma importante y duradera la CV en pacientes *naïve* y con TAR previo, cuando se administra con FTC o 3TC y con IP/r o sin RTV.

En la actualidad se cuenta con datos suficientes procedentes de ensayos clínicos y estudios de cohortes que corroboran esta afirmación. De un lado, la eficacia virológica con estudios recientes, tanto en pacientes *naïve* como pretratados, realizados con TDF solo o coformulado con FTC en combinación con ATV/r, LPV/r, SQV/r o DRV/r (Mills, Nelson et al. 2009; Walmsley, Avihingsanon et al. 2009; Gonzalez-Garcia, Cohen et al. 2010; Squires, Johnson et al. 2010).

La eficacia virológica (CV-VIH < 50 copias/mL en el análisis por intención de tratar) de las distintas pautas de IP/r asociado a TDF/FTC osciló entre un 64% y un 84%, sin diferencias entre ellos en las comparaciones analizadas. Estas tasas de eficacia son equiparables a las de otros estudios de tratamiento de inicio y no arrojan ninguna duda acerca de la utilidad antiviral de las combinaciones. En el único estudio de rescate con la combinación de TDF + IP/r, la tasa de respuesta

fue inferior, reflejando la necesidad de incluir un mayor número de nuevos fármacos activos en este tipo de tratamientos.

También la eficacia inmunológica ha quedado contrastada, con incrementos de linfocitos CD4 al año que oscilan entre 100 y 200/mm³, como es habitual en el TAR de inicio.

En cuanto al perfil de seguridad y los episodios adversos relacionados, las combinaciones de TDF con IP mostraron una adecuada tolerancia con pocos (y raramente graves) episodios adversos, tanto en pacientes *naïve* como pretratados. Las alteraciones lipídicas asociadas al uso de IP/r se presentan con una frecuencia no mayor a la esperada, e incluso menor a la comunicada con otras combinaciones de ITIAN.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

Determinar el efecto de la administración crónica de TDF, dentro de un esquema de tratamiento antirretroviral de gran actividad, en la función renal de pacientes con infección por el VIH, así como la existencia de parámetros bioquímicos capaces de detectar precozmente este daño.

2.2. Objetivos específicos:

1. Evaluar la evolución de la función renal de pacientes VIH que se encuentran recibiendo tratamiento antirretroviral de gran eficacia que incluya TDF y compararla con un grupo de pacientes de similares características que no estén en tratamiento con TDF.
2. Estudio de la actividad urinaria de NAGasa y determinación de GAGs en orina de 24 horas en pacientes en tratamiento antirretroviral que incluyan TDF y compararlos con pacientes en tratamiento antirretroviral que no incluya TDF, como marcador precoz de lesión renal en éstos pacientes.
3. Determinación seriada de la actividad urinaria de NAGasa y determinación de GAGs en orina de 24 horas en pacientes en tratamiento antirretroviral que incluyan TDF para valorar la evolución de estos parámetros y compararlos con la evolución del aclaramiento de creatinina para detectar precozmente daño renal.
4. Correlacionar los GAGs urinarios con los otros marcadores bioquímicos de función renal en los diferentes estadios de lesión renal.

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1. Población de estudio.

La cohorte de pacientes con infección por VIH en seguimiento estable en la consulta externa de la unidad de enfermedades infecciosas del Hospital Universitario San Cecilio fue la muestra de la que se extrajeron los sujetos de estudio. De ellos, 186 se encontraban recibiendo TDF dentro del esquema de TARGA, bien como Atripla® (Tenofovir+Emtriva+Efavirenz), Truvada® (Tenofovir+Truvada) o como Viread® (Tenofovir disoproxil fumarato).

Todos los pacientes que se encontraban recibiendo TDF fueron evaluados para determinar la posible inclusión en el estudio. Del total, 101 pacientes desestimaron participar en el estudio por la necesidad de un aumento de la frecuencia de las revisiones y/o por la necesidad de las determinaciones extraordinarias que era necesario realizar. Finalmente 85 pacientes aceptaron participar en el mismo. De ellos 6 pacientes fueron eliminados por presentar hipertensión arterial, diabetes mellitus y/o antecedentes de enfermedad renal, por lo que finalmente 79 pacientes constituyeron la base de nuestro trabajo. De los 79 pacientes, 25 habían comenzado a recibir TDF como parte de su esquema TARGA dentro de los tres meses anteriores a la inclusión en el estudio y fueron objeto de un análisis posterior (sección 4.3).

Para comparar la evolución de los pacientes se decidió incluir en el estudio una cohorte de pacientes con infección por el VIH que, reuniendo las mismas características en cuanto a posibles factores confundentes como estadio CDC, infección VHC, años de evolución de la infección, índice de masa corporal (IMC), tabaquismo, etc., se encontrasen recibiendo un TARGA que no incluyese TDF. Un total de 30 pacientes que se encontraban en tratamiento con Abacavir (ABC), bien en forma de Kivexa® (Abacavir+Epivir) o Ziagen® (Abacavir) fueron evaluados para participar en el estudio, 10 pacientes fueron excluidos por

las mismas razones que pacientes del grupo de TDF, por lo que finalmente 20 fueron incluidos como control para evaluar la evolución de la función renal en pacientes en un TARGA sin TDF.

3.1.1. Criterios de inclusión:

- Aceptación del consentimiento informado.
- Infección por el VIH en TARGA que incluyese TDF (a excepción del grupo control que no debía incluirlo)
- Régimen de vida ambulatorio.
- Buena adherencia a la consulta y a la medicación.

3.1.2. Criterios de exclusión:

- Antecedentes de patología que pudiese ser causa de alteración renal (HTA, DM): comprobado mediante la historia clínica, exploración y estudio analítico.
- Antecedentes de fármacos con conocida capacidad de daño renal (Indinavir): comprobado mediante revisión de la historia clínica.
- Enfermedad renal conocida: comprobado mediante revisión de la historia clínica.

3.2. Intervenciones.

Los pacientes fueron tratados y atendidos según los criterios habituales de la Unidad de Enfermedades Infecciosas, siendo la única intervención no ordinaria realizada a los pacientes la determinación de parámetros analíticos en una orina de 24 horas. No se realizaron extracciones de sangre adicionales ni intervenciones farmacológicas diferentes a las habitualmente practicadas a estos pacientes.

Para minimizar las pérdidas de seguimiento por el aumento en la frecuencia de las visitas se hizo coincidir la tomas de las muestras con las visitas habituales del paciente, compensando la recogida de la orina de 24 horas con la obtención de las muestras de sangre en la misma visita clínica en el hospital de día de la unidad.

3.3. Diseño del estudio.

El diseño del estudio corresponde a un estudio de cohortes prospectivo. El protocolo de estudio ha incluido para todos los sujetos:

- Historia clínica, exploración física, bioquímica básica y función renal en la visita basal.
- Determinaciones bioquímicas en las visitas basal, 3, 6 y 12 meses.
- Determinación de función renal en orina de 24 horas en las visitas basal y a los 12 meses.

-Determinación de los parámetros de daño renal glomerular y tubular en orina de 24 horas en las visitas basal y a los 12 meses.

3.4. Determinaciones de laboratorio.

3.4.1. Determinaciones generales de laboratorio.

Una vez obtenido el consentimiento del paciente, se le indicó la forma adecuada de recoger la orina de 24 h, rechazando la primera micción del día de inicio de la recogida y conservando en un frasco de 2 litros facilitado, todas las orinas realizadas hasta el día siguiente a la misma hora, incluyendo la primera micción matutina. La orina era conservada en frigorífico hasta su recogida en el hospital.

Durante ese día se le recomendó una actividad física normal y abstención de tomar algún fármaco no indicado previamente. En la mañana de terminar la recogida de orina, se realizaba la extracción de sangre para el control analítico indicado.

La muestra de sangre y una muestra de la orina de 24 h fueron enviadas para su análisis al laboratorio de nuestro hospital para determinaciones habituales, mientras que otra alícuota de la muestra se envió al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas del hospital para la determinación de GAGs y NAGasa.

3.4.2. Marcadores de daño glomerular.

3.4.2.1. Filtrado glomerular (FG)

El filtrado glomerular se determinó mediante el aclaramiento de creatinina, tanto el obtenido de una orina de 24 horas como mediante la aplicación de las fórmulas de Cockcroft-Gault y MDRD

3.4.2.2. Microalbuminuria:

Se cuantificó la albuminuria en la muestra de orina de 24 h mediante inmunonefelometría, método rápido que presenta una sensibilidad y reproductividad comparable al radioinmunoanálisis (Dezier, Jouanolle et al. 1987). Esta técnica se basa en la capacidad inmunorreactiva de la albúmina es decir, al acoplamiento de la molécula de albúmina a un anticuerpo específico, y cuantificación de los inmunocomplejos formados. No muestra interferencias con otros componentes habituales de la orina y permite la conservación a 4° C durante siete días o la congelación de la orina a -70°C. con resultados semejantes a los de la orina recién emitida.

La inmunonefelometría mide la luz dispersa producida durante la reacción entre el antígeno (albúmina contenida en la orina) y el anticuerpo (Anti Lab, laboratorios Beckman). Para la cuantificación se utilizó un nefelómetro ICS auto-Beckman. Para ello se diluyó la orina a 1/36, expresando la albuminuria en mg/l.

3.4.2.3. Glucosaminoglicanos (GAGs):

La determinación cuantitativa de GAGs en orina se basa en la medición de los restos de ácido hexourónico, el cual se encuentra presente de una u otra manera en todos los GAGs. El ácido hexourónico se puede determinar directamente por simple dialización o tras su purificación después de múltiples pasos como su fraccionamiento en columna de celulosa o acetato de bario, precipitación con Cetil-Piridinilo-Cloruro (CPC) o aminoacridina (Thompson and Castor 1966; Wessler 1968).

Nosotros hemos utilizado el método colorimétrico con CPC descrito por Pennock (Pennock 1969; Pennock 1976). Básicamente el procedimiento se basa en las propiedades de físico-químicas de los GAGs. A un pH concreto y a una concentración de CPC determinada, los GAGs se transforman en un precipitado insoluble. En presencia de buffer citrato a pH de 4'8 este precipitado se estabiliza y se dispersa lo suficiente para poder medir su absorbancia a 546 nm en un espectrofotómetro.

El resultado se expresa en unidades por gramo de creatinina, o mg por gramo de creatinina por lo que el cociente obtenido de la fórmula anterior se divide por la concentración de creatinina urinaria expresada en micromoles/dl.

3.4.3. Marcadores de daño tubular.

3.4.3.1. N acetil glucosaminidasa (NAGasa):

Para la determinación de la actividad de la NAGasa en orina de 24 horas, seguimos el método espectrofotométrico (Horak, Hopfer et al. 1981).

La NAG es separada de los inhibidores urinarios mediante filtración en columna cromatográfica de Sephadex G-25. Posteriormente, se utiliza el sustrato p-nitrofenil-N-acetil-B-D-glucosaminidasa y el citrato sódico a pH de 4,4. Tras un período de incubación de 15 minutos a 37°C, se produce la hidrólisis enzimática y la liberación del ión p-nitrofelinato. Se detiene la reacción al añadir 2-amino-2-metil-1-propanol (pH 10,25), y el producto de la reacción es medido por espectrofotometría a 405 nm de longitud de onda. La actividad urinaria de NAGasa es proporcional a la absorbancia del ión p-nitrofelinato liberado.

La actividad de la NAGasa puede expresarse en U/l o en U/g de creatinina eliminado.

3.4.3.2. Glucosuria:

La determinación de glucosuria se realizó mediante el método espectrofotométrico de la orto-toluidina. Básicamente, se coloca la muestra de orina cuya concentración se desea conocer en un medio con orto-toluidina para que se formen complejos de color verde-azulado. Estos complejos pueden ser cuantificados por métodos espectrofotométricos a 620 nm. Se utilizan así mismo 2 controles, uno con una concentración conocida y otro con agua destilada. Los valores normales oscilan entre 0-20 mg/100 mL

3.5. Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando el programa SPSS (versión 18.0, Chicago, EEUU). Los datos se expresaron como media \pm desviación típica y se consideraron como estadísticamente significativos valores p inferiores a 0.05. La normalidad de los datos se determinó empleando el test de Kolmogorov-Smirnov. Las comparaciones entre los diferentes momentos de determinación de cada variable se compararon según el test Chi cuadrado, y las diferencias estadísticas intragrupo se llevaron a cabo empleando el test de Wilcoxon.

El efecto del tratamiento en los diferentes tiempos de estudio se analizó mediante ANOVA de una vía de muestras repetidas.

La relación entre los cambios entre diferentes variables se analizaron usando un test de correlaciones bivariadas de Pearson, en el caso de una distribución normal, o de Spearman, si tenía una distribución no normal.

Para identificar los factores que se asociaron de manera independiente con la existencia de alteración de la función glomerular y/o tubular se utilizó una regresión logística WALD.

Para establecer la relación entre el filtrado glomerular y los diferentes marcadores de daño estudiados se realizó una regresión lineal con estimación de la línea de tendencia y cálculo de la R^2 .

4. RESULTADOS

4.1. Características basales del grupo de estudio.

Las características demográficas, así como los parámetros de función renal basal en los pacientes en estudio, se muestran en las tablas 4.1, 4.2 y 4.3.

Tabla 4.1.1. Características de los pacientes que estaban recibiendo TDF incluidos en el estudio.

CARACTERÍSTICA	VIREAD n=22	TRUVADA n=27	ATRIPLA n=30	p
Edad, media (DE)	44 ,2 (8,3)	46,5 (5,4)	43,1 (6,2)	ns
Sexo varón n (%)	13 (59)	20 (74,1)	19 (63)	ns
IMC media (DE)	23,8 (0,5)	24,3 (1,1)	24,4 (0,8)	ns
Nadir CD4 media (DE)	171 (138)	171 (118)	236 (142)	ns
Estadio CDC SIDA n (%)	7 (32)	7 (26)	9 (30)	ns
Tiempo VIH media (DE)	185 (73)	172 (92,4)	121 (50)	ns
CV-VIH indetectable n (%)	17 (77)	18 (67)	22 (73)	ns
CD4 > 200 cel/mL n (%)	22 (100)	23 (85)	28 (94)	ns
Coinfección VHC n (%)	16 (73)	21 (77)	19 (63)	ns
Tabaquismo activo n (%)	14 (64)	15 (56)	20 (66,7)	ns
eCrCl CG normal n (%)	14 (64)	20 (74)	23 (77)	ns
eCrCl MDRD normal n (%)	14(64)	20 (74)	23 (77)	ns
VIREAD: TDF. TRUVADA: TDF+FTC. ATRIPLA: TDF+FTC+EFV. IMC: Índice de Masa Corporal. Tiempo de VIH: en meses. CV-VIH: Carga viral VIH en plasma. eCrCl CG: Aclaramiento de creatinina estimado Cockroft-Gault				

Tabla 4.1.2. Características de los pacientes que estaban recibiendo ABC incluidos en el estudio:

CARACTERÍSTICA	ZIAGEN n=5	KIVEXA N=15	p
Edad, media (DE)	46,3 (6,7)	46,9 (5,1)	ns
Sexo varón n (%)	4 (80)	12 (80)	ns
IMC media (DE)	23,6 (0,3)	22,3 (0,4)	ns
Nadir CD4 media (DE)	156 (112)	160 (103)	ns
Estadio CDC SIDA n (%)	2 (40)	6 (40)	ns
Tiempo VIH media (DE)	182 (67)	166 (53,3)	ns
CV-VIH indetectable n (%)	5 (100)	13 (87)	ns
CD4 > 200 cel/mL n (%)	5 (100)	15 (100)	ns
Coinfección VHC n (%)	3 (60)	9 (60)	ns
Tabaquismo activo n (%)	4 (80)	10 (66)	ns
eCrCl CG normal n (%)	4 (80)	13 (87)	ns
eCrCl MDRD normal n (%)	4 (80)	13 (87)	ns
ZIAGEN: ABC. KIVEXA: ABC+3TC. IMC: Índice de Masa Corporal. Tiempo de VIH: en meses. CV-VIH: Carga viral VIH en plasma. eCrCl CG: Aclaramiento de creatinina estimado Cockcroft-Gault			

Tabla 4.1.3. Características de los pacientes que estaban recibiendo TDF y ABC incluidos en el estudio:

CARACTERÍSTICA	TDF n=79	ABC n=20	p
Edad, media (DE)	45,3 (6,8)	46,6 (5,2)	ns
Sexo varón n (%)	52 (66)	16 (80)	ns
IMC media (DE)	24,1 (0,9)	22,9 (0,4)	ns
Nadir CD4 media (DE)	197 (135)	158 (102)	ns
Estadio CDC SIDA n (%)	23 (29)	8 (40)	ns
Tiempo VIH media (DE)	149 (84)	170 (76)	ns
CV-VIH indetectable n (%)	57 (72)	18 (90)	ns
CD4 > 200 cel/mL n (%)	73 (93)	20 (100)	ns
Coinfección VHC n (%)	56 (71)	12 (60)	ns
Tabaquismo activo n (%)	49 (62)	14 (70)	ns
eCrCl CG normal n (%)	57 (72)	17 (85)	ns
eCrCl MDRD normal n (%)	57 (72)	17 (85)	ns
IMC: Índice de Masa Corporal. Tiempo de VIH: en meses. CV-VIH: Carga viral VIH en plasma. eCrCl CG: Aclaramiento de creatinina. Estimado Cockcroft-Gault			

Una vez comprobada la ausencia de diferencias estadísticamente significativas comenzamos el seguimiento de los pacientes y la medición del resto de parámetros del estudio.

4.2. Evolución de la función renal en la población de estudio.

4.2.1. Filtrado glomerular

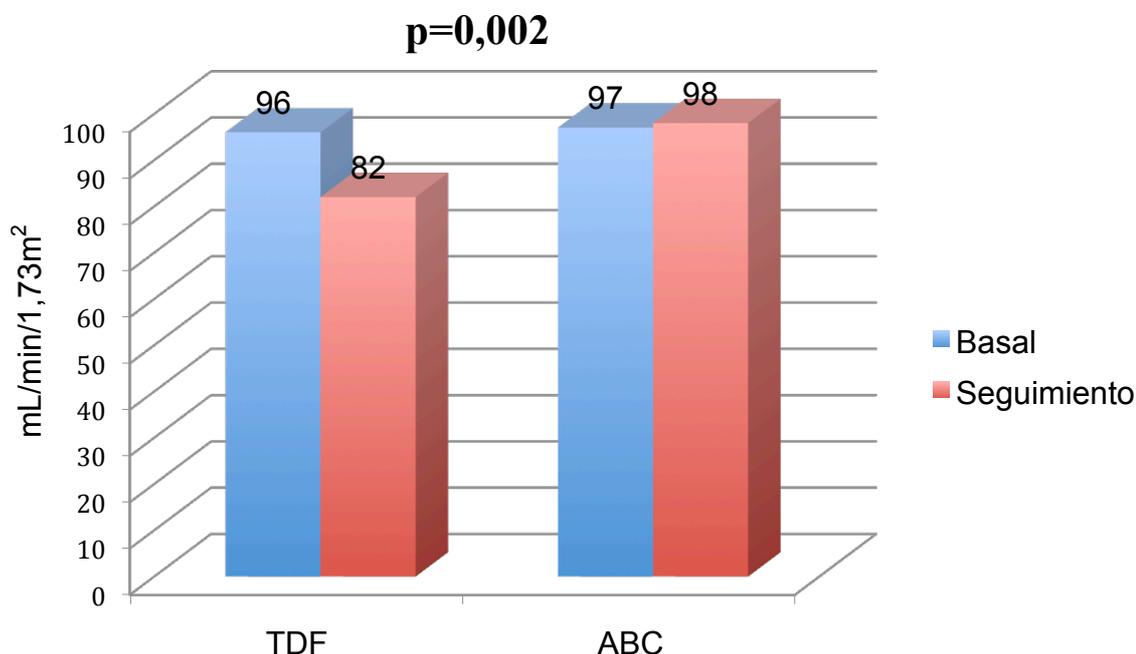
El periodo de seguimiento de los 99 pacientes incluidos en el estudio (79 pacientes en tratamiento con TDF y 20 pacientes en tratamiento con ABC) fue de 14 ± 2 meses. No hubo pérdidas durante el seguimiento por lo que tanto los datos del estudio basal como los del seguimiento hacen referencia a la muestra global. Setenta y nueve pacientes en el grupo de TDF y 20 pacientes en el grupo de ABC.

En las siguientes figuras se muestran la evolución de los parámetros de función glomerular como son el filtrado glomerular (FG) y la microalbuminuria en los sujetos evaluados.

En la figura 4.2.1.1 se puede apreciar que, utilizando como parámetro para estimar el aclaramiento de creatinina la fórmula MDRD-4, al inicio del seguimiento no existieron diferencias significativas entre los dos grupos, sin embargo al final del seguimiento la media de aclaramiento de creatinina entre los dos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0,002$).

Del mismo modo la variación del aclaramiento de creatinina durante el periodo de seguimiento fue estadísticamente significativo. La disminución media del FG en el grupo de pacientes con TDF fue de $-11,76\pm 15,6$ ml/min mientras que la variación media en el grupo de pacientes con ABC fue de $+1,1\pm 0,4$ ml/min ($p=0,001$).

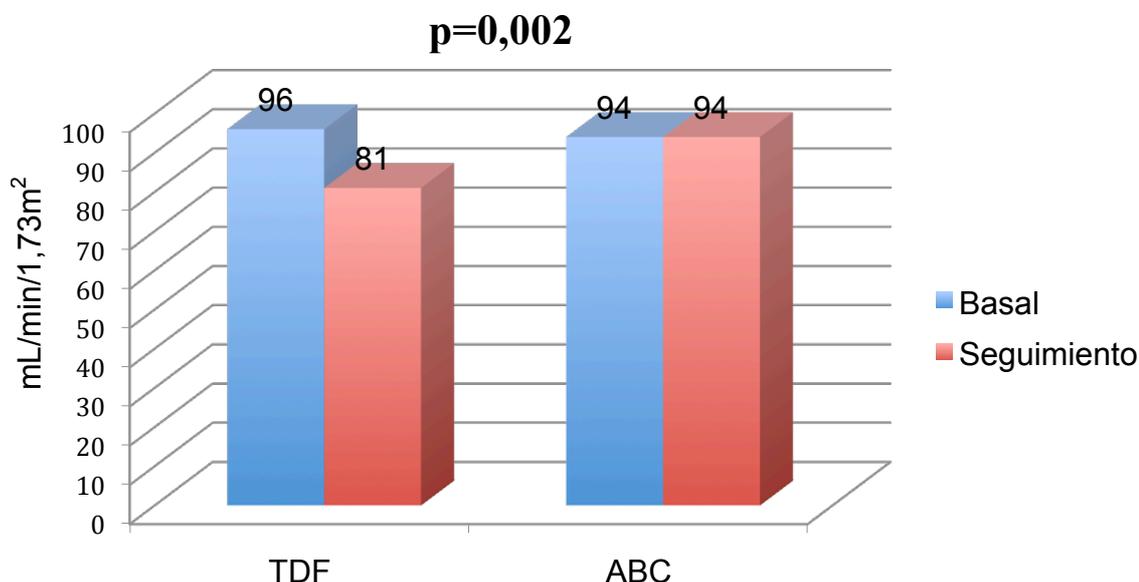
Figura 4.2.1.1. Evolución del FG en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC según el aclaramiento estimado mediante la fórmula MDRD-4



Del mismo modo que en la anterior figura, en la figura 4.2.1.2, utilizando como parámetro para estimar el aclaramiento de creatinina la fórmula de Cockcroft et Gault observamos que al inicio del seguimiento no existieron diferencias significativas entre los dos grupos, sin embargo al final del seguimiento la media de aclaramiento de creatinina entre los dos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0,002$).

Del mismo modo la variación del aclaramiento de creatinina durante el periodo de seguimiento fue estadísticamente significativa. La disminución media del FG en el grupo de pacientes con TDF fue de $-13,45 \pm 18,4$ ml/min mientras que la variación media en el grupo de pacientes con ABC fue de $+0,5 \pm 0,3$ ml/min ($p=0,004$).

