

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología I



TESIS DOCTORAL

Estudio de factores farmacogenéticos y farmacocinéticos asociados con alteraciones renales en pacientes VIH positivos a tratamiento con tenofovir

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Elena Álvarez Barco

Directores

Sonia Rodríguez-Novoa
Luis Rodolfo Collado Yurrita

Madrid, 2014



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología I

**ESTUDIO DE FACTORES FARMACOGENÉTICOS Y
FARMACOCINÉTICOS ASOCIADOS CON ALTERACIONES RENALES
EN PACIENTES VIH POSITIVOS A TRATAMIENTO CON
TENOFIVIR**

TESIS DOCTORAL

Elena Álvarez Barco

Madrid, 2013

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE FACTORES FARMACOGENÉTICOS Y FARMACOCINÉTICOS ASOCIADOS CON ALTERACIONES RENALES EN PACIENTES VIH-POSITIVOS A TRATAMIENTO CON TENOFOVIR

Esta memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctora por la Universidad Complutense de Madrid por la licenciada:

Elena Álvarez Barco

Directores de la Tesis:

Dra. Sonia Rodríguez Nóvoa

Facultativo Especialista de Área, Bioquímica Clínica. Responsable del Laboratorio de Genética / Biología Molecular del Hospital Carlos III de Madrid.

Doctora por la Universidad Complutense de Madrid.

Dr. Luis Collado Yurrita

Director del Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que quiero agradecer el apoyo, la ayuda y el esfuerzo que me han prestado durante estos años de realización de Tesis.

A mi directora de Tesis, la Dra. Rodríguez-Novoa, por enseñarme, guiarme y transmitirme la ilusión por investigar.

Al Dr. José Prieto Prieto en los primeros años de andadura y al Dr. Luis Collado Yurrita, en la recta final, que desde la Universidad me han brindado toda su ayuda y su tiempo para realizar este proyecto.

A Lorena, Gema, Judit y Olga, porque habéis sido mis pilares fundamentales durante estos años. No podía haber tenido un mejor equipo.

Lorena, mi primera cara amiga, gracias por tu implicación y tu amistad todos estos años. ¡Ojalá que nos volvamos a encontrar!

Gema, mi mentora de HPLC desde el primer día...ha pasado mucho tiempo desde entonces, pero no habrás borrado de tu memoria lo que me dijiste, ¿verdad? Me debes una mariscada...

Judit, mi gran apoyo, ayuda y ejemplo a seguir. Gracias por todos los ratos que hemos compartido.

Olga, la última en llegar, pero no por ello menos importante. Tanto a nivel laboral como personal las dos sabemos que cumples con el refrán "los últimos serán los primeros".

A Miguel, Edu, Zule, Rocío, Paula, Carlos...ese gran grupo del “desayunín” y de mucho más. Me quedo con todo lo que me habéis aportado cada uno de vosotros en este tiempo y todos los momentos divertidos que hemos pasado.

A todos los compañeros del laboratorio de Biología Molecular y del Servicio de Enfermedades Infecciosas, en especial, a Marta Sánchez, Mariana Lapaz, María Salgado, Carolina Garrido, Mariola López, Eugenia Vispo, Luz Martín-Carbonero, Lali Valencia...sin vuestro apoyo, ayuda y colaboración no habría sido posible realizar esta Tesis.

A Inmaculada Jiménez, Susana de Andrés, Victoria Cuervo y todo el personal de Farmacia, gracias por acogerme, por vuestro interés y vuestra ayuda.

A mis “imprescindibles”... vosotros me llamabais Doctora casi desde que empecé, porque ya creíais que lo conseguiría. Gracias por estar siempre para mí.

A mi familia, que aún sin entender mucho a qué me dedico, saben lo importante que es para mí y me transmiten su orgullo y su ánimo.

Por último, pero la más importante, a mi madre. Gracias por ayudarme y apoyarme en todas las decisiones ahora y siempre. Porque eres un ejemplo de fortaleza, perseverancia, superación, dedicación, y aún mejor persona.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	11
1.	Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1)	12
1.1.	Estructura	12
1.2.	Ciclo replicativo	16
1.3.	Curso natural de la infección VIH-1.....	18
2.	Tratamiento antirretroviral (TAR).	20
2.1.	Objetivos del tratamiento antirretroviral.....	20
2.2.	Fármacos antirretrovirales.	20
2.3.	Componentes del TARGA	23
2.4.	Monitorización de la respuesta al TAR.....	26
2.4.1.	Linfocitos CD4 y CV plasmática del VIH.....	27
2.4.2.	Resistencias al tratamiento.	28
2.4.3.	Ensayos de tropismo viral.....	29
2.4.4.	Test HLA-B*57:01.	29
2.4.5.	Monitorización de concentraciones plasmáticas (MCP)	29
3.	Efectos adversos asociados al tratamiento antirretroviral	34
4.	Nefrotoxicidad asociada al tratamiento con Tenofovir	36
4.1.	Mecanismos de toxicidad renal asociado al uso de Tenofovir.....	38
4.2.	Experiencia con TDF	40
5.	Monitorización de la función renal.	43
5.1.	Estudio renal básico.....	43
5.2.	Estudio renal ampliado.....	47
6.	Farmacogenética de la toxicidad renal asociada con el uso de Tenofovir.....	50

6.1.	Proteínas de transporte de Tenofovir a nivel renal	51
6.2.	Polimorfismos genéticos en proteínas transportadoras.....	53
III.	OBJETIVOS	60
IV.	PACIENTES Y MÉTODOS.....	63
1.	Pacientes.....	64
2.	Métodos.....	64
2.1.	Diseño del estudio:	64
2.2.	Recogida de datos	64
2.3.	Parámetros de función renal.....	65
2.4.	Definiciones de alteración glomerular y tubular.....	66
2.5.	Validación del método para la cuantificación de TDF.....	66
2.6.	Análisis de muestras clínicas	69
2.7.	Análisis genéticos	70
2.8.	Análisis estadísticos	72
2.9.	Almacenamiento de las muestras biológicas	73
V.	RESULTADOS.....	75
1.	Método para cuantificación de Tenofovir en plasma	76
1.1	Optimización de las condiciones cromatográficas y espectrométricas.	76
1.2	Validación del método.....	76
2.	Estudio 2: Diferencias en la función renal entre pacientes con y sin tratamiento que incluye tenofovir y estudio del impacto de los niveles plasmáticos de tenofovir..	79
2.1	Características de la población de estudio.....	79
2.2	Evaluación de la función renal.....	80
2.3	Asociación entre niveles de plasmáticos de tenofovir y función renal.....	82

2.4 Impacto de fármacos antirretrovirales concomitantes sobre los niveles de tenofovir.....	86
2.5 Variables asociadas con alteración renal	89
3. Resultados estudio 3: Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos, cambios en la función renal y niveles en plasma de tenofovir.	92
3.1 Características de la población de estudio.....	92
3.2 Asociación entre polimorfismos genéticos y cambios en la función renal.	93
3.3 Asociación entre haplotipos genéticos y cambios en la función renal.	95
3.4 Asociación entre polimorfismos genéticos y niveles de TFV.....	97
3.5 Factores que afectan a los niveles de TFV.....	100
3.6 Factores predictores de daño renal.	101
VI. DISCUSIÓN	105
VII. CONCLUSIONES.....	124
VIII. BIBLIOGRAFÍA	128
IX. ANEXOS.....	142
X. ABREVIATURAS	156

I. RESUMEN

Introduction

Kidney disease has been a recognized complication of HIV infection since the onset of the HIV epidemic, but its epidemiology, underlying causes and management has evolved with the increased availability of highly active antiretroviral therapy (HAART). Besides the involvement of HIV itself as a cause of organ damage, the introduction of HAART and other medications frequently used in this population have been followed by an increasing rate of drug-related renal complications. Kidney toxicity produced by drugs may lead to acute kidney injury, chronic kidney disease, and features of proximal tubular injury.

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is currently widely used as an effective first-line therapy, for both HIV and Hepatitis B virus (HBV) infection, due to its excellent properties, combining good potency, tolerability and convenience. Despite demonstration of a relatively good renal safety profile in early prospective trials and postmarketing studies, numerous cohort observational studies and case reports have highlighted cases of renal dysfunction, including the development of Fanconi's syndrome, in patients treated with TDF. An early sign of tubular dysfunction is hypophosphatemia although other signs and symptoms of kidney tubulopathy include glucosuria with normal serum glucose levels, mild proteinuria, acidosis and hypokalemia. The chronic consequences of significant loss of phosphate, proteins and glucose are currently unknown, but an increased risk of premature osteoporosis and osteomalacia is a worrisome complication.

The most frequent risk factors for developing TDF-induced nephrotoxicity include baseline renal dysfunction, low CD4 counts, older age and low body weight. Classic risk factors associated with renal damage in HIV patients such as pre-existing systemic

conditions, HIV itself, ARV therapy or use of nephrotoxic agents may also enhance the potential risk of nephrotoxicity associated with TDF. More recently, TFV plasma levels have been associated with the risk of tubular damage and TDF-associated renal proximal tubulopathy has been linked to genetic variants in transporter proteins involved in TFV excretion.

In light of the above, it seems clear that renal toxicity associated with TDF use exists and therefore, there is a need to identify those at risk, the frequency of the renal dysfunction and to ascertain the most suitable markers that could permit an early recognition of patients at higher risk.

Hypothesis

The variability observed in the characteristics and severity of renal dysfunction associated with TDF use among the exposed patients might be explained in part by the differences in estimating the renal function and the host characteristics, including pharmacokinetic and pharmacogenetic factors. Establishing a threshold for TDF plasma levels associated with renal dysfunction, as well as genetic factors linked with altered renal function, would help to closely monitor those patients who might develop renal impairment.

Aims

1. Development, Validation and Clinical Application of a HPLC-MS/MS method for quantifying Tenofovir plasma levels in HIV patients.
2. Retrospective study of the influence of tenofovir plasma levels in the development of renal impairment in HIV exposed patients. Impact of other anti-retroviral drugs on tenofovir exposure.
3. Association study between genetic polymorphisms, tenofovir plasma levels and renal impairment.

Materials and Methods

Study population. HIV patients on ARV treatment included in this study were retrospectively selected through the Pharmacy Department Data Base. A TDF Group and a Control Group were defined according to the presence of TDF or any other NRTI as part of HAART. Biochemical parameters, HIV related parameters (HIV viral load, CD4 cell counts), concomitant medications and comorbidities were obtained from the medical data records. Renal function was compared between the 2 groups by estimating glomerular and tubular parameters.

Pharmacokinetic analysis. A HPLC-MS/MS method for quantifying Tenofovir plasma levels in HIV patients was performed and validated for its clinical application. Plasma samples were obtained from the same specimen used to quantify the HIV viral load during clinical routine monitoring. Mid-dose TFV concentration (C_{12h}) was measured using the previously validated method mentioned above.

Pharmacogenetic analysis. DNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells by using a QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Single-nucleotide polymorphisms

(SNPs) in gene encoding for the transport proteins MRP2, MRP4, OAT1, OAT4, P-gp and NPT2a were selected on the bases of functional significance and/or reported minor-allele frequencies i.e. >5%.

Statistical analysis. All statistics were conducted using SPSS version 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). Haplotypes for individual samples were constructed using PHASE, version 2.1 (University of Washington, Seattle)

Results

In the present study, we developed and validated an accurate, sensitive and reliable HPLC/MS-MS method for quantifying TDF plasma levels. The linear range of the calibration curve was 10-5000 ng/mL ($r=0.999$). The extraction recoveries were 65%-70% and the relative standard deviations were 4.6%-7.1% for the intra-day and 6.5%-10.2% for the inter-day analysis. The total analysis time of plasma samples, including the extraction process and quantification, was up to 30 minutes.

In order to evaluate renal function, we analyzed both glomerular and tubular markers in a total of 98 patients under TDF treatment and 35 non-TDF exposed patients. The mean time of treatment with either TDF or another ARV regimen was 34 months. The TDF group showed a higher prevalence of altered tubular parameters compared with the control group. There were only significant statistical differences for RTF and β_2 microglobulin altered parameters between the TDF and the control group (41% vs 19%, $p=0.045$ and 17% vs 0%, $p=0.016$, respectively). TFV plasma levels were higher in patients with any altered tubular parameter compared with normal tubular parameters and, yet again, the difference was statistically significant for RTF and β_2 microglobulin. The best TFV plasma concentration threshold to discriminate tubular

dysfunction, using as criteria the 2 aforementioned parameters, was 133.5 ng/mL. Receiving a PI boosted with RTV, in particular, ATV/r, LPV/r and DRV/r was associated with higher TFV plasma concentrations. 48% of patients treated with TDF-IP/r had TFV levels above the cut-off established versus 27% receiving either NNRTI or IP unboosted ($p=0.034$). Multivariate analysis, including all relevant variables, showed that TFV level $> 133.5\text{ng/mL}$ (OR 5.85 IC95% (1.97-17.53), $p=0.002$) and the time on TDF treatment (OR 1.04 IC95% (1.007-1,065), $p=0.017$) were independently associated with altered tubular function.

For the pharmacogenetic study, cases and controls based on the presence or absence of altered RTF were defined. A total of 96 patients were included, of whom 39 (40%) fulfilled the criteria for altered RTF. The single SNP analysis showed a higher percentage of patients with altered RTF among *C* homozygotes at position 669 of *ABCC2* and among those carriers of the *T* allele (*rs3812036*) of *SLC34A1*, compared with the patients with other genotypes (46% vs 23%, $p=0.053$, and 54% vs 30%, $p=0.03$, respectively). According to the haplotypes, only the *ABCC2-CGTC* and *SLC34A1-TT* haplotypes were associated with altered RTF. The presence of the 2 haplotypes together resulted in an increased risk of altered RTF (68% of PPV and NPV, $p=0.006$).

Cases and controls based on the cut-off of TFV previously established were also defined. The CC genotype at position 3435 of *ABCB1* was associated with higher TFV levels (54% vs 30%, $p=0.042$). Moreover, the haplotype *CGC* of *ABCB1* was more prevalent among patients with TFV $>133.5\text{ ng/mL}$, while, the *CGT* haplotype was related to lower TFV levels.

Taking into account all of these factors, regression analysis was performed to determine the predictors of altered RTF in the study population. In the multivariate

analysis the following parameters were independently associated with altered RTF: CD4 cell count (OR:1.00 IC95% (1.002-1.004), $p=0.034$), time on TDF treatment (OR: 1.04 IC95% [1.01-1.007], $p=0.045$), TFV level >133.5 ng/mL (OR:9.68 IC95% (2.57-36.45), $p=0.001$), and presence of the haplotypes *SLC34A1-TT* and *ABCC2-CGTC* (OR:7.76 IC95% (1.62-37.06), $p=0.010$).

Discussion

Tenofovir renal toxicity appears to be linked to tubular damage and therefore, classical markers for monitoring renal function, which mainly assess glomerular function, and as such, would not be advised for early detection of renal impairment. Several studies have shown that the renal dysfunction may affect up to 20% of patients exposed to TDF, however, since no consensus exists in defining the parameters related to renal dysfunction, this percentage might vary between the studies.

In our study, we compared the renal function between one group of patients under TDF treatment and another group not taking TDF. As reported by others, there were only differences between the two groups in terms of tubular parameters, with at least one altered parameter in 61% of patients in the TDF group. The differences between groups were mainly observed for RTF and β_2 microglobulin. These two markers have been proposed as early markers of tubular dysfunction, and moreover, they have been specifically related to TDF renal toxicity.

With regards to TFV plasma levels and renal toxicity, we established a threshold of 133.5ng/mL related with higher risk of altered RTF, and it was shown that patients taking TDF along with IP/r had TFV levels above the threshold, compared with patients taking NNRTI or PI un-boosted as the third drug.

Moreover, we found two polymorphisms associated with altered RTF, one in the renal TFV transporter MRP4 and the other in the transporter of phosphate NTP2a, and another polymorphism in P-gp associated with higher TFV exposure. Polymorphisms in MRP4 have been previously associated with tubular dysfunction, however, to our knowledge, this is the first time that the *3435-ABCB1* C>T polymorphism in the P-gp, which has been previously reported to affect other drug exposure, has been linked with TFV exposure. Interestingly, as far as we are aware, this is also the first study that investigates polymorphisms in the gene that encodes for NTP2a in a HIV population. The NTP2a transporter regulates the re-absorption of phosphate from the urine to the tubular cell, and therefore, polymorphisms affecting its expression might explain the phosphate. Overall, glomerular damage is easy to identify in clinical practice, since monitoring of creatinine clearance is a reliable marker of renal function, but the tubular function is more difficult to assess. Most tubular parameters are not checked on a routine basis in clinical practice and particularly, low molecular weight proteins, tubular enzymes or specific inducible proteins, proposed as new biomarkers, are quite expensive. The determination of RTF might be useful in the clinical setting, since it can be calculated using parameters that are already included in the routine monitoring. The assessment of the tubular function may permit the recognition of kidney abnormalities more frequently in patients treated with TDF. In this regard, information derived from pharmacogenetic and pharmacokinetic studies may help to identify the subset of individuals at greater risk for developing more severe renal injury.

Conclusions

1. The developed method was accurate, sensitive and reliable for quantifying tenofovir plasma concentrations. It would be feasible to introduce it into the clinical monitoring of HIV patients on TDF treatment.
2. Patients treated with TDF were more prone to display altered tubular parameters, RTF being one of the most frequently altered.
3. The best threshold of TFV levels to discriminate altered RTF was 133.5ng/mL. Concomitant use of PI/r, mainly ATV, LPV or DRV, was related to TFV plasma levels over the cut-off.
4. Genetic polymorphisms in gene encoding for TFV transporters as well as phosphate transporters are related to a higher risk of altered RTF.
5. Pharmacokinetic and pharmacogenetic factors related to TDF should be taken into account as a tool to better monitor HIV patients on TDF treatment.