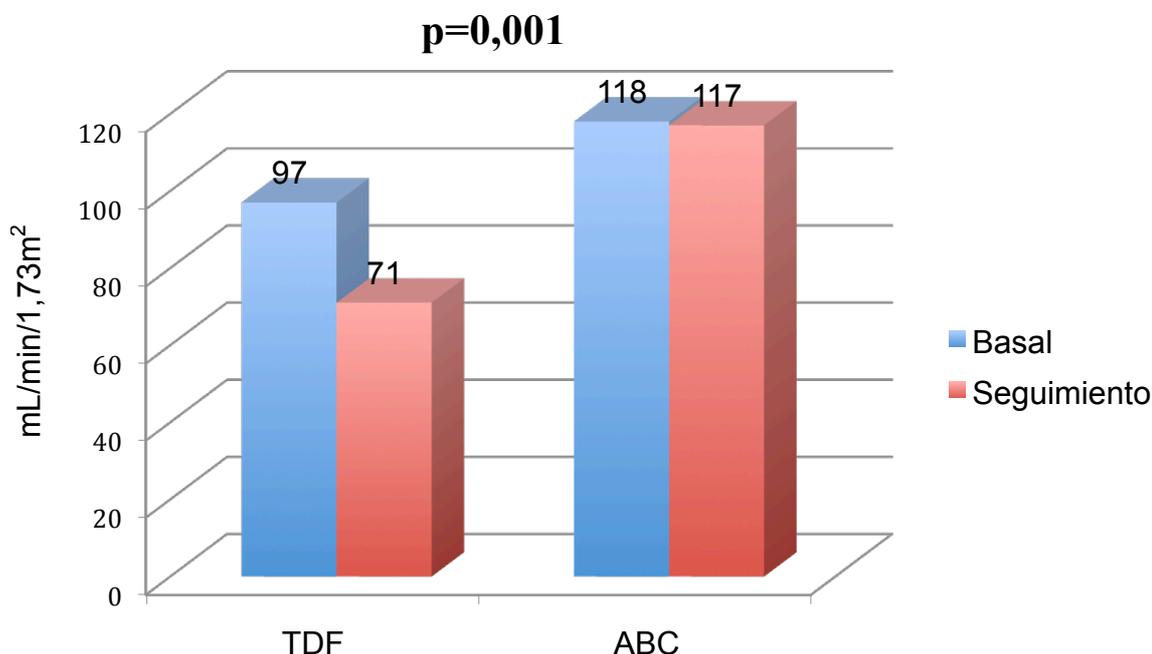
Figura 4.2.1.2. Evolución del FG en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC según el aclaramiento estimado mediante la fórmula de Cockcroft-Gault



Finalmente, en la figura 4.2.1.3, podemos apreciar que, utilizando el aclaramiento de creatinina real mediante determinación en orina de 24 horas, al inicio del seguimiento no existieron diferencias significativas entre los dos grupos, sin embargo al final del seguimiento la media de aclaramiento de creatinina entre los dos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0,001$).

Del mismo modo la variación del aclaramiento de creatinina durante el periodo de seguimiento fue estadísticamente significativo. La disminución media del FG en el grupo de pacientes con TDF fue de $-30,91 \pm 43,1$ ml/min mientras que la variación media en el grupo de pacientes con ABC fue de $1 \pm 1,2$ ml/min ($p=0,001$).

Figura 4.2.1.3. Evolución del FG en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC según el aclaramiento en orina de 24 horas.



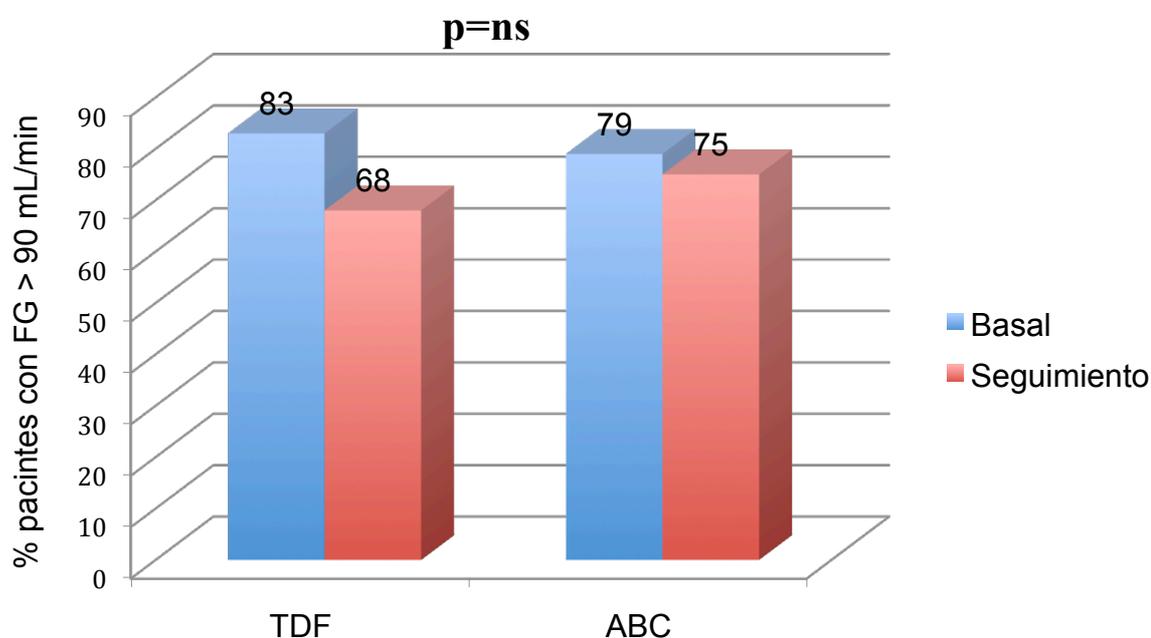
La utilización del aclaramiento estimado mediante la fórmula MDRD-4 y mediante la fórmula de Cockcroft et Gault no mostraron diferencias significativas, así como tampoco las mostró la comparación entre el aclaramiento estimado y el aclaramiento medido con orina de 24 horas.

Los datos mostrados en las figuras 4.2.1.1, 4.2.1.2 y 4.2.1.3 muestran la media del aclaramiento de creatinina. Posteriormente nos propusimos analizar el deterioro de la función renal identificando los pacientes de cada grupo de tratamiento con un filtrado glomerular >90 mL/min. Dada la ausencia de diferencias entre las distintas modalidades de cálculo del eCrCl, sólo se mostrarán los resultados del eCrCl mediante la ecuación de Cockcroft-Gault.

Al inicio del seguimiento la proporción de pacientes con filtrado glomerular alterado no era diferente entre los dos grupos (17% vs. 21% para TDF y ABC,

respectivamente; $p=ns$), sin embargo al final del seguimiento un mayor número de pacientes en tratamiento con TDF empeoraron su FG, por lo que la proporción de pacientes en tratamiento con TDF que presentaron un FG alterado fue superior que entre los pacientes en tratamiento con ABC (32% vs. 25% para TDF y ABC, respectivamente; $p= ns$), aunque sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas.

Figura 4.2.1.4. Proporción de pacientes con FG normal de acuerdo al eCrCl según la ecuación de Cockroft-Gault al inicio y tras el seguimiento.



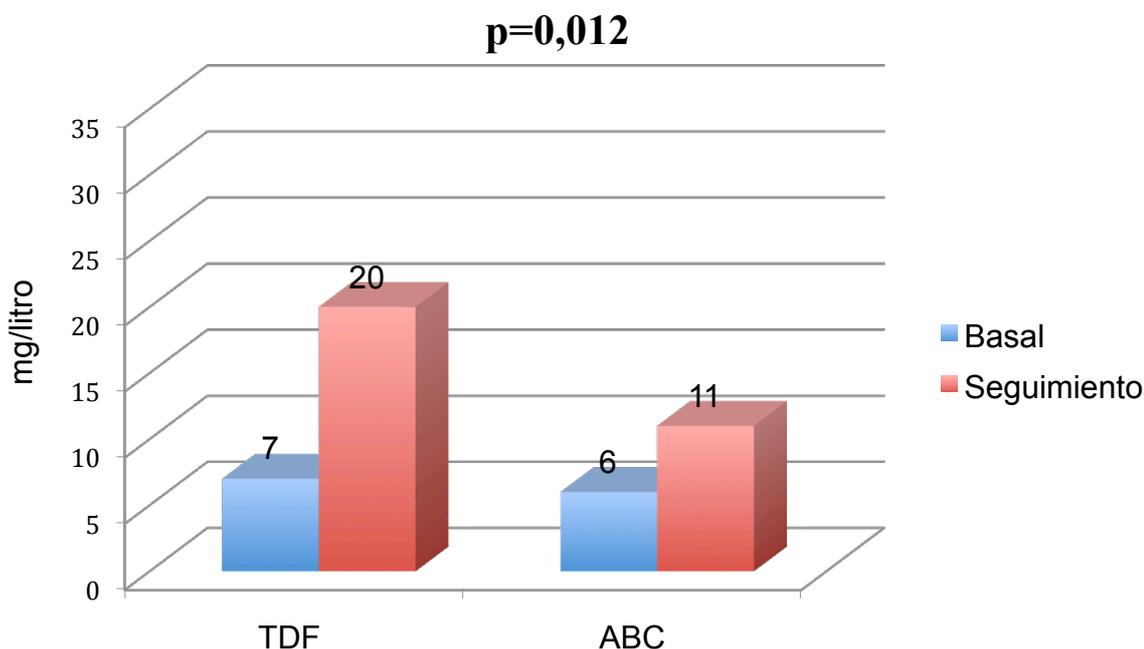
4.2.2. Función glomerular

Para valorar la función glomerular evaluamos la existencia de microalbuminuria así como de un aumento de la excreción de glucosaminoglicanos.

En la figura 4.2.2.1 se muestran los datos de microalbuminuria basal y tras el periodo de seguimiento. En el grupo de pacientes en tratamiento tanto con TDF

como con ABC se aprecia un aumento de la excreción de microalbuminuria, si bien solo existieron diferencias significativas en el grupo de pacientes en tratamiento con TDF al final del seguimiento ($p=0,012$).

Figura 4.2.2.1. Evolución de la microalbuminuria en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC según el aclaramiento en orina de 24 horas

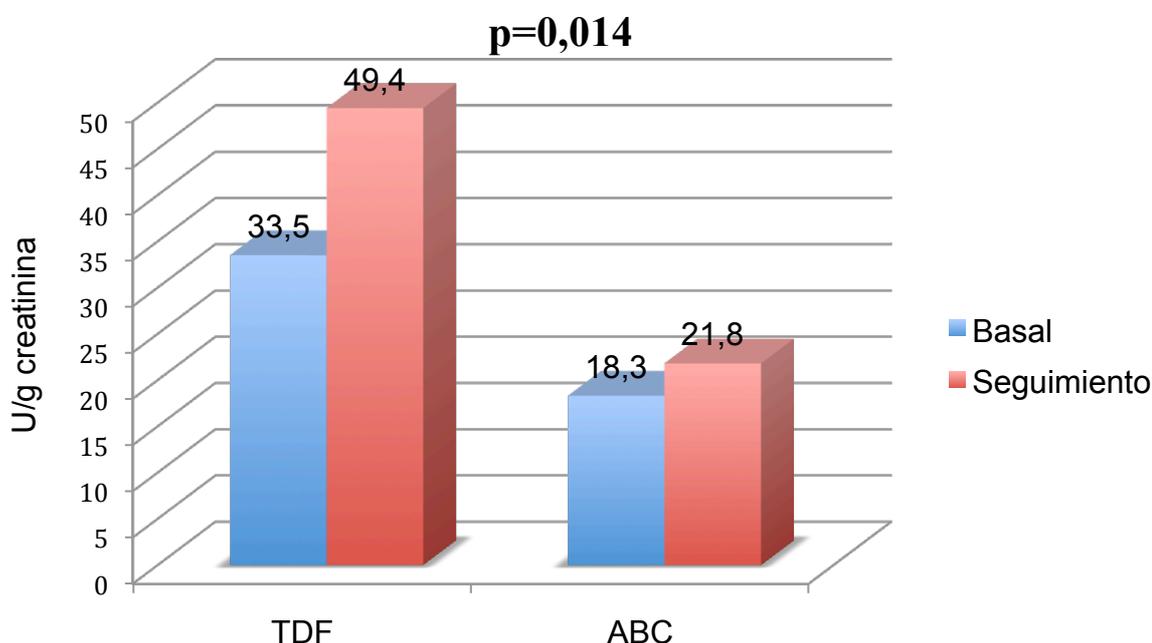


Con respecto a la eliminación de GAGs la figura 4.2.2.2 muestra la evolución de la eliminación de GAGs la inicio y a la finalización del periodo de seguimiento.

Al igual que en el caso de la microalbuminuria, existió un aumento en la excreción de GAGs al final del seguimiento en los dos grupos si bien de menor intensidad en el grupo de ABC. Sin embargo, a diferencia de lo que sucedía en el caso de la microalbuminuria, la eliminación de GAGs se encontraba basalmente aumentada en los pacientes en tratamiento con TDF con respecto a los pacientes en tratamiento con ABC, aumentando estas diferencias al final del

periodo de seguimiento, siendo estas diferencias estadísticamente significativas, tanto al inicio ($p=0,036$) como al final del seguimiento ($p=0,014$), sugiriendo un mayor daño previo en los pacientes en tratamiento con TDF, probablemente en el contexto de exposición previa al fármaco, y un incremento de ese daño con la exposición prolongada al tratamiento.

Figura 4.2.2.2. Evolución de la excreción de GAGs en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC en orina de 24 horas

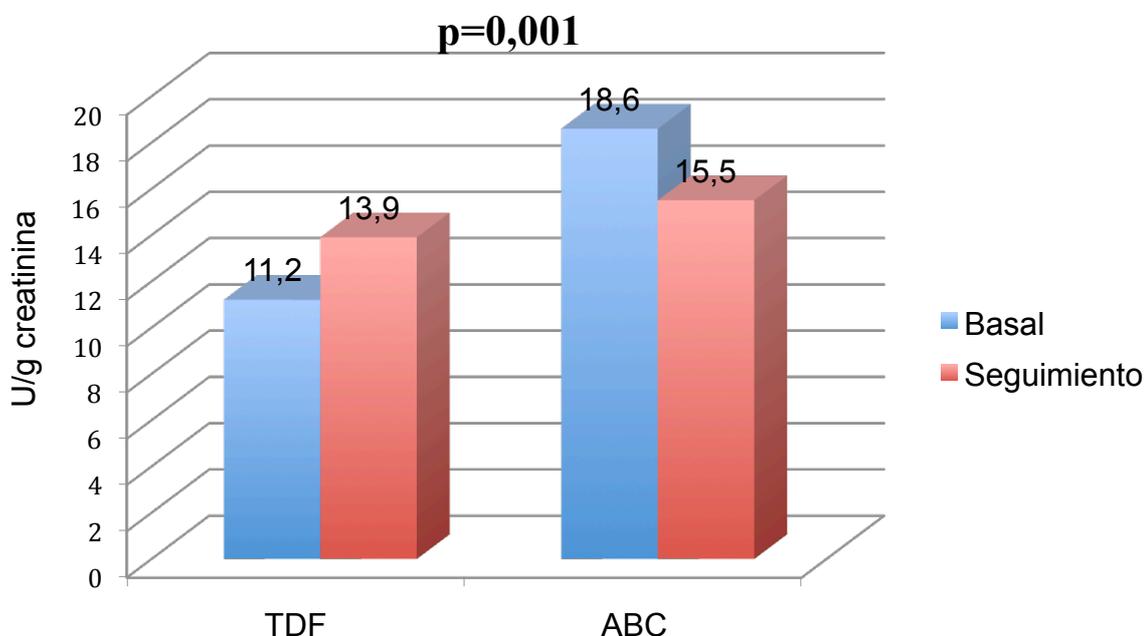


4.2.3. Función tubular

En las siguientes figuras se muestra la evolución de la función tubular en los pacientes de estudio. Los parámetros seleccionados para evaluar esta función tubular fueron el estudio de la actividad de la NAGasa (figura 4.2.3.1) la concentración en orina de glucosa (figura 4.2.3.2) y de los diferentes electrolitos que pueden ser medidos en orina de 24 horas (tablas 4.2.3.2 y 4.3.2.1 y figuras 4.2.3.3, 4.2.3.4).

La figura 4.2.3.1 muestra los valores de la eliminación de NAGasa. Los pacientes en tratamiento con ABC mostraron unos valores basales aumentados con respecto a los pacientes en tratamiento con TDF ($p=0,032$), lo que podría indicar un mayor grado de disfunción tubular en el momento del inicio del seguimiento, sin embargo al finalizar el seguimiento se observa una disminución de la eliminación de NAGasa en los pacientes en tratamiento con ABC y un aumento en los pacientes en tratamiento con TDF, desapareciendo la significación estadística. Sin embargo, al considerar la variación de los valores, existe una diferencia estadísticamente significativa ($+2,7\pm 1,3$ en los pacientes con TDF vs. $-3,1\pm 1,8$ en los pacientes con ABC ; $p=0,001$), variación que podría indicar un mayor deterioro de la función tubular con TDF.

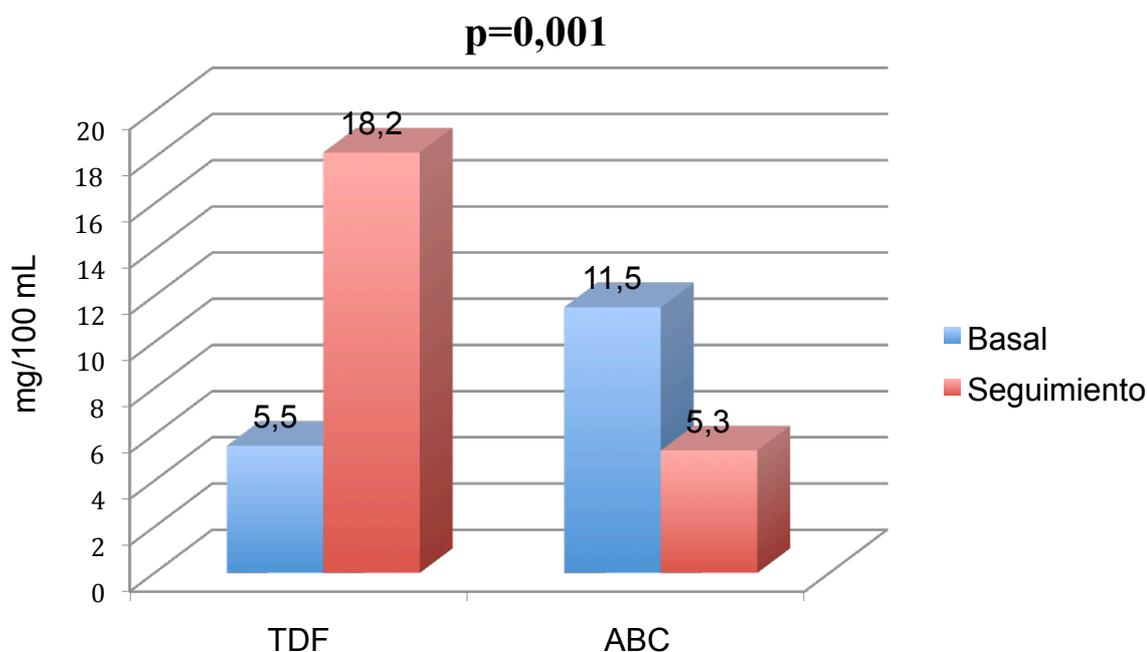
Figura 4.2.3.1. Evolución de la eliminación de la NAGasa en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC en orina de 24 horas.



La figura 4.2.3.2 muestra los valores de glucosuria. Los pacientes en tratamiento con ABC mostraron unos valores basales aumentados con respecto a los

pacientes en tratamiento con TDF ($p=0,002$), datos similares a los mostrados para la eliminación de la NAGasa. Del mismo modo, al finalizar el seguimiento se observa una disminución de la glucosuria en los pacientes en tratamiento con ABC y un aumento en los pacientes en tratamiento con TDF, invirtiéndose la situación, siendo al finalizar el seguimiento la glucosuria en los pacientes en tratamiento con TDF estadísticamente superior ($p=0,001$) que en los pacientes en tratamiento con ABC.

Figura 4.2.3.2. Evolución de la glucosuria en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC en orina de 24 horas.



En la tabla 4.2.3.1 se muestran los valores de glucemia al inicio y al final del seguimiento que se encontraron dentro de valores por debajo del umbral de filtración de la glucosa en los dos grupos de pacientes, sin que existiesen diferencias significativas.

Tabla 4.2.3.1. Evolución de la glucemia basal en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC.

Periodo	Grupo	N	Mínimo	Máximo	Media	DE
BASAL	TDF	79	72	131	91,06	10,36
	ABC	20	79	148	110,3	25,41
FINAL	TDF	79	61	141	94,26	12,22
	ABC	20	76	127	101,2	17,55
Glucemia expresada en mg/100mL						

Finalmente se evaluó la excreción renal de sodio, potasio, calcio y fósforo en orina de 24 horas tanto al inicio como al final del seguimiento en los pacientes con TDF (tabla 4.2.3.2) y con ABC (tabla 4.2.3.3).

Del análisis de dichas tablas se puede apreciar que existe un aumento estadísticamente significativo ($p=0,018$) de la fosfaturia en los pacientes en tratamiento con TDF con respecto a los pacientes en tratamiento con ABC sin repercusión en los valores de fósforo sérico, presumiblemente por una acción compensadora de la PTH.

En las tablas 4.2.3.4 y 4.2.3.5 se muestran los valores de calcio, fósforo, sodio y potasio séricos tanto al inicio como al final del seguimiento para los pacientes en tratamiento con TDF y ABC. En esas tablas podemos apreciar la normalidad de todos los parámetros, sin diferencias entre los dos grupos de pacientes.

En las figuras 4.2.3.3 y 4.2.3.4 se muestra el estudio comparativo de la eliminación renal de calcio y fósforo en los dos grupos de pacientes.

Tabla 4.2.3.2. Evolución de los electrolitos en los pacientes en tratamiento con TDF en orina de 24 horas.

	Periodo	N	Mínimo	Máximo	Media	DE	VN
Ca	Basal	79	2	31,1	12,57	6,4	7-24
	Final	79	0	46,8	12,49	8,39	
P	Basal	79	8,98	167,78	73,2	35,7	27-87
	Final	79	12,54	173,78	81,7	31,12	
Na	Basal	79	29	242	131,9	49,9	54-190
	Final	79	24	234	125,8	48,8	
K	Basal	79	13,86	123,75	49,2	20,2	20-80
	Final	79	11,84	245,0	50,4	21,2	

Ca: Calcio; P: fósforo; Na: Sodio; K: Potasio; VN: Valor Normal.
Resultados expresados en mEq/L para Na y K y en mg/dL para Ca y P.

Tabla 4.2.3.3. Evolución de los electrolitos en los pacientes en tratamiento con ABC en orina de 24 horas.

	Periodo	N	Mínimo	Máximo	Media	DE	VN
Ca	Basal	20	3,7	22,8	10,8	6,14	7-24
	Final	20	1,7	14,3	8,2	5,34	
P	Basal	20	24,75	130,4	58,3	36,9	27-87
	Final	20	29,22	55,46	44,43	10,1	
Na	Basal	20	51	240	104,7	55,3	54-190
	Final	20	61	167	114,8	41,5	
K	Basal	20	22,79	60,48	39,9	14,8	20-80
	Final	20	37,58	58,1	44,2	7,97	

Ca: Calcio; P: fósforo; Na: Sodio; K: Potasio; VN: Valor Normal.
Resultados expresados en mEq/L para Na y K y en mg/dL para Ca y P.

Tabla 4.2.3.4. Evolución de los electrolitos en los pacientes en tratamiento con TDF en suero.

	Periodo	N	Mínimo	Máximo	Media	DE	VN
Ca	Basal	79	8,3	9,8	9,03	0,34	8,6-10,2
	Final	79	8,2	10,3	8,97	0,39	
P	Basal	79	1,8	4,5	3,15	0,54	2,5-5
	Final	79	1,7	5,2	3,29	0,69	
Na	Basal	79	129,4	145,6	142,8	13,2	135-148
	Final	79	132,3	144,8	143,7	18,9	
K	Basal	79	3,1	5,7	4,3	2,2	3,8-5,2
	Final	79	2,9	5,1	4,2	3,9	

Ca: Calcio; **P:** fósforo; **Na:** Sodio; **K:** Potasio; **VN:** Valor Normal.
Resultados expresados en mEq/L para Na y K y en mg/dL para Ca y P.

Tabla 4.2.3.3. Evolución de los electrolitos en los pacientes en tratamiento con ABC en suero.

	Periodo	N	Mínimo	Máximo	Media	DE	VN
Ca	Basal	20	8,3	9,9	9,2	0,56	8,6-10,2
	Final	20	8,9	9,7	9,22	0,36	
P	Basal	20	2	3,5	2,93	0,46	2,5-5
	Final	20	2,2	3,4	2,9	0,48	
Na	Basal	20	131,2	145,9	141,5	2,6	135-148
	Final	20	134,0	146,7	140,4	11,3	
K	Basal	20	3,2	5,1	4,1	0,9	3,8-5,2
	Final	20	3,0	5,4	4,1	1,2	

Ca: Calcio; **P:** fósforo; **Na:** Sodio; **K:** Potasio; **VN:** Valor Normal.
Resultados expresados en mEq/L para Na y K y en mg/dL para Ca y P.

Figura 4.2.3.2. Evolución de la calciuria en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC en orina de 24 horas.

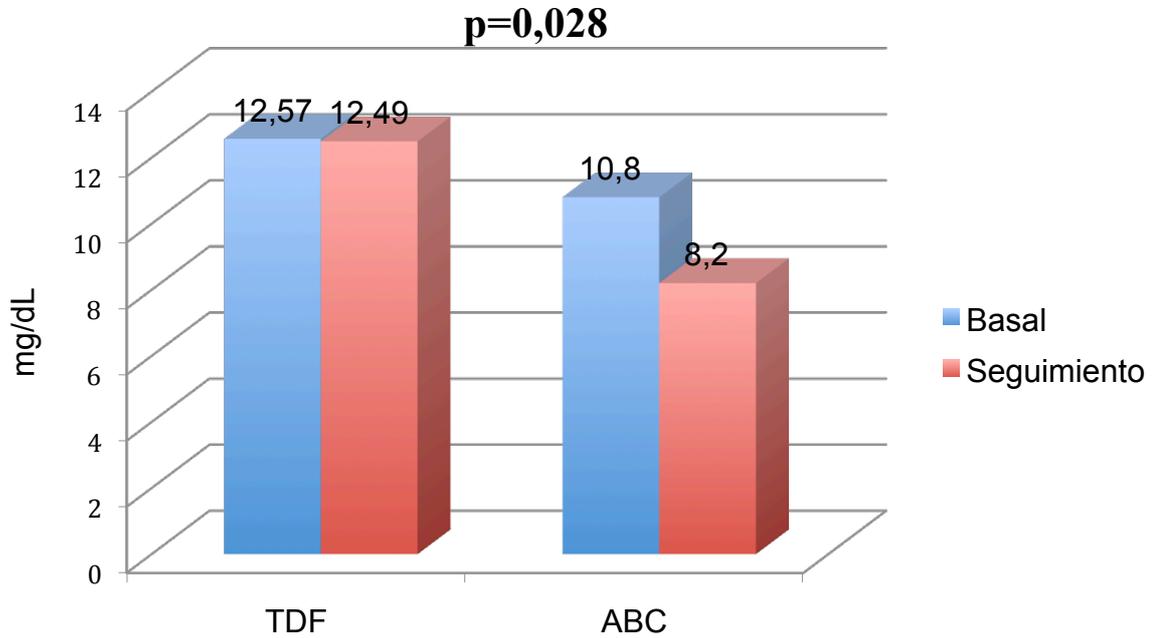
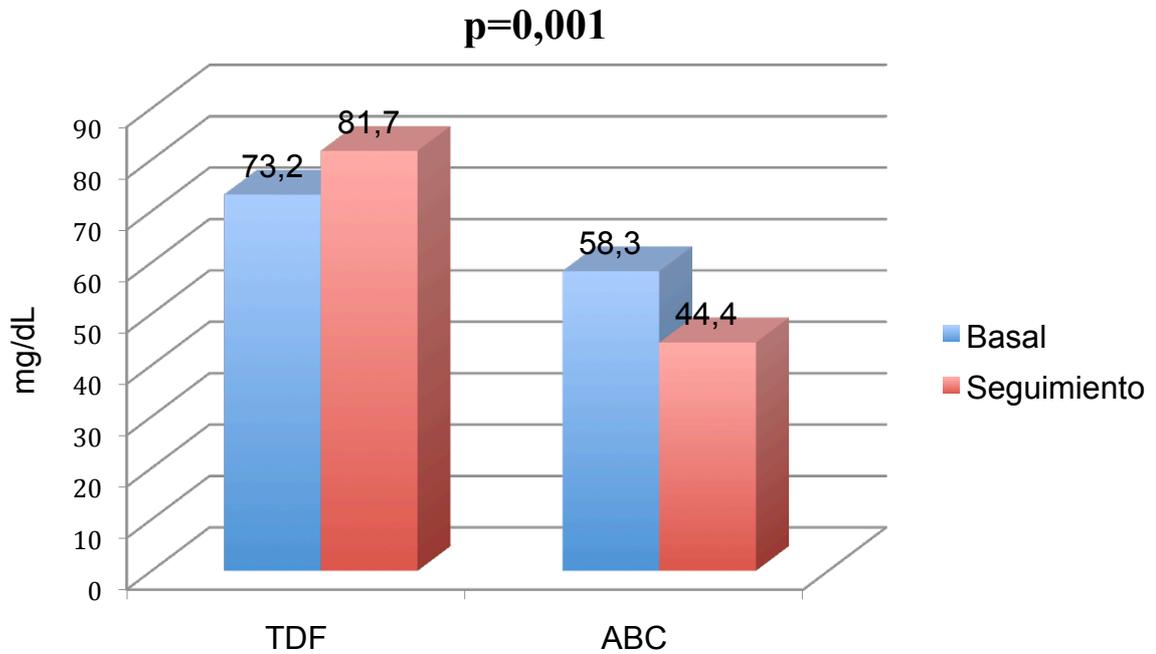


Figura 4.2.3.2. Evolución de la fosfaturia en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC en orina de 24 horas.



4.2.4. Prevalencia de la afectación glomerular y tubular

Finalmente, nos propusimos valorar la prevalencia de pacientes con afectación tubular en nuestra cohorte de pacientes. Como hemos visto en los apartados anteriores, durante el seguimiento existió un aumento marcado en los marcadores de daño glomerular y tubular entre los pacientes que se encontraban en tratamiento con TDF. Sin embargo, desconocíamos la verdadera incidencia de afectación renal, por lo que definimos pacientes con alteración glomerular aquellos con microalbuminuria patológica (> 30 mg/día) y definimos pacientes con afectación tubular aquellos que presentasen, al menos, dos marcadores de daño tubular alterados (eliminación aumentada de NAGasa, glucosuria, hiperfosfaturia). La definición de daño glomerular se realizó mediante extrapolación de las definiciones usadas para otras patologías como la HTA o la DM (Perez-Blanco, Morales-Camacho et al. 1999), mientras que la definición de daño tubular se realizó de acuerdo a criterios utilizados por otros autores (Rodríguez-Novoa, Labarga et al. 2009).

En la figura 4.2.4.1 se muestra la prevalencia de los pacientes con afectación glomerular, tanto al inicio como a la finalización del seguimiento. Podemos apreciar que la proporción de pacientes con daño tubular aumenta en el grupo de pacientes en TDF mientras que se mantiene estable en el grupo de pacientes en tratamiento con ABC, aunque sin alcanzar significación estadística, sugiriendo la existencia de un daño glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF.

En la figura 4.2.4.2 se muestra la prevalencia de los pacientes con afectación tubular, tanto al inicio como a la finalización del seguimiento. De manera similar a lo descrito para el daño glomerular, aunque con prevalencia superior, podemos observar un aumento marcado, y estadísticamente significativo de la prevalencia de daño tubular entre los pacientes en tratamiento con TDF.

Figura 4.2.4.1. Evolución de la prevalencia de daño glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC.

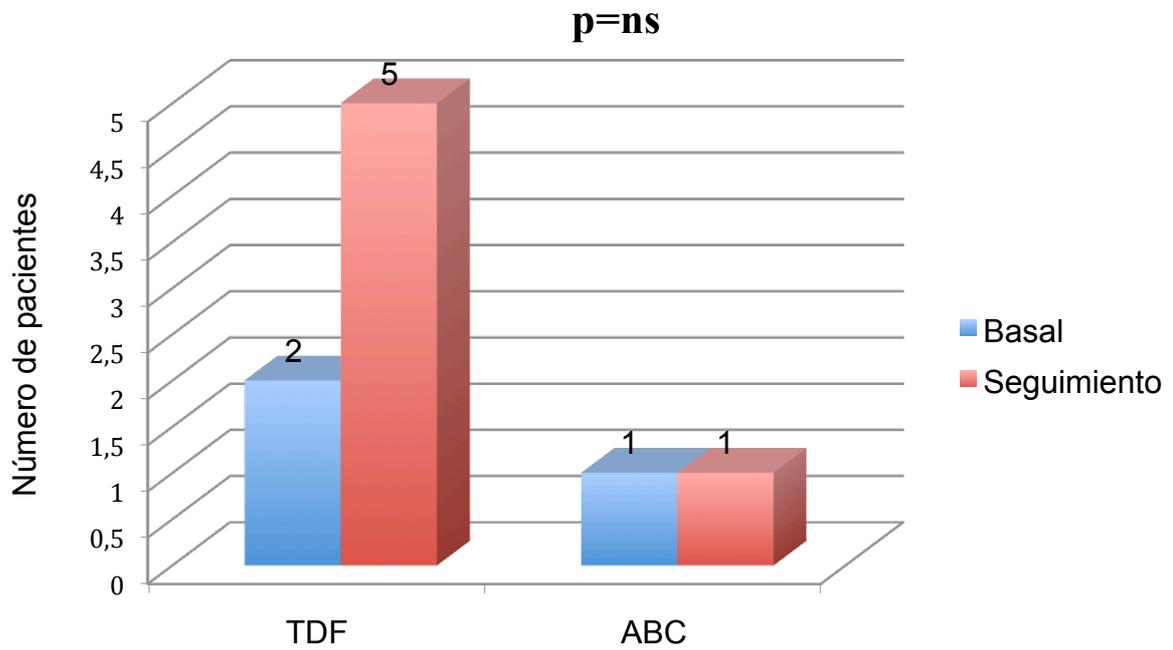
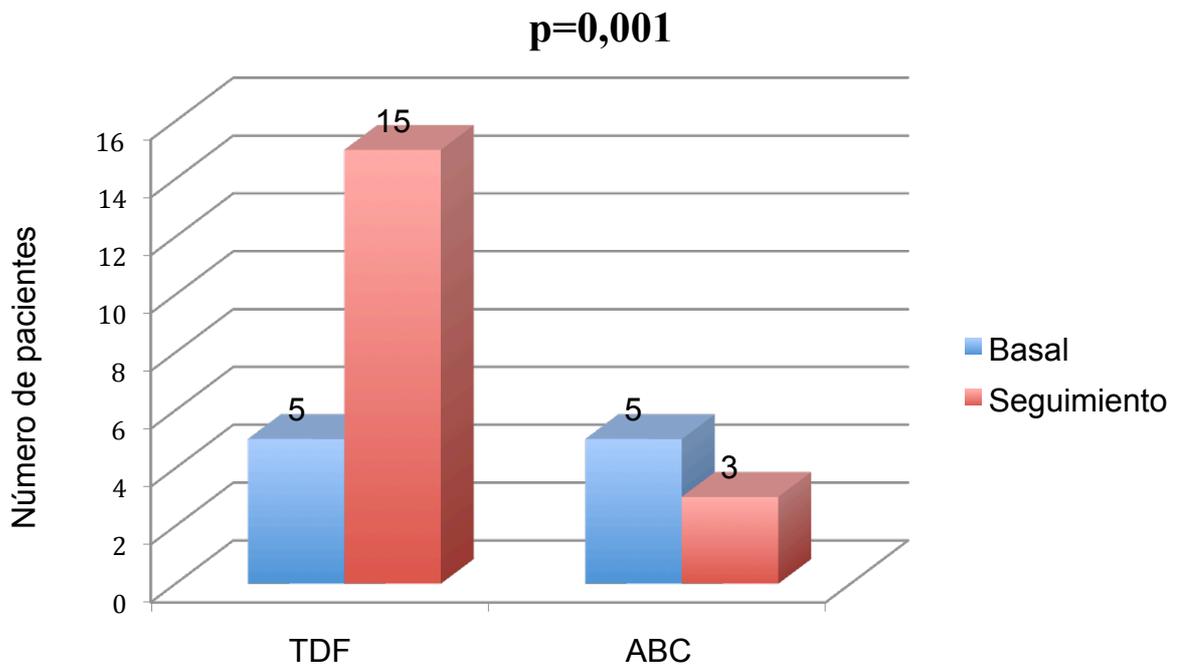


Figura 4.2.4.1. Evolución de la prevalencia de daño tubular en los pacientes en tratamiento con TDF y ABC.



4.3. Evolución de la función renal en el grupo de pacientes con exposición previa a TDF inferior a 3 meses.

4.3.1. Características basales

Dentro del grupo de pacientes en tratamiento con TDF, se identificó una población de 25 pacientes que habían comenzado tratamiento con TDF en los tres meses previos al inicio del seguimiento, constituyendo un grupo de población en el que poder valorar con una mayor precisión el efecto del inicio del tratamiento con TDF en la función renal.

La principal característica de estos 25 pacientes es que constituyen un grupo de pacientes con un menor tiempo de evolución de la infección VIH y que la mayoría de ellos (20 de los 25 pacientes) se encontraban recibiendo su primer esquema TARGA. Este hecho motivó que la proporción de pacientes con CV-VIH indetectable en el momento del inicio del seguimiento fuese inferior en este grupo de pacientes en comparación con el resto de pacientes que se encontraban recibiendo TDF. Existieron otras diferencias estadísticamente significativas con respecto al total de la muestra de pacientes que se encontraban recibiendo TDF, destacando fundamentalmente una menor incidencia de coinfección por el VHC, una mayor proporción de sexo masculino y una menor edad, datos que podrían explicar la mejor situación basal de los pacientes, con un mayor porcentaje de pacientes con filtrado glomerular basal normal.

Las características demográficas y su comparación con el resto de pacientes en tratamiento con TDF se muestran en la tabla 4.3.1.1. Dado que el tiempo de evolución de la enfermedad y el tiempo en tratamiento antirretroviral no es comparable con el grupo de pacientes en tratamiento con ABC no se han

comparado las características basales de los pacientes con menos de 3 meses de exposición previa a TDF y los pacientes en tratamiento con ABC.

Tabla 4.3.1.1 Características de los pacientes que estaban recibiendo TDF de acuerdo al tiempo de exposición previa a TDF

CARACTERÍSTICA	TDF < 3 meses n=25	TDF > 3 meses N=54	p
Edad, media (DE)	41,3 (8,2)	49,3 (7,2)	0,034
Sexo varón n (%)	19 (76)	33 (61)	0,046
IMC media (DE)	23,2 (0,6)	24,6 (0,7)	ns
Nadir CD4 media (DE)	240 (127)	153 (96)	ns
Estadio CDC SIDA n (%)	5 (20)	18 (33)	ns
Tiempo VIH media (DE)	84 (36,7)	216,2 (76,3)	<0,001
CV-VIH indetectable n (%)	5 (20)	52 (96)	<0,001
CD4 > 200 cel/mL n (%)	21 (84)	52 (96)	ns
Coinfección VHC n (%)	8 (32)	48 (88)	<0,001
Tabaquismo activo n (%)	15 (60)	34 (63)	ns
eCrCl CG normal n (%)	20 (80)	37 (68)	0,036
eCrCl MDRD normal n (%)	20 (80)	37 (68)	0,036
ZIAGEN: ABC. KIVEXA: ABC+3TC. IMC: Índice de Masa Corporal. Tiempo de VIH: en meses. CV-VIH: Carga viral VIH en plasma. eCrCl CG: Aclaramiento de creatinina estimado Cockroft-Gault			

4.3.2. Filtrado glomerular.

Dada la ausencia de diferencias entre las fórmulas MDRD-4, CG y en orina de 24 horas, sólo se reflejarán los datos del eCrCl mediante la fórmula de CG.

En las figura 4.3.2.1 y 4.3.2.2 se muestran la comparativa del FG de los pacientes con exposición previa a TDF menor y mayor a 3 meses y entre los pacientes con exposicion < 3 meses y ABC.

Los resultados son superponibles a los mostrados con anterioridad, con una disminución del FG durante el seguimiento estadísticamente significativa ($p < 0,05$), independientemente de la exposición menor o mayor a 3 meses (Figura 4.3.2.1). Sin embargo, al comparar el FG de los pacientes con exposición a TDF menor de 3 meses y ABC no encontramos diferencias estadísticamente significativas (Figura 4.3.2.2).

Figura 4.3.2.1. Evolución del FG en los pacientes con exposición previa a TDF menor y mayor de 3 meses según la ecuación de Cockroft-Gault.

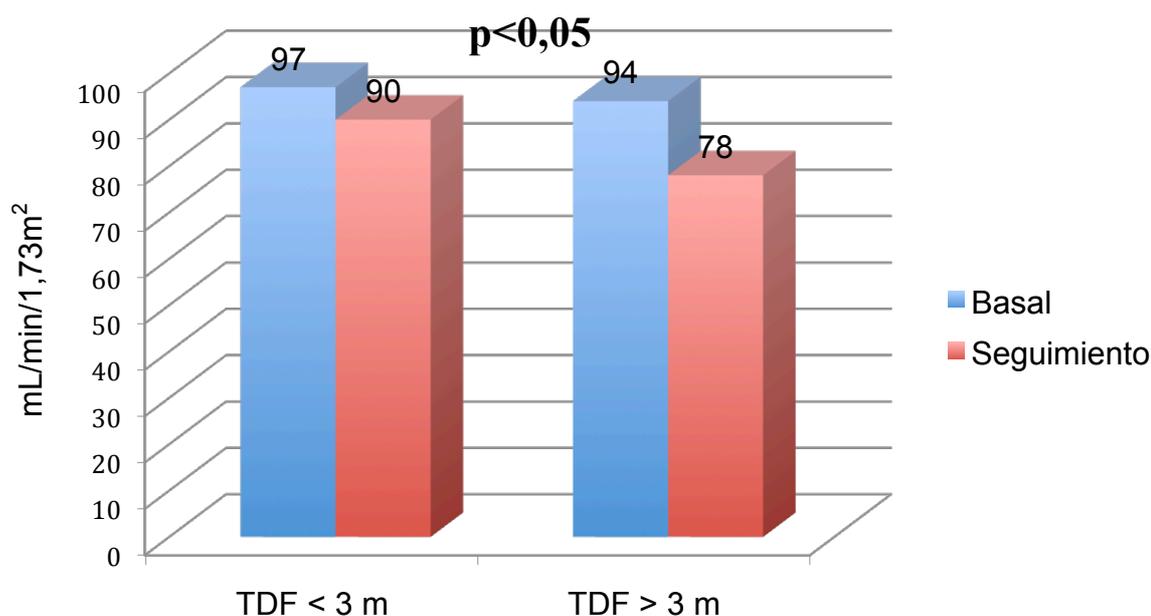
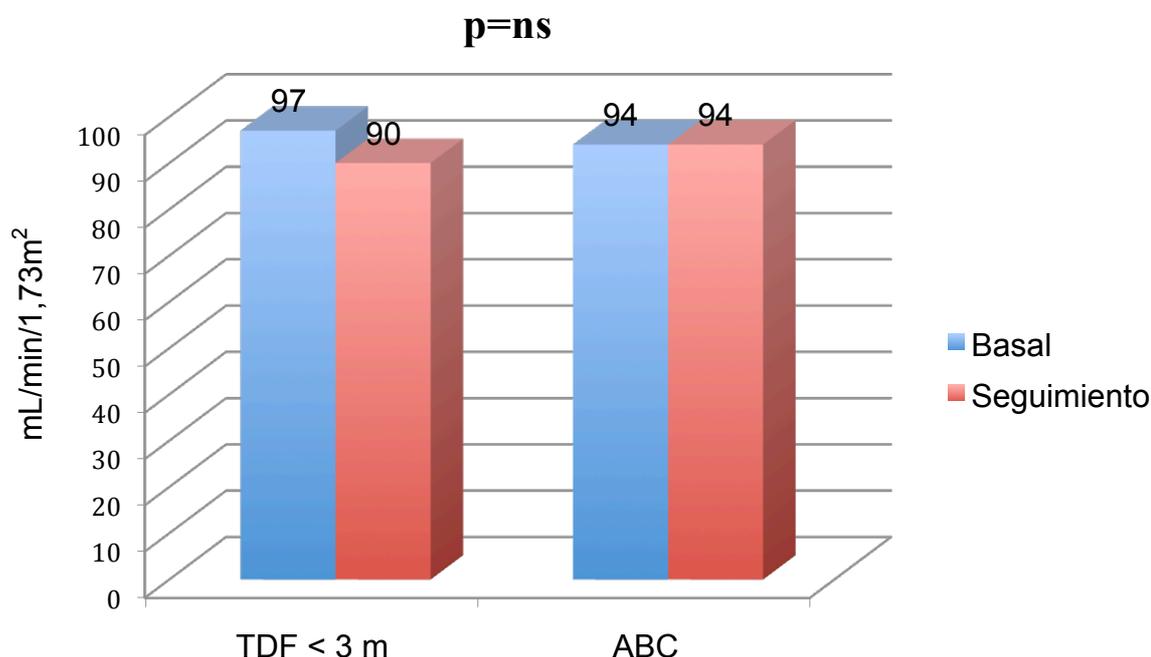


Figura 4.3.2.2. Evolución del FG en los pacientes con exposición previa a TDF menor de 3 meses y a ABC según la ecuación de Cockcroft-Gault.



A diferencia de lo demostrado para el global de los pacientes en tratamiento con TDF, no existieron diferencias significativas en la proporción de pacientes con FG normal al inicio y al final del seguimiento con los pacientes en tratamiento con ABC, sugiriendo que el deterioro del FG depende de la exposición acumulada a TDF.

4.3.3. Función glomerular

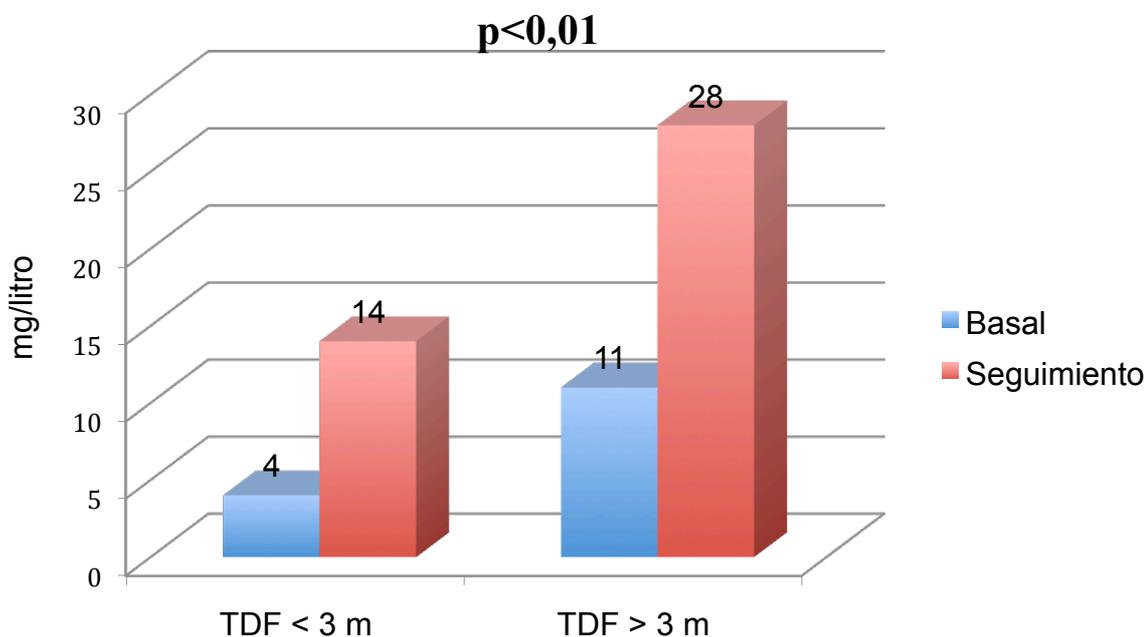
Al igual que con la muestra global los parámetros analizados fueron la microalbuminuria y la eliminación de GAGs. Los resultados se muestran en las figuras 4.3.3.1, 4.3.3.2, 4.3.3.3 y 4.3.3.4.

El análisis consistió en una comparación de la evolución de estos parámetros de función glomerular entre los pacientes con exposición previa a TDF menor o

mayor de 3 meses (figuras 4.3.3.1 y 4.3.3.2) y la comparación entre los pacientes en tratamiento con TDF con exposición previa menor a 3 meses y los pacientes en tratamiento con ABC.

Podemos apreciar que los valores basales de microalbuminuria fueron menores en los pacientes con menor tiempo de exposición previa a TDF (4 vs 11; $p < 0,05$), con un aumento posterior durante el seguimiento de una magnitud similar, sugiriendo un daño precoz y sostenido con el aumento de la exposición al TDF. Al final del seguimiento persistieron las diferencias significativas entre los dos grupos (14 vs 28 para exposición a TDF menor y mayor a 3 meses, respectivamente; $p = 0,01$).

Figura 4.3.3.1. Evolución de la microalbuminuria en los pacientes con exposición previa a TDF mayor y menor a 3 meses, en orina de 24h

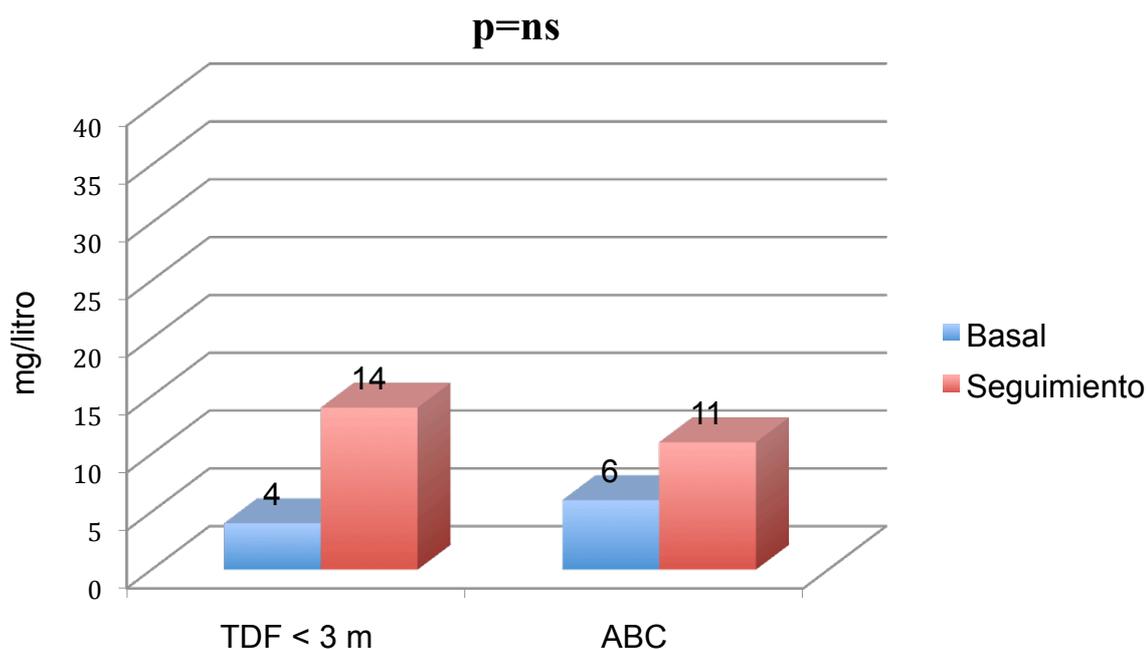


Posteriormente analizamos la evolución de la microalbuminuria en los pacientes en tratamiento con TDF y con exposición previa menor a 3 meses, con los pacientes en tratamiento con ABC.