II. INTRODUCCIÓN

1. Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1)

El VIH-1 es un virus ARN perteneciente a la familia Retroviridae, del género Lentivirus y fue descubierto en 1983 como el agente etiológico del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA (Barré-Sinoussi F. et al., 1983; Gallo RC et al., 1983).

Han transcurrido más de 20 años desde la descripción de los primeros casos del VIH-1 en Estados Unidos y aunque el crecimiento global de la epidemia y las nuevas infecciones han ido disminuyendo, las reducciones del número de muertes por SIDA han hecho aumentar el número de personas que viven con el VIH, por lo que la epidemia continúa siendo un problema de salud mundial de gran magnitud. Según el último Informe sobre la Epidemia Mundial de SIDA de UNAIDS, más de 35,3 millones de personas vivían con el VIH en 2012, de los cuales el 69% se concentraba en África subsahariana. Se estima que hubo 2,3 millones de nuevas infecciones por VIH y 1,6 millones de personas murieron por enfermedades relacionadas con SIDA en todo el mundo (<http://www.unaids.org/>).

1.1. Estructura

La partícula viral del VIH es esférica, de aproximadamente unos 110nm de diámetro, y se compone de una envuelta lipídica de origen celular, una cápside icosaédrica o core y una nucleocápside helicoidal, localizada dentro de la cápside, que alberga el material genético del virus.

La envuelta viral está formada por una bicapa lipídica en la que se insertan glicoproteínas de superficie (gp120) y proteínas transmembrana (gp41), codificadas por el gen de la envuelta; a continuación se encuentra la matriz formada por la proteína p17 (MA o de la matriz), seguida de la cápside viral formada por el antígeno p24 (CA o de la cápside) y estabilizada por la proteína p6. En el interior de la cápside se encuentra la nucleocápside, de simetría helicoidal y forma cónica, que alberga el ARN viral en interacción con la proteína p7 (NC o de la nucleocápside), así como enzimas esenciales para su replicación (transcriptasa inversa e integrasa) y proteínas reguladoras (Tat, Rev, Nef, Vif, Vpr, Vpu). La proteasa (PR) viral sin embargo, se encuentra entre la cápside y la matriz. (Emerman M. et al., 1998; Seelamgari A. et al., 2004; Varmus H. et al., 1998) **(Figura 1).**

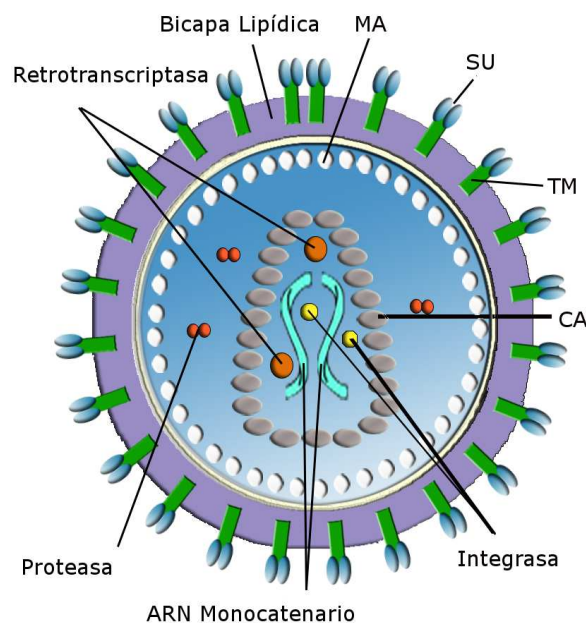


Figura 1. Estructura del virión del VIH-1.

INTRODUCCIÓN

El genoma del VIH-1 tiene una longitud de aproximadamente 9.8 kb y se compone de 2 moléculas de ARN lineales, de cadena sencilla y polaridad positiva ((+)ARNs) físicamente unidas en sus extremos 5' mediante puentes de hidrógeno, lo que hace de la familia de los retrovirus los únicos virus animales cuyo genoma es diploide. Cada molécula de ARN está formada por 9 genes codificantes (**Figura 2**); 3 genes principales: *gag* y *env*, que codifican las proteínas estructurales, y *pol*, que codifica las enzimas virales esenciales para el ciclo replicativo viral; y 6 genes accesorios (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* y *vpu*) que codifican las proteínas reguladoras que, entre otras funciones, permiten establecer las fases de latencia y de expresión del provirus integrado (Tabla 1).

Las regiones LTR (del inglés *Long Terminal Repeat*), no codificantes, flanquean los extremos 3' y 5' del genoma viral, y desempeñan un papel crucial en la replicación del genoma viral así como en su integración al genoma de la célula hospedadora (Karpas A. et al., 2004).

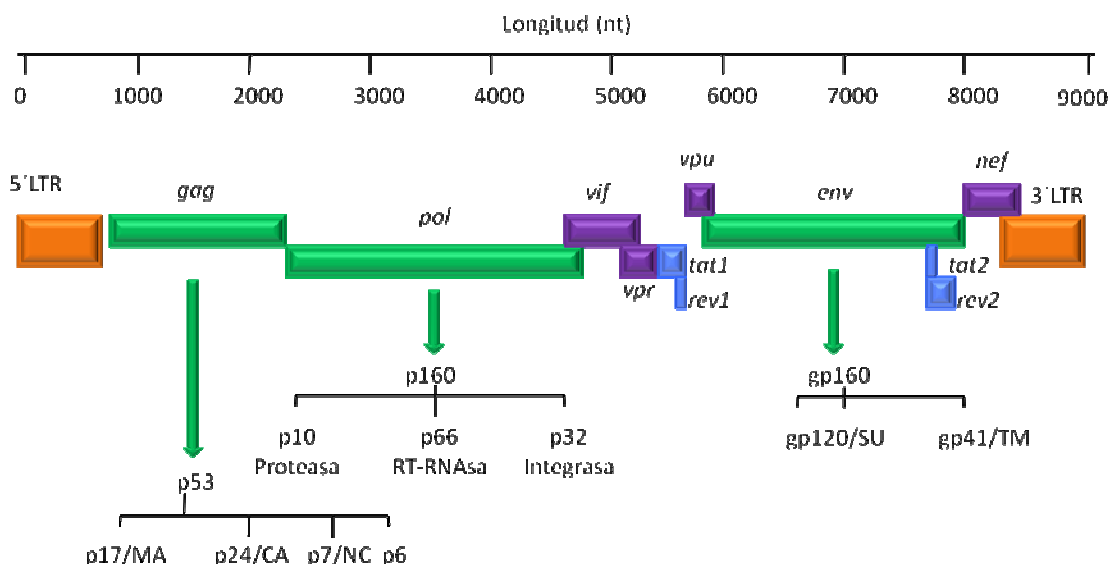


Figura 2. Estructura del genoma del VIH-1.

Gen	Proteína	Función biológica
<i>env</i>	gp120 (SU)	Proteína de superficie de la envuelta. Interacciona con la molécula CD4 y los receptores de quimiocinas CCR5 o CXCR4.
	gp41 (TM)	Proteína transmembrana de la envuelta. Implicada en el anclaje de gp120 y en la fusión de las membranas viral y celular.
<i>gag</i>	p24 (CA)	Proteína estructural que forma la cápside viral.
	p17 (MA)	Proteína estructural que forma la matriz.
	p7 (NC)	Nucleoproteína asociada a las moléculas de ARN genómico.
	p6	Proteína implicada en la liberación del virión.
<i>pol</i>	p10 (PR)	Proteasa viral. Interviene en el procesamiento post-traduccional de gag y gag-pol.
	p66 (RT)	Transcriptasa Inversa (TI): con actividad polimerasa y RNAsa H. Cataliza la copia del ARN viral genómico monohebra a ADN bicatenario.
	p31 (IN)	Integrasa viral. Encargada de integrar el ADN proviral en el genoma de la célula huésped.
<i>tat</i>	Tat	Factor de transactivación transcripcional. Crítica para el inicio y elongación de la transcripción.
<i>rev</i>	Rev	Regulador del transporte y procesamiento del ARNm viral.
<i>nef</i>	Nef	Regulador negativo de CD4 y MHC-I en la membrana celular.
<i>vif</i>	Vif	Factor de infectividad viral que inhibe la acción de las proteínas antivirales celulares, entre ellas APOBEC3G.
<i>vpr</i>	Vpr	Implicada en la integración del genoma viral, la transactivación de genes del hospedador y en la parada del ciclo celular.
<i>vpu</i>	Vpu	Implicada en el bloqueo de CD4 en el retículo endoplásmico para evitar la interacción prematura con gp120 de nueva síntesis.

Tabla 1. Función de las distintas proteínas codificadas por el genoma del VIH-1.

1.2. Ciclo replicativo

El ciclo replicativo del VIH-1 se puede dividir en dos fases, la temprana o preintegración (desde la interacción del virus con la célula diana hasta la integración del ADN viral en el genoma del hospedador) y la tardía o postintegración (desde la transcripción del genoma proviral hasta la liberación y maduración del virión) (Revisado por de Alcamí J, 2008). Estas dos fases comprenden distintas etapas que aparecen resumidas en la **Figura 3**.

a. Entrada del virus en su célula diana mediante la unión específica de la glicoproteína de la envuelta viral gp120 al receptor celular CD4 y posterior interacción con CCR5 o CXCR4 que actúa como correceptor del virus. La unión al correceptor provoca un cambio conformacional en la glicoproteína transmembrana gp41 que promueve la fusión de las membranas viral y celular, lo que conlleva la liberación de la cápside viral en el citoplasma de la célula hospedadora.

b. Retrotranscripción del genoma viral desde (+)ARNss a (+)ADNds viral (también llamado proviral) por la enzima transcriptasa inversa (TI). El dsADN viral es transportado al núcleo de la célula hospedadora acoplado a una serie de factores celulares y virales que constituyen el complejo de preintegración (ADN viral bicatenario, IN, TI, MA, Vpr y la proteína celular HMG-1)

c. Integración del dsADN viral en el genoma celular, mediante las secuencias LTR, por acción de la integrasa viral. El ADN proviral integrado (provirus) puede permanecer latente, replicarse de forma controlada o hacerlo masivamente.

d. Transcripción del ADN proviral a ARN genómico viral y ARNm viral por la ARNpolimerasa II celular y síntesis de otras moléculas de tamaño subgenómico que

se utilizarán como mensajeros. Todos los transcritos generados son modificados por la maquinaria celular antes de ser transportados al citoplasma. Una vez en él, el ARN viral constituye el genoma del nuevo virión, o bien funciona como un ARNm del que se pueden expresar las proteínas del virus.

e. Traducción del RNAm viral por los ribosomas celulares a las distintas poliproteínas virales y procesamiento de las mismas. Durante esta fase, Nef secuestra las moléculas CD4 y MHC-1 de la membrana celular, evitando la presentación de antígenos virales en la superficie celular. Las poliproteínas gag y gag-pol se asocian a la membrana celular a través de la interacción con la cola citoplasmática de TM (gp41).

f. Ensamblaje de las proteínas virales de la cápside y salida del virión de la célula por gemación. La zona de la membrana celular que queda unida a la matriz constituirá la envuelta del virus, que lo protegerá en el medio extracelular y le permitirá continuar con el proceso infeccioso.

g. Maduración del virión fuera de la célula huésped por acción de la proteasa viral (PR), que procesa las poliproteínas precursoras gag y gag-pol para originar las proteínas estructurales maduras que forman la nucleocápside, la matriz y la cápside, constituyéndose finalmente el virión infeccioso.

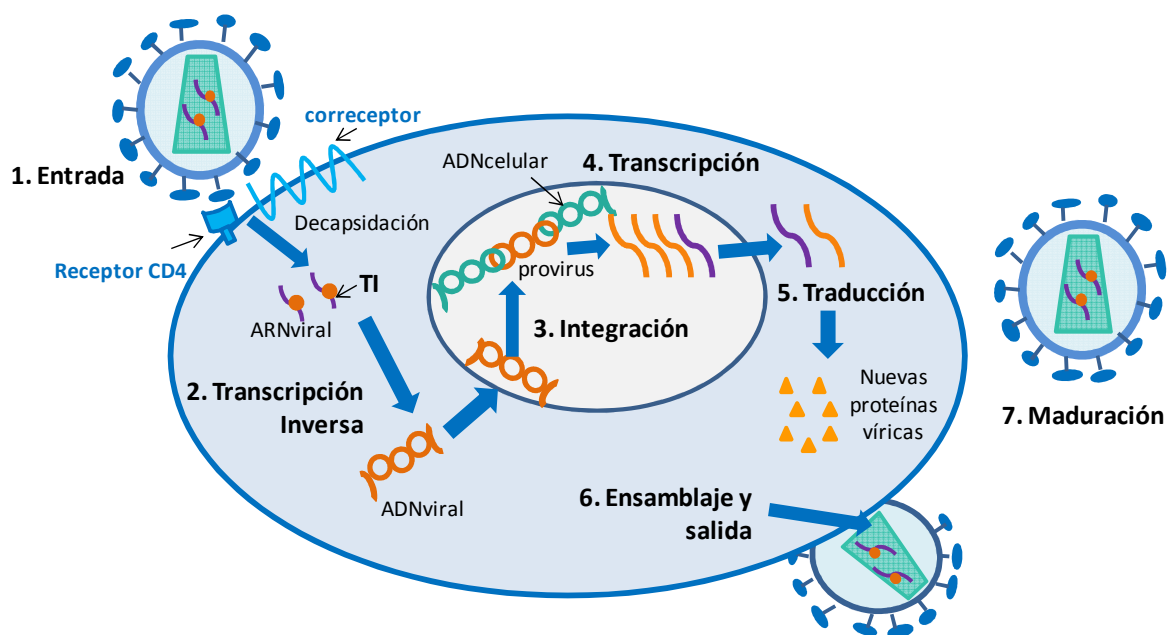


Figura 3. Ciclo replicativo del VIH-1.

1.3. Curso natural de la infección VIH-1.

La infección por VIH es fundamentalmente una infección del sistema inmune cuya principal diana son los linfocitos T CD4+, aunque otros tipos celulares como linfocitos T CD8+, macrófagos, células dendríticas y células del sistema nervioso central pueden verse infectados con menor eficiencia.

Durante las primeras semanas tras la infección, el virus VIH-1 se replica extensamente en los linfocitos T CD4+ del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT), provocando la destrucción de más del 70% de dichas células, que son la barrera ante la entrada de patógenos, y generando elevados niveles de viremia plasmática característicos de la infección aguda (Mehandru S. et al., 2004). Los altos niveles de viremia plasmática

llevan a una rápida diseminación del virus a todos los compartimentos del organismo con la consiguiente formación de reservorios virales.

Durante la fase crónica (varios meses después de la infección), se alcanza un equilibrio entre los mecanismos de replicación viral y los de aclaramiento viral, lo que se refleja en unos niveles de viremia plasmática relativamente estables durante años (en ausencia de terapia antiviral). Además, también se establece un equilibrio entre los mecanismos que inducen destrucción de linfocitos CD4+ y los que intentan compensar esta pérdida. Sin embargo, en la gran mayoría de los pacientes, este equilibrio se desplaza hacia la destrucción de linfocitos CD4+, lo que hace que inexorablemente el pool de estas células vaya disminuyendo gradualmente hasta alcanzar niveles insuficientes para proteger al paciente de la aparición de infecciones oportunistas definitorias de SIDA (Barré-Sinoussi F. et al., 1983; Popovic M. et al., 1984).

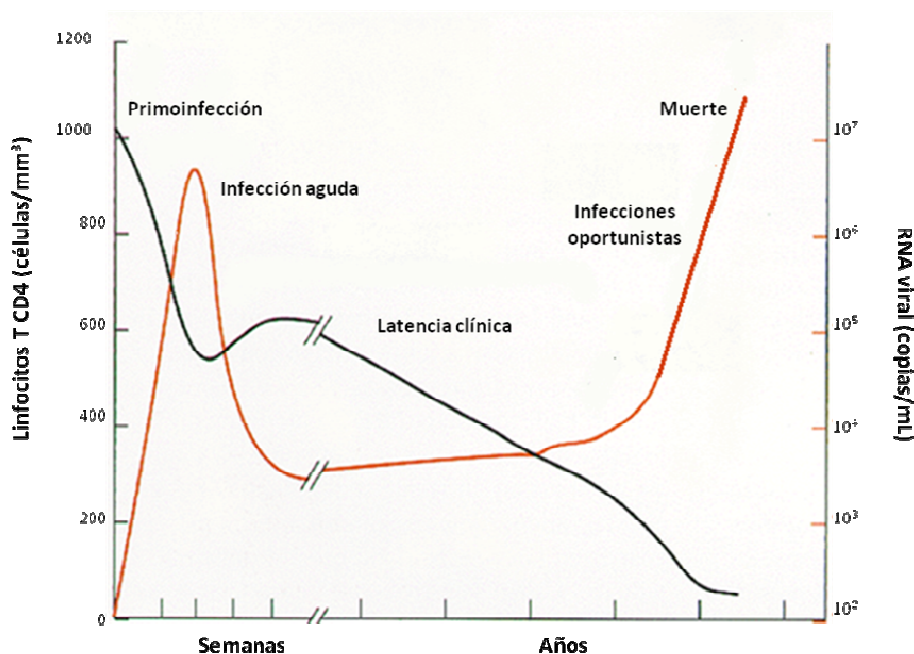


Figura 4. Evolución de la CV y CD4 en la infección por VIH.

2. Tratamiento antirretroviral (TAR).

Desde la identificación del VIH hasta la actualidad, la introducción de distintos fármacos antirretrovirales que actúan en distintas etapas del ciclo viral ha permitido el control y el aumento de la supervivencia de los pacientes infectados con VIH. Uno de los acontecimientos claves de este proceso fue la introducción de la Terapia Antirretroviral de Gran Actividad (TARGA) en los años 90. El TARGA, basado en la combinación de tres fármacos activos, supuso un espectacular cambio en el paradigma de tratamiento de los pacientes con VIH permitiendo una dramática reducción de la morbilidad y mortalidad asociada al VIH.