Los resultados son similares a los que presentamos con anterioridad, con una menor tasa de microalbuminuria en los pacientes en tratamiento con TDF, presumiblemente por una menor evolución de la enfermedad, si bien sin alcanzar diferencias significativas (4 vs. 6; $p=ns$). Al final del seguimiento existió un aumento de la microalbuminuria en los pacientes con TDF, aunque tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas (14 vs. 11; $p=ns$).

Al analizar la variación de la tasa de microalbuminuria observamos que existió un aumento mayor en el grupo de pacientes con TDF, si bien tampoco alcanzó diferencias estadísticamente significativas (+10 vs. +5; $p=ns$).

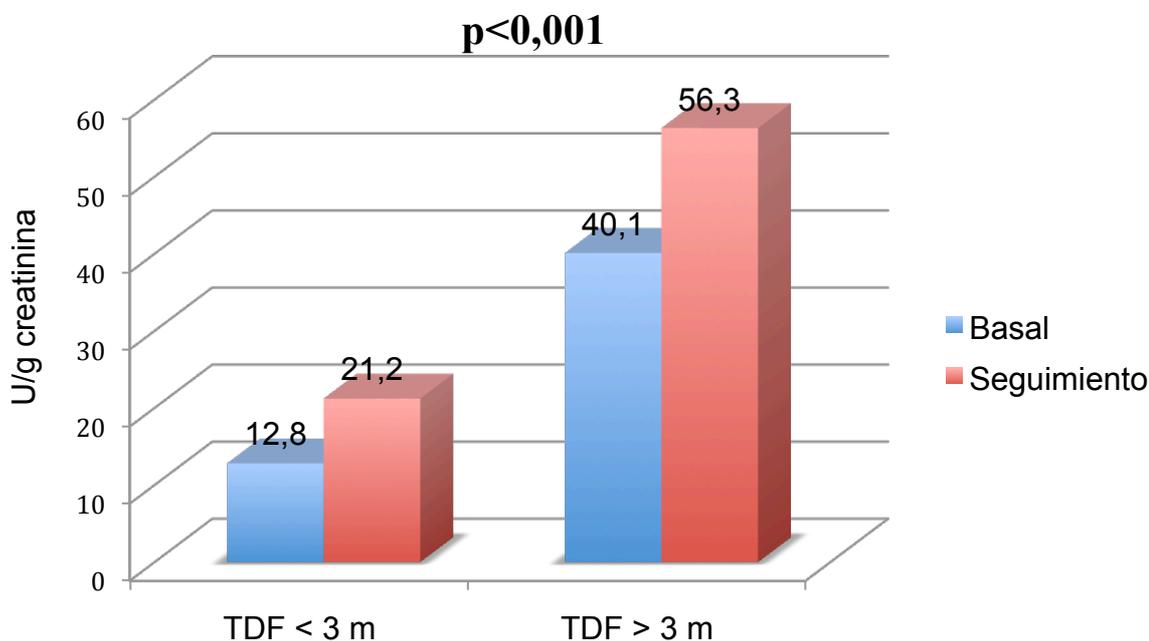
Figura 4.3.3.2. Evolución de la microalbuminuria en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses y ABC, en orina de 24 h



Con respecto a la eliminación de GAGs, los resultados son superponibles a los presentados con la microalbuminuria.

En la figura 4.3.3.3 se muestra que al inicio del seguimiento, la eliminación de GAGs en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses fue significativamente inferior a la que presentaban los pacientes con exposición previa a TDF mayor de 3 meses (12,8 vs 40,1 $p < 0,001$). Al final del seguimiento existió un incremento de la eliminación de GAGs en los dos grupos, en un rango similar, si bien persistiendo las diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la excreción de GAGs entre los dos grupos (21,2 vs 56,3; $p = 0,002$).

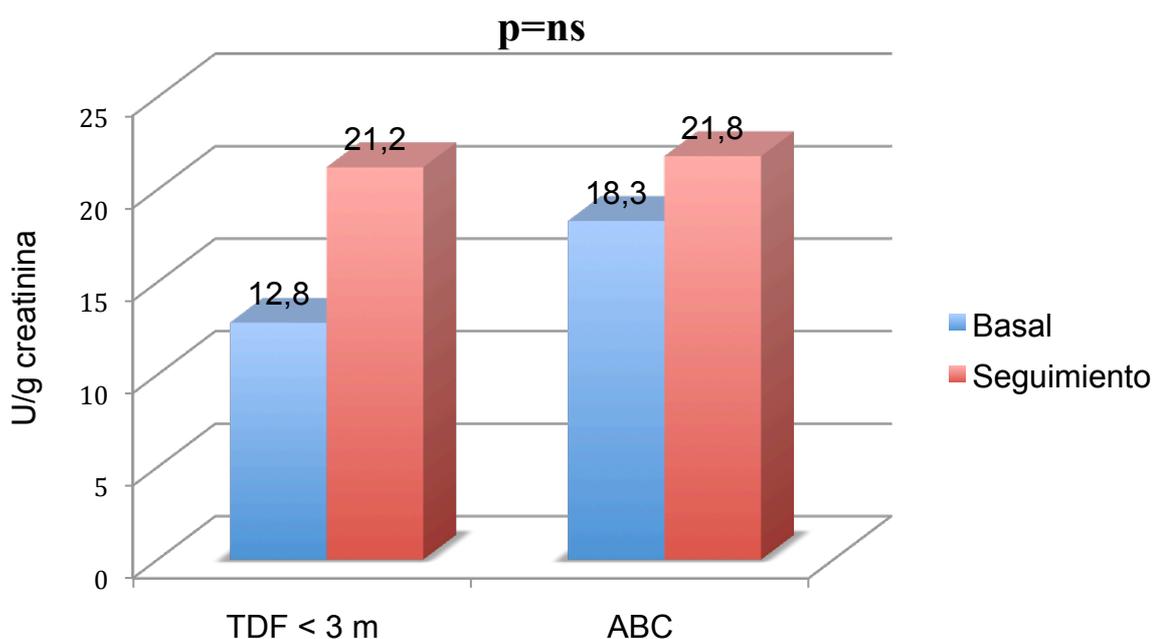
Figura 4.3.3.3. Evolución de los GAGs en los pacientes con exposición previa a TDF mayor y menor a 3 meses, en orina de 24 h



Finalmente, la comparación de la eliminación de GAGs en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses y aquellos con ABC se muestra en la figura 4.3.3.4 y es muy similar a la que compara la eliminación de GAGs en todos los pacientes con TDF frente a ABC.

Al inicio del seguimiento la eliminación de GAGs fue inferior en el grupo de pacientes con TDF que en los pacientes con ABC, sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas (12,8 vs 21,2; $p=ns$). Al final del seguimiento la diferencia en la eliminación de GAGs en orina prácticamente desapareció (21,2 vs 21,8), por el mayor aumento de la eliminación en el grupo de pacientes en tratamiento con TDF, si bien esta diferencia, al igual que sucedió con la microalbuminuria, no alcanzó diferencias estadísticamente significativas (+8,4 vs +3,5; $p=0,089$).

Figura 4.3.3.4. Evolución de los GAGs en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses y ABC, en orina de 24 h

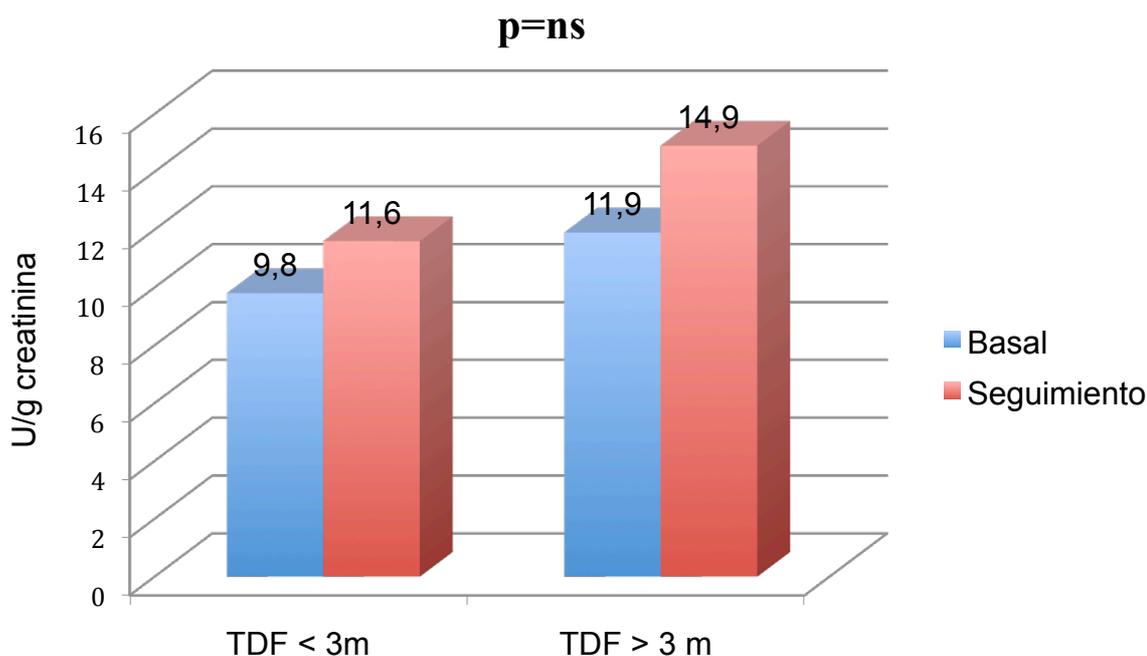


4.3.4. Función tubular

Por último evaluamos la evolución de los parámetros de función tubular en los pacientes en tratamiento con TDF y exposición previa mayor y menor a 3 meses y el grupo de pacientes en tratamiento con TDF con exposición previa menor a 3 meses y el grupo de pacientes en tratamiento con ABC.

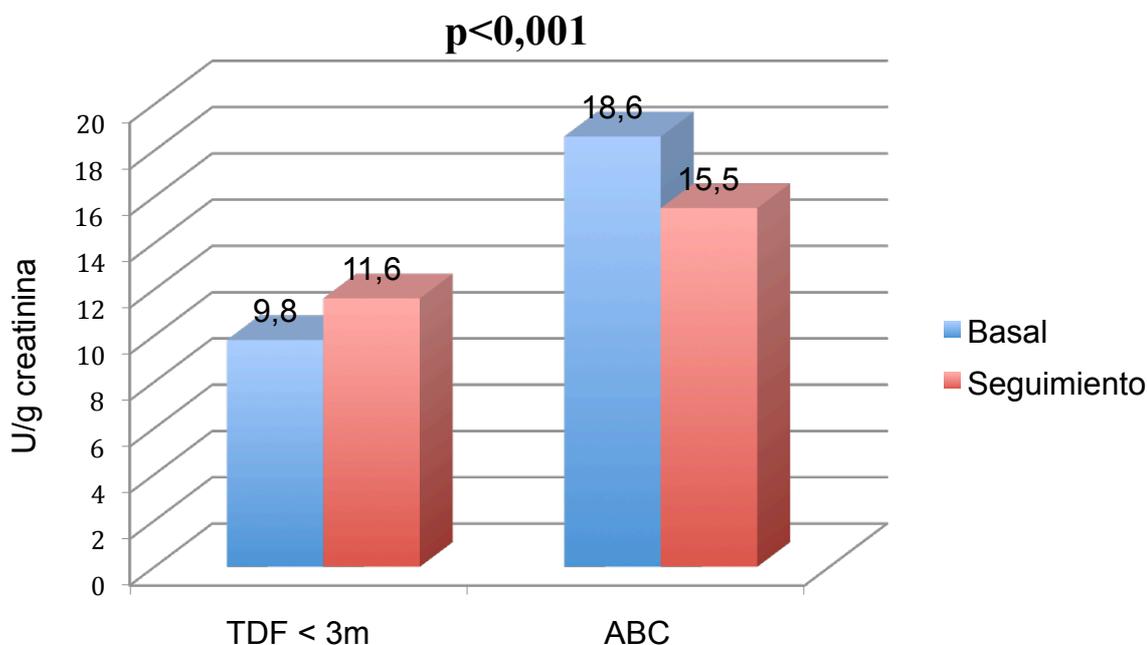
La figura 4.3.4.1 muestra los valores de la eliminación de NAGasa. Los pacientes con exposición previa superior a 3 meses mostraron unos valores basales aumentados con respecto a los pacientes con exposición previa inferior a 3 meses, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,684$). Del mismo modo, al finalizar el seguimiento tampoco existieron diferencias significativas entre los dos grupos con aumentos en la actividad de la NAGasa en rango similar.

Figura 4.3.4.1. Evolución de la eliminación de NAGasa en los pacientes con exposición previa a TDF mayor y menor a 3 m, en orina de 24 h.



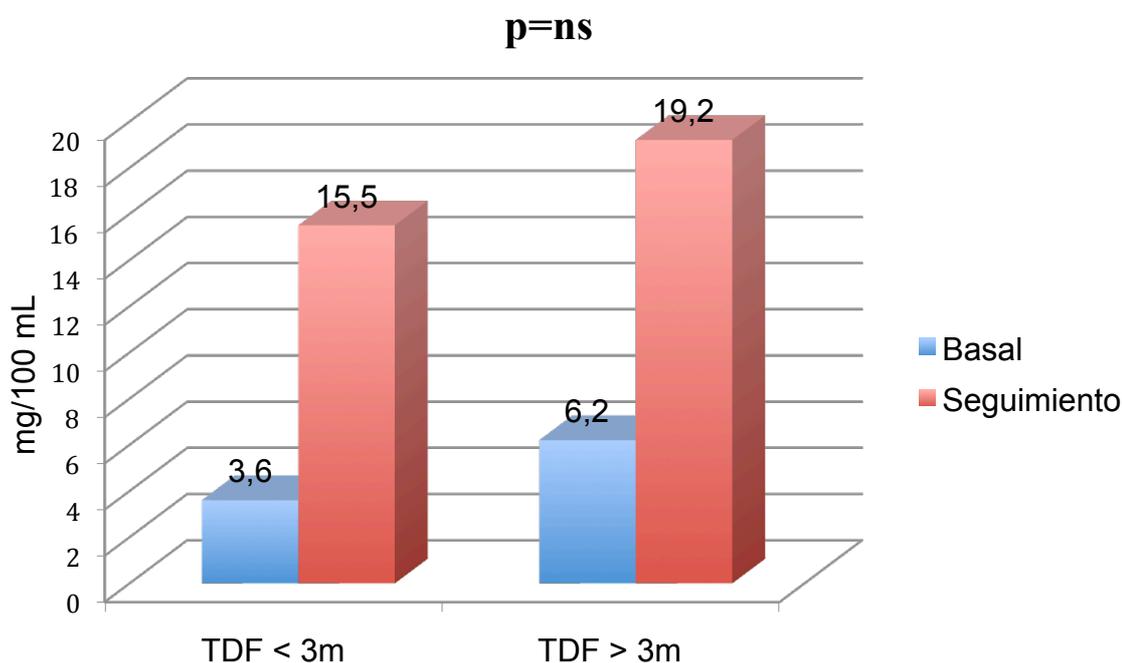
La figura 4.3.4.2 muestra los valores de la eliminación de NAGasa en los pacientes con exposición previa menor a 3 meses y los pacientes en tratamiento con ABC. Del igual manera a lo que sucedía con la población total, existió una eliminación aumentada de la eliminación de NAGasa en los pacientes en tratamiento con ABC (9,8 vs. 18,6; $p < 0,001$). Esta diferencia persistió al finalizar el seguimiento, alcanzando igualmente significación estadística (11,6 vs. 15,5; $p = 0,042$), sin embargo, y al igual que para la población total, la variación de la eliminación de NAGasa en los dos grupos fue muy diferente, con un aumento de la eliminación en el grupo de pacientes en tratamiento con TDF y una reducción en el grupo de pacientes con ABC. Al analizar la variación de la eliminación de la NAGasa, al igual que para la población total en tratamiento con TDF, también encontramos diferencias estadísticamente significativas ($+1,8 \pm 0,4$ vs. $-3,1 \pm 1,8$; $p = 0,022$).

Figura 4.3.4.2. Evolución de la actividad de NAGasa en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 m. y ABC, en orina de 24 h.



También se analizaron de la misma manera la evolución de la glucosuria. La figura 4.3.4.3 muestra los valores de glucosuria en los pacientes en tratamiento con TDF en función del tiempo previo de exposición. Los resultados son completamente superponibles a los que encontramos al determinar la eliminación de NAGasa. Los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses mostraron unos valores al inicio del seguimiento ligeramente inferiores a los encontrados en los pacientes con seguimiento mayor a 3 meses, sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas. Del mismo modo, al finalizar el seguimiento se mantuvieron estas diferencias, de nuevo sin alcanzar significación estadística y con incrementos similares en los dos grupos.

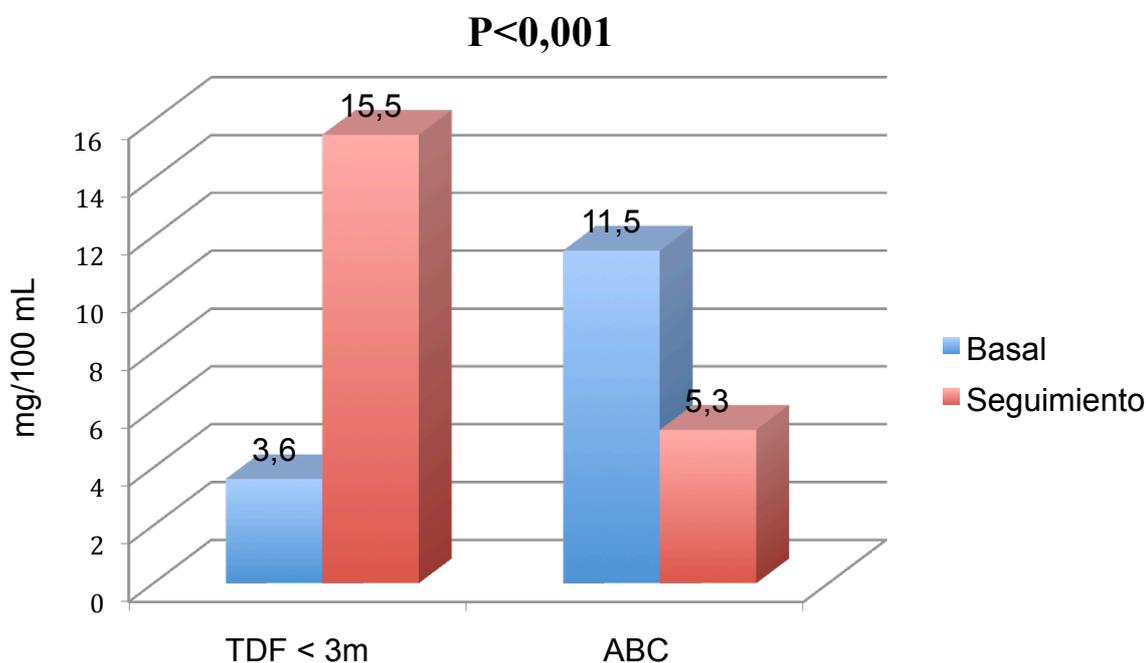
Figura 4.3.4.3. Evolución de la glucosuria en los pacientes en los pacientes con exposición previa a TDF mayor y menor a 3 m, en orina de 24h.



Del mismo modo, se analizó la evolución de la glucosuria en los pacientes con exposición a TDF menor a 3 meses y los pacientes en tratamiento con ABC. Una vez más los resultados son muy similares a los obtenidos al comparar la población global en tratamiento con TDF y ABC.

Al inicio del seguimiento se aprecia una mayor glucosuria en los pacientes en tratamiento con TDF ($3,6 \pm 2,1$ mg/dL vs. $11,5 \pm 6,8$ mg/dL; $p < 0,001$), situación que se invierte al final del seguimiento, por el marcado aumento de la glucosuria en los pacientes en tratamiento con TDF, y el descenso de la glucosuria en los pacientes en tratamiento con ABC ($15,5 \pm 5,3$ mg/dL vs. $5,3 \pm 1,8$ mg/dL; $p = 0,0018$)

Figura 4.3.4.4. Evolución de la glucosuria en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 m. y ABC, en orina de 24 h.

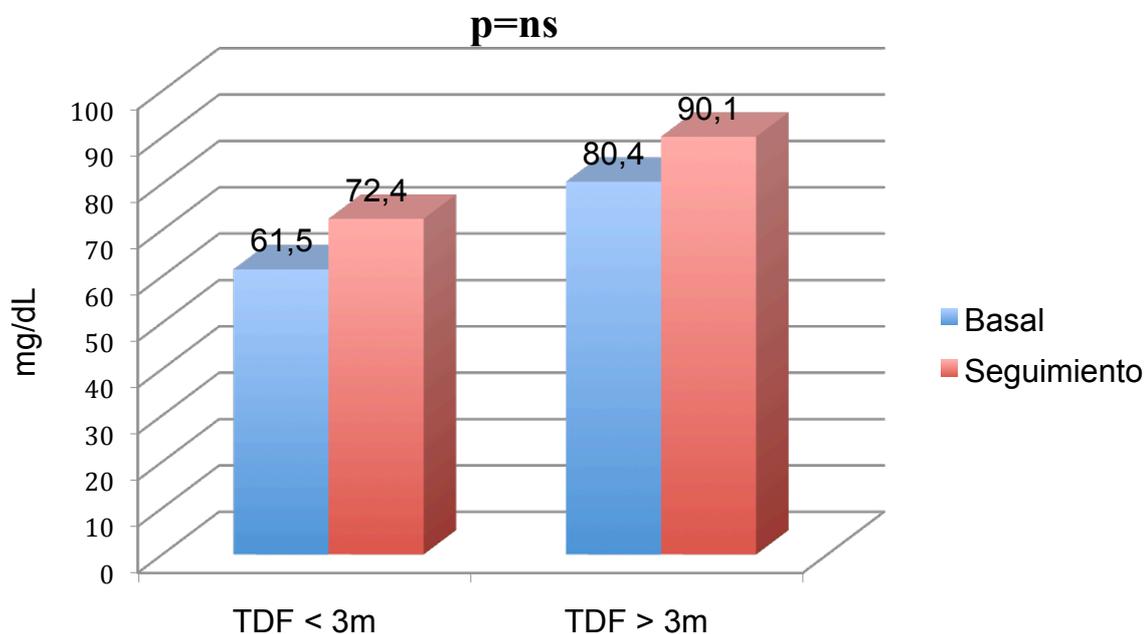


Finalmente, analizamos la evolución de los electrolitos, tanto en sangre como en orina en los pacientes en tratamiento con TDF en función del tiempo de exposición previo al inicio del seguimiento.

Los datos son completamente superponibles a los mostrados para la población general por lo que no se muestran las tablas detalladas de la evolución de todos los electrolitos. Sin embargo dado que si existieron diferencias con respecto a la eliminación urinaria de los electrolitos en las siguientes figuras se muestran en detalle esas alteraciones.