2.1. Objetivos del tratamiento antirretroviral.

Actualmente los objetivos generales del TARGA engloban:

- supresión máxima y prolongada de la carga viral,
- restitución y/o conservación de la función inmunológica,
- disminución de la morbilidad asociada al VIH,
- mejora de la calidad de vida de los pacientes infectados
- prevención de la transmisión del VIH.

2.2. Fármacos antirretrovirales.

Los fármacos antirretrovirales (ARV) se clasifican en distintas familias atendiendo a su diana farmacológica y mecanismo de acción ([Revisado por Alcamí J, 2008](#)). **(Figura 5)**.

- ***Inhibidores de la entrada:*** agrupa tres clases de fármacos que actúan en distintas etapas: unión del VIH con el receptor CD4, la unión con los correceptores, y la fusión del virus con la célula. En el momento actual, se encuentran aprobados para su uso clínico los antagonistas del correceptor CCR5 y los inhibidores de la fusión (IF).

- ***Inhibidores de la transcriptasa inversa:*** esta clase incluye dos familias de ARV, los análogos de nucleósido/nucleótido (ITIAN/ITIAN(t)) y los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido (ITINAN).

Todos los *ITIAN/ITIAN(t)* necesitan ser fosforilados en el interior celular a sus formas 5'-trifosfato para poder actuar como inhibidores de la TI. Las formas activas actúan como inhibidores competitivos de los sustratos naturales (desoxinucleósidos trifosfato), que al incorporarse a la cadena de ADN en formación, bloquean el proceso de elongación, lo que impide su integración como provirus en el genoma celular. ITIAN e ITIAN(t) se diferencian en el número de fosforilaciones que requieren para convertirse en la forma activa, siendo necesarias tres fosforilaciones para los ITIAN y dos para los ITIAN(t). Los ITIAN disponibles para su uso clínico son Zidovudina (AZT), Didanosina (ddI), Estavudina (d4T), Lamivudina (3TC), Emtricitabina (FTC) y Abacabir (ABC). El único representante de los ITIAN(t) es el Tenofovir (TDF), un profármaco del principio activo tenofovir disoproxil (TFV), que es el que se transforma en el metabolito activo difosfato de tenofovir a nivel intracelular. A efectos prácticos, la abreviatura ITIAN incluirá también al ITIAN(t) TDF cuando se mencionen aspectos generales de esta familia.

Los *ITINAN*, a diferencia de los *ITIAN*, no necesitan ser activados en el interior celular y actúan inhibiendo la *TI* de forma no competitiva (. Se unen de forma directa y reversible a la enzima en un dominio cercano al catalítico (el lugar de unión de los nucleósidos), bloqueando el sitio de unión y enlenteciendo la polimerización. Los *ITINAN* disponibles actualmente para su uso clínico son Efavirenz (EFV), Nevirapina (NVP), Etravirina (ETR) y Rilpivirina (RPV)

- ***Inhibidores de la proteasa (IP)***: se unen en el sitio activo de la *PR* impidiendo la fragmentación de las proteínas *gag* y *gag-pol* para formar los polipéptidos virales funcionales. La inhibición de esta enzima impide la maduración del VIH y evita la generación de nuevos virus con capacidad infectiva. La mayoría de los *IP* se administran junto con ritonavir (RTV) a dosis bajas por su efecto inhibidor del sistema enzimático CYP450, con lo que aumenta la exposición plasmática de los *IP*. Los principales representantes de este grupo son Saquinavir (SQV), Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV), Amprenavir (APV), Atazanavir (ATV), Tipranavir (TPV) y Darunavir (DRV).

- ***Inhibidores de la integrasa (ININ)***: interaccionan con el sitio catalítico de la integrasa alterando su función, de tal manera que se forman dos cadenas de ADN circular, formas abortivas de la integración, que no son capaces de integrarse en el genoma celular. La inhibición de la integrasa impide la posibilidad de latencia viral en la célula hospedadora. El único representante de ese grupo aprobado hasta el momento para su uso clínico es Raltegravir (RAL).

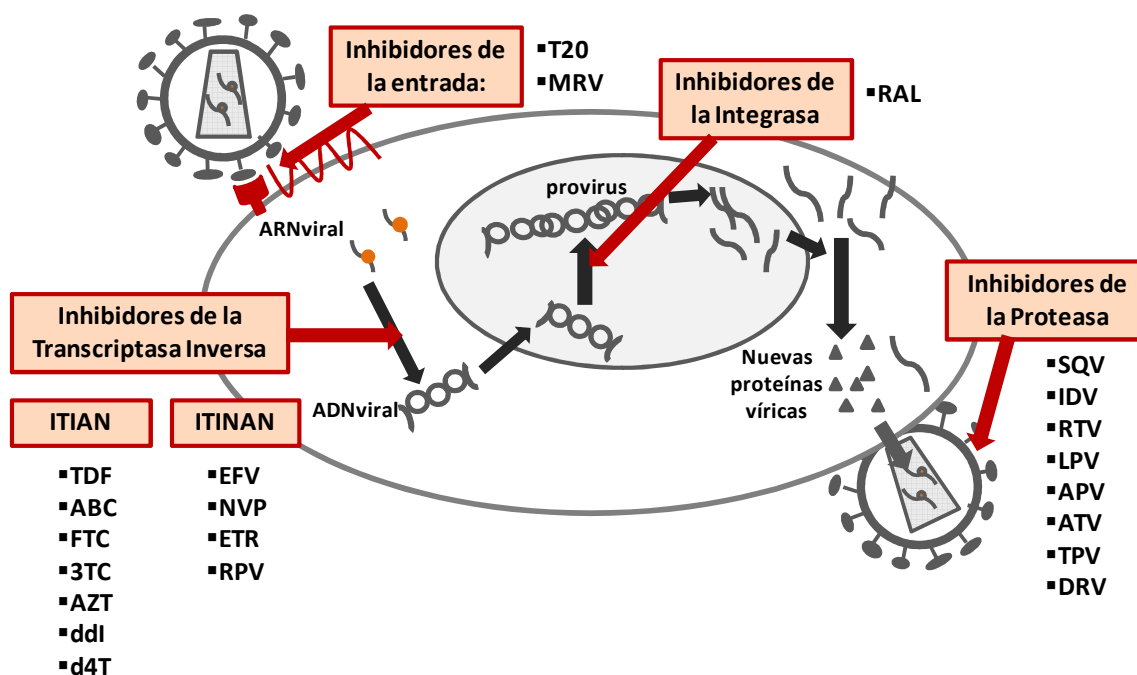


Figura 5. Dianas terapéuticas para el tratamiento del VIH y fármacos pertenecientes a las distintas familias que actúan sobre ellas.

2.3. Componentes del TARGA

En el momento actual, el TARGA debe incluir dos ITIAN asociados a un tercer fármaco que puede ser un ITINAN, un IP potenciado (IP/r) o un InIN.

En la elección del régimen óptimo para cada paciente también hay que considerar algunos factores:

- Dependientes del fármaco: eficacia, potenciales efectos adversos, potenciales interacciones farmacológicas (InIN<ITINAN<IP), barrera genética para el desarrollo de resistencias (mayor en los IP) y conveniencia del régimen (número de pastillas, intervalo de dosis, consideraciones alimenticias).
- Dependientes del paciente: sexo y recuento basal de CD4 (los varones con cifras de CD4 > 400 cels/mm³ o las mujeres con CD4 > 250 cels/mm³ tienen mayor probabilidad

de sufrir hipersensibilidad con NVP), embarazo (AZT indicado siempre que sea posible, EFV contraindicado), presencia de comorbilidades (enfermedades cardiovasculares, hepáticas, renales o psiquiátricas), tuberculosis, drogadicción, adherencia.

- Test genéticos: resultado HLA-B*57:01 en el caso de considerar tratamiento con ABC, tropismo CCR5 en caso de considerar tratamiento con MRV.
- Coste: los ITINAN son los que suponen un menor coste. Además, el momento idóneo para el uso de los ITINAN de primera generación es como tratamiento inicial, ya que en las pautas de rescate tienen menos actividad que otras familias de ARV.

Tratamiento de inicio

Según las últimas guías terapéuticas ([GESIDA](#); [AIDS](#); [EACS 2013](#)), el inicio del TARGA debe estar guiado por las manifestaciones clínicas, el recuento de linfocitos T CD4+, la carga viral plasmática y la presencia de comorbilidades. Se recomienda iniciar TARGA:

- cuando el paciente tenga historia de enfermedad asociada a SIDA o la cifra de CD4 sea < 350 cels/mm³.
- en determinados grupos de pacientes independientemente de la cifra de CD4: mujeres embarazadas, pacientes con nefropatía asociada al VIH y pacientes coinfectados con VHB cuando requieren iniciar tratamiento para la hepatitis B (HBV).
- si la cifra de CD4 se encuentra entre 350 y 500 no hay una recomendación clara. Las guías americanas apoyan una recomendación fuerte-moderada mientras que las guías europeas recomiendan iniciar TARGA sólo ante determinadas situaciones.
- con cifras de CD4 > 500 cels/mm³, las guías americanas realizan una recomendación moderada mientras que las guías europeas recomiendan retrasarlo.

Todos los regímenes de inicio incluyen la combinación de ITIAN Tenofovir/Emtricitabina (TDF/FTC). La adición de EFV como tercer fármaco es la que ha sido más estudiada en ensayos clínicos y por ello, el “gold standard” en terapias de inicio es la combinación de TDF/FTC/EFV (Atripla®). TDF/FTC (Truvada®) junto con un IP potenciado también se considera una combinación de elección en pacientes con alto riesgo de fracaso virológico, debido a que es menos común la selección de resistencias con IP, o en aquellos casos en los que otro ITIAN tiene que ser sustituido para evitar efectos adversos o revertir toxicidades.

Más recientemente, la combinación de TDF con RAL, se ha incluido como una opción más para el tratamiento de inicio gracias a su gran efectividad para conseguir supresión virológica, a su seguridad y al menor número de interacciones farmacológicas. **(Tabla 2).**

Regímenes de elección	
TDF/FTC	EFV
	ATV/r, DRV/r
	RAL
Regímenes Alternativos	
TDF/FTC	NVP, RPV
	LPV/r, FPV/r
	EVG/COBI*
ABC/3TC	EFV, RPV
	ATV/r, DRV/r, LPV/r, FPV/r
	RAL

Tabla 2. Combinaciones de tratamiento antirretroviral. *La combinación TDF/FTC/EVG/COBI (QUAD) se comercializará próximamente. (EFV/COBI: Elvitegravir (InhIn) potenciado con Cobicistat).

Tratamiento de rescate

Ante un fracaso virológico es recomendable cambiar el TAR lo antes posible para evitar el acumulo de mutaciones de resistencia y la elevación de la CV. El tratamiento de rescate debe contener preferiblemente 3 fármacos antirretrovirales totalmente activos y si no fuera posible, se contará con aquellos que conserven la mayor actividad residual y con la mejor tolerancia posible. Se debe realizar un estudio de resistencias y una prueba de tropismo para confeccionar el mejor régimen alternativo.

Simplificación

Otro esquema de tratamiento es la simplificación del TAR, que consiste en cambiar un esquema terapéutico que ha conseguido la supresión de la replicación viral, por otro más sencillo que siga manteniendo dicha supresión. Sus objetivos son mejorar la calidad de vida, facilitar la adherencia, prevenir o revertir algunos efectos adversos y disminuir el riesgo de fracaso virológico. Las simplificaciones de tratamiento más comunes consisten en sustituir un fármaco por otro de la misma familia con ventajas respecto a dosificación y efectos adversos o cambiar un régimen basado en una familia ARV por otra.

2.4. Monitorización de la respuesta al TAR.

El recuento de linfocitos CD4 y la CV plasmática son los parámetros que se emplean para monitorizar la eficacia del tratamiento y tomar decisiones terapéuticas. Además, son factores predictores independientes de la progresión de la enfermedad y aparición de enfermedades no asociadas al VIH.

Existen otros parámetros que, aunque no intervienen en la decisión de iniciar TAR, se deben tener en cuenta en la evaluación inicial o durante el seguimiento de los pacientes como los test de resistencias y de tropismo del virus. (Revisión de las últimas Guías sobre Tratamiento Antirretroviral en Adultos Infectados por el VIH: [AIDS Guidelines 2013](#), [European AIDS Clinical Society 2012](#), [GESIDA/Plan Nacional sobre el SIDA 2013](#), [HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, 2013](#)).

2.4.1. Linfocitos CD4 y CV plasmática del VIH.

El recuento de linfocitos T CD4 es el principal marcador para determinar el inicio del TAR y la necesidad de profilaxis de las infecciones oportunistas. Además, es el mejor indicador de la función inmune y predictor de la progresión de la enfermedad por VIH. El recuento de linfocitos CD4 debe realizarse de forma basal en todos los pacientes infectados, debe monitorizarse en los pacientes que no reciben TAR cada 3-6 meses y en los pacientes con TAR que han conseguido un nivel adecuado de CD4, cada 6-12 meses, a menos que existan cambios en el status clínico del paciente.

La viremia plasmática o carga viral (número de copias de ARN del VIH por mL de plasma) es el mejor indicador de respuesta al tratamiento antirretroviral y también puede ser útil en la predicción de la progresión clínica.

Se define como supresión óptima de la carga viral un valor de CV de forma persistente por debajo de los límites. En los pacientes con CV controlada pueden existir brotes transitorios de viremia, en torno a 50-200 copias/mL (blips), que vuelve a ser

indetectable de forma espontánea sin cambio de tratamiento, y no se asocian con fracaso virológico.

Se define como fracaso virológico la existencia de CV detectable a las 24 semanas de iniciar TAR por encima de 200 copias/mL o si tras alcanzar CV indetectable ésta vuelve a ser detectable en dos determinaciones consecutivas.

La CV debe determinarse antes de iniciar TAR, y preferiblemente entre la semana 2 y la 4 después de iniciar tratamiento o después de un cambio, así como cada 4-8 semanas hasta que se alcanza CV indetectable. A partir de este momento, las determinaciones deben realizarse cada 3-4 meses o incluso cada 6 meses en pacientes buenos adherentes, que mantienen CV indetectable durante más de 2-3 años y que están clínica e inmunológicamente estables.

2.4.2. Resistencias al tratamiento.

El VIH presenta una gran variabilidad genética debido a la ausencia de actividad correctora de errores de la TI, a su elevada tasa de replicación (10^{10} partículas virales/día) y a su elevada tasa de recombinación genética. Todo ello hace posible que en un momento determinado puedan existir en cada sujeto infectado todas las posibles variantes del virus, lo que se conoce como estructura genética de cuasiespecies. Los tests de resistencias deben realizarse antes de iniciar el TAR para guiar la elección del régimen más adecuado, en caso de cambio de tratamiento por fracaso virológico con CV > 1000 copias/mL, caída de carga viral subóptima, y en todas las mujeres embarazadas antes de empezar tratamiento ó en aquellas que se quedan embarazadas estando en tratamiento con niveles detectables de CV.

2.4.3. Ensayos de tropismo viral.

Antes de iniciar tratamiento con antagonistas de CCR5 se requiere la determinación del tropismo viral ya que la detección de variantes X4-trópicas se ha asociado a fracaso virológico.

2.4.4. Test HLA-B*57:01.

La reacción de hipersensibilidad (RHS) a ABC suele aparecer durante las primeras 6 semanas de tratamiento con una prevalencia entorno al 5-8% y es una de las principales causas de discontinuación de ABC. Se caracteriza por ser un síndrome multiorgánico que se manifiesta con fiebre, mialgias, síntomas respiratorios, gastrointestinales o un exantema, pudiendo llegar a ser letal en caso de seguir tomando el fármaco o reintroducirlo.

Estudios farmacogenéticos han identificado que la RHS ocurre en las personas portadoras del alelo HLA B*57:01. Se ha visto que la raza es un factor de riesgo para la RHS a ABC, siendo de un 5-8% en raza blanca y de un 2-3% en raza negra. La validez de este test ha sido comprobada tanto en población blanca como negra y su determinación en el momento del diagnóstico o previa al uso de ABC está recomendada en todas las guías de tratamiento para el VIH.

2.4.5. Monitorización de concentraciones plasmáticas (MCP)

La monitorización de concentraciones plasmáticas (MCP) es una herramienta que busca individualizar la dosis de un fármaco en función de las concentraciones

plasmáticas del mismo para conseguir el máximo beneficio terapéutico con el menor riesgo de efectos adversos.

Los fármacos tienen que cumplir una serie de requisitos para poder ser monitorizados:

1. Correlación entre la concentración de fármaco en el sitio de acción y la concentración plasmática.
2. Correlación entre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos.
3. Rango terapéutico definido y relativamente estrecho (pocas diferencias entre las dosis terapéuticas y las dosis tóxicas)
4. Alta variabilidad interindividual. Diversos factores pueden influir en la variabilidad interindividual: peso, sexo, tipo y cantidad de comida ingerida, interacciones con fármacos administrados concomitantemente, enfermedades gastrointestinales, insuficiencia hepática, insuficiencia renal, polimorfismos en las enzimas que metabolizan dichos fármacos y/o en las proteínas que los transportan, etc.
5. Baja variabilidad intraindividual en las concentraciones plasmáticas (hasta un 30-45%). Si las concentraciones de un mismo individuo varían mucho sin razón aparente, es difícil hacer una recomendación de ajuste de dosis.
6. Contar con una técnica analítica exacta, precisa, sensible, específica, reproducible, barata y que requiera pequeños volúmenes de muestra.

Datos derivados de estudios prospectivos demuestran que la MCP mejora la respuesta virológica y/o disminuye la incidencia de efectos adversos relacionados con la terapia.

Concretamente, la MCP de ITINAN e IPs puede ser una herramienta útil en el manejo de la infección por VIH ya que, al permitir un ajuste individualizado de la pauta posológica se evitaría una exposición subterapéutica o tóxica al fármaco. (Back. D. et

al., 2002; Boffito M. et al., 2005; Duong M. et al., 2004; Rendon A. et al., 2005). En el caso de los ITIAN, que se administran en forma de profármaco, las concentraciones plasmáticas de las formas inactivadas no serían a priori un buen indicador de su actividad antiviral. Las concentraciones intracelulares de las formas trifosfato sí han demostrado tener una buena correlación con la respuesta al tratamiento y la toxicidad (Anderson PL. et al., 2004; Courtney V. et al., 2000; Fletcher CV et al., 2000 y 2002), pero las técnicas de cuantificación de estas formas son más complejas y costosas. A pesar de ello, algunos estudios han demostrado la utilidad de mantener unas concentraciones plasmáticas controladas de ITIAN para obtener así mayores concentraciones intracelulares de las formas trifosfato y mejor respuesta virológica. (Baheti G et al., 2011; Fletcher CV et al., 2002).

- ***Escenarios que justifican el uso de la MCP***

La MCP se debe usar en aquellas situaciones en las que se sospeche de una eficacia reducida o toxicidad incrementada del tratamiento. Su introducción en la rutina clínica puede ofrecer grandes beneficios en las siguientes situaciones:

1. Inicio de un nuevo TAR. La posibilidad de detectar niveles subterapéuticos al inicio del tratamiento puede permitir una intervención temprana para evitar la selección de mutaciones de resistencia.
2. Fracaso virológico/falta de respuesta virológica esperada. La MCP puede ser útil en pacientes con una tasa de caída de la CV lenta, con rebrote de CV después de una respuesta inicial y en aquellos que responden al TAR pero tienen frecuentes blips, lo que puede terminar en la selección de virus resistentes y

- fracaso virológico. La capacidad para detectar bajas concentraciones puede ayudar a seleccionar un nuevo TAR o alertar al clínico de que el paciente podría estar en riesgo de bajas concentraciones incluso con un nuevo TAR.
3. Toxicidad. (Siempre que la toxicidad sea dependiente de la concentración). Se ha demostrado la correlación entre las concentraciones de diversos fármacos antivirales y el desarrollo de toxicidad. Tal es el caso de la toxicidad renal por TDF, la nefrolitiasis por IDV, el aumento en lípidos séricos por LPV, la hiperbilirrubinemia por ATV, la hepatotoxicidad por NVP o la toxicidad neurológica por EFV. La MCP puede guiar las decisiones para hacer un ajuste de dosis y evitar toxicidad manteniendo la supresión virológica. Sin embargo, hay que tener en cuenta que no todos los fármacos tienen definida una concentración a partir de la cual existe riesgo de desarrollar toxicidad.
 4. Interacciones farmacocinéticas. Los ARV son fármacos con potencial para provocar interacciones farmacocinéticas ya que muchos de ellos inhiben o inducen isoformas del CYP450 y/o proteínas transportadoras de fármacos. Además, debido al aumento de la esperanza de vida de los pacientes VIH, el incremento de la polimedicación aumenta la probabilidad de interacciones farmacocinéticas.
 5. Adherencia. El incumplimiento es probablemente uno de los factores más importantes en el desarrollo de fracaso virológico, por lo que sería de gran ayuda tener un método simple, objetivo y eficaz para medir la adherencia.
 6. Regímenes posológicos no aprobados. Uso de regímenes de dosificación alternativos que no se han establecidos en ensayos clínicos.

7. Poblaciones especiales: pacientes que, debido a una situación fisiológica o patológica, pueden tener parámetros farmacocinéticos alterados con respecto a la población general, existiendo riesgo de que las concentraciones plasmáticas sean subóptimas o tóxicas.
- Pacientes con peso corporal muy bajo o muy alto.
 - Pacientes con enfermedades gastrointestinales que tienen la absorción limitada.
 - Pacientes con insuficiencia hepática: tienen la capacidad metabólica reducida, por lo que el riesgo de alcanzar concentraciones tóxicas es mayor, especialmente con aquellos fármacos que se eliminan mayoritariamente por vía metabólica.
 - Pacientes con insuficiencia renal: la excreción de fármaco está limitada, por lo que hay mayor riesgo de alcanzar concentración tóxicas, especialmente si los fármacos se eliminan mayoritariamente por vía renal como la mayoría de los ITIAN.
 - Niños: todos los procesos farmacocinéticos experimentan profundos cambios a lo largo del crecimiento.
 - Embarazadas: los cambios fisiológicos que se producen durante el embarazo afectan a la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos. La MCP durante el embarazo puede jugar un papel muy importante ya que es imprescindible asegurar concentraciones óptimas para evitar la transmisión de la infección al feto.

- **Limitaciones MCP**

Existen varios factores que limitan el uso de la MCP de rutina en la práctica clínica para el manejo de los pacientes VIH:

- Falta de estudios prospectivos con un mayor número de pacientes que demuestren que la MCP mejora el resultado clínico y virológico.
- Falta de rangos terapéuticos para todos los ARV de forma que se pueda relacionar la concentración plasmática con alcanzar la respuesta terapéutica deseada o reducir la frecuencia de las reacciones adversas asociadas.
- Variabilidad intraindividual en las concentraciones de los ARV.
- Falta de laboratorios especializados que dispongan de las técnicas adecuadas para cuantificar las concentraciones de ARV
- Falta de personal experto en la interpretación de los datos y la aplicación de los mismos para revisar la dosificación de los pacientes.

3. Efectos adversos asociados al tratamiento antirretroviral

La toxicidad farmacológica del TAR puede abordarse desde el punto de vista de la familia ARV (toxicidad de clase) o de los órganos afectados (**Figura 6**). Además, dentro de cada familia, cada uno de los fármacos presenta efectos adversos (EA) individuales.

Los EA característicos de los IP son: la intolerancia digestiva (náuseas, vómitos, diarrea) a corto plazo y alteraciones metabólicas (dislipemia, resistencia insulínica, hiperglicemia), alteraciones en la distribución de la grasa corporal (lipohiperatrofia) y

cardiopatías y osteopenias, a largo plazo. La prevalencia de estos EA varía entre un 25-50% entre los diferentes IP (Boesecke C. et al., 2008).

Los ITINAN se caracterizan por producir reacciones de hipersensibilidad con una prevalencia del 10-20%. En el caso de la NVP, los más característicos son la aparición de exantema cutáneo durante las 4 primeras semanas de tratamiento hasta en un 15% de los pacientes y la hepatotoxicidad. Para el EFV, los más frecuentes son la toxicidad del sistema nervioso central (mareo, insomnio, somnolencia, trastornos de la concentración y sueños anormales) y, en menor grado, la toxicidad cutánea que suele aparecer durante las primeras 2 semanas de tratamiento. En el caso de la ETR, no presenta los EA relacionados con los ITINAN convencionales si no que produce EA gastrointestinales y cefaleas (Loech et al., 2003; Miller V et al., 1997).

Todos los ITIAN producen toxicidad mitocondrial a largo plazo hasta en un 20-40% de los pacientes. La toxicidad puede afectar a la médula ósea, o manifestarse en forma de lipoatrofia, neuropatía, miopatías, cardiopatías, pancreatitis y, excepcionalmente, acidosis láctica. Dentro de la familia, los EA individuales más característicos son la mielotoxicidad por AZT, pancreatitis asociada a ddl, lipoatrofia por D4T, e hipersensibilidad debida a ABC. Los ITIAN FTC, 3TC y TDF son bien tolerados y la toxicidad descrita con estos fármacos es excepcional. En el caso del TDF, el principal EA es la nefrotoxicidad, debida principalmente a daño tubular renal. Además se ha descrito una mayor pérdida de masa ósea en pacientes que inician TDF en comparación con ABC. Debido al amplio uso de TDF en la práctica clínica, las implicaciones de esta alteración a largo plazo constituyen un campo de estudio en

auge que merece una atención especial en el apartado siguiente (Brinkman K., et al, 1999; Kinai E. et al, 2009; Mallal S. et al., 2002).

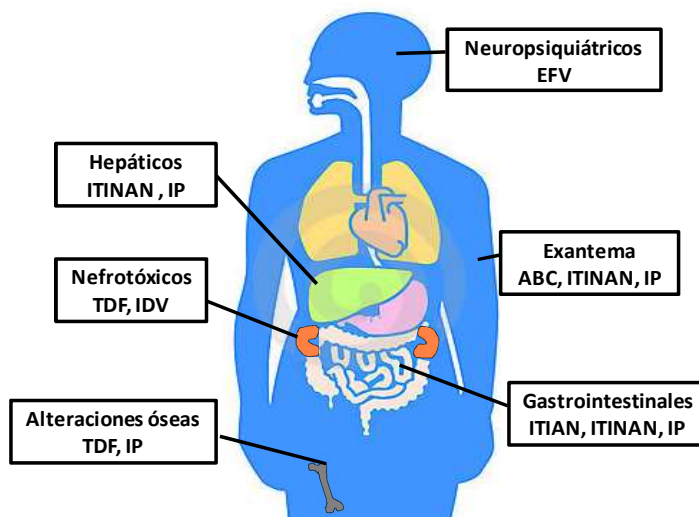


Figura 6. Resumen de los efectos adversos más característicos de los distintos ARV sobre los distintos órganos y sistemas.

Otros fármacos, como el T20, MRV o RAL, presentan EA leves o moderados. El T20 no suele causar EA sistémicos, pero la aparición de reacciones dolorosas en el lugar de la inyección ha limitado su uso a largo plazo. Respecto al RAL y MRV, los EA son poco frecuentes y en ensayos clínicos no hubo diferencias entre el grupo de tratamiento y el grupo control.

4. Nefrotoxicidad asociada al tratamiento con Tenofovir

Diversos estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que las enfermedades renales son más frecuentes en los pacientes con infección por VIH que en la población general, hasta un 30% de los pacientes pueden presentar algún tipo de alteración renal

(Gupta SK et al, 2005; Lucas GM. et al., 2007; Wyatt CM. et al., 2006). Entre los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de enfermedad renal se encuentran:

- factores demográficos como la raza negra, edad avanzada y peso corporal bajo;
- enfermedades concomitantes como hipertensión, diabetes, hepatitis crónica por los virus VHC o VHB, enfermedad renal previa u otras enfermedades metabólicas o vasculares;
- factores asociados con la infección por VIH como un recuento bajo de linfocitos CD4, CV alta o diagnóstico previo de SIDA;
- uso de determinados fármacos ARV (TDF, ATV, IDV) u otros agentes nefrotóxicos (anti-inflamatorios no esteroides, aminoglucósidos, anfotericina B, cidofovir, aciclovir, cotrimoxazol, foscarnet)

En la era pre-TARGA, la patología renal más común en los pacientes VIH era la nefropatía asociada a VIH (NAVIH), cuya prevalencia es mayor en individuos de raza negra y suele presentarse en fases avanzadas de la infección no controlada o no tratada. Esta patología renal es debida al efecto directo del virus sobre las células renales. Con la introducción del TARGA, la naturaleza de la patología renal asociada al VIH ha cambiado, siendo menos frecuente el daño debido al efecto del virus mientras que ha cobrado mayor importancia el daño debido al tratamiento ARV.

Algunos de los efectos adversos del TAR a nivel renal son: proteinuria, daño tubular, nefritis intersticial, nefrolitiasis y disminución de la tasa de filtrado glomerular (TFG).

Los fármacos que más se han relacionado con alteraciones a nivel renal son los IP indinavir y atazanavir, que causan nefrolitiasis y nefritis intersticial, y el ITIAN

tenofovir, que causa daño tubular (Anderson PL. et al., 2007; Berns JS. et al., 2006; Dieleman JP. et al., 2002).

4.1. Mecanismos de toxicidad renal asociado al uso de Tenofovir.

El mecanismo por el cual el TDF causa daño tubular renal no está bien esclarecido.

Se ha postulado que la toxicidad podría deberse a la acumulación del fármaco en el interior celular, pudiendo causar daño mitocondrial y/o interferir con las funciones normales de la célula.

La hipótesis más ampliamente aceptada es la mediada por la toxicidad mitocondrial, debido a la inhibición de la ADN polimerasa γ , lo que conlleva una disminución del ADN mitocondrial (ADNmt). Esto se ha relacionado con anomalías estructurales que incluyen depleción mitocondrial y cambios en la forma y tamaño de las mitocondrias. También se produce una depleción de enzimas celulares y de ATP, pérdida de la funcionalidad mitocondrial e incluso apoptosis por liberación de proteínas mitocondriales activadoras de rutas de apoptosis (**Figura 7**). Esta toxicidad mitocondrial se ha descrito para cidofovir y adefovir, y debido a la similitud estructural del TDF con estos análogos de nucleótidos, se especula que también el TDF podría ejercer este tipo de daño celular (The ADHOC trial, 2002; Cihlar T. et al, 2001; Kahn J. et al., 1999). A pesar de que los primeros estudios en líneas celulares humanas evidenciaron que TDF es un inhibidor débil de la ADN polimerasa γ , produciendo menor depleción de ADNmt en comparación con otros ITIAN y menor citotoxicidad que su análogo cidofovir (Birkus G et al. AAC 2002, Cihlar T. et al., 2002); estudios más

recientes han demostrado que TDF causa disminución del ADNmt, anomalías estructurales y depleción de las mitocondrias (Côté HC. et al., 2006; Herlitz L. et al. 2010; Kohler et al., 2009; Lebrecht D. et al., 2009).

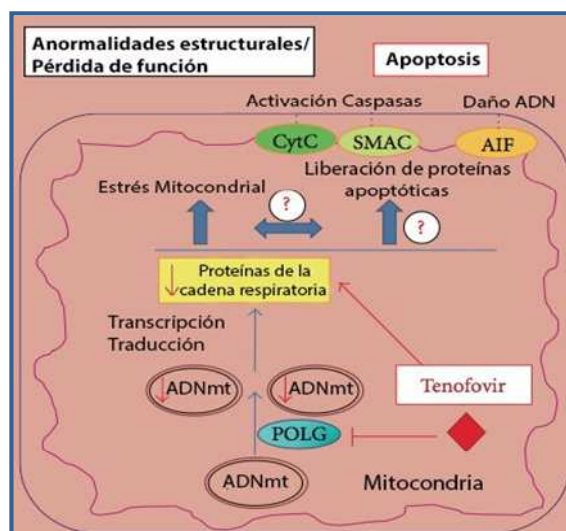


Figura 7. Posible mecanismo molecular implicado en la toxicidad mitocondrial de TFV. POLG: ADN polimerasa γ ; CytC: proteína mitocondrial Citocromo C; SMAC: Segundo activador de caspasas derivado de la mitcondria ; AIF: Factor inductor de la apoptosis. Adaptado de Fernández-Fernández B. et al. AIDS Research and Treatment 2011.

La hipótesis sobre la interferencia con la funcionalidad normal de la célula está menos estudiada. Esta alteración de las funciones normales de la célula podría deberse a la interacción con proteínas de transporte localizadas en las membranas de la célula renal, OATs (proteínas transportadoras de aniones orgánicos) y MPRs (proteínas de multirresistencia a fármacos). En estudios animales, se ha descrito que adefovir y cidofovir interfieren con la función del transportador MPR4. En cuanto al efecto del TFV, se ha demostrado que TDF produce una inhibición concentración-dependiente de las proteínas MRPs y es capaz de inducir una regulación a la baja de genes que codifican para proteínas transportadoras de otros compuestos, como por ejemplo, el

transportador de sodio-fosfato subtipo IIa (NaPiIIa o NPT2a) o el intercambiador de sodio/hidrógeno 3 (NHE3) (Liborio AB. Et al., 2008; Weiss J et al., 2007). La interacción competitiva con otros sustratos o la existencia de polimorfismos genéticos que modulen la expresión de las proteínas de transporte podrían explicar la acumulación intracelular y la consiguiente toxicidad.

4.2. Experiencia con TDF

La prevalencia de nefrotoxicidad entre los pacientes VIH que reciben TDF se ha estimado en un 1-2%, según los datos derivados de estudios clínicos en distintas cohortes de pacientes VIH (Cassetti I. et al., 2007; Gallant JE. et al., 2008; Izzedine H. et al., 2007; Post FA. et al., 2010; Pozniak AL. Et al., 2006). Estos estudios no asociaron el uso de TDF con una mayor disminución de la función renal, estimada por la TFG, en comparación con otros ARV ni en combinación con ITINAN o IP (Gerard L. et al., Nelson MR. et al., 2007; Young J. et al., 2012). Sin embargo, cada vez son más los estudios y series de casos que alertan sobre el daño renal en pacientes con TFG normal que están expuestos de forma prolongada a TDF. En estos estudios, los pacientes con nefrotoxicidad tenían, con frecuencia, algún factor de riesgo previo, recibían medicación nefrotóxica o estaban en tratamiento con ddl o IPs. (Calza L. et al., 2013; Fux C.A. et al., 2007; Goicoechea M. et al., 2008; Peyrere H. et al., 2004; Zaidan M. et al., 2013; Zimmerman AE. et al., 2006).

El uso concomitante de TDF y ddl, o historia previa de tratamiento con ddl, se ha relacionado con mayor riesgo de nefrotoxicidad. La interacción se debe a que el TDF aumenta la exposición de ddl, que se sabe que causa toxicidad mitocondrial, lo que

contribuiría al daño renal (Côté HC. et al., 2006; Lopez S. et al., 2006). Esta combinación de tratamiento fue aprobada en el año 2004 como una alternativa en el tratamiento de inicio, pero en la actualidad la combinación de estos dos fármacos no está indicada.