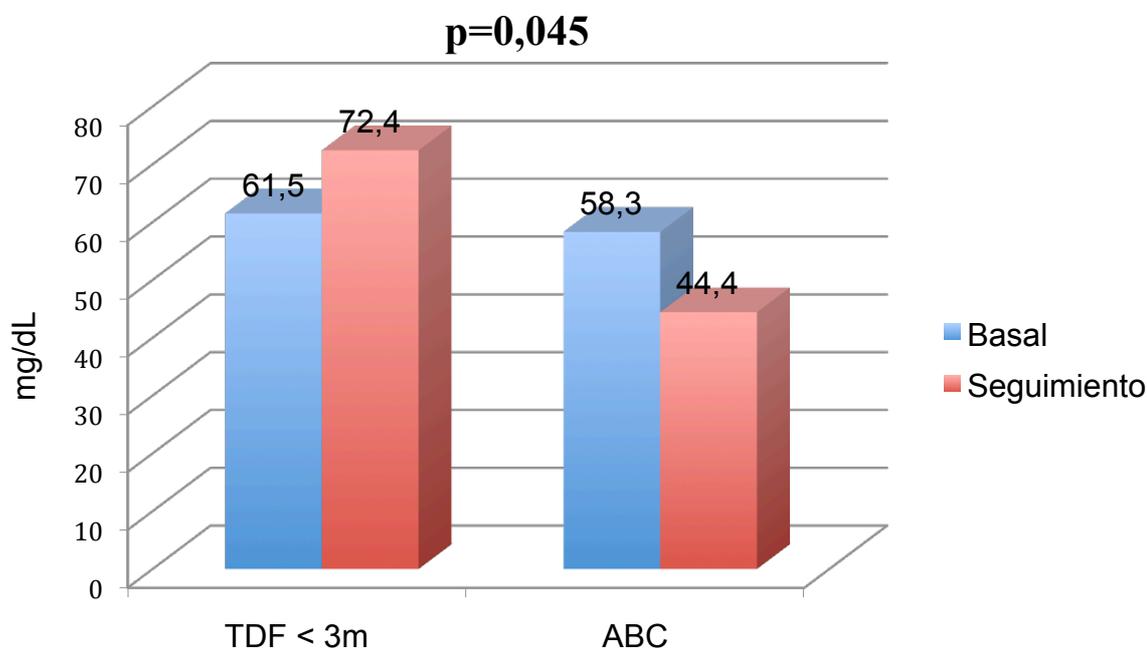
La figura 4.3.4.5 muestra la evolución de la fosfaturia en los pacientes en tratamiento con TDF en función del tiempo de exposición previa al TDF. Es llamativa la diferencia en el valor en función del tiempo de exposición al TDF. Aquellos pacientes con una exposición menor a tres meses, muestran unos valores de eliminación de fósforo dentro del rango de la normalidad, situándose en una zona intermedia, por el contrario, los pacientes con exposición previa a TDF mayor de tres meses presentan unos valores que, si bien se encuentran también dentro del rango de la normalidad, están situados en el límite superior de la normalidad y muy próximos a valores patológicos ($61,5 \pm 16,3$ vs $80,4 \pm 32,5$; $p=0,058$). Con el seguimiento podemos apreciar que existe en ambos grupos un aumento de los valores de eliminación de fosfato, provocando que los pacientes con exposición menor a tres meses aumenten en el percentil de eliminación, situándose próximos al límite superior de la normalidad, mientras que los pacientes con exposición mayor a tres meses presentan una eliminación dentro del rango patológico, aunque el incremento en ambos grupos fue similar ($72,4 \pm 32,1$ vs $90,1 \pm 45,9$; $p=0,078$).

Figura 4.3.4.5. Evolución de la fosfaturia en los pacientes en los pacientes con exposición previa a TDF mayor y menor a 3 m, en orina de 24h.



Cuando comparamos el grupo de pacientes con exposición menor a tres meses a TDF con el grupo control en tratamiento con ABC observamos que existen diferencias similares a las que describimos cuando la comparación se realizó frente a la muestra global (figura 4.3.4.6), especialmente al finalizar el seguimiento, ya que al inicio del seguimiento prácticamente no existieron diferencias entre los dos grupos de pacientes, presentando cifras de fosfaturia dentro de los límites de la normalidad y en un percentil intermedio ($61,5 \pm 16,3$ mg/dl para TDF vs $58,3 \pm 36,9$ mg/dL para ABC; $p=0,12$). Sin embargo, al finalizar el seguimiento observamos que, del mismo modo a lo que se describió para la población global de pacientes con TDF si existen diferencias considerables y estadísticamente significativas, con un marcado aumento de la eliminación de fósforo en los pacientes en tratamiento con TDF y una reducción de la misma en los pacientes en tratamiento con ABC ($72,4 \pm 32,1$ mg/dL para TDF vs $44,4 \pm 10,1$ mg/dL para ABC; $p=0,045$).

Figura 4.3.4.6. Evolución de la fosfaturia en los pacientes con exposición previa a TDF menor a 3 meses y ABC, en orina de 24 h.



4.3.5. Prevalencia de la afectación glomerular y tubular

Del mismo modo que para la población global de estudio, nos propusimos valorar la prevalencia de pacientes con afectación tubular en los pacientes con exposición a TDF menor a 3 meses y compararla con la de los pacientes en tratamiento con exposición a TDF mayor a 3 meses y con la de los pacientes en tratamiento con ABC. Al igual que para la población total, definimos alteración glomerular la presencia de microalbuminuria patológica (> 30 mg/día) y/o GAGs > 22 U/gCr (Perez-Blanco, Morales-Camacho et al. 1999); y la afectación tubular como la presencia de, al menos, dos marcadores de daño tubular, [eliminación de NAGasa > 17,1 U/gCr (Perez-Blanco, Ruiz-Martin et al. 1996), glucosuria, hiperfosfaturia] (Rodríguez-Novoa, Labarga et al. 2009).

En las figuras 4.3.5.1 y 4.3.5.2 se muestran el número de pacientes con afectación glomerular, tanto al inicio como a la finalización del seguimiento. En el grupo de paciente con exposición a TDF menor y mayor a 3 meses (Fig. 4.3.5.1) y la comparación entre el grupo de pacientes con exposición a TDF menor a 3 meses y ABC. Podemos apreciar que el número de pacientes aumenta de manera similar en los pacientes en tratamiento con TDF, independientemente de la exposición previa, y que este aumento es mayor que el que aparece en el grupo de pacientes en tratamiento con ABC, sugiriendo que el daño glomerular, si bien de escasa entidad (no alcanza diferencias significativas frente al grupo de ABC) es precoz y lentamente progresivo.

Figura 4.3.5.1. Evolución de la prevalencia de daño glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF < 3 meses y TDF > 3 meses.

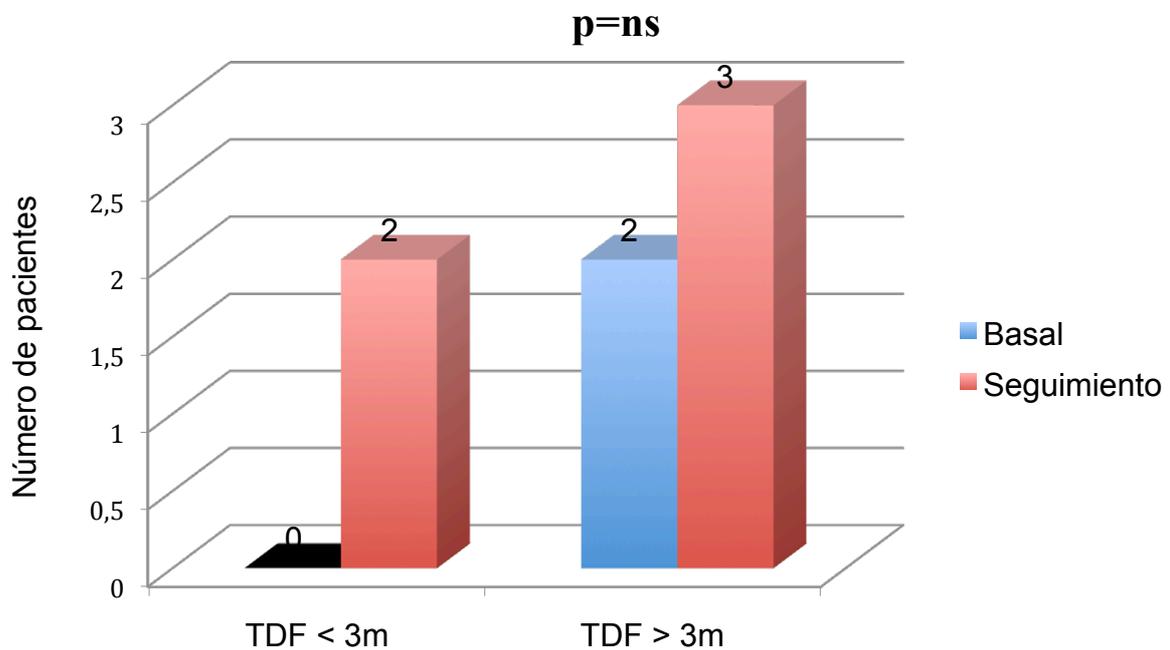
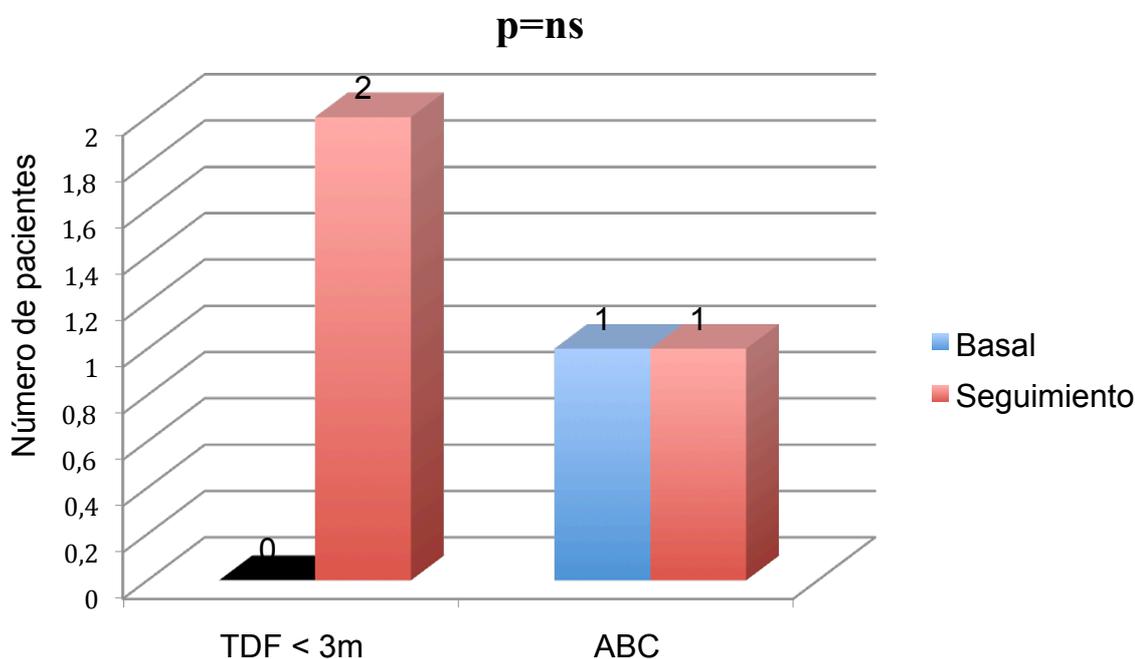


Figura 4.3.5.2. Evolución de la prevalencia de daño glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF menos de 3 meses y ABC.



Finalmente, en las figuras 4.3.5.3 y 4.3.5.4 se muestran la evolución de los pacientes con afectación tubular, tanto al inicio como a la finalización del seguimiento. De manera similar a lo descrito para el daño glomerular, comparamos en primera lugar la evolución del número de pacientes con daño tubular en función del tiempo de exposición previa a TDF (< 3 meses vs. > 3 meses) observando una evolución muy similar, con afectación tubular en el 15-20% de los pacientes de la muestra, no existiendo diferencias significativas en función del tiempo de exposición a TDF (Fig. 4.3.5.3).

Al comparar la evolución del daño tubular en los pacientes con exposición previa a TDF inferior a 3 meses y en los pacientes con ABC (Fig. 4.4.5.4) podemos observar que, al igual que sucede para la población con TDF global, existe una variación significativa (+6 pacientes vs. -2 pacientes para TDF < 3m y ABC, respectivamente; $p=0,02$).

Figura 4.3.5.3. Evolución de la prevalencia de daño tubular en los pacientes en tratamiento con TDF < 3 meses y TDF > 3 meses.

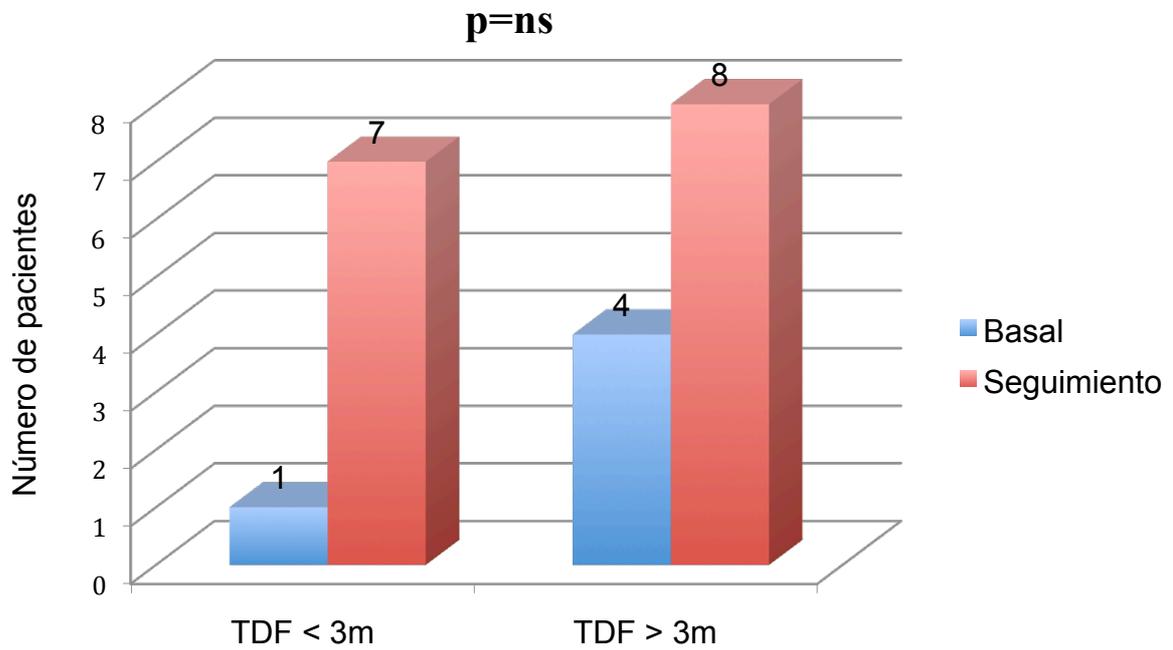
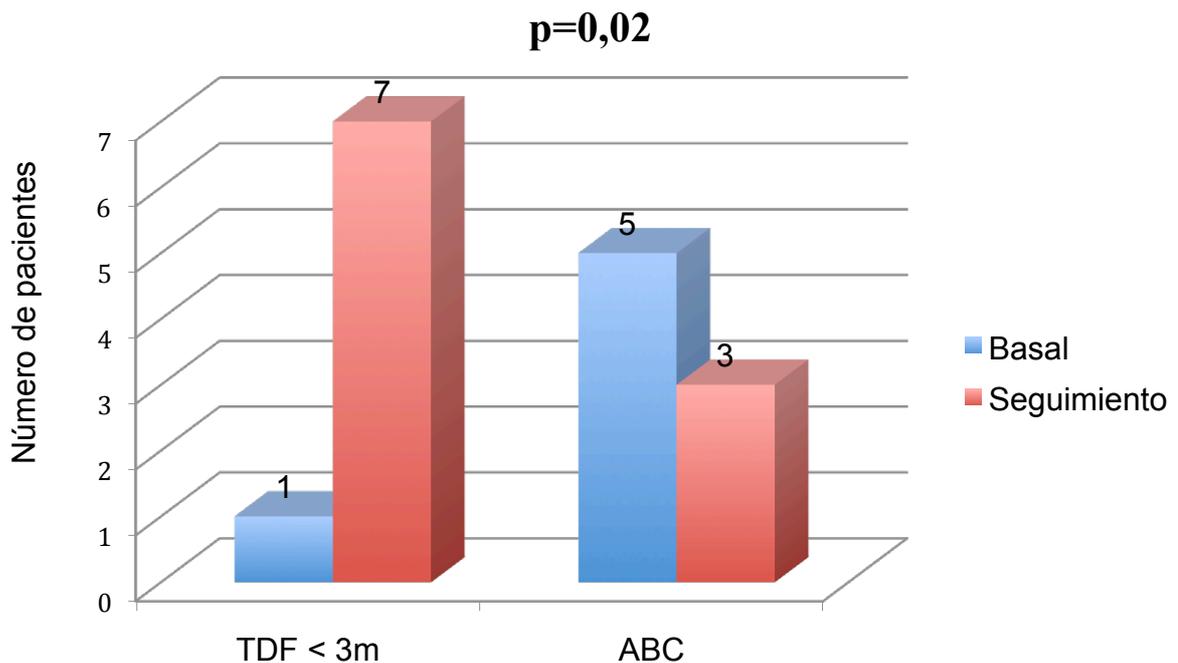


Figura 4.3.5.2. Evolución de la prevalencia de daño tubular en los pacientes en tratamiento con TDF menos de 3 meses y ABC.



4.4. Regresión logística.

4.4.1. Factores predictores del daño renal.

Tras analizar la relación entre los pacientes en tratamiento con TDF y aquellos en tratamiento con ABC e identificar la existencia de un daño renal tubular y glomerular, nos propusimos identificar aquel o aquellos parámetros que se asociasen de manera significativa con el deterioro renal. Para ello se realizó una regresión logística en la que se incluyeron todos los factores que potencialmente pudiesen influenciar la evolución de la función renal.

El análisis de estos factores se detalla en las tablas 4.4.1.1 y 4.4.1.2, en las que se aprecia que el único factor que se asoció de manera independiente con el deterioro de la función glomerular y de la función tubular fue el empleo de TDF en el esquema de TARV del paciente. Se definió daño glomerular y daño tubular como la alteración de al menos uno de los marcadores empleados.

Tabla 4.3.1.1 Regresión logística de los factores asociados con el empeoramiento de la función glomerular

Variable	Análisis Univariado		Análisis multivariado	
	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Sexo	0,9 (0,3-1,4)	0,493		
Edad	0,6 (0,2-1,3)	0,093	0,89 (0,76-1,6)	0,675
Uso de TDF	1,8 (1,2-10,3)	0,045	3,4 (2,1-12,3)	0,03
SIDA	1,1 (0,9-1,3)	0,609		
Nadir CD4	1 (0,9-1,4)	0,388		
Tiempo VIH	1,3 (0,5-1,9)	0,504		
Tabaco	1 (0,8-1,2)	1		

Tabla 4.3.1.1 Regresión logística de los factores asociados con el empeoramiento de la función glomerular

Variable	Análisis Univariado		Análisis multivariado	
	OR (IC95%)	P	OR (IC95%)	P
Sexo	1 (0,9-1,1)	0,803		
Edad	0,7 (0,5-1,5)	0,113	0,86 (0,5-2,6)	0,545
Uso de TDF	10,8 (3,4-56,3)	0,001	18,2 (4,6-80,2)	0,002
SIDA	1,6 (0,9-2,8)	0,078	1,8 (0,7-2,5)	0,365
Nadir CD4	1,1 (0,8-1,3)	1		
Tiempo VIH	1,9 (0,7-4,8)	0,084	1,5 (0,8-2,8)	0,256
Tabaco	1,1 (0,5-1,6)	0,238		

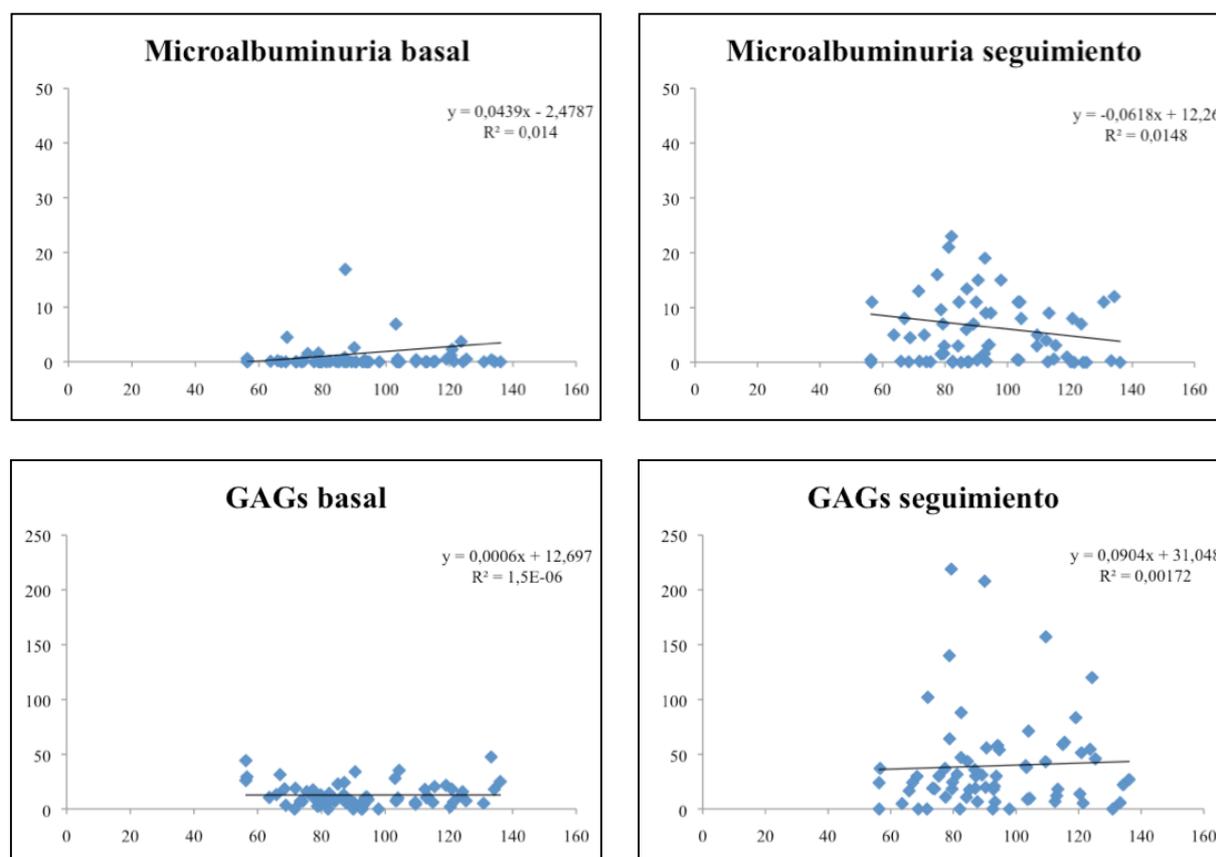
4.4.2. Relación entre el aclaramiento de creatinina y el daño renal.

Finalmente, intentamos valorar la capacidad de detección del daño glomerular y tubular de los pacientes en tratamiento con TDF mediante el empleo ordinario del filtrado glomerular mediante la estimación con las fórmulas habituales (Cocktoft-gault y MDRD). Para ello realizamos una regresión lineal entre el filtrado glomerular y los diferentes marcadores de daño glomerular y renal empleados en el estudio.

La representación de los datos se muestra en las figuras 4.4.2.1 (regresión lineal entre el filtrado glomerular estimado y los marcadores de daño glomerular) y 4.4.2.2 (regresión lineal entre el filtrado glomerular estimado y los marcadores de daño tubular).

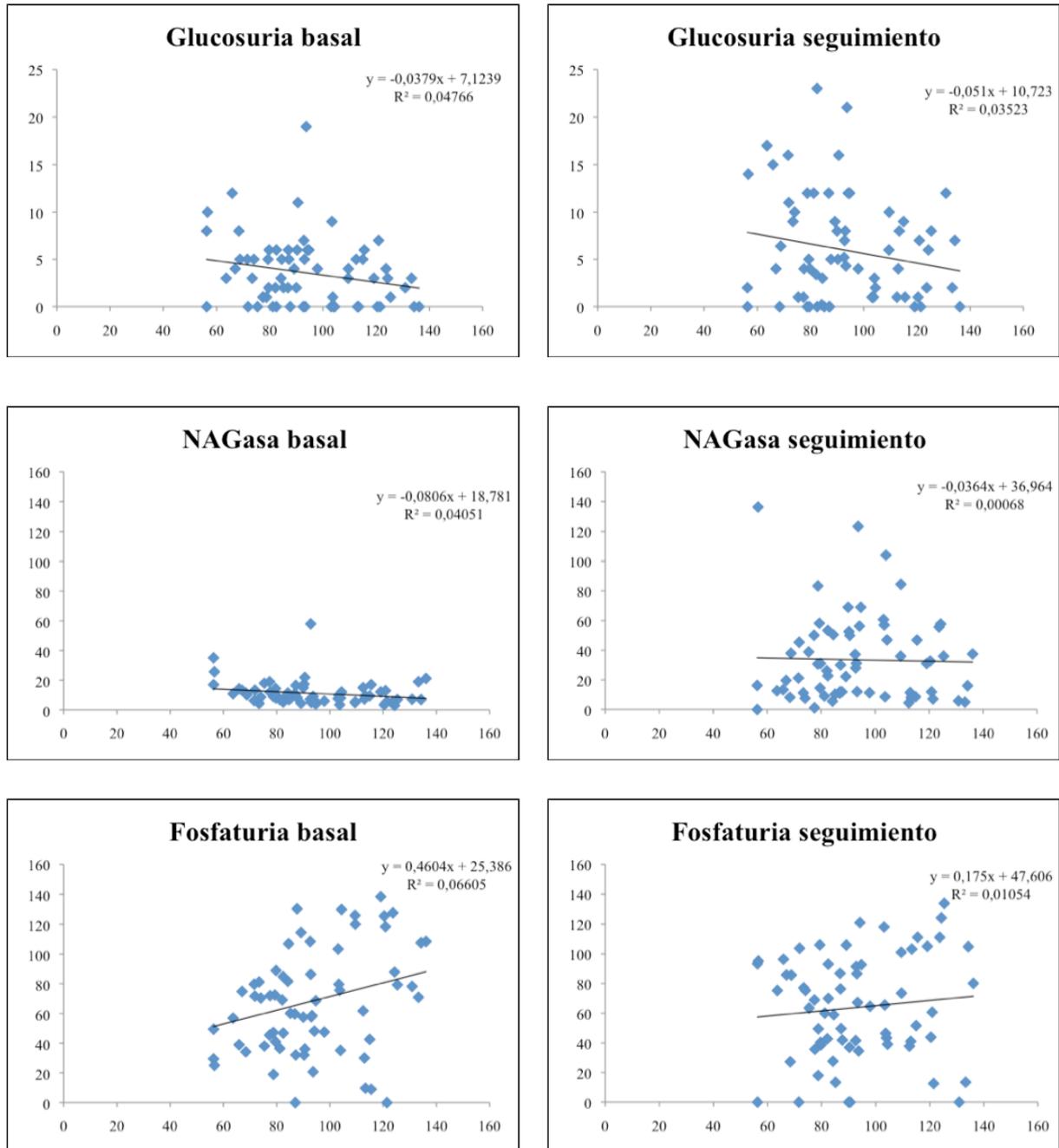
Los datos muestran un empeoramiento de los marcadores de daño glomerular y tubular con el seguimiento, determinado por un aumento de la dispersión y del valor de los datos, y una mala correlación entre el filtrado glomerular y los diferentes marcadores de daño glomerular y tubular, tanto en al inicio del seguimiento como a la finalización, indicado esta característica por la existencia de una línea de tendencia planas y con una R^2 muy alejadas del valor 1. Es decir, no existe una capacidad de predicción del grado de afectación glomerular o tubular mediante la determinación del filtrado glomerular estimado, única herramienta de uso habitual en la práctica clínica diaria.