En cuanto a la combinación TDF-IPs, los estudios farmacocinéticos han demostrado que la administración de TDF con IP/r, principalmente ATV y LPV, conlleva un incremento de la exposición de TFV, alrededor de un 24-34%, debido probablemente a un aumento de su absorción intestinal o a una reducción del aclaramiento renal (Cihlar T. et al., 2007; Kearney BP. et al., 2006). Se ha postulado que el efecto sobre el riñón podría deberse a interacciones entre TDF e IPs sobre las proteínas de transporte de análogos en la célula tubular renal y en los enterocitos. **(Figura 8)**. Los IP interactúan con las proteínas P-gp y MRP2, por lo que podrían inhibir la secreción de TFV hacia el lumen tubular, aumentando así la concentración intracelular (Kiser JJ. et al., 2008). Así mismo, se ha demostrado que los IP son capaces de aumentar las concentraciones de TFV circulante por inhibición de la P-gp y de las esterasas a nivel intestinal. Se ha visto que esta inhibición es concentración-dependiente y que la magnitud de la interacción depende de la capacidad de los distintos IP para inhibir tanto el transporte por la P-gp como la degradación por las esterasas (Tong L. et al., 2007).

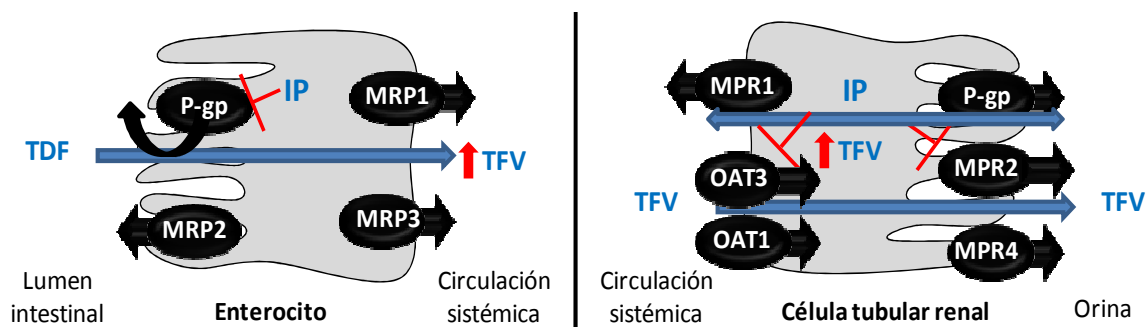


Figura 8. Posibles mecanismos implicados en el aumento de la exposición de TDF cuando se administra con IP.

La toxicidad renal puede manifestarse como una patología aguda, enfermedad renal crónica (ERC) o como daño tubular proximal (DTP). En la mayoría de los casos, los pacientes desarrollan tubulopatía, caracterizada por la eliminación de sustancias en orina que normalmente se filtran en el glomérulo y se reabsorben en el túbulo proximal (proteínas de bajo peso molecular, fosfato o glucosa). Lo habitual es que los pacientes presenten tubulopatía moderada, con hipofosfatemia, glucosuria normoglucémica y proteinuria variables, y ocasionalmente, pueden desarrollar síndrome de Fanconi (SF) (Ezinga M. et al., 2012; Mathew G. et al., 2006; Rodríguez-Nóvoa S., et al., 2010; Vilches-Aparicio V. et al., 2010; Wood S.M., et al., 2009). El SF se caracteriza por la presencia de glucosuria en ausencia de hiperglucemia, acidosis metabólica y osteomalacia. Aún no se conocen las consecuencias de la pérdida de fosfato, proteínas y glucosa a largo plazo, pero el riesgo de desarrollar fracturas, osteopenia y osteomalacia constituye una preocupación añadida. Algunos estudios han asociado el uso de TDF también mayor pérdida de la densidad mineral ósea (Cooper RD. et al., 2010; Haverkort M.E. et al., 2011; McComsey G.A., et al., 2011; Stellbrink HJ. et al; 2010; Woodward C.L. et al. 2009), así como con la aparición de hiperparatiroidismo secundario y niveles bajos de vitamina D, contribuyendo a un mayor riesgo de osteopenia y osteoporosis (Childs KE. et al., 2010; Rosenvinge MM. et al., 2010).

Recientemente, algunos estudios han demostrado que existe una asociación entre la toxicidad renal debida a TDF es concentración-dependiente (Ezinga M. et al., 2012; Calcagno A., et al., 2013, Giacomet V. et al., 2013; Poizot-Martin I. et al., 2013; Rodríguez-Nóvoa S., et al., 2010; Ter Heine R., et al., 2009) por lo que la administración

conjunta de TDF con fármacos que reducen la función renal o que compiten por proteínas de transporte a nivel renal, puede resultar en un aumento de las concentraciones plasmáticas de TFV, incrementando así el riesgo de toxicidad.

5. Monitorización de la función renal.

Según las recomendaciones de las guías para la evaluación y tratamiento de las alteraciones renales en pacientes con VIH, la monitorización de la función renal debe incluir un estudio renal básico en todos los pacientes que puede ampliarse con otras pruebas complementarias en determinadas situaciones ([European AIDS Clinical Society 2012](#), [GESIDA/Plan Nacional sobre el SIDA 2013](#))

5.1. Estudio renal básico

Se recomienda en todos los pacientes en el momento del diagnóstico, al iniciar TAR, y durante el seguimiento posterior, de forma anual o más frecuente según evolución y factores de riesgo para el desarrollo de nefropatía. En el caso de los pacientes que empiezan tratamiento con TDF, la evaluación debe ser mensual durante el primer año de tratamiento y posteriormente, cada 3 meses. Este estudio debe incluir:

- **Marcadores de filtrado glomerular (FG):**
 - La determinación de la *concentración sérica de creatinina (CrS)* forma parte de los controles periódicos que se realizan a los pacientes con infección por VIH, sin embargo, no es una herramienta exacta para evaluar el FG ya que se ve influida por distintas

fuentes de variabilidad biológica, interferencias analíticas y problemas de estandarización entre laboratorios. Además se precisan descensos del FG de hasta un 50% para que la CrS se eleve por encima del intervalo de referencia.

- *El aclaramiento de creatinina (ClCr)* da un resultado más exacto del FG, sin embargo, su determinación es compleja y puede resultar impreciso debido a los inconvenientes asociados a la recogida de la orina de 24 horas. Además, sobreestima el verdadero valor del FG en individuos con función renal normal.

- En la actualidad se recomienda el uso de *fórmulas* que permiten estimar el FG a partir de variables como la CrS, edad, sexo, peso y raza. Las fórmulas más conocidas y validadas en distintos grupos de población son la ecuación de *Cockcroft-Gault (CG)* y la ecuación *MDRD* (del inglés Modification of Diet in Renal Disease) ([Cockcroft D.W., et al. 1976](#); [Levey A.S., et al. 1999](#)). Estas fórmulas son más exactas que la determinación a partir de creatinina y evitan el inconveniente de la recogida de orina de 24 horas, sin embargo, hay que tener en cuenta:

- la ecuación *CG* puede sobreestimar el FG cuando está en rangos normales (>90 mL/min/1,73 m²).

- *MDRD* está validada en pacientes con FG entre 20-60 y subestima al paciente con tasas de FG en rangos normales.

- Ambas se ven afectadas por cambios en la masa corporal, circunstancia relativamente frecuente en los pacientes con infección por VIH.

Hasta la fecha, la fórmula más recomendada es la fórmula simplificada de *MDRD*, *MDRD-4* o la calculada empleando un método de creatinina estandarizado, *MDRD-IDMS*.

Otros grupos están trabajando en otras fórmulas para mejorar la precisión y exactitud de las ecuaciones anteriores, como la ecuación *CKD-EPI* (del inglés Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), que incluye como variables la CrS (empleando un método de Cr estandarizado para su determinación), la edad, el sexo y la etnia. Esta ecuación disminuye el número de pacientes clasificados como FG < 60 mL/min/1,73 m² asignándoles estadios de FG más elevados (Levey AS., et al, 2009; Stevens LA., et al., 2011)

En la población general se considera normal un valor de TFG > 90 mL/min/1.73m² y una reducción persistente de menos de 60 mL/min/1.73m² indica ERC, que se asocia a una mayor progresión a fallo renal y a muerte prematura por enfermedad cardiovascular.

- **Marcadores urinarios de daño renal:**

- La presencia de *proteinuria* por encima de la excreción fisiológica máxima diaria (<150mg/día) es un marcador más precoz de enfermedad renal que la TFG. Evaluar si existe o no proteinuria y el rango de ésta es importante para diferenciar si existe daño glomerular (detección en orina de proteínas de gran tamaño que se han filtrado, especialmente albúmina) o tubular (proteínas de bajo peso molecular, como la β₂ microglobulina, que no se han reabsorbido) (**Figura 9**).

Para la determinación de la proteinuria se emplean las tiras reactivas (dipstick), que proporcionan un resultado aproximado de la intensidad de la proteinuria (algunas con rangos de detección de microalbúmina). Si se obtiene un resultado positivo (1 cruz o más), se debe realizar una valoración ampliada mediante la determinación del cociente proteína/creatinina.

- La presencia de *glucosuria* en ausencia de hiperglucemia (glucosuria normoglucémica) constituye un marcador de disfunción tubular que puede ser útil para diagnosticar el síndrome de Fanconi de forma temprana. Se detecta también mediante la tira reactiva.

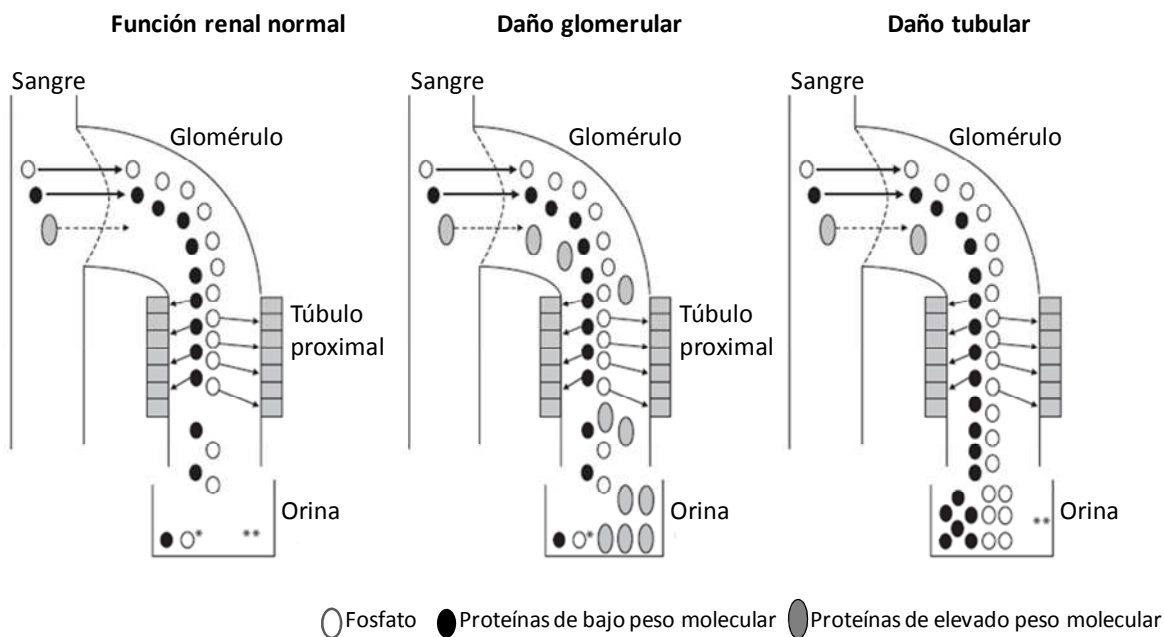


Figura 9. Marcadores de funcionalidad renal alterada en función de los solutos eliminados en orina. Adaptado de Post FA. et al. Biomarkers of impaired renal function. Current opinion in HIV and AIDS. 2010.

- **Otros parámetros analíticos:**

En las revisiones de los pacientes VIH suelen determinarse otros parámetros que aportan información complementaria muy valiosa. Es el caso de las concentraciones plasmáticas de fosfato, potasio, calcio y ácido úrico, que pueden descender por eliminación urinaria excesiva debido a una disfunción tubular. Esta valoración es

especialmente importante en los pacientes que toman TDF, ya que la hipofosfatemia es frecuente en los pacientes con nefrotoxicidad inducida por TDF.

5.2. Estudio renal ampliado

Se recomienda cuando se ha detectado alguna anomalía en el estudio básico, por lo que se requiere un estudio ampliado de marcadores en sangre y orina, y eventualmente, pruebas de imagen y biopsia renal. Este estudio debe incluir:

- ***Análisis sanguíneo:***

Incluirá los parámetros habituales en bioquímica para la determinación del equilibrio ácido-base (bicarbonato y pH), concentraciones iones y ácido úrico y serologías para los virus de hepatitis B y C y para la sífilis. Cuando se sospeche de enfermedad glomerular u otro proceso mediado por mecanismos inmunológicos, es conveniente solicitar crioglobulinas, anticuerpos antinucleares, complemento, electroforesis de proteínas plasmáticas y cuantificación de inmunoglobulinas.

- ***Análisis de orina:***

Debe incluir un estudio completo del sedimento urinario y la cuantificación de la excreción de proteínas. Para la cuantificación de la excreción de proteínas, un método sencillo es la determinación de los cocientes urinarios proteínas/creatinina (Pr/Cr) o albúmina/creatinina (A/Cr) en una muestra de orina de la primera micción de la mañana, que correlacionan bien con la cuantificación tradicional de la proteinuria de 24 horas. Se consideran como valores normales los de Pr/Cr<150mg/g y A/Cr<30mg/g.

Si el cociente A/Cr es normal y el de Pr/Cr está alterado, la proteinuria será de origen tubular.

Ante la sospecha de tubulopatía, debe realizarse un análisis de orina de 24 horas que incluya la determinación de fosfaturia, aminoaciduria, glucosuria, calciuria, albuminuria y proteinuria. Además, ante la presencia de hipofosfatemia con fosfaturia, se recomienda también realizar un examen DEXA debido al riesgo de desarrollar osteopenia.

La **Figura 10**. Resume los parámetros que deben determinarse en el estudio renal y con qué frecuencia debe realizarse.

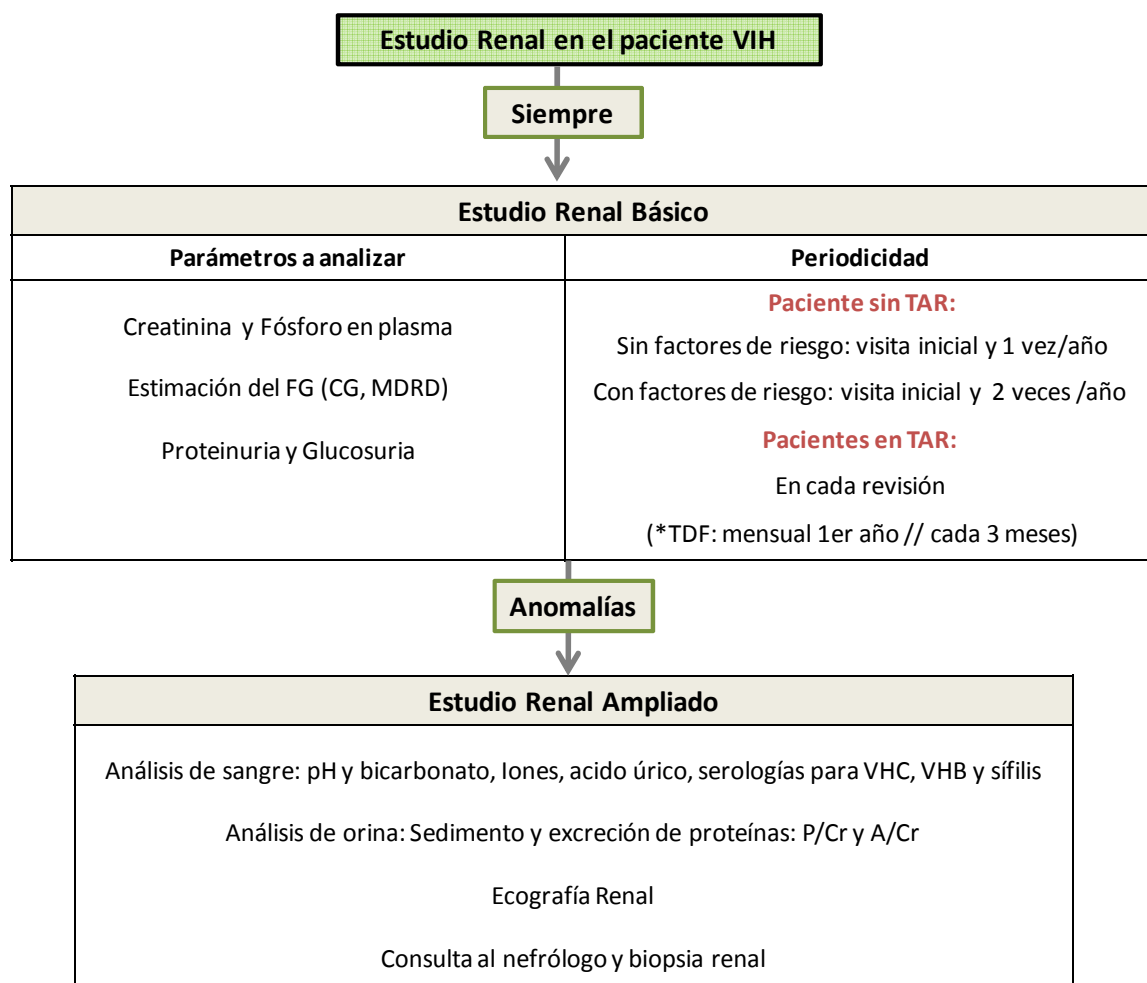


Figura 10. Recomendaciones para la evaluación renal en pacientes VIH.

❖ *Nuevos biomarcadores*

La necesidad de detectar de forma temprana el daño tubular ha impulsado el estudio de otros biomarcadores más sensibles y específicos de daño tubular. Entre los más empleados en los estudios de toxicidad renal asociada al uso de ARV se encuentran las proteínas de bajo peso molecular (LMWP), las enzimas constitutivas de las células tubulares proximales y las proteínas específicamente inducidas en el riñón como respuesta a daño celular.

- La determinación de las *LMWP* constituye una medida del grado de disfunción. Entre las más empleadas destacan la β 2-microglobulina y la proteína de unión a retinol (RBP). Ambas son marcadores sensibles de daño tubular en pacientes tratados con TDF (Gatanaga H. et al., 2006, Kinai E. et al, 2005; Nishijima T., et al. 2013; Oboho I. et.al, 2013; Papaleo A. et al., 2007, Post FA. et al., 2010), sin embargo, la detección de β 2-microglobulina en orina es dependiente del pH y su concentración es sensible a la proteólisis enzimática, lo que limita su uso. Estudios recientes han apuntado que la RBP sería un marcador más específico de toxicidad tubular por TDF (Campbell L.J. et al., 2012; Hall A. et al., 2009).

- La cuantificación de los *enzimas urinarios* es un buen método para detectar lesiones renales, ya que en circunstancias normales no se filtran por el glomérulo debido a su alto peso molecular, y se segregan por el túbulo proximal. La presencia de la enzima N-acetil-glucosaminidasa (NAG) en orina se ha relacionado con pérdida de la funcionalidad de la célula tubular, sin embargo, no se ha relacionado con el uso de TDF frente a otros ARV, y además también puede estar elevada en patologías renales de origen glomerular (Ando M. et al., 2011; Hall A. et al., 2009; Marchewka Z. et al., 2001).

- Respecto a las *proteínas inducibles* en respuesta a daño celular, una de las más empleadas es la Neutrófilo gelatinasa asociada a lipocalina (NGAL), que es inducida en respuesta a inflamación. Ha sido ampliamente estudiada en la patología renal como marcador de daño e indicador de progresión, aunque también puede encontrarse elevada en otras patologías no renales (Haase M. et al., 2009; Kuwabara T. et al., 2009). En pacientes VIH se ha relacionado con la NAVIH, pero hay menos datos sobre su utilidad en la toxicidad renal (Sola del valle DA. et al., 2011).

6. Farmacogenética de la toxicidad renal asociada con el uso de Tenofovir.

Existe gran variabilidad interindividual en la susceptibilidad, características y gravedad de la disfunción renal asociada al uso de TDF, lo que sugiere que los factores genéticos del huésped podrían tener un papel importante en el desarrollo de esta patología. Junto con los factores genéticos, otros factores como el sexo, peso o la raza del individuo, así como la interferencia con otros fármacos administrados de forma concomitante, podrían contribuir a explicar esta variabilidad.

El objetivo de la farmacogenética es individualizar el tratamiento mediante la detección de las variantes genéticas (SNPs) asociadas con la eficacia y/o toxicidad de los fármacos. Gracias al proyecto Genoma Humano y a los avances tecnológicos para abordar la variabilidad genética, la farmacogenética ha experimentado un rápido crecimiento en los últimos años y se ha convertido en un campo con grandes expectativas en medicina clínica.

En términos generales, la farmacogenética de los ARV se centra en el estudio de las enzimas metabolizadoras de fármacos, proteínas transportadoras, receptores nucleares y genes relacionados con susceptibilidad a los efectos adversos (**Figura 11**).

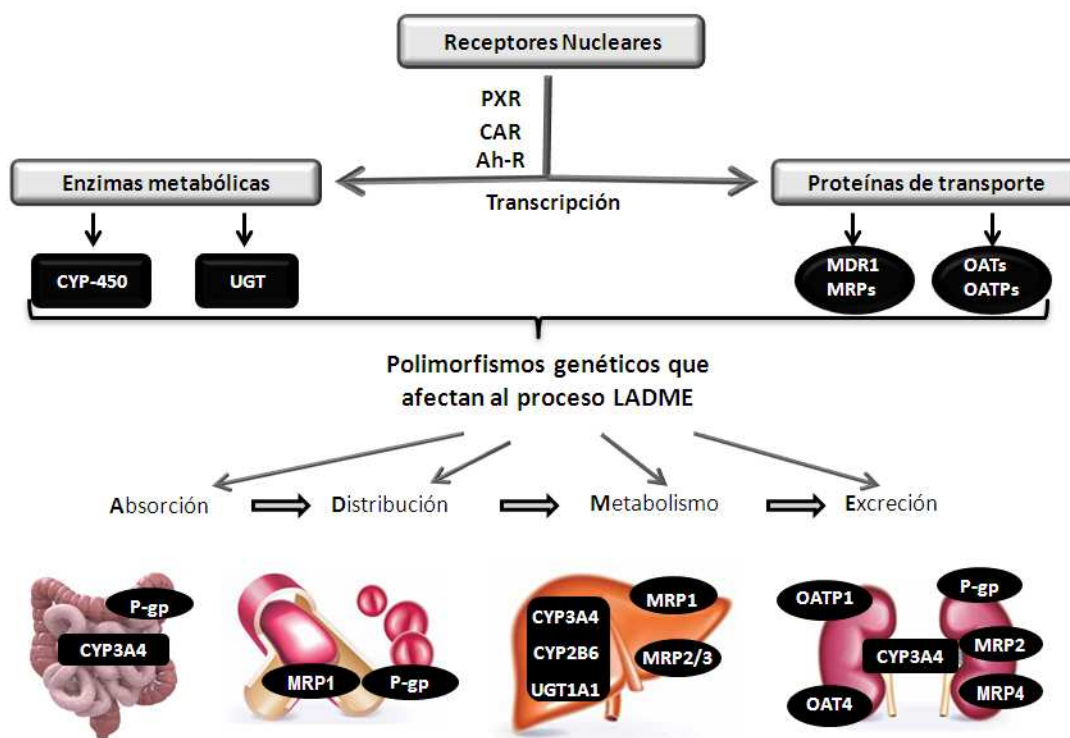


Figura 11. Principales dianas en los estudios farmacogenéticos. Ah-R: Aryl hydrocarbon receptor; CYP-450: Citocromo-450; PXR: receptor de pregnano X; CAR: receptor constitutivo de androstano; UGT: uridina difosfato glucuronosiltransferasa.

6.1. Proteínas de transporte de Tenofovir a nivel renal

Para el estudio de los factores genéticos que pueden afectar al uso de TDF hay que tener en cuenta los procesos que éste sigue en el organismo.

Tras su administración oral, TDF es rápidamente absorbido y convertido en TFV, que se distribuye a la mayoría de los tejidos, alcanzando las concentraciones más altas en

riñón, hígado y contenido intestinal. Estudios *in vitro* han determinado que TFV no es sustrato de las enzimas CYP450, ni inhibe el metabolismo mediado por cualquiera de las principales isoformas implicadas en la biotransformación de medicamentos, por lo que es poco probable que se produzcan interacciones clínicamente significativas a este nivel. Sin embargo, TFV es sustrato de proteínas de transporte implicadas en su excreción renal, que se produce tanto por filtración glomerular como por secreción tubular activa.

El TFV entra en las células del túbulo proximal mediante las proteínas transportadoras de aniones orgánicos (OATs), principalmente OAT 1 y en menor medida OAT3 (Cihlar T. et al., 2001; Ray AS. et al., 2006; Uwai Y. et al., 2007); y su excreción en orina es mediada por la proteína de multirresistencia a fármacos 4 (MRP4); aunque también se ha descrito que intervienen las proteínas MRP2 y MRP7 (Imaoka T. et al., 2007; Mallants R. et al., 2005; Uwai Y. et al., 2007). En consecuencia, el estudio de los factores genéticos implicados en la toxicidad renal de TDF se centra en las principales proteínas de transporte implicadas en su excreción renal, ya que polimorfismos en los genes que codifican para estas proteínas podrían alterar la expresión y/o actividad de las mismas, afectando a la farmacocinética del TDF (**Figura 12**).

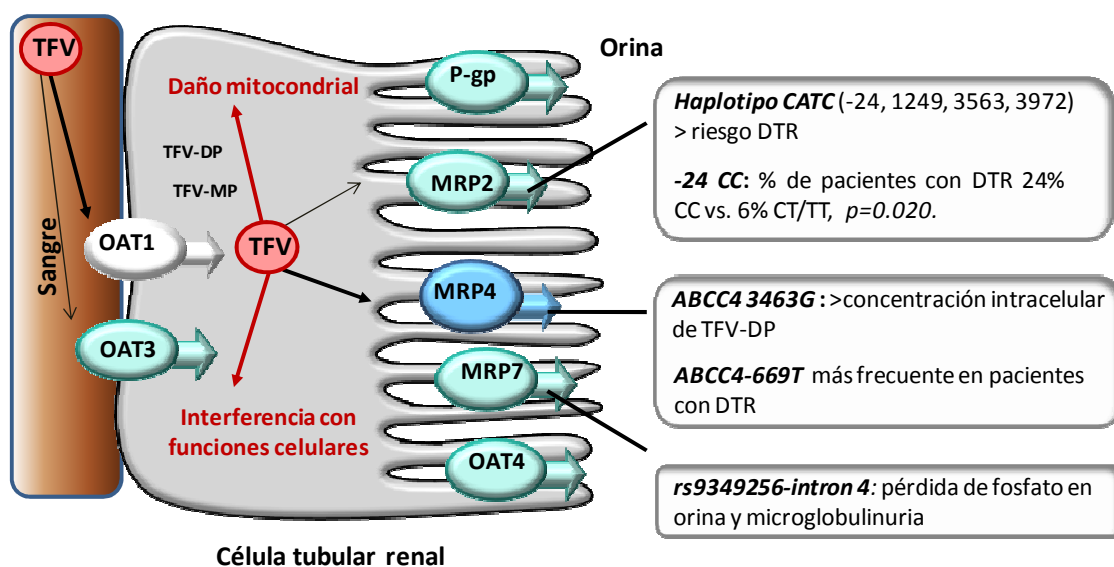


Figura 12. Proteínas de transporte implicadas en el transporte de TFV a nivel renal y polimorfismos relacionados con disfunción tubular renal (DTR).

6.2. Polimorfismos genéticos en proteínas transportadoras

Las proteínas de membrana se pueden clasificar en dos grandes superfamilias: superfamilia de transportadores dependientes de ATP (ABC) y proteínas transportadoras de solutos (SLC). Estas proteínas tienen como función la translocación de una amplia variedad de sustratos a través de la membrana plasmática celular (productos metabólicos, esteroides, fármacos), de tal manera que constituyen una barrera para la acumulación de los mismos en el interior celular.

De la familia ABC, los transportadores más relevantes implicados en el transporte de los fármacos ARV son la glicoproteína P (P-gp) y las MRPs. Respecto a la familia SLC, los transportadores más importantes son las OATs y los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (OATP).

Todos los transportadores presentan cierta selectividad en el transporte de distintas sustancias y su expresión es variable, estando sujeta a una compleja regulación y a la

influencia que pueden ejercer ciertos metabolitos, el estrés oxidativo, citocinas, etc. Además, su funcionalidad depende de los polimorfismos en genes que codifican estos transportadores. Las variaciones genéticas en los genes que codifican estas proteínas son la causa o contribuyen en gran medida a una amplia variabilidad de desórdenes fisiológicos, dando lugar a fenotipos resistentes a fármacos.

- **Glicoproteína-P**

La P-gp es la proteína transportadora mejor caracterizada debido a su habilidad para conferir resistencia fenotípica a los fármacos contra el cáncer. Su expresión tiene lugar en una amplia variedad de tejidos como el hígado, riñón, colon, yeyuno, glándula adrenal, etc. La existencia de polimorfismos en el gen que codifica la P-gp, *ABCB1* o *MDR1*, afecta a la distribución de los fármacos, afectando en última instancia a su eficacia y/o toxicidad.

Hasta la fecha se han descrito ciertos polimorfismos (SNPs) que se han relacionado con alteraciones en los niveles plasmáticos de algunos antirretrovirales, especialmente para los IP. Este es el caso de los SNPs *3435C>T* y *2677G>T*, para los que se ha descrito que el homocigoto mutante (*TT*) en la posición 3435 está asociado con un descenso en la expresión de P-gp comparado con el genotipo salvaje (*CC*) (Fellay J. et al., 2002, Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2006; Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2007) (**Figura 13**). La consecuencia de este cambio sería un menor transporte hacia el exterior celular del fármaco sustrato de la P-gp, con el consiguiente aumento de los niveles intracelulares de dicho fármaco. Se ha demostrado que la P-gp es capaz de transportar TFV a nivel intestinal, pero no a nivel renal (Van Gelder J. et al., 2002). Dado que la P-gp influye en

la biodisponibilidad del TFV, diversos estudios han examinado polimorfismos en el gen que codifica para la P-gp (3435C>T, 1236C>T, 2677G>A/T), pero ninguno de ellos ha encontrado asociación entre éstos y los niveles de TDF o alteración renal (Izzedine H. et al., 2006; Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2009).

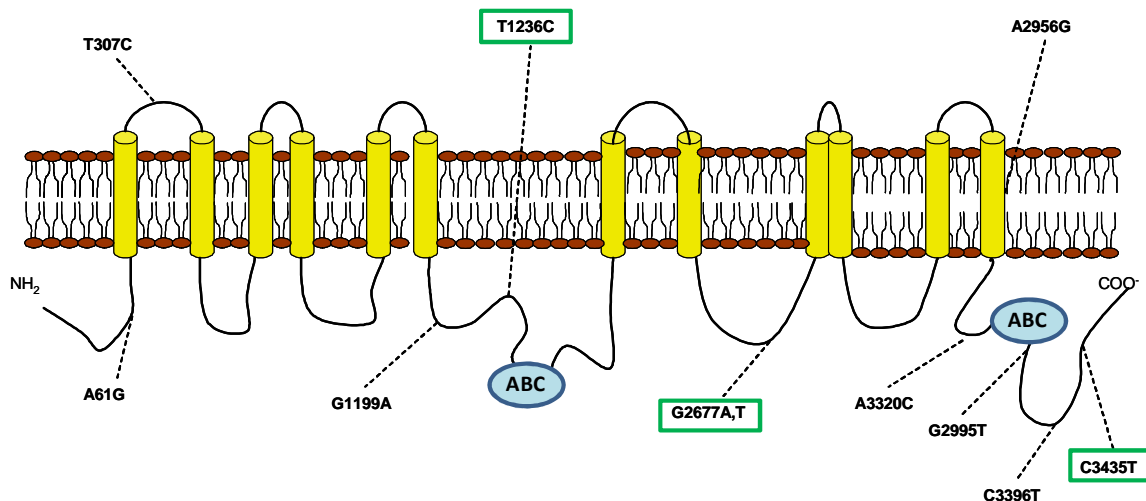


Figura 13. Estructura de la P-gp y SNPs que afectan a la distribución de fármacos. Se presentan en recuadros verdes los principales SNPs que se han relacionado con alteraciones en los niveles de ARV.

- **Proteínas transportadoras de aniones orgánicos**

Las principales proteínas transportadoras de aniones orgánicos a nivel de la membrana basolateral renal son los transportadores OAT1 (codificado por el gen *SLC22A6*) y OAT3 (codificado por el gen *SLC22A8*), mientras que otros miembros de la familia, como la OAT4 (codificada por el gen *SLC22A11*) se expresan en la membrana apical. El transportador OAT1 ha sido el mejor caracterizado; se encuentra ampliamente expresado en la membrana basolateral y juega un papel muy importante en la eliminación de TFV, cidofovir y adefovir, entre otros compuestos (Robertson E. et al., 2006). Estudios *in vitro* han demostrado que la sobreexpresión de esta proteína induce

citotoxicidad asociada a cidofovir y adefovir, pero no así en el caso de TFV (Cihlar T. et al., 2001). Estudios genéticos que han examinado polimorfismos en OAT1, (*SLC22A6* 453G>A, 728G>A) no han encontrado asociación con el aclaramiento de TFV ni con daño renal (Kiser JJ. et al., 2008; Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2009). En relación a otras proteínas de la misma familia, se ha descrito un polimorfismo en el gen que codifica para OAT4 (*SLC22A11* T>A rs11231809) relacionado con el aclaramiento renal del diurético Torasemida (Vormfelde SV. Et al., 2006), pero esta asociación no se ha encontrado para tenofovir (Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2009).

- ***Proteínas de multirresistencia***

Algunas de estas proteínas presentan homologías de secuencia con la P-gp y también existe un solapamiento en cuanto a la distribución en los tejidos y los sustratos que son capaces de transportar, por lo que es posible que se encuentren funcionalmente relacionadas.