Figura 4.4.2.1. Regresión lineal entre el eCrCl mediante Cockcroft Gault y los marcadores de daño glomerular.



eCrCl representado en eje de abscisas. Microalbuminuria y GAGs representados en el eje de ordenadas

Figura 4.4.2.2. Regresión lineal entre el eCrCl mediante Cockroft Gault y los marcadores de daño tubular.



eCrCl representado en eje de abscisas. Glucosuria, NAGasa y fosfaturia representados en el eje de ordenadas

5. DISCUSIÓN

5.1 Efecto del TDF sobre el filtrado glomerular.

A pesar de los datos de eficacia y seguridad del TDF comunicados en varios ensayos de registro (Gallant, Staszewski et al. 2004; Gallant, DeJesus et al. 2006), poco tiempo después de su comercialización comenzaron a comunicarse casos y series de casos acerca de afectación renal en el contexto del tratamiento con TDF, lo que motivó que se empezase a cuestionar la seguridad renal del tratamiento prolongado con TDF.

Debido al creciente número de casos publicados, algunos autores se plantearon la necesidad de revisar nuevamente los datos de seguridad del TDF. Así, Cooper et al publicaron recientemente un metanálisis acerca de la seguridad renal del TDF (Cooper, Wiebe et al. 2010). Los autores revisaron más de 1200 artículos de los que finalmente cumplieron los requisitos de selección 17 estudios. La conclusión global de los autores es que existió una reducción significativa del filtrado glomerular en los sujetos que recibían TDF con respecto a los que recibieron otra medicación antirretroviral, si bien de una escasa entidad, y con poca o ninguna relevancia clínica. Sin embargo, esto contrasta con el aumento progresivo de los casos de toxicidad renal grave que han ido comunicándose desde la comercialización del fármaco (Creput, Gonzalez-Canali et al. 2003; Karras, Lafaurie et al. 2003; Breton, Alexandre et al. 2004; Peyriere, Reynes et al. 2004; Lochet, Peyriere et al. 2005; Irizarry-Alvarado, Dwyer et al. 2009; Wood, Shah et al. 2009). Una posible explicación es que la mayoría de los estudios incluidos en el metanálisis eran estudios experimentales en los que los criterios de inclusión los convierten en malos representantes de los pacientes que se atienden en la vida real. Por lo general, en esos estudios se excluyen pacientes con algún grado de daño renal previo, o enfermedad por VIH avanzada. Del mismo modo muchos de los casos de pacientes con afectación renal por TDF

han sucedido en sujetos de edad superior a los que habitualmente se incluyen en los ensayos clínicos.

Por otro lado, en los casos clínicos comunicados en los que ha habido toxicidad renal asociada al TDF, muchos de los pacientes se encontraban en tratamiento concomitante con ddi o con IPs, pudiendo ser estos fármacos corresponsables del daño renal asociado al TDF. Por el contrario, en los estudios analizados por Cooper et al (Cooper, Wiebe et al. 2010) la mayoría de los sujetos estaban en tratamiento con ITINAN y, en la mayoría de ellos, el empleo de ddi estaba prohibido.

En nuestro estudio, 30 (38%) pacientes se encontraban en tratamiento con ATRIPLA®, mientras que los 49 restantes (62%) se encontraban recibiendo TARGA con otro ITINAN (4 pacientes) o con IPs (45 pacientes). Entre los IPs utilizados dentro del esquema TARGA, el más frecuentemente empleado fue el LPVr (30 pacientes) seguido de ATVr (8 pacientes) SQVr (5 pacientes) y FPVr (2 pacientes). Ninguno de los pacientes se encontraba recibiendo tratamiento con ddi.

Además, la proporción de pacientes en tratamiento con ATRIPLA® fue superior entre los pacientes con menor tiempo de exposición previa a TDF, lo que limita considerablemente la posibilidad de realizar comparaciones que permitan establecer diferencias en la incidencia de toxicidad tubular renal asociada al empleo de algún esquema TARGA.

Retomando el análisis del estudio comentado con anterioridad (Cooper, Wiebe et al. 2010), para valorar si podían existir algunos factores de confusión Cooper et al realizaron un estudio post Hoc utilizando técnicas de metaregresión. Los datos fueron muy ilustrativos. En primer lugar los autores encontraron que la

disminución del filtrado glomerular era significativamente mayor en los estudios observacionales que en los estudios experimentales, lo que confirmaría la hipótesis establecida inicialmente acerca de un sesgo de selección de los pacientes. Además, y más importante, la afectación del filtrado glomerular fue significativamente mayor en los estudios que no estuvieron sufragados por el laboratorio que comercializa el TDF.

Coincidentes con estos datos se encuentran los comunicados por la cohorte suiza sobre la existencia de deterioro del filtrado glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF (Fux, Simcock et al. 2007). En este estudio prospectivo se comparó el tiempo hasta el deterioro de la función renal, definida como un descenso en el filtrado glomerular estimado mediante la ecuación de Cockcroft-Gault superior a 10 ml/min. Los autores siguieron a pacientes naïve o que retomaban TARGA tras una interrupción > 12 meses y que iniciaron un esquema de TARGA que incluyese TDF (n=363) o que incluyese otros fármacos (n=715). Tras dos años de seguimiento, la probabilidad de encontrarse libre de deterioro de la función renal fue del 65% (IC95% 58-72) para los pacientes en tratamiento con TDF, y del 80% (IC95% 76-83) para los pacientes sin TDF. En el análisis multivariado, el empleo de TDF se asoció con deterioro de la función renal con un riesgo relativo de 1,84 (IC95% 1,35-2,51), sólo superado por la existencia de diabetes mellitus (RR 2,34; IC95% 1,24-4,42).

Sin embargo, otros autores no han encontrado alteraciones significativas en el filtrado glomerular de los pacientes en tratamiento con TDF. Así, investigadores de la Universidad Johns Hopkins, realizaron una evaluación de la función renal mediante la medición del filtrado glomerular mediante la ecuación de Cockcroft-Gault a una cohorte de más de 1000 pacientes VIH (Gallant, Winston et al. 2008). Los autores evaluaron el filtrado glomerular de los pacientes incluidos en dos ensayos de registro del TDF, el estudio 903, que comparó TDF y d4T

(Gallant, Staszewski et al. 2004) y el estudio 934, que comparó la combinación TDF-FTC con AZT-3TC (Gallant, DeJesus et al. 2006). El seguimiento de los pacientes en ambos estudios fue de 144 semanas (3 años) y se incluyeron entre ambos estudios 556 pacientes en tratamiento con TDF y 555 pacientes que recibieron fármacos comparadores. Al finalizar el seguimiento, se encontraron mínimas diferencias en el filtrado glomerular de los pacientes de los dos grupos (disminución de 2 ml/min en el grupo de TDF y aumento de 3 ml/min en el grupo comparador), si bien estas diferencias no tuvieron ningún significado clínico, concluyendo los autores que el daño renal no era una eventualidad relevante en los pacientes en tratamiento con TDF.

No obstante, en la mayoría de los estudios, tanto los que han demostrado una afectación renal, como en los que no la han encontrado, la valoración de la existencia de afectación renal se realizó mediante la determinación del filtrado glomerular, mientras que muchos de los casos comunicados de daño renal asociado a TDF se basan en alteraciones tubulares, por lo que la determinación de marcadores de daño tubular podría resultar en un incremento en la detección del daño renal asociado a TDF.

Los datos de nuestro estudio avalan la propuesta de Cooper et al (Cooper, Wiebe et al. 2010). Si bien el deterioro del filtrado glomerular fue mínimo, si existió un deterioro de la función tubular como demuestra el aumento de la eliminación de la NAGasa y el aumento de glucosuria. Este daño apareció precozmente, y fue aumentando conforme aumentaba el tiempo de exposición al TDF, como demostró el hecho de que la eliminación de NAGasa y de glucosuria fue superior en los pacientes con exposición a TDF mayor de tres meses al compararlos con aquellos con exposición inferior a tres meses. Sin embargo, al analizar el aumento de la eliminación durante el periodo de seguimiento pudimos observar que este aumento fue similar en los dos grupos, sugiriendo

que las diferencias encontradas entre los dos grupos son fruto del mayor tiempo de exposición previa al TDF.

Durante el seguimiento de los pacientes se realizaron mediciones de filtrado glomerular mediante la estimación del aclaramiento de creatinina . Si bien se considera el aclaramiento de creatinina en orina de 24 horas la manera más exacta para determinar el filtrado glomerular, y el patrón oro sobre la que se comparan las demás técnicas (Hallan, Asberg et al. 2004) la necesidad de recoger la orina durante 24 horas, acudiendo posteriormente para entregar la muestra y realizar la extracción de sangre hace poco viable su utilización en la práctica clínica. Por ello, decidimos realizar el seguimiento utilizando las fórmulas de Cockcroft et Gault y MDRD4 abreviada para el seguimiento de los pacientes.

No obstante, hemos de señalar que la estimación del filtrado glomerular por cualquiera de las dos técnicas podría ser inadecuada para detectar pequeñas variaciones del filtrado glomerular. Al analizar detalladamente la evolución del filtrado glomerular durante el seguimiento apreciamos variaciones del orden de 10 mL/min entre las mediciones realizadas mediante el aclaramiento en orina de 24 horas y las estimaciones mediante las fórmulas MDRD y CG que podrían llegar a tener relevancia clínica. Como se ha señalado con anterioridad, el aclaramiento en orina de 24 horas tiene sus limitaciones y, aunque es posible que hayan existido anormalidades en la recolección de la orina, lo que limita la exactitud de los datos, a todos los pacientes se les adiestró acerca de la técnica para la recolección y conservación de la orina, y los valores de diuresis, en todos los pacientes por encima de 1,2 litros/día hacen que estas limitaciones sean poco probables. Por ello creemos que, si bien para la monitorización ordinaria de los pacientes podría ser suficiente la realización de estimaciones del aclaramiento de

creatinina, antes de tomar decisiones terapéuticas, es muy recomendable la realización de un aclaramiento en orina de 24 horas.

De las opciones para la estimación del aclaramiento de creatinina, en nuestro estudio utilizamos las dos fórmulas, y dado que los valores se ajustaban más con la ecuación de Cockcroft y Gault, decidimos, finalmente, que la más adecuada en nuestra población sería la estimación del aclaramiento de creatinina mediante la ecuación de Cockcroft-Gault.

El estudio MDRD fue realizado en población norteamericana con unas características antropométricas diferentes a las españolas. El peso medio de la población MDRD era de $79,6 \pm 16,8$ kg y la superficie corporal de $1,91 \pm 0,23$ m² (Levey, Bosch et al. 1999), sin embargo, nuestra población tenía un peso medio de $71,8 \pm 11,7$ kg y una superficie corporal de $1,77 \pm 0,17$ m². La comparación de estos resultados mostró una diferencia estadísticamente significativa con los de la población MDRD ($p < 0,001$ para ambos). La fórmula MDRD no contiene ningún parámetro antropométrico y por tanto no es extraño que su grado de precisión sea diferente en una población de características antropométricas distintas. La mayoría de los estudios en los que la ecuación MDRD no ha mostrado ventajas sobre la ecuación CG, fueron realizados en población diferente a la norteamericana (Vervoort, Willems et al. 2002; Cirillo, Anastasio et al. 2005). Especialmente significativo es el trabajo de Teruel et al (Teruel, Sabater et al. 2007), en el que en una población similar a la nuestra, la ecuación de CG se mostró más exacta que la ecuación MDRD.

5.2 Efecto del TDF sobre la función glomerular renal.

Los GAGs se encuentran formando parte del glicocalix de las células glomerulares endoteliales junto a proteoglicanos y sialoproteínas (Parthasarathy

and Spiro 1981), y es conocido desde hace años la influencia de la diabetes mellitus sobre la excreción de GAGs (Perez-Blanco, Munoz-Casaubon et al. 2000). Recientemente se ha caracterizado el mecanismo por el cual se produce este efecto (Singh, Friden et al. 2011). Investigadores de la universidad de Bristol demostraron que el aumento de la concentración de glucosa en el glomérulo produce alteraciones en el glicocálix de las células glomerulares endoteliales que produce alteraciones enzimáticas que conllevan la destrucción del glicocálix y por tanto la eliminación en orina de los componentes de este glicocalix.

Del mismo modo es conocida la relación entre la hipertensión arterial y la eliminación urinaria de GAGs. En la HTA se produce un aumento de la presión intraglomerular, debido a un fallo secundario en el mecanismo de regulación vascular, lo que ocasiona una alteración en la barrera de filtración en la membrana basal glomerular, favoreciéndose el paso de macromoléculas al mesangio, activándose así la síntesis de matriz mesangial y favoreciendo la nefroesclerosis. Esto a su vez, produce una pérdida de la cantidad de GAGs de la membrana basal glomerular, aumentando su eliminación en la orina, produciendo una alteración en la selectividad favoreciéndose la filtración de albúmina sérica. Esta eliminación se produce de manera precoz, antecediendo a la aparición de microalbuminuria, por lo que se considera un marcador de daño glomerular precoz (Perez-Blanco, Morales-Camacho et al. 1999; Yavuz, Toprak et al. 2000).

Sin embargo no existen datos acerca de la eliminación de GAGs en el contexto del tratamiento con TDF. Una búsqueda en PubMed con las palabras clave “glycosaminoglycans” y “Tenofovir” no localiza ningún resultado.

La evolución de la infección por el VIH condiciona una afectación renal conocida como nefropatía VIH o HIVAN (del inglés HIV-associated nephropathy), cuyos mecanismos no están completamente dilucidados en la actualidad (Kaufman, Collins et al. 2010). Independientemente de una serie de condicionantes genéticos (la presencia de nefropatía VIH es más frecuente en pacientes de raza negra) existen una serie de condicionantes como la interacción VIH y las células epiteliales renales (Mikulak and Singhal 2010). El daño glomerular asociado a la propia infección VIH condiciona el aumento de la eliminación de GAGs que se observa de manera basal en los pacientes VIH de nuestro estudio. Si comparamos los valores obtenidos en nuestro estudio con los valores basales considerados como normales en la población no VIH sin patologías previas (Nikkila 1989), se observa un aumento en los pacientes VIH, 28,6 mg/g de creatinina vs. 23,8 mg/g de Cr, respectivamente, diferencias que no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo con el seguimiento si observamos un aumento a expensas del grupo de pacientes en tratamiento con TDF.

Los datos de toxicidad del TDF que se han comunicado hasta ahora hacían referencia a un aumento de la toxicidad tubular renal y de un cierto grado de disminución del filtrado glomerular, sin embargo los datos de nuestro estudio muestran que, además del daño tubular renal existe un deterioro de la función glomerular. El aumento de la eliminación de GAGs y de la microalbuminuria son marcadores del daño glomerular, no del daño tubular. No existe hasta el momento una explicación científica para el daño glomerular asociado a este fármaco y no disponemos de una hipótesis adecuada que permita explicar este daño no descrito previamente.

Existen algunos fármacos que se han asociado con una variación en la eliminación de GAGs, así algunos AINEs como la indometacina provocan una

disminución de la eliminación de GAGs (Yue, McLennan et al. 1985) mientras que los esteroides y la Ciclosporina A se relacionan con un aumento en la eliminación de GAGs (Birmele, De Agostini et al. 2001; Priftis, Loukopoulou et al. 2006). Del mismo modo se ha comunicado recientemente la posible asociación de EFV con daño glomerular (Barbour, Furlong et al. 2007). En el año 2007, nefrólogos del hospital Saint Vincent, de Sidney comunicaron la aparición de proteinuria de rango nefrótico en un paciente VIH en tratamiento con TDF, 3TC, EFV y ATV. La biopsia renal demostró marcadas alteraciones en los podocitos, con preservación de los túbulos y de los glomérulos. Tras la suspensión del tratamiento con EFV, que se realizó por efectos secundarios en la esfera neuro-cognitiva, la proteinuria fue remitiendo hasta la normalización, por lo que los autores concluyeron que debía estar causada por el EFV.

Es posible que el tratamiento con TDF, por un mecanismo similar, provoque una alteración glomerular que se traduzca en una alteración de la capacidad de filtrado selectivo y, de una manera similar a lo descrito en la patogénesis del daño inducido por la hipertensión arterial (Yavuz, Toprak et al. 2000), se produzca microalbuminuria, lo que explicaría el aumento de la microalbuminuria observado en nuestro estudio entre los pacientes en tratamiento con TDF respecto a los pacientes en tratamiento con ABC. Este aumento de la proteinuria asociada al daño glomerular podría provocar secundariamente una nefroangioesclerosis que favoreciese la alteración de la membrana basal glomerular y secundariamente a este daño, un aumento de la eliminación de GAGs, como observamos en los pacientes de nuestro estudio.

La otra posibilidad es que el TDF provocase un daño directo por mecanismos no conocidos en la membrana basal y en el glycocalix de las células epiteliales glomerulares, produciéndose una alteración inicial en los GAGs y

secundariamente la pérdida del filtrado selectivo y aparición de microalbuminuria y de nefroangioesclerosis.

Independientemente del mecanismo que, requerirá de un mayor tamaño muestral y, probablemente, de la realización de biopsias renales, los resultados de nuestro estudio indican la existencia de un daño glomerular en los pacientes en tratamiento con TDF basado en la existencia de un aumento en la excreción de GAGs urinarios y de microalbuminuria.

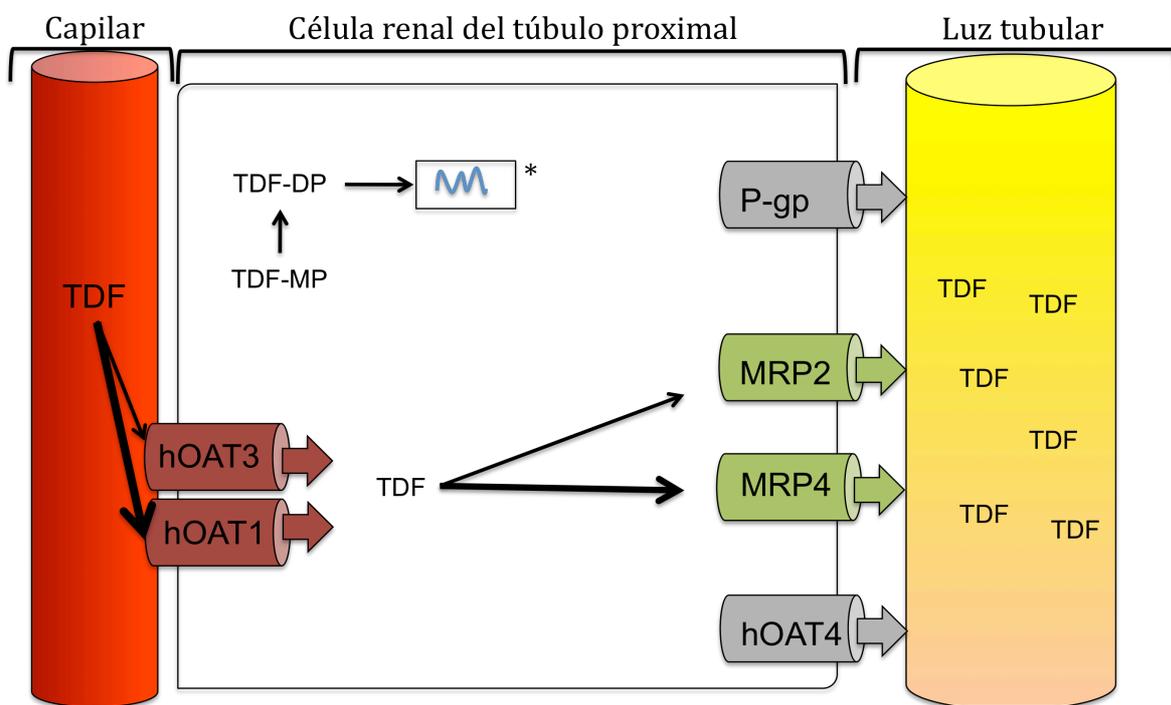
5.3 Efecto del TDF sobre la función tubular renal.

Los estudios de farmacocinética revelan que el TDF es un fármaco que se elimina por filtración glomerular, con un aclaramiento renal que excede el aclaramiento de creatinina, indicando secreción tubular activa del mismo (Barditch-Crovo, Deeks et al. 2001). El TDF es captado activamente desde la sangre por el transportador de aniones orgánicos 1 (hOAT1, del inglés human organic transporter 1) presente en la membrana de la cara basolateral de las células tubulares proximales renales (Ho, Lin et al. 2000; Ray, Cihlar et al. 2006), introducido dentro de las células y, posteriormente, secretado a la luz tubular por otros transportadores, el MRP2 (del inglés multidrug resistance protein) y el MRP4, localizados en la cara apical de las células del túbulo proximal (Cihlar, Ho et al. 2001; Miller 2001; Mallants, Van Oosterwyck et al. 2005; Imaoka, Kusuhara et al. 2007; Rodriguez-Novoa, Labarga et al. 2009). En la figura 5.3.1 se muestra un esquema de la captación y expulsión del TDF en el túbulo proximal renal.

Este mecanismo de eliminación del TDF no es único para este fármaco, si no que se ha implicado en el metabolismo de otros nucleótidos como el cidofovir o el adefovir, de los que se ha comunicado una clara toxicidad renal concentración

dependiente por saturación de los transportadores MRP y acúmulo intracelular (Izzedine, Launay-Vacher et al. 2005). Dada la similitud del TDF con estos otros análogos de nucleótidos es coherente pensar que la toxicidad tubular renal debe estar mediada por alteraciones similares.

Figura 5.3.1. Transportadores involucrados en la eliminación del TDF en el túbulo renal proximal.



TDF: Tenofovir. hOAT1: human organic anion transporter 1; hOAT3: human organic anion transporter 3; hOAT4: human organic anion transporter 4. P-gp: P-glycoprotein; MRP2: multidrug-resistance protein 2; MRP4: multidrug-resistance protein 4. TDF-MP: TDF monofosfato; TDF-DP: TDF difosfato.

*: Uno de los posibles mecanismos implicados en la toxicidad renal del TDF ha sido la inhibición mitocondrial (Saumoy, Vidal et al. 2004).

Modificado de (Rodríguez-Novoa, Labarga et al. 2009).

Hoy en día se conocen los genes que codifican estas MRP, son el ABCC2 (ATP binding cassette C 2) y el ABCC4. Mutaciones en estos genes conllevan alteraciones en la toxicidad de fármacos que comparten esta vía de eliminación activa. Se ha descrito que la mutación en el gen ABCC2 en humanos se asocia con un aumento de la toxicidad a metotrexato (Hulot, Villard et al. 2005), otro sustrato de la MRP2, por lo que es posible que mutaciones en alguno de estos genes se asocie con una variación en la toxicidad tubular renal del TDF.

Es conocida la cada vez mayor importancia de la farmacogenómica. Así, hoy en día no se concibe la prescripción de ABC a un paciente que presente el HLAB57, dado que su presencia se asocia con la aparición de una reacción de hipersensibilidad al fármaco (Saag, Balu et al. 2008). Del mismo modo se han intentado encontrar marcadores genéticos que permitan predecir la aparición de daño tubular renal asociado al empleo de TDF.

Con estos datos el grupo francés liderado por el nefrólogo Hassane Izzedine se propuso demostrar una asociación entre el daño tubular renal inducido por TDF y la existencia de alguna mutación en los genes ABCC2 y/o ABCC4. Para ello diseñaron un estudio en el que incluyeron a 30 pacientes VIH en tratamiento con TDF siguiéndolos durante 24 meses (Izzedine, Hulot et al. 2006). Durante el seguimiento, 13 pacientes (43%) desarrollaron toxicidad tubular renal, apareciendo en todos los casos durante el primer mes de tratamiento con TDF. Al analizar los predictores de toxicidad renal tubular asociada al TDF los autores encontraron que algunos haplotipos del gen ABCC2 se asociaron de manera significativa con el aumento de la toxicidad tubular renal inducida por TDF. En este estudio, los polimorfismos en el gen ABCC4 no se asociaron con toxicidad tubular renal inducida por TDF.