Las MRPs se encuentran en la membrana apical de la célula renal y juegan un papel fundamental en la secreción tubular de los ITIAN. El gen que codifica para MPR2 (*ABCC2*) es altamente polimórfico, y esta variabilidad genética está asociada con diferencias interindividuales en la farmacocinética, respuesta y toxicidad de muchos fármacos (Elens L. et al., 2011; Leiri I. et al., 2009). Con respecto al TFV, distintos polimorfismos en MPR2 se han relacionado con disfunción tubular en pacientes en tratamiento. El alelo *ABCC2*-24C y el haplotipo "CATC" (definido como la combinación de los polimorfismos -24C>T, 1249G>A, 3563T>A y 3972C>T) se han relacionado con mayor riesgo tubulopatía en estos pacientes (Izzedine H. et al., 2006; Rodríguez-Nóvoa

S. et al. 2009). Sin embargo, existe controversia respecto al papel de MRP2 en el transporte de TFV y el impacto de los polimorfismos en su funcionalidad (Ray A. et al., 2007). Respecto a MRP4, el polimorfismo 669C>T en el gen ABCC4, se ha encontrado más frecuentemente en pacientes con daño tubular (Giacomet V. et al., 2013; Izzedine J. et al., 2006) mientras que el polimorfismo 3464 A>G se ha relacionado con un incremento en los niveles intracelulares de TFV (Kiser JJ. et al., 2008). Más recientemente, dos polimorfismos en la proteína MRP7 (rs9349256, rs2125739), codificada por el gen ABCC10, se han asociado con fosfaturia y β 2-microglobulinuria (Pushpakom S.P, et al., 2011; Giacomet V. et al., 2013)

En el momento actual por tanto, parece claro que la toxicidad renal, principalmente tubular, asociada al tratamiento prolongado con TDF existe. Establecer qué pacientes presentan mayor riesgo, qué factores están implicados en su desarrollo y qué marcadores serían los más adecuados para detectarlo de forma temprana, son cuestiones que quedan por resolver. Teniendo en cuenta la gran variabilidad interindividual en la presentación y gravedad de la patología renal, el estudio de factores farmacocinéticos y farmacogenéticos podría ayudar a identificar a los pacientes con mayor riesgo.

En este contexto, se desarrolló esta tesis con los siguientes objetivos:

III. OBJETIVOS

1. Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de tenofovir en muestras de plasma de pacientes VIH positivos mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución con detección espectrométrica de masas (HPLC-MS/MS)
2. Estudio de las diferencias en la función renal entre pacientes con y sin tratamiento con tenofovir e impacto de los niveles plasmáticos de tenofovir. Impacto de los antirretrovirales concomitantes sobre los niveles de tenofovir.
3. Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos, niveles de TDF y alteración renal.

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

1. Pacientes

Se incluyeron pacientes infectados con VIH-1 y que recibían tratamiento para la infección en el Hospital Carlos III de Madrid. Los pacientes se seleccionaron de forma retrospectiva a través de la base de datos de pacientes del servicio de Farmacia. Para el objetivo 2, se incluyó un grupo de pacientes que recibían tratamiento con TDF en cualquiera de las formulaciones Viread®, Truvada® (TDF/FTC) o Atripla® (TDF/FTC/EFV); y un grupo control, que recibía un régimen que no incluía TDF. Una vez obtenido el listado de los pacientes, se cruzó con los datos bioquímicos y se disociaron los datos identificativos del paciente. De este listado, se seleccionaron los pacientes de los que se disponía de consentimiento informado para el uso de muestras de ADN y de plasma. Para el objetivo 3 se incluyen los pacientes de los que se dispone muestra para análisis del ADN y que tenían datos de función renal.

2. Métodos

2.1. Diseño del estudio: estudio retrospectivo post-autorización.

2.2. Recogida de datos

Se recogieron los datos disponibles resultantes de la práctica clínica habitual: *datos demográficos* (edad, sexo, raza); *datos hematológicos*; *Carga viral del VIH*, *recuento de CD4*; *datos bioquímicos* (creatinina, glucosa, calcio, ácido úrico y fósforo); *bioquímica de orina* (creatinina, glucosa, proteínas, calcio, ácido úrico, fósforo y β 2-microglobulina); datos de *enfermedades concomitantes* (infección

por VHB y/o VHC, diabetes, hipertensión arterial); tipo de *medicación* ARV y otros fármacos concomitantes.

2.3. Parámetros de función renal

- Cálculo de la TFG mediante las ecuaciones CG, MDRD-4 IDMS (una versión abreviada de la fórmula MDRD que emplea CrS estandarizada) y CKD-EPI:

CG

- ClCr (ml/min) = [(140-edad) x peso] x (0,85 si mujer) / CrS (mg/dl) x 72

- ClCr corregido (ml/min/1,73 m²) = ClCr x (SC/1,73 m²)

- ClCr estimado (ml/min/1,73 m²) = ClCr corregido x 0,84

* SC; superficie corporal

MDRD-4

- FG estimado (ml/min/1,73 m²) = 175 x (CrS)^{-1,154} x (edad)^{-0,203} x 0,742 (si mujer) x 1,21 (si raza negra)

CKD-EPI

- TFG= 141 x min (CrS/κ,1)^α x max (CrS/κ,1)^{-1,209} x 0.993 edad x 1.018 [si mujer] x 1.159 [si raza negra].

Donde κ tiene el valor de 0.7 para mujeres y de 0.9 para hombres, α es -0.329 para mujeres y -0.411 para hombres, min indica el menor valor de entre el cociente Crs/κ ó 1, y max indica el mayor valor de entre Crs/κ ó 1.

- Cálculo del cociente Proteínas / Creatinina (mg/g) en orina (**Pr/Cr**).

- Cálculo de la RTF mediante la fórmula:

$$RTF = 1 - EF (PO_4); \text{ siendo } EF (PO_4) = (PO_{4u}) \times (Crp) / (PO_{4p}) \times (Cru).$$

- Cálculo del transporte tubular máximo de fosfato (TmPO₄) ajustado por la TFG, que expresa mejor la capacidad del túbulo para reabsorber fosfato, mediante la fórmula:

$$(TmPO_4/TFG) = RTF \times PO_{4p}; \text{ o también, } PO_{4p} - (PO_{4u} \times Crp / Cru)$$

- Cálculo de la excreción total de fosfatos (ETF) mediante la fórmula:

$$\text{ETF} = \text{PO}_4\text{u} \times \text{Volumen orina}$$

- Cálculo de la EF de ácido úrico mediante la fórmula:

$$\text{EFau} = ([\text{AUu}] \times [\text{Crp}] \times 100) / ([\text{AUp}] \times [\text{Cru}])$$

2.4. Definiciones de alteración glomerular y tubular

Se definió alteración de la función glomerular cuando:

- CrS >1,5 mg/dL.
- ClCr <60 mL/min/1,73m².
- Pr/Cr orina >150mg/g.

Se definió alteración de la función tubular en base a:

- Excreción urinaria de β_2 microglobulina >1mg/24h.
- Tasa de reabsorción tubular de fosfato (RTF) <0,82.
- Tasa máxima de reabsorción tubular renal de fosfatos/TFG (TmPO₄/TFG) <2,5.
- Excreción total de fosfato (ETF) >1200mg/día.
- Excreción fraccionada de ácido úrico (EFau) >15%.

2.5. Validación del método para la cuantificación de TDF

Compuestos Químicos utilizados: la sustancia pura de TDF y la dideoxiuridina (ddx, estándar interno –SI-) se obtuvo de SIGMA Aldrich. El acetonitrilo, el ácido acético y el amoníaco (NH₃) se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Germany), y el ácido

trifluoroacético (TFA) de SIGMA Aldrich. El plasma blanco de donantes sanos procedía del Banco de Sangre de la Comunidad de Madrid.

Condiciones Cromatográficas y Espectrométricas: los análisis se llevaron a cabo con un sistema HPLC Serie 1200 de Agilent Technologies acoplado a un espectrómetro de masas de la misma casa comercial. El sistema consistía en un desgasificador G1379, una bomba binaria G1312A, un autoinyector G1329A, un termostato para la columna G1316A y un detector de masas G6410B Triple Quad MS/MS. La separación cromatográfica se realizó con una columna ACE 5 μ m C18-PFP (100 mm x 2,1 mm de diámetro interno, de SIGMA Aldrich) a 20°C. La fase móvil consistía en agua con 1% de ácido acético y 3% de acetonitrilo ajustada a un pH de 2,5. La elución de las muestras inyectadas se realizó a un flujo de 0.2 mL/min. Los experimentos se llevaron a cabo usando la fuente de Ionización mediante Electrospray (ESI), en modo ión positivo. El tiempo de retención (TR), iones precursores y producto, voltaje del fragmentador y energía de colisión fueron optimizados para el TDF y ddx. Los datos se procesaron usando el software Agilent MassHunter Workstation 2007.

Preparación de Soluciones Madre, calibradores y controles: las soluciones madre se prepararon en 100% agua grado HPLC para TDF y 100% Metanol para ddx, para obtener una concentración final de 1 mg/mL. Ambas soluciones se conservaron refrigeradas a 4°C. Las soluciones de calibración se prepararon por dilución de la solución madre de TDF en plasma blanco para obtener un rango de concentraciones de 10 a 5000 ng/mL. Los controles se prepararon en plasma blanco a concentraciones de 25, 250 y 2500 ng/mL y se conservaron alícuotas de los mismos a -20°C.

Procesamiento de calibradores y controles: la extracción del fármaco se basó en una sencilla precipitación de proteínas con 25 μL de TFA, 50 μL de SI a una concentración de 2,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 250 μL de las muestras de plasma. Después de agitar en un vórtex durante 30 segundos, las muestras se centrifugaron a 16000 x g, 15 minutos a 20°C. A continuación, se transfirieron 150 μL del sobrenadante a un eppendorf con 20 μL de NH_3 y tras agitar en vórtex, se transfirió a los viales del autoinyector del equipo. El volumen de inyección para la cuantificación de TF fue de 5 μL .

Validación del método: el proceso de validación se realizó de acuerdo con las normas de la Agencia Europea de Evaluación de Medicamentos (EMA) para la Validación de Procedimientos Analíticos y se resume a continuación:

Especificidad: se determinó la capacidad del método para detectar correctamente el analito en presencia de otros componentes del plasma u otros fármacos presentes en el mismo que pudieran extraerse con el mismo método que el analito.

Linealidad, límite de detección y límite de cuantificación: para la curva de calibrado se prepararon 8 niveles de calibración desde 10 a 5000 ng/mL. Los calibradores se prepararon y analizaron en tres series independientes y la curva de calibración se obtuvo mediante regresión lineal sin asignar mayor peso a ninguno de los ejes. El límite de detección se definió como la concentración que proporcionaba una relación señal:ruido 3:1 y el límite de cuantificación como aquella concentración cuya relación señal:ruido era 10:1. Para su determinación se prepararon soluciones de TDF en plasma blanco a concentraciones desde 1 a 10 ng/mL.

Precisión: los ensayos de variabilidad intradía (reproducibilidad) e interdía (repetibilidad) se llevaron a cabo realizando 3 extracciones de cada control y este proceso se repitió 3 días consecutivos. La precisión normalmente se mide en términos de coeficientes de variación (CV) para cada control (bajo, medio y alto). Una precisión aceptable para el nivel de concentración bajo es del 20%. Con concentraciones más altas la precisión debe ser mayor.

Recuperación: el porcentaje de recuperación de TDF se determinó comparando el área del pico de TDF obtenido tras extracción a partir de plasma con la misma concentración de TDF preparada en fase móvil sin realizar extracción.

2.6. Análisis de muestras clínicas

Para la cuantificación de niveles plasmáticos se empleó la misma muestra de plasma que se utiliza para la cuantificación de la carga viral del VIH y que sigue el siguiente procesamiento: las muestras de sangre se extrajeron en tubos Vacutainer con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) a primera hora de la mañana. La separación del plasma de la sangre total se realizó seguidamente después de la extracción de sangre, dejando pasar un máximo de 1 hora para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos, por centrifugación a 2.000 rpm durante 30 minutos. El plasma obtenido se conservó a -20°C hasta su uso. Los parámetros farmacocinéticos empleados para la cuantificación de TFV y el resto de ARV fueron la C_{12h} y C_{Valle} respectivamente. La cuantificación de niveles plasmáticos de TFV se llevó a cabo mediante el método desarrollado y validado

de HPLC-MS/MS y el resto de ARVs se cuantificaron mediante un método de HPLC acoplado a detector ultravioleta (HPLC-UV), ya validado en nuestro laboratorio.

Las concentraciones de TDF se cuantificaron por extrapolación del área del pico de TDF de cada muestra en una recta de calibración concentración-área de muestras de concentraciones conocidas de TDF de 10 a 5000 ng/mL. En cada análisis se procesaron además, una muestra blanco y tres controles de concentraciones 25, 250 y 2500 ng/mL para controlar la calidad analítica de la técnica.

2.7. Análisis genéticos

Para los estudios genéticos se solicitó el consentimiento informado al paciente, para participar en el estudio, en la visita a consulta programada. Los datos se registraron en una base de datos con acceso restringido a los investigadores. Los datos personales que pudieran identificar al paciente no figuran en la base (se realizó una disociación de los datos, en cumplimiento de la ley de protección de datos de carácter personal)

Las muestras para los análisis genéticos se obtuvieron del espécimen que se emplea para realizar el hemograma, en la visita que le corresponda al paciente en su seguimiento habitual.

Se seleccionaron distintos SNPs en genes que codifican para proteínas de transporte de tenofovir y para el transportador de fosfato a nivel renal NPT2a con frecuencias alélicas $\geq 0,05\%$ en población Caucásica, utilizando la base de datos genéticos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI). La frecuencia alélica y la localización de cada uno de ellos dentro del gen se describe en la **Tabla 3**. Se identificaron tag SNPs (SNPs marcadores) empleando la base de datos HapMap

(PhaseIII, public release#2, 2009, <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) y se construyeron haplotipos con los tag-SNP seleccionados.

Gen (Proteína), SNP	SNP	Localización	Frecuencia alélica
<i>ABCC2</i> (MRP2)			
	<i>rs717620</i>	-24C→T	0,819, 0,181
	<i>rs2273697</i>	1249G→A	0,757, 0,243
	<i>rs8187694</i>	3563T→A	0,933, 0,067
	<i>rs3740066</i>	3972C→T	0,658, 0,342
	<i>rs8187710</i>	4544G→A	0,947, 0,053
<i>ABCC4</i> (MRP4)			
	<i>rs1751034</i>	3463A→G	0,847, 0,153
	<i>rs3742106</i>	4131T→G	0,527, 0,473
	<i>rs899494</i>	669C→T	0,836, 0,164
<i>ABCB1</i> (P-gp)			
	<i>rs1045642</i>	3435C→T	0,571, 0,429
	<i>rs1128503</i>	1236C→T	0,549, 0,451
	<i>rs2032582</i>	2677G→T/A	0,531, 0,469
<i>SLC22A6</i> (OAT1)			
	<i>rs4149170</i>	453G→A	0,932, 0,068
	<i>rs10897312</i>	Intrón G→A	0,942, 0,058
	<i>rs4149172</i>	Intrón T→C	0,748, 0,252
	<i>rs11568621</i>	Intrón G→A	0,929, 0,071
	<i>rs3017670</i>	Intrón G→A	0,845, 0,155
	<i>rs6591722</i>	Intrón T→A	0,675, 0,325
<i>SLC22A11</i> (OAT4)			
	<i>rs11231809</i>	Intrón T→A	0,574, 0,426
<i>SLC34A1</i> (NPT2a)			
	<i>rs6420094</i>	Intrón A→G	0,633, 0,367
	<i>rs3812036</i>	Intrón C→T	0,726, 0,274

Tabla 3. SNPs seleccionados en determinados genes que codifican para proteínas de transporte. Localización y frecuencia alélica.

La extracción del ADN celular se realizó a partir de sangre periférica utilizando los reactivos y protocolos de QIAamp ADN Blood Mini Kit (Qiagen).

El análisis genotípico se realizó por técnicas de PCR cuantitativa a tiempo real de discriminación alélica con sondas TaqMan® (Applied Biosystems) siguiendo los protocolos establecidos por el fabricante. Brevemente, la mezcla para la reacción de PCR contenía 12.5 µL TaqMan® genotyping Master Mix + 0.625 40X Assay Mix (cebadores + sondas) + 9,9 µl H₂O + 2 µL ADN (equivalente a 1-20 ng ADN) por muestra. Las condiciones de la reacción de PCR fueron:

Inicio	Desnaturalización	Hibridación / Elongación
	40 CICLOS	
10 min 95°C	15 seg 92°C	1 min 60°C

Tabla 4. Condiciones de la reacción de PCR.

2.8. Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). En todos los casos, se consideró estadísticamente significativo valores de “*p*” inferiores a 0,05.

Las principales características de la población de estudio y los diferentes parámetros evaluados se expresaron en valores absolutos y porcentajes en el caso de variables cualitativas, y en mediana y rango intercuartílico (IQR) en el caso de variables cuantitativas. En todos los estudios se comprobó la normalidad en la distribución de las diferentes variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias entre los grupos de estudio se analizaron mediante un test exacto de Fisher o una Chi cuadrado (χ^2) para variables cualitativas y mediante el test T de Student o el

test U de Mann-Whitney para variables cuantitativas, en función de si se trataba de una variable con distribución normal o no, respectivamente. Las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) se utilizaron para calcular los valores de sensibilidad y especificidad para la C_{12h} TFV relacionados con alteración renal. Para los análisis multivariantes se utilizaron regresiones logísticas binarias en el caso de que la variable de interés fuese cualitativa y regresiones lineales en el caso de que la variable de interés fuese cuantitativa. Todas aquellas variables que en los análisis bivariantes quedaron con valor de $p < 0,2$ fueron incluidas en el análisis multivariante modo step backward. Los haplotipos se construyeron mediante el programa PHASE version2.1 que emplea algoritmos matemáticos para la reconstrucción de haplotipos a partir de datos genotípicos (Stephens M. et al. 2001; Stephens M. et al. 2003).

2.9. Almacenamiento de las muestras biológicas

Las muestras se encuentran almacenadas como colección en el HCIII y se ha registrado la colección en el Registro Nacional de Biobancos en cumplimiento del Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano.

V. RESULTADOS

1. Método para cuantificación de Tenofovir en plasma

1.1 Optimización de las condiciones cromatográficas y espectrométricas.

Se optimizaron los parámetros tiempo de retención (TR), Iones precursores y producto (m/z), Voltaje de fragmentador (V) y Energía de colisión (eV) para TDF y ddx, que se resumen en la **Tabla 5**. La duración de cada análisis de cuantificación fue de 10 minutos.