Sin embargo otros autores no sólo no han encontrado esta asociación entre las mutaciones en el gen ABCC2, si no que ponen en duda la implicación de la MRP2 en el transporte del TDF (Ray and Cihlar 2007), sugiriendo por tanto que los polimorfismos descritos para el gen ABCC2 (Izzedine, Hulot et al. 2006) no condicionarían una modificación de la secreción tubular activa de TDF o en la aparición de daño renal tubular. Los mismos autores señalan que sería la MRP4, el producto del gen ABCC4, la implicada en la secreción tubular activa del TDF.

Con posterioridad a estos datos se han publicado los datos del grupo español liderado por el Dr. Soriano. Su grupo diseñó un estudio farmacogenético que buscaba predictores de daño renal asociado a TDF (Rodríguez-Novoa, Labarga et al. 2009). Los autores realizaron un estudio transversal que incluyó todos los pacientes que, recibiendo tratamiento con TDF, presentasen algún marcador de daño renal tubular. Durante los tres meses del estudio se evaluaron 115 pacientes en tratamiento con TDF, de los cuales 19 (16,5%) presentaron daño tubular renal definido como la existencia de alteraciones en, al menos, dos de los marcadores de daño renal utilizados (glucosuria, hiperfosfaturia, hiperaminoaciduria, beta-2-microglobulinuria y aumento de la excreción fraccional de ácido úrico). Los autores evaluaron 12 polimorfismos en los genes ABCC2, ABCC4 y ABCB1, encargados de codificar las proteínas transportadoras MRP2, MRP4 y los genes SCL22A6 y SLC22A11, encargados de codificar las proteínas transportadoras hOAT1 y hOAT4, encontrando que aquellos pacientes homocigotos para el alelo C en posición 24 del gen ABCC2 tuvieron un aumento del riesgo para desarrollar daño tubular renal. El riesgo relativo para desarrollar daño renal en los pacientes homocigotos fue de 5 (RR, 5; IC95% 1,2-21; p=0,027), significando un riesgo relativo muy superior a la edad avanzada (RR 1,1, IC95% 1,0-1,2; p=0,024) o a un bajo peso corporal (RR 0,9, IC95% 0,8-0,9; p=0,048), los otros dos factores que se identificaron como predictores de daño renal en el análisis multivariado.

De acuerdo con estos datos, la existencia de variaciones en la toxicidad tubular al TDF entre los pacientes incluidos en nuestro estudio hace plausible la existencia de estos aspectos farmacogenéticos, cuya utilidad clínica se encuentra hoy en día en serias dudas.

En nuestro estudio destaca el aumento de la eliminación de la NAGasa en los pacientes en tratamiento con TDF en comparación con los pacientes en tratamiento con ABC. Como se ha descrito con anterioridad la NAGasa es un marcador precoz de daño tubular que se ha demostrado sensible y específico en otras patologías como la DM (Perez-Blanco, Garbin-Fuentes et al. 1997; Perez-Blanco, Sabatel-Hernandez et al. 1998; Kern, Erhard et al. 2010), HTA (Perez-Blanco, Ruiz-Martin et al. 1996; Harmankaya, Ozturk et al. 2001; Tylicki, Manitius et al. 2003), infección del tracto urinario (Rodriguez-Cuartero, Lopez-Fernandez et al. 1998), preclampsia (Perez-Blanco, Sanabria et al. 1998) o la nefrolitiasis (Perez-Blanco, Arrabal-Martin et al. 2000), entre otras patologías.

Debido al daño en la célula tubular renal provocado por el TDF era esperable que encontrásemos marcadores de este daño en la orina. Así, la eliminación de NAGasa a lo largo del seguimiento en los pacientes en tratamiento con TDF fue significativamente superior que la que presentaron los pacientes en tratamiento con ABC. Sin embargo no existen datos en la literatura acerca de la eliminación de NAGasa en pacientes en tratamiento con TDF. El único artículo publicado en el que se compara los marcadores de daño tubular de un grupo de pacientes en tratamiento con TDF con otro grupo de pacientes sin TDF no encontró diferencias significativas en la eliminación de NAGasa entre los dos grupos (Hall, Edwards et al. 2009), aunque si en otros marcadores de daño tubular renal, siendo más frecuente la existencia de daño tubular renal en los paciente en

tratamiento con TDF. Sin embargo existen algunas diferencias con nuestro trabajo que permiten explicar la discordancia de los hallazgos.

En primer lugar, a diferencia de nuestro trabajo que presenta un diseño prospectivo, con un periodo de seguimiento medio de 14 ± 2 meses, el artículo de Hall et al utilizó una metodología transversal, obteniendo una única muestra de orina en la que se realizaron las determinaciones. Si hubiéramos realizado el mismo diseño que Hall et al habríamos encontrado resultados similares, ya que los pacientes en tratamiento con ABC presentaron valores aumentados al inicio del seguimiento, resultados similares a los de Hall et al. Por el contrario, al realizar las determinaciones posteriores durante el seguimiento aparecieron las diferencias entre los dos grupos.

En segundo lugar, los dos grupos de pacientes, aquellos con exposición a TDF y sin exposición a TDF no se encontraban completamente ajustados. De hecho, en el estudio de Hall, los pacientes en tratamiento sin TDF presentaron un tiempo de exposición a los fármacos antirretrovirales muy superior al que presentaron los pacientes en tratamiento con TDF (86 meses vs. 44 meses, respectivamente para pacientes en tratamiento con TDF y sin TDF; $p=0,04$). En nuestro estudio no existieron diferencias en cuanto al tiempo de evolución de la infección VIH, que si bien no son medidas similares (tiempo en tratamiento y tiempo de evolución) si son comparables. Esta diferencia en el tiempo de exposición a fármacos podría explicar la ausencia de diferencias en los valores de eliminación de NAGasa.

Finalmente, Hall et al no realizaron una estratificación de los resultados en función del tiempo de exposición a TDF, lo que de acuerdo a los datos de nuestro estudio tiene claras implicaciones, ya que los valores basales de NAGasa

en los pacientes con tiempo de exposición previa a TDF mayor y menor a 3 meses fueron diferentes.

No obstante, esa diferencia en cuanto a la NAGasa no contradice nuestros resultados, ya que si existieron alteraciones en otros marcadores de daño tubular renal como es la eliminación de RBP (del inglés retinol binding protein) que se encontró significativamente elevada en el grupo de pacientes en tratamiento con TDF demostrando, al igual que en nuestro trabajo, la existencia de daño tubular renal asociado al empleo de TDF (Hall, Edwards et al. 2009).

Aproximadamente, la cantidad de glucosa filtrada diariamente en una persona no diabética se cifra en unos 180 g, de la que más de un 99% es reabsorbida contra gradiente en el túbulo proximal mediante un intercambiador Na-glucosa (Wright 2001), por lo que en ausencia de diabetes, o alteraciones genéticas de ausencia de los transportadores Na-glucosa, la única causa que explicaría la existencia de glucosuria sería el daño tubular proximal renal. En nuestro estudio, los pacientes en tratamiento con TDF mostraron un aumento de la eliminación urinaria de glucosa durante el seguimiento, lo que se explica por un aumento del daño tubular renal, dado que no existieron alteraciones en los valores de glucemia. Los datos de nuestro estudio son avalados por los comunicados en otros trabajos en los que se ha demostrado la existencia de una elevación de la glucosuria en pacientes no diabéticos en tratamiento con TDF (Breton, Alexandre et al. 2004; Peyriere, Reynes et al. 2004; Lochet, Peyriere et al. 2005; de la Prada, Prados et al. 2006; Labarga, Barreiro et al. 2009) sugiriendo la existencia de un daño renal tubular asociado al tratamiento con TDF.

Además de las alteraciones descritas en nuestro trabajo referentes al aumento de la glucosuria y del aumento de la eliminación de NAGasa, es llamativo el aumento de la excreción de fósforo en la orina en los pacientes en tratamiento

con TDF. Otros muchos autores han comunicado datos de hipofosfatemia durante el tratamiento con TDF, en la mayoría de las ocasiones asociada a la existencia de alteración renal (Parsonage, Wilkins et al. 2005; Perrot, Aslangul et al. 2009; Wanner, Tyndall et al. 2009), sin embargo no existen ensayos aleatorizados que hayan evaluado esta situación. En el año 2006 se evaluó la existencia de hipofosfatemia en el contexto del estudio HOPS (HIV Outpatient Study) (Buchacz, Brooks et al. 2006). En dicho estudio los autores compararon una cohorte de pacientes en tratamiento con TDF (n=165) con una cohorte de pacientes sin exposición a TDF (n=90) durante una mediana de tiempo de 11 meses. Los autores comunicaron la existencia, en el grupo de pacientes expuestos a TDF de un aumento de la hipofosfatemia leve (12,7% vs. 6,7% para pacientes expuestos y no expuestos a TDF) y moderada (2,4% vs. 0% para pacientes expuestos y no expuestos a TDF), sin que ningún paciente en ninguno de los dos grupos desarrollase hipofosfatemia grave. Sin embargo al analizar la incidencia de hipofosfatemia en función del tiempo de seguimiento, y expresar esta incidencia en pacientes/año, aunque hubo una mayor incidencia en los pacientes en tratamiento con TDF, ésta no fue estadísticamente significativa (16,7 vs. 8,0 por 100 personas/año; p=0,11). La conclusión de los autores, a diferencia de lo esperado por los casos y series de casos comunicados, fue que no existió una asociación entre el empleo de TDF y la hipofosfatemia, si bien por el escaso tiempo de seguimiento, y la tendencia a una mayor hipofosfatemia, no se podía descartar que periodos de tiempo de seguimiento superiores encontrasen esta asociación.

Del mismo modo otros autores han encontrado resultados similares. En un estudio prospectivo observacional (Day, Leake Date et al. 2005) publicado en el año 2005, los autores realizaron un seguimiento a 252 pacientes divididos en cuatro grupos, pacientes en TARGA con TDF (A), pacientes en TARGA sin TDF (B), pacientes VIH naïve (C) y pacientes sin TARGA pero que lo habían

recibido previamente (D). Los resultados indicaron un aumento de la incidencia de hipofosfatemia en los pacientes de los grupos A y B, (31%, 22%, 10% y 14%, respectivamente para los grupos A, B, C y D), aunque la realización del estudio multivariado solo el tratamiento con LPVr ($p=0,016$) y la duración del TARGA ($p=0,023$) se relacionaron significativamente con la existencia de hipofosfatemia.

Nuestros datos son compatibles con los comunicados por Buchacz et al (Buchacz, Brooks et al. 2006). Si bien existió un aumento de la hipofosfatemia muy marcado en el grupo de pacientes que recibieron TDF, no existió una diferencia en la fosfatemia entre los pacientes con y sin exposición a TDF. La explicación a este dato se encuentra en los mecanismos compensadores del organismo para mantener la homeostasis calcio-fósforo.

El fósforo, en el organismo, se encuentra en su mayor formando parte del tejido óseo (>85% del fósforo total), contribuyendo el hueso al mantenimiento del equilibrio de los valores plasmáticos de fósforo. El fósforo es filtrado libremente en el glomérulo, siendo reabsorbido la mayor parte en el túbulo proximal por una acción mediada por la PTH. En el mantenimiento de la homeostasis del fósforo, de una manera similar a lo que sucede en con la homeostasis del calcio, el hueso actúa como un depósito de fósforo, sin embargo, a diferencia del calcio existe una buena biodisponibilidad del fósforo ingerido, siendo absorbido de forma lineal con el fósforo sérico, de manera que la disminución de la fosfatemia lleva aparejada un aumento de la absorción intestinal de fósforo. Esto podría explicar, al menos parcialmente, la ausencia de alteraciones significativas en el fósforo sérico en los diferentes casos en los que se han encontrado alteraciones tubulares renales (Breton, Alexandre et al. 2004) y los datos que hemos encontrado en nuestro estudio. Por otro lado, y de acuerdo a nuestros datos, el aumento de la exposición a TDF se traduce en un incremento

en los marcadores de daño renal, incluido la hiperfosfaturia, por lo que el aumento de la exposición terminaría traducándose en la existencia de hipofosfatemia, osteomalacia y alteraciones óseas.

Esta hipótesis se ve en parte confirmada por la existencia de casos comunicados de pacientes en tratamiento con TDF que han desarrollado esas alteraciones (Parsonage, Wilkins et al. 2005; Brim, Cu-Uvin et al. 2007; Perrot, Aslangul et al. 2009; Woodward, Hall et al. 2009; Jhaveri, Mawad et al. 2010), si bien hemos de asumir que han de existir otros factores además de la toma de TDF que favorezcan el desarrollo de estas alteraciones renales tales como la variabilidad genética comentada con anterioridad.

Por último realizamos una estimación de la prevalencia del daño tubular y glomerular asociado al tratamiento con TDF. Para ello comparamos el número de pacientes que presentaban alteración tubular y glomerular en los dos grupos, observando que la prevalencia de enfermedad glomerular fue baja en los dos grupos tanto al inicio [2 pacientes (2%) vs. 1 paciente (5%) para TDF y ABC, respectivamente), como al finalizar el seguimiento, (5 pacientes (6%) vs. 1 paciente (5%) para TDF y ABC, respectivamente). Posteriormente comparamos la evolución del daño glomerular entre los dos grupos de pacientes en tratamiento con TDF (exposición previa menor y mayor a 3 meses) observando que existido un comportamiento similar entre los dos grupos [aumento de 0 a 2 (10%) pacientes en el grupo TDF < 3 meses y aumento de 2 (4%) a 3 (6%) pacientes en el grupo de TDF > 3 meses], si bien el aumento durante el seguimiento fue superior en el grupo de pacientes con menor exposición previa, sugiriendo que el daño es precoz, si bien el escaso número de pacientes no hace posible establecer conclusiones válidas.

Con respecto al daño tubular encontramos resultados similares. Al analizar el número total de pacientes con daño tubular al inicio y al finalizar el seguimiento de forma global observamos un aumento significativo en el grupo de TDF [aumento de 5 (6%) a 15 (19%) pacientes], mientras que en el grupo de pacientes con ABC existió un descenso [descenso de 5 (25) a 3 (15) pacientes] sugiriendo un aumento de la toxicidad tubular con el tratamiento continuado con TDF y una reversión del daño tubular con ABC.

Para valorar si la afectación tubular era precoz o no comparamos la prevalencia de daño tubular entre los dos grupos de pacientes en tratamiento con TDF. Como era de esperar el número de pacientes que presentaron daño tubular basalmente fue superior en los pacientes con exposición previa a TDF > 3 meses, [4 (7%) vs. 1 (4%), para TDF > 3 meses y TDF < 3 meses, respectivamente], sin embargo al finalizar el seguimiento, el número de pacientes que presentaron daño tubular fue superior en el grupo de pacientes con exposición previa menor a 3 meses [8 (15%) vs. 7 (28%) para TDF > 3 meses y TDF < 3 meses, respectivamente], sugiriendo que, si bien el daño tubular inducido por TDF es lentamente progresivo, es fundamentalmente precoz, datos coincidentes con los publicados por otros autores (Labarga, Barreiro et al. 2009; Rodriguez-Novoa, Labarga et al. 2009; Judd, Boyd et al. 2010).

Finalmente, es llamativa la existencia de una mayor afectación basal de la función glomerular (eliminación de GAGs y microalbuminuria) y de la afectación tubular (eliminación de NAGasa y glucosuria) en los pacientes en tratamiento con ABC. Dado el bajo número de pacientes en tratamiento con ABC no pudimos valorar el grado de afectación en función del tiempo de exposición previa al ABC, pero dada la evolución de los pacientes durante el seguimiento, hacia una mejoría de estos parámetros, es poco probable que una exposición prolongada al ABC previo al inicio del seguimiento fuese la

responsable. Es más probable que, previo a la inclusión en el estudio, los pacientes en tratamiento con ABC tuviesen un mayor grado de afectación renal motivado por factores que no se pudieron controlar durante la selección. Durante mucho tiempo, y hasta la publicación de los resultados del estudio D:A:D: (Lundgren, Neuhaus et al. 2008) los pacientes con mayor riesgo cardiovascular eran tratados preferentemente con ABC, lo que podría haber provocado un mayor daño renal previo no detectado en el momento de la inclusión. La exclusión de los pacientes por HTA se realizó mediante la revisión de la historia clínica, por lo que es posible que algunos pacientes con HTA fueran incluidos en el estudio, y dado que se trata de un factor de riesgo cardiovascular, es probable que se le instaurase tratamiento con ABC. Finalmente, revisando los dos grupos de pacientes, si bien no existieron diferencias significativas entre los pacientes en tratamiento con TDF y los pacientes en tratamiento con ABC, estos últimos fueron mayores ($46,6 \pm 5,2$ años vs. $45,3 \pm 6,8$ años). Del mismo modo los una mayor proporción de pacientes en tratamiento con ABC estaban en un estadio C de los CDC (40% vs. 29%), eran más frecuentemente fumadores (70% vs 49%) y tenían un mayor tiempo de evolución de la infección por el VIH (170 ± 76 meses vs. 149 ± 84 meses). Si bien cada uno de estos factores por separado no fue estadísticamente significativo, es posible que su agrupación en el grupo de pacientes en tratamiento con ABC contribuyese a un mayor grado de afectación basal.

6. CONCLUSIONES

1. El tratamiento prolongado con Tenofovir se traduce en un discreto deterioro del filtrado glomerular en comparación al existente con el uso de Abacavir.
2. El tratamiento prolongado con Tenofovir se traduce en un marcado deterioro de la función tubular y de la función glomerular en comparación al existente con el uso de Abacavir.
3. El daño renal, tanto glomerular como tubular asociado al empleo de Tenofovir es precoz y progresivo, incrementándose con el aumento de la exposición al fármaco.
4. El deterioro de la función tubular y de la función glomerular son más precoces y acusados que el deterioro del filtrado glomerular, por lo que la medición habitual de los parámetros de filtrado glomerular no son capaces de detectar precozmente el daño renal asociado al uso crónico de Tenofovir.
5. Sería recomendable la medición ordinaria de glucosuria, fosfaturia y microalbuminuria en todos los pacientes en tratamiento crónico con Tenofovir para detectar precozmente las alteraciones renales asociadas con su empleo y evitar así los efectos nocivos derivados de este daño tubular renal.

7. RESUMEN

TESIS DOCTORAL: VALORACIÓN DEL DAÑO RENAL INDUCIDO POR TDF EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

INTRODUCCIÓN: En la actualidad se disponen de datos contradictorios acerca de la seguridad del empleo prolongado de tenofovir (TDF) en la función renal, mientras que algunos autores consideran que su empleo se relaciona directamente con el deterioro del filtrado glomerular (FG) y la aparición de alteraciones glomerulares y tubulares, otros señalan lo contrario, ofreciendo los datos de los estudios de registro de TDF en los que no se demuestra dicho empeoramiento.

OBJETIVOS: Estudiar la evolución de la función renal en pacientes en tratamiento con TDF y determinar la existencia de marcadores de daño glomerular y tubular en estos pacientes

PACIENTES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo de todos los pacientes en tratamiento con TDF y que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión. A todos los pacientes se determinó en el momento de la inclusión el aclaramiento de creatinina (ClCr) mediante la ecuación de Cockcroft-Gault y MDRD, glucosuria, fosfaturia, N-acetil-glucosaminidasa (NAGasa), microalbuminuria y Glucosaminoglicanos (GAGs) en orina de 24h, repitiéndose las determinaciones al final del seguimiento. El seguimiento medio fue de 14 ± 2 meses. Se incluyeron 79 pacientes en tratamiento con TDF (grupo A) y 20 pacientes controles que no habían recibido TDF (grupo B). Veinticinco pacientes del grupo A habían comenzado a recibir TDF dentro de los 3 meses anteriores a la determinación basal y se analizan por separado (grupo C). No existieron diferencias significativas entre los grupos.

RESULTADOS: El grupo A mostró un descenso medio del FG

estadísticamente superior que el grupo B (-15 mL/min vs. 0 mL/min para grupos A y B, respectivamente, $p=0,002$). Del mismo modo existió un empeoramiento de la función glomerular (aumento de la eliminación de GAGs y microalbuminuria) y de la función tubular (eliminación de NAGasa y glucosuria) en el grupo A respecto al B ($p<0,05$ para todas las comparaciones). Comparando el grupo C y el B no existieron diferencias significativas en el FG, aunque fue mayor el descenso en el grupo C (-7 mL/min vs. 0 mL/min para grupos C y B, respectivamente, $p=ns$). Con respecto a la función glomerular y tubular, existió un aumento de la excreción de GAGs, microalbuminuria, glucosuria y NAGasa, aunque no alcanzaron significación estadística, excepto el aumento de glucosuria ($15,5\pm 5,3$ mg/dL vs. $5,3\pm 1,8$ mg/dL para grupos C y B, respectivamente $p=0,0018$). Si existió un aumento de la fosfaturia en el grupo A vs. B ($81,7\pm 31,2$ mg/dL vs. $44,4\pm 10,1$ mg/dL; para grupos A y B, respectivamente $p=0,001$) y en el grupo C vs. B ($72,4\pm 32,1$ mg/dL vs. $44,4\pm 10,1$ mg/dL para grupos C y B, respectivamente $p=0,045$).

Finalmente no encontramos una relación entre el grado de FG y la existencia de daño glomerular o tubular.

CONCLUSIONES: El empleo prolongado de TDF se asocia con descensos del FG y alteraciones glomerulares y tubulares. Este daño aumenta con el tiempo de exposición al fármaco. El empleo del FG como marcador de daño renal no es capaz de predecir la existencia de daño glomerular o tubular, por lo que debería emplearse de manera habitual la determinación, al menos, de microalbuminuria, glucosuria y fosfaturia.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AIDS Study Group/Spanish AIDS Plan (2010). "[AIDS Study Group/Spanish AIDS Plan consensus document on antiretroviral therapy in adults with human immunodeficiency virus infection (updated January 2010)]." Enferm Infecc Microbiol Clin **28**(6): 362 e361-391.
- Azanza, J. R., E. Garcia Quetglas, et al. (2008). "[Tenofovir: pharmacology and interactions]." Enferm Infecc Microbiol Clin **26 Suppl 8**: 2-6.
- Bacon, B. L. and H. L. Pardue (1989). "Kinetic study of the Jaffe reaction for quantifying creatinine in serum: 2. Evaluation of buffered reagent and comparison of different data-processing options." Clin Chem **35**(3): 360-363.
- Bakris, G. L., V. A. Fonseca, et al. (2009). "Renal sodium-glucose transport: role in diabetes mellitus and potential clinical implications." Kidney Int **75**(12): 1272-1277.
- Baltimore, D. (1970). "RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses." Nature **226**(5252): 1209-1211.
- Barbour, T. D., T. J. Furlong, et al. (2007). "Efavirenz-associated podocyte damage." AIDS **21**(2): 257-258.
- Barditch-Crovo, P., S. G. Deeks, et al. (2001). "Phase I/II trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults." Antimicrobial Agents and Chemotherapy **45**(10): 2733-2739.
- Barreiro, P., I. Jimenez-Nacher, et al. (2005). "Nucleoside/nucleotide backbones for the treatment of HIV infection." Curr Opin Investig Drugs **6**(8): 812-822.
- Barril Cuadrado, G. and I. de Los Santos Gil (2008). "[Management of renal toxicity in HIV-positive patients. What to measure, how to

measure it and how frequently]." Enferm Infecc Microbiol Clin **26 Suppl 8**: 55-61.

- Barrios, A., A. Rendon, et al. (2005). "Paradoxical CD4+ T-cell decline in HIV-infected patients with complete virus suppression taking tenofovir and didanosine." AIDS **19**(6): 569-575.
- Bartlett, J. A., S. S. Chen, et al. (2007). "Comparative efficacy of nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors in combination with efavirenz: results of a systematic overview." HIV Clin Trials **8**(4): 221-226.
- Birmele, B., A. De Agostini, et al. (2001). "Increased glomerular cell heparan sulfates in vitro by ciclosporin A: a Possible explanation of Its beneficial effect in idiopathic nephrotic syndrome." Nephron **88**(2): 156-162.
- Bongiovanni, M. and F. Tordato (2006). "Tenofovir plus didanosine as Nrti backbone in HIV-infected subjects." Curr Med Chem **13**(23): 2789-2793.
- Bower, L., C. Warren, et al. (1992). "Human serum and urine glycosaminoglycans in health and in patients with chronic renal failure." Ann Clin Biochem **29 (Pt 2)**: 190-195.
- Breton, G., M. Alexandre, et al. (2004). "Tubulopathy consecutive to tenofovir-containing antiretroviral therapy in two patients infected with human immunodeficiency virus-1." Scand J Infect Dis **36**(6-7): 527-528.
- Brim, N. M., S. Cu-Uvin, et al. (2007). "Bone disease and pathologic fractures in a patient with tenofovir-induced Fanconi syndrome." AIDS Read **17**(6): 322-328, C323.
- Buchacz, K., J. T. Brooks, et al. (2006). "Evaluation of hypophosphataemia in tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-exposed

and TDF-unexposed HIV-infected out-patients receiving highly active antiretroviral therapy." HIV Med **7**(7): 451-456.

- Buitrago, F., J. I. Calvo, et al. (2008). "[Comparison and agreement of the Cockcroft-Gault and MDRD equations to estimate glomerular filtration rate in diagnosis of occult chronic kidney disease]." Nefrologia **28**(3): 301-310.
- Butterfield, W. J., H. Keen, et al. (1967). "Renal glucose threshold variations with age." Br Med J **4**(5578): 505-507.
- Chun, T. W., D. Engel, et al. (1998). "Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(15): 8869-8873.
- Cicconi, P., A. Cozzi-Lepri, et al. (2010). "Insights into reasons for discontinuation according to year of starting first regimen of highly active antiretroviral therapy in a cohort of antiretroviral-naive patients." HIV Med **11**(2): 104-113.
- Cihlar, T., E. S. Ho, et al. (2001). "Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs." Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids **20**(4-7): 641-648.
- Cirillo, M., P. Anastasio, et al. (2005). "Relationship of gender, age, and body mass index to errors in predicted kidney function." Nephrol Dial Transplant **20**(9): 1791-1798.
- Clavel, F., D. Guetard, et al. (1986). "Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS." Science **233**(4761): 343-346.
- Colson, A. W., E. Florence, et al. (2010). "Prevalence of chronic renal failure stage 3 or more in HIV-infected patients in Antwerp: an observational study." Acta Clin Belg **65**(6): 392-398.

- Cooper, R. D. and M. Tonelli (2011). "Renal Disease Associated with Antiretroviral Therapy in the Treatment of HIV." Nephron Clin Pract **118**(3): c262-c268.
- Cooper, R. D., N. Wiebe, et al. (2010). "Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients." Clin Infect Dis **51**(5): 496-505.
- Creput, C., G. Gonzalez-Canali, et al. (2003). "Renal lesions in HIV-1-positive patient treated with tenofovir." AIDS **17**(6): 935-937.
- d'arminio Monforte, A., A. Cozzi-Lepri, et al. (2005). "Interruption of highly active antiretroviral therapy in HIV clinical practice: results from the Italian Cohort of Antiretroviral-Naive Patients." J Acquir Immune Defic Syndr **38**(4): 407-416.
- Day, S. L., H. A. Leake Date, et al. (2005). "Serum hypophosphatemia in tenofovir disoproxil fumarate recipients is multifactorial in origin, questioning the utility of its monitoring in clinical practice." J Acquir Immune Defic Syndr **38**(3): 301-304.
- De Clercq, E. (1999). "Perspectives of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection." Farmacologia **54**(1-2): 26-45.
- de la Prada, F. J., A. M. Prados, et al. (2006). "[Acute renal failure and proximal renal tubular dysfunction in a patient with acquired immunodeficiency syndrome treated with tenofovir]." Nefrologia **26**(5): 626-630.
- Deeks, S. G., P. Barditch-Crovo, et al. (1998). "Safety, pharmacokinetics, and antiretroviral activity of intravenous 9-[2-(R)-(Phosphonomethoxy)propyl]adenine, a novel anti-human immunodeficiency virus (HIV) therapy, in HIV-infected adults." Antimicrob Agents Chemother **42**(9): 2380-2384.

- Dezier, J. F., A. M. Jouanolle, et al. (1987). "[Comparison of 2 methods of measuring microalbuminuria. Immunonephelometry and radioimmunology]." Ann Biol Clin (Paris) **45**(1): 78-84.
- Drusano, G. L., J. A. Bilello, et al. (1998). "Factors influencing the emergence of resistance to indinavir: role of virologic, immunologic, and pharmacologic variables." J Infect Dis **178**(2): 360-367.
- Fernando, S. K., F. O. Finkelstein, et al. (2008). "Prevalence of chronic kidney disease in an urban HIV infected population." Am J Med Sci **335**(2): 89-94.
- Fonjungo, P. N., E. N. Mpoudi, et al. (2002). "Human immunodeficiency virus type 1 group m protease in cameroon: genetic diversity and protease inhibitor mutational features." J Clin Microbiol **40**(3): 837-845.
- Foster, C., H. Lyall, et al. (2009). "Tenofovir disoproxil fumarate in pregnancy and prevention of mother-to-child transmission of HIV-1: is it time to move on from zidovudine?" HIV Med **10**(7): 397-406.
- Fux, C. A., M. Simcock, et al. (2007). "Tenofovir use is associated with a reduction in calculated glomerular filtration rates in the Swiss HIV Cohort Study." Antivir Ther **12**(8): 1165-1173.
- Gallant, J. E., E. DeJesus, et al. (2006). "Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV." N Engl J Med **354**(3): 251-260.
- Gallant, J. E. and P. A. Pham (2003). "Tenofovir disoproxil fumarate (Viread) for the treatment of HIV infection." Expert Rev Anti Infect Ther **1**(3): 415-422.
- Gallant, J. E., S. Staszewski, et al. (2004). "Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial." JAMA **292**(2): 191-201.

- Gallant, J. E., J. A. Winston, et al. (2008). "The 3-year renal safety of a tenofovir disoproxil fumarate vs. a thymidine analogue-containing regimen in antiretroviral-naive patients." AIDS **22**(16): 2155-2163.
- Gallo, R. C., P. S. Sarin, et al. (1983). "Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS)." Science **220**(4599): 865-867.
- Gilden, D. (2001). "Tenofovir: Gilead applies for approval; expanded access liberalized." AIDS Treat News(364): 2-3, 1.
- Gonzalez-Garcia, J., D. Cohen, et al. (2010). "Short communication: Comparable safety and efficacy with once-daily versus twice-daily dosing of lopinavir/ritonavir tablets with emtricitabine + tenofovir DF in antiretroviral-naive, HIV type 1-infected subjects: 96 week final results of the randomized trial M05-730." AIDS Res Hum Retroviruses **26**(8): 841-845.
- Greene, W. C. (1991). "The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection." N Engl J Med **324**(5): 308-317.
- Gullans, S. R. (2000). "Metabolic basis of solute transport." In: Brenner BM, editor. Brenner and Rector's, the kidney. 6th ed. Philadelphia (PA): W.B. Saunders Company: 234-235.
- Hall, A. M., S. G. Edwards, et al. (2009). "Subclinical tubular injury in HIV-infected individuals on antiretroviral therapy: a cross-sectional analysis." Am J Kidney Dis **54**(6): 1034-1042.
- Hallan, S., A. Asberg, et al. (2004). "Validation of the Modification of Diet in Renal Disease formula for estimating GFR with special emphasis on calibration of the serum creatinine assay." Am J Kidney Dis **44**(1): 84-93.

- Hammer, S. M., K. E. Squires, et al. (1997). "A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team." N Engl J Med **337**(11): 725-733.
- Harmankaya, O., Y. Ozturk, et al. (2001). "Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in newly diagnosed essential hypertensive patients and its changes with effective antihypertensive therapy." Int Urol Nephrol **32**(4): 583-584.
- Harrigan, P. R., M. D. Miller, et al. (2002). "Phenotypic susceptibilities to tenofovir in a large panel of clinically derived human immunodeficiency virus type 1 isolates." Antimicrob Agents Chemother **46**(4): 1067-1072.
- Hassell, J. R., J. H. Kimura, et al. (1986). "Proteoglycan core protein families." Annu Rev Biochem **55**: 539-567.
- Ho, E. S., D. C. Lin, et al. (2000). "Cytotoxicity of antiviral nucleotides adefovir and cidofovir is induced by the expression of human renal organic anion transporter 1." Journal of the American Society of Nephrology **11**(3): 383-393.
- Horak, E., S. M. Hopfer, et al. (1981). "Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity." Clin Chem **27**(7): 1180-1185.
- Hossain, M. M., J. J. Coull, et al. (2002). "Dose proportional inhibition of HIV-1 replication by mycophenolic acid and synergistic inhibition in combination with abacavir, didanosine, and tenofovir." Antiviral Res **55**(1): 41-52.

- Hulot, J. S., E. Villard, et al. (2005). "A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination." Pharmacogenet Genomics **15**(5): 277-285.
- Imaoka, T., H. Kusuhara, et al. (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**(2): 619-627.
- Irizarry-Alvarado, J. M., J. P. Dwyer, et al. (2009). "Proximal tubular dysfunction associated with tenofovir and didanosine causing Fanconi syndrome and diabetes insipidus: a report of 3 cases." AIDS Read **19**(3): 114-121.
- Izzedine, H., J. S. Hulot, et al. (2006). "Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy." J Infect Dis **194**(11): 1481-1491.
- Izzedine, H., V. Launay-Vacher, et al. (2005). "Antiviral drug-induced nephrotoxicity." Am J Kidney Dis **45**(5): 804-817.
- Jhaveri, M. A., H. W. Mawad, et al. (2010). "Tenofovir-associated severe bone pain: I cannot walk!" J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic) **9**(5): 328-334.
- Judd, A., K. L. Boyd, et al. (2010). "Effect of tenofovir disoproxil fumarate on risk of renal abnormality in HIV-1-infected children on antiretroviral therapy: a nested case-control study." AIDS **24**(4): 525-534.
- Jung, K., A. Hempel, et al. (1990). "Age-dependent excretion of alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in human urine." Enzyme **43**(1): 10-16.

- Karras, A., M. Lafaurie, et al. (2003). "Tenofovir-related nephrotoxicity in human immunodeficiency virus-infected patients: three cases of renal failure, Fanconi syndrome, and nephrogenic diabetes insipidus." Clin Infect Dis **36**(8): 1070-1073.
- Kaufman, L., S. E. Collins, et al. (2010). "The pathogenesis of HIV-associated nephropathy." Adv Chronic Kidney Dis **17**(1): 36-43.
- Kearney, B. P. and A. Mathias (2009). "Lack of effect of tenofovir disoproxil fumarate on pharmacokinetics of hormonal contraceptives." Pharmacotherapy **29**(8): 924-929.
- Kern, E. F., P. Erhard, et al. (2010). "Early urinary markers of diabetic kidney disease: a nested case-control study from the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)." Am J Kidney Dis **55**(5): 824-834.
- Kiser, J. J., M. L. Carten, et al. (2008). "The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients." Clin Pharmacol Ther **83**(2): 265-272.
- Knobel, H., I. Escobar, et al. (2005). "[Recommendations from GESIDA/SEFH/PNS to improve adherence to antiviral treatment (2004)]." Enferm Infecc Microbiol Clin **23**(4): 221-231.
- Kuan, Y., M. Hossain, et al. (2005). "GFR prediction using the MDRD and Cockcroft and Gault equations in patients with end-stage renal disease." Nephrol Dial Transplant **20**(11): 2394-2401.
- Labarga, P., P. Barreiro, et al. (2009). "Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir." AIDS **23**(6): 689-696.
- Lakatua, D. J., C. H. Blomquist, et al. (1982). "Circadian rhythm in urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase (NAG) of clinically healthy subjects. Timing and phase relation to other urinary circadian rhythms." Am J Clin Pathol **78**(1): 69-77.

- Lauver, D. A. and B. R. Lucchesi (2006). "Sulodexide: a renewed interest in this glycosaminoglycan." Cardiovasc Drug Rev **24**(3-4): 214-226.
- Levey, A. S., J. P. Bosch, et al. (1999). "A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group." Ann Intern Med **130**(6): 461-470.
- Lin, J., E. L. Knight, et al. (2003). "A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adults without kidney disease." Journal of the American Society of Nephrology **14**(10): 2573-2580.
- Locht, P., H. Peyriere, et al. (2005). "[Assessment of renal abnormalities in 107 HIV patients treated with tenofovir]." Therapie **60**(2): 175-181.
- Lundgren, J. D., J. Neuhaus, et al. (2008). "Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients." AIDS **22**(14): F17-F24.
- Mallants, R., K. Van Oosterwyck, et al. (2005). "Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites." Xenobiotica **35**(10-11): 1055-1066.
- Mansell, M. A., N. F. Jones, et al. (1978). "N-acetyl-beta-D-glucosaminidase: A new approach to the screening of hypertensive patients for renal disease." Lancet **2**(8094): 803-805.
- Marzolini, C., A. Telenti, et al. (2001). "Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients." AIDS **15**(1): 71-75.

- Mikulak, J. and P. C. Singhal (2010). "HIV-1 and kidney cells: better understanding of viral interaction." Nephron Exp Nephrol **115**(2): e15-21.
- Miller, D. S. (2001). "Nucleoside phosphonate interactions with multiple organic anion transporters in renal proximal tubule." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **299**(2): 567-574.
- Mills, A. M., M. Nelson, et al. (2009). "Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir/ritonavir in treatment-naive, HIV-1-infected patients: 96-week analysis." AIDS **23**(13): 1679-1688.
- Mitsuhashi, H., Y. Tsukada, et al. (1993). "Urine glycosaminoglycans and heparan sulfate excretions in adult patients with glomerular diseases." Clin Nephrol **39**(5): 231-238.
- Morita, A., Y. Numata, et al. (1998). "Stabilities of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications." Clin Chim Acta **278**(1): 35-43.
- Mulato, A. S. and J. M. Cherrington (1997). "Anti-HIV activity of adefovir (PMEA) and PMPA in combination with antiretroviral compounds: in vitro analyses." Antiviral Res **36**(2): 91-97.
- National Kidney Foundation (2002). "K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification." Am J Kidney Dis **39**(2 Suppl 1): S1-266.
- Neumiller, J. J., J. R. White, Jr., et al. (2010). "Sodium-glucose co-transport inhibitors: progress and therapeutic potential in type 2 diabetes mellitus." Drugs **70**(4): 377-385.
- Nikkila, M. T. (1989). "Urinary glycosaminoglycan excretion in normal and stone-forming subjects: significant disturbance in recurrent stone formers." Urol Int **44**(3): 157-159.

- O'Brien, M. E., R. A. Clark, et al. (2003). "Patterns and correlates of discontinuation of the initial HAART regimen in an urban outpatient cohort." J Acquir Immune Defic Syndr **34**(4): 407-414.
- Oh, J. and R. A. Hegele (2007). "HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment." Lancet Infect Dis **7**(12): 787-796.
- Overton, E. T., D. Nurutdinova, et al. (2009). "Factors associated with renal dysfunction within an urban HIV-infected cohort in the era of highly active antiretroviral therapy." HIV Med **10**(6): 343-350.
- Palella, F. J., Jr., R. K. Baker, et al. (2006). "Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study." J Acquir Immune Defic Syndr **43**(1): 27-34.
- Parsonage, M. J., E. G. Wilkins, et al. (2005). "The development of hypophosphataemic osteomalacia with myopathy in two patients with HIV infection receiving tenofovir therapy." HIV Med **6**(5): 341-346.
- Parthasarathy, N. and R. G. Spiro (1981). "Characterization of the glycosaminoglycan component of the renal glomerular basement membrane and its relationship to the peptide portion." J Biol Chem **256**(1): 507-513.
- Pennock, C. A. (1969). "A modified screening test for glycosaminoglycan excretion." J Clin Pathol **22**(3): 379-380.
- Pennock, C. A. (1976). "A review and selection of simple laboratory methods used for the study of glycosaminoglycan excretion and the diagnosis of the mucopolysaccharidoses." J Clin Pathol **29**(2): 111-123.

- Perazella, M. A. (2010). "Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondriopathy." *Kidney Int* **78**(11): 1060-1063.
- Perez-Blanco, F. J., M. Arrabal-Martin, et al. (2000). "Urinary activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase in patients with nephrolithiasis." *Nephron* **86**(4): 518-519.
- Perez-Blanco, F. J., I. Garbin-Fuentes, et al. (1997). "Urinary activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase and progression of retinopathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus." *Clin Nephrol* **48**(6): 388-389.
- Perez-Blanco, F. J., L. Morales-Camacho, et al. (1999). "Urinary glycosaminoglycans and their relationship to microalbuminuria in arterial hypertension." *Nephron* **81**(4): 444-445.
- Perez-Blanco, F. J., T. Munoz-Casaubon, et al. (2000). "Urinary activity of beta-glucuronidase and excretion of glycosaminoglycans in the diagnosis of diabetic nephropathy." *Clin Nephrol* **53**(2): 156-158.
- Perez-Blanco, F. J., A. Ruiz-Martin, et al. (1996). "Urinary activity of N-acetyl-beta-glycosaminidase (NAG) in arterial hypertension." *Clin Nephrol* **45**(1): 65-66.
- Perez-Blanco, F. J., G. Sabatel-Hernandez, et al. (1998). "Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy." *Clin Nephrol* **49**(2): 132-134.
- Perez-Blanco, F. J., M. C. Sanabria, et al. (1998). "Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in the prediction of preeclampsia." *Clin Nephrol* **50**(3): 169-171.
- Perrot, S., E. Aslangul, et al. (2009). "Bone pain due to fractures revealing osteomalacia related to tenofovir-induced proximal renal

tubular dysfunction in a human immunodeficiency virus-infected patient." J Clin Rheumatol **15**(2): 72-74.

- Perry, C. M. and D. Simpson (2009). "Tenofovir disoproxil fumarate: in chronic hepatitis B." Drugs **69**(16): 2245-2256.
- Peyriere, H., J. Reynes, et al. (2004). "Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: report of 7 cases." J Acquir Immune Defic Syndr **35**(3): 269-273.
- Pham, P. A. and J. E. Gallant (2006). "Tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection." Expert Opin Drug Metab Toxicol **2**(3): 459-469.
- Poggio, E. D., X. Wang, et al. (2005). "Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease." Journal of the American Society of Nephrology **16**(2): 459-466.
- Poiesz, B. J., F. W. Ruscetti, et al. (1980). "Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma." Proc Natl Acad Sci U S A **77**(12): 7415-7419.
- Price, R. G., N. Dance, et al. (1970). "The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta-galactosidase following surgery to the kidney." Clin Chim Acta **27**(1): 65-72.
- Priftis, K. N., S. Loukopoulou, et al. (2006). "Increased glycosaminoglycans in the urine of asthmatic children on inhaled corticosteroids." Pediatr Allergy Immunol **17**(3): 194-198.
- Protopopescu, C., F. Raffi, et al. (2009). "Factors associated with non-adherence to long-term highly active antiretroviral therapy: a 10 year follow-up analysis with correction for the bias induced by missing data." J Antimicrob Chemother **64**(3): 599-606.

- Ramanathan, S., A. Cheng, et al. (2006). "Absence of clinically relevant pharmacokinetic interaction between ribavirin and tenofovir in healthy subjects." J Clin Pharmacol **46**(5): 559-566.
- Ray, A. S. and T. Cihlar (2007). "Unlikely association of multidrug-resistance protein 2 single-nucleotide polymorphisms with tenofovir-induced renal adverse events." J Infect Dis **195**(9): 1389-1390; author reply 1390-1381.
- Ray, A. S., T. Cihlar, et al. (2006). "Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir." Antimicrob Agents Chemother **50**(10): 3297-3304.
- Robbins, B. L., R. V. Srinivas, et al. (1998). "Anti-human immunodeficiency virus activity and cellular metabolism of a potential prodrug of the acyclic nucleoside phosphonate 9-R-(2-phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA." Antimicrob Agents Chemother **42**(3): 612-617.
- Robbins, B. L., C. K. Wilcox, et al. (2003). "Metabolism of tenofovir and didanosine in quiescent or stimulated human peripheral blood mononuclear cells." Pharmacotherapy **23**(6): 695-701.
- Rodriguez-Cuartero, A., A. Lopez-Fernandez, et al. (1998). "Urinary N-acetyl-beta-N-glucosaminidase in patients with urinary tract infection." Eur Urol **33**(3): 348-350.
- Rodriguez-Cuartero, A., F. J. Perez-Blanco, et al. (1997). "Urinary excretion of glucosaminoglycans in patients with a renal transplant." Clin Nephrol **47**(4): 274-276.
- Rodriguez-Novoa, S., E. Alvarez, et al. (2010). "Renal toxicity associated with tenofovir use." Expert Opin Drug Saf **9**(4): 545-559.

- Rodriguez-Novoa, S., P. Labarga, et al. (2009). "Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study." Clin Infect Dis **48**(11): e108-116.
- Saag, M., R. Balu, et al. (2008). "High sensitivity of human leukocyte antigen-b*5701 as a marker for immunologically confirmed abacavir hypersensitivity in white and black patients." Clin Infect Dis **46**(7): 1111-1118.
- Sanchez-Conde, M., P. Gil, et al. (2005). "Hepatic and renal safety profile of tenofovir in HIV-infected patients with hepatitis C, including patients on interferon plus ribavirin." HIV Clin Trials **6**(5): 278-280.
- Saumoy, M., F. Vidal, et al. (2004). "Proximal tubular kidney damage and tenofovir: a role for mitochondrial toxicity?" AIDS **18**(12): 1741-1742.
- Singh, A., V. Friden, et al. (2011). "High glucose causes dysfunction of the human glomerular endothelial glycocalyx." Am J Physiol Renal Physiol **300**(1): F40-48.
- Smith, P. F., B. P. Kearney, et al. (2004). "Effect of tenofovir disoproxil fumarate on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of total, R-, and S-methadone." Pharmacotherapy **24**(8): 970-977.
- Spence, R. A., W. M. Kati, et al. (1995). "Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by nonnucleoside inhibitors." Science **267**(5200): 988-993.
- Squires, K. E., M. Johnson, et al. (2010). "Comparative gender analysis of the efficacy and safety of atazanavir/ritonavir and lopinavir/ritonavir at 96 weeks in the CASTLE study." J Antimicrob Chemother.
- Stumvoll, M., C. Meyer, et al. (1997). "Renal glucose production and utilization: new aspects in humans." Diabetologia **40**(7): 749-757.

- Sulkowski, M. S., D. L. Thomas, et al. (2002). "Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections." Hepatology **35**(1): 182-189.
- Taburet, A. M., C. Piketty, et al. (2004). "Interactions between atazanavir-ritonavir and tenofovir in heavily pretreated human immunodeficiency virus-infected patients." Antimicrob Agents Chemother **48**(6): 2091-2096.
- Temin, H. M. and S. Mizutani (1970). "RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus." Nature **226**(5252): 1211-1213.
- Teruel, J. L., J. Sabater, et al. (2007). "[The Cockcroft-Gault equation is better than MDRD equation to estimate the glomerular filtration rate in patients with advanced chronic renal failure]." Nefrologia **27**(3): 313-319.
- Thompson, G. R. and C. W. Castor (1966). "The excretion of nondialyzable urinary mucopolysaccharide in rheumatic and other systemic disease states." J Lab Clin Med **68**(4): 617-627.
- Tomasselli, A. G. and R. L. Henrikson (2000). "Targeting the HIV-protease in AIDS therapy: a current clinical perspective." Biochim Biophys Acta **1477**(1-2): 189-214.
- Troll, J. G. (2011). "Approach to dyslipidemia, lipodystrophy, and cardiovascular risk in patients with HIV infection." Curr Atheroscler Rep **13**(1): 51-56.
- Trullas, J. C., A. Mocroft, et al. (2010). "Dialysis and Renal Transplantation in HIV-Infected Patients: a European Survey." J Acquir Immune Defic Syndr.

- Tylicki, L., J. Manitus, et al. (2003). "Tubular injury: the first symptom of hypertensive kidney involvement?" Med Sci Monit **9**(4): CR135-141.
- van Gelder, J., S. Deferme, et al. (2002). "Intestinal absorption enhancement of the ester prodrug tenofovir disoproxil fumarate through modulation of the biochemical barrier by defined ester mixtures." Drug Metab Dispos **30**(8): 924-930.
- Vervoort, G., H. L. Willems, et al. (2002). "Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation." Nephrol Dial Transplant **17**(11): 1909-1913.
- Walmsley, S., A. Avihingsanon, et al. (2009). "Gemini: a noninferiority study of saquinavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir as initial HIV-1 therapy in adults." J Acquir Immune Defic Syndr **50**(4): 367-374.
- Wanner, D. P., A. Tyndall, et al. (2009). "Tenofovir-induced osteomalacia." Clin Exp Rheumatol **27**(6): 1001-1003.
- Wessler, E. (1968). "Analytical and preparative separation of acidic glycosaminoglycans by electrophoresis in barium acetate." Anal Biochem **26**(3): 439-444.
- Winter, H., Y. Maeda, et al. (1996). "Phosphodiester amidates of allenic nucleoside analogues: anti-HIV activity and possible mechanism of action." J Med Chem **39**(17): 3300-3306.
- Wong, J. K., M. Hezareh, et al. (1997). "Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia." Science **278**(5341): 1291-1295.

- Wood, S. M., S. S. Shah, et al. (2009). "Tenofovir-associated nephrotoxicity in two HIV-infected adolescent males." AIDS Patient Care STDS **23**(1): 1-4.
- Woodward, C. L., A. M. Hall, et al. (2009). "Tenofovir-associated renal and bone toxicity." HIV Med **10**(8): 482-487.
- Wright, E. M. (2001). "Renal Na(+)-glucose cotransporters." Am J Physiol Renal Physiol **280**(1): F10-18.
- Yavuz, D., A. Toprak, et al. (2000). "Urinary glycosaminoglycan excretion in newly diagnosed essential hypertensive patients." Clin Chem **46**(2): 299-301.
- Yue, D. K., S. McLennan, et al. (1985). "The effects of cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors on the collagen abnormalities of diabetic rats." Diabetes **34**(1): 74-78.