Compuesto	TR (min)	Precursor > Producto (m/z)	V	eV
TDF	2,6	288 > 176	135	20
ddx	6,3	231,1 > 135,1	100	10

Tabla 5. Tiempo de retención, iones precursores y producto, voltaje del fragmentador y energía de colisión de TDF y ddx.

1.2 Validación del método

Especificidad

Los componentes del plasma u otros antirretrovirales no interfirieron con el pico del analito a cuantificar ya que las posibles interferencias que aparecieron tenían una abundancia despreciable respecto a la observada para el pico de TDF. La **Figura 14** representa un cromatograma de plasma blanco y otro de plasma con tenofovir. Nótese que para el Tenofovir la abundancia es de 10^4 mientras que en el blanco, el pico que aparece tiene una abundancia de 10^1 .

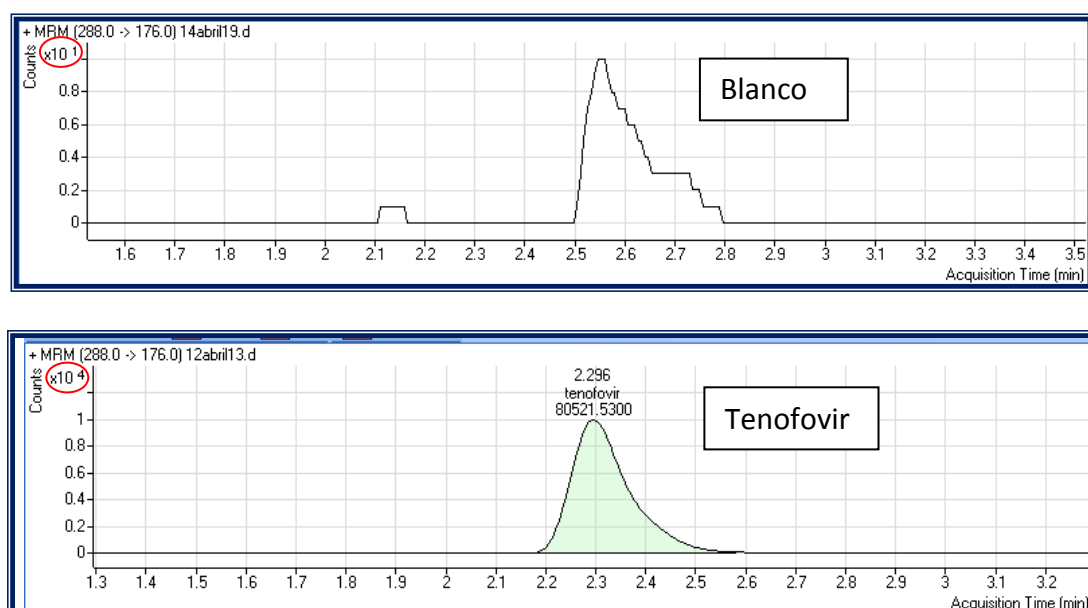


Figura 14. Cromatograma de plasma blanco y de plasma con TDF. En abscisas se representa el tiempo de retención y en ordenadas la abundancia del compuesto. (*Abundancia del pico de TFV 10^4 frente a 10^1 para el pico en el blanco).

Linealidad, límite de detección y límite de cuantificación

El ensayo demostró una excelente linealidad en el rango de concentraciones estudiadas con un coeficiente de regresión de $r^2 = 0.999$. La **Figura 15** muestra la curva de calibrado para TDF. El límite de detección fue 10 ng/mL y el de cuantificación 25 ng/mL.

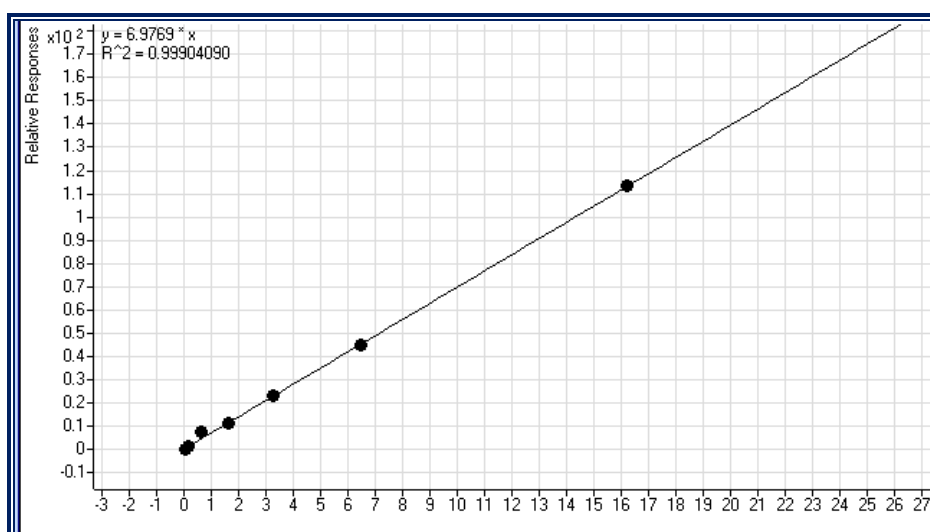


Figura 15. Curva de calibrado de Tenofovir. $r^2 = 0.999$

RESULTADOS

Precisión

Los coeficientes de variación para los análisis intradía e interdía presentaron unos valores desde 4,6 a 7,1 y 6,34 a 7,12 respectivamente. Estos valores de precisión son aceptables ya que son inferiores al 20% admitido según las guías de validación de procedimientos analíticos.

Recuperación

Las áreas obtenidas de los 3 controles analizados se compararon con las áreas obtenidas usando la misma concentración en fase móvil por triplicado. El porcentaje de recuperación de tenofovir fue 68,13 (CV 4,2) (**Tabla 6**).

Controles	Precisión Intradía (%CV)	Precisión Interdía (%CV)	% de Recuperación
C 25 ng/mL	7,01	10,2	65,7
C250 ng/mL	6,5	7,12	68,2
C 2500 ng/mL	4,6	6,5	70,5

Tabla 6. Precisión intradía e interdía y porcentaje de recuperación.

El tiempo total de análisis por muestra, teniendo en cuenta la preparación, extracción y cuantificación fue de 30 minutos.

2. Estudio 2: Diferencias en la función renal entre pacientes con y sin tratamiento que incluye tenofovir y estudio del impacto de los niveles plasmáticos de tenofovir.

2.1 Características de la población de estudio.

Se incluyeron 98 pacientes VIH positivos en tratamiento con TDF (grupo TDF) y 35 pacientes en tratamiento ARV que no incluía TDF como parte de la terapia (grupo control). Las características de los pacientes antes de iniciar TDF o antes de iniciar el otro TAR se resumen en la **tabla 7**. No hubo diferencias en cuanto a las características demográficas (edad, sexo, raza, IMC), tiempo en tratamiento, existencia de otras comorbilidades como HTA o diabetes, medicación nefrotóxica concomitante, porcentaje de pacientes en tratamiento con IP/r o ITINAN como tercer fármaco y estatus de la infección por VIH. Sin embargo, en el grupo de TDF el porcentaje de pacientes coinfectados con hepatitis B o C fue significativamente mayor que en el grupo control (35% vs 6%, $p < 0,001$), y un 8% de los coinfectados con el virus C recibían Ribavirina (RBV) como parte del régimen para el tratamiento de la HCV.

Características de los pacientes	Grupo TDF	Grupo Control
Edad (años)	43 (37,5-47)	39 (32-46)
Sexo masculino, n (%)	86 (87,75)	31 (94)
Raza Caucásica, n (%)	90 (91,83)	28 (85)
IMC	23,7 (21,4-26,4)	24 (22,7-28,4)
Coinfectado VHC y/o VHB, n (%)	34 (35)	2 (6)
Otras enfermedades (HTA, Diabetes), n(%)	24 (25)	11 (31)
Carga viral VIH, log (copias/mL)	3,29 (1,69-4,46)	4,54 (3,8-4,7)
Pacientes con CV VIH indetectable (log CV <1,7)	39%	26%
Pacientes pretratados, n (%)	83 (83)	21 (60)
Recuento de CD4 (células/ μ L)	336 (212-515,5)	321,5 (177-396)
Mediana de tiempo en tratamiento (meses)	34 (9-47)	34 (8-54)
Tratamiento con IP concomitante, n (%)	58 (59)	18 (51)
Tratamiento con ITINAN concomitante, n (%)	40 (41)	14 (40)
Medicación nefrotóxica concomitante	13 (13)	4 (11)
Cr sangre (mg/dL)	0,90 (0,8-1,10)	0,90 (0,8-1)
Cr orina (mg/dL)	102 (72-180)	103 (75-102)
Aclaramiento de creatinina estimado (mL/min/1,73m ²)	135 (97-167)	112 (81-164)
% de pacientes con ClCr<60 mL/min/1,73m ²	0%	0%

Tabla 7. Características de los 98 pacientes incluidos en el estudio.

2.2 Evaluación de la función renal.

En el momento del estudio, un 82% de pacientes en el grupo de TDF y un 84% de pacientes del grupo control tenían CV indetectable (<1,7 log). El recuento de CD4 (células/ μ L) fue de 464 (313-673) en el grupo de TDF y 442 (342-663) en el grupo control.

La función renal se evaluó en base a criterios de funcionalidad glomerular y tubular. (**Tabla 8**). No hubo diferencias entre los grupos en cuanto a la función glomerular, el

6% de los pacientes presentaron $ClCr < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ estimada mediante la ecuación MDRD-4, y ninguno presentó valores de $CrS > 1,5 \text{ mg/dL}$. En cuanto a la función tubular, el 61% de los pacientes del grupo de TDF presentó algún parámetro de función tubular alterado, frente a un 24% en el grupo control ($p=0,003$).

Parámetros de función glomerular	Grupo TDF (N=98)	Grupo Control (N=35)	p
Cr sangre (mg/dL)	0,90 (0,8-1,02)	0,90 (0,8-1,03)	-
Cr orina (mg/dL)	109,20 (76,5-141,3)	91,6 (58,8-119,7))	-
$ClCr$ (mL/min/1,73m^2) – MDRD-4	116 (93-145)	118 (102-139)	-
$ClCr$ alterado (%)	6%	6%	-
Pr/Cr orina (mg/g)	9,9	10	-
Pr/Cr orina alterado (%)	0%	0%	-
Parámetros de función tubular			
RTF Alterada (%)	41%	19%	0,043
TmPO4 Alterado (%)	31%	20%	-
ETF Alterada (%)	22%	15%	-
β_2 microglobulina Alterada (%)	17%	0%	0,016
EFac Alterada (%)	7%	4%	-

Tabla 8. Parámetros de función glomerular y función tubular. Se consideran valores alterados: $RTF < 82\%$; $ClCr < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$; $Pr/Cr > 150 \text{ mg/g}$; $TmPO_4/TGF < 2,5$; $ETF > 1200 \text{ mg/día}$; β_2 microglobulina $> 1 \text{ mg/día}$; Efa $> 15\%$.

En todos los casos, en el grupo de TDF el porcentaje de pacientes con parámetros renales tubulares alterados fue mayor que en el grupo control, aunque la diferencia

fue estadísticamente significativa sólo para la RTF y la β_2 microglobulina (41% vs 19%, $p=0,045$ y 17% vs 0%, $p=0,016$, respectivamente).

Atendiendo al número de parámetros alterados, el grupo de TDF presentaba mayor número de parámetros alterados que el grupo control. Un 27% de los pacientes tenían al menos 1 parámetro alterado, un 19% tenían dos, un 14% tenían tres, sólo un 1% tenían cuatro y ningún paciente presentó los 5 parámetros de estudio alterados (Figura 16).

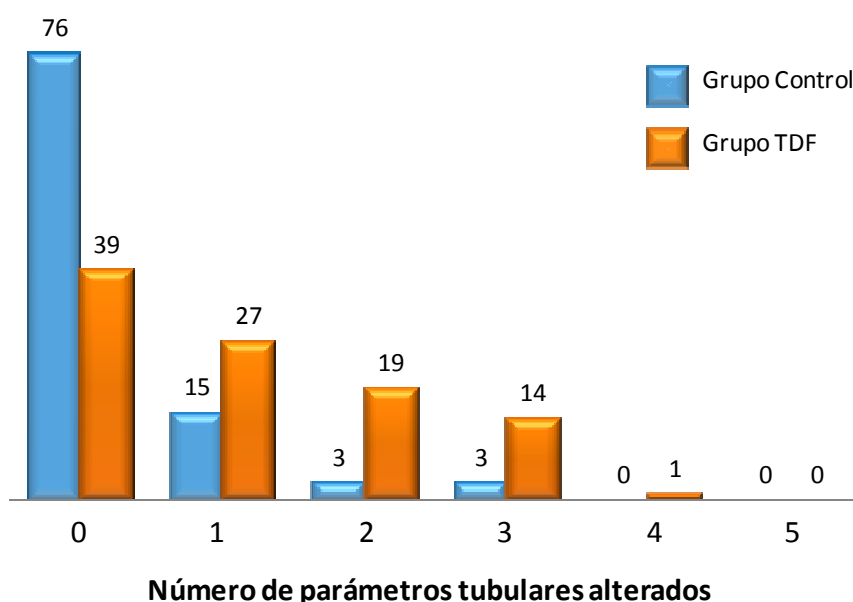


Figura 16. Porcentaje de pacientes en el grupo de TDF (barras naranjas) y en el grupo control (barras azules) clasificados según el número de parámetros de función tubular alterados.

2.3 Asociación entre niveles de plasmáticos de tenofovir y función renal.

La mediana de la C_{12h} TFV en la población de estudio fue de 113,5 (83-176,25) ng/mL. Aquellos pacientes que presentaron alteración en la excreción de β_2 microglobulina tenían niveles de TFV más elevados comparado con los pacientes con β_2 microglobulina

normal (190 ng/mL (106-223) vs 107,5 ng/mL (81-158), $p=0,001$) (Figura 17). Así mismo, aquellos pacientes con la RTF alterada tenían niveles de TFV significativamente mayores que los pacientes con RTF normal, 142 ng/mL (101,5-182) vs 94,5 ng/mL (75-143,5), respectivamente, ($p=0,028$) (Figura 18).

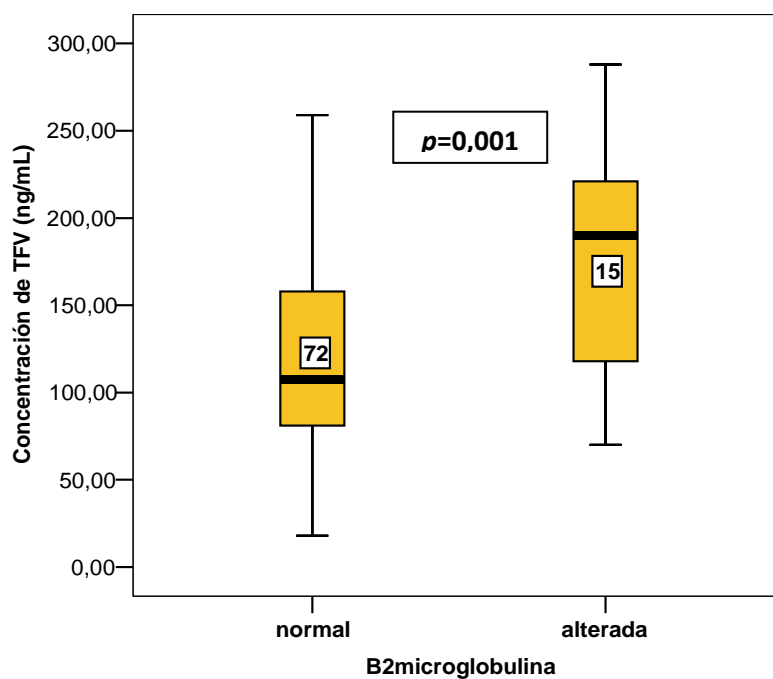


Figura 17. Concentración plasmática de TFV (C_{12h}) en pacientes con niveles de β_2 microglobulina normal o alterados.

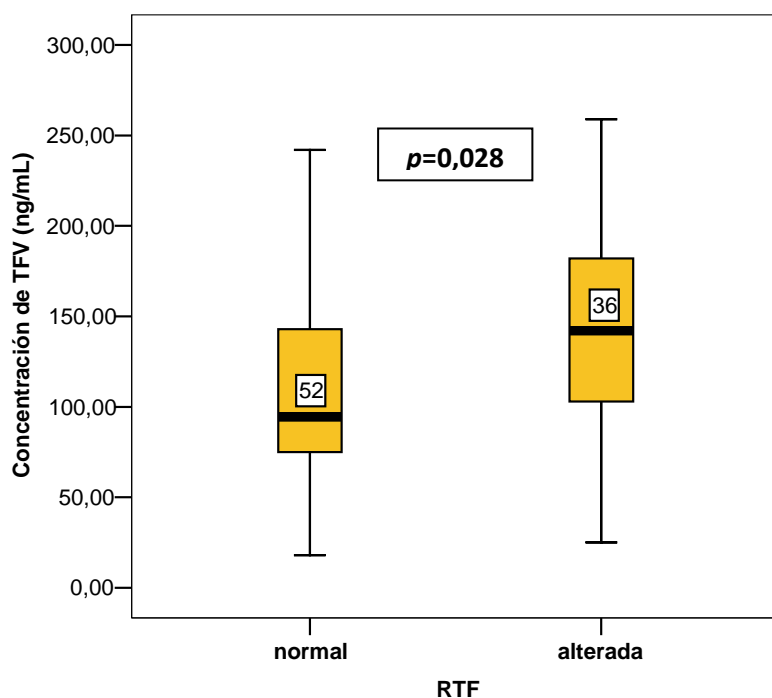


Figura 18. Concentración plasmática de TFV (C_{12h}) en pacientes con reabsorción tubular de fosfatos (RTF) normal o alterada.

Para el resto de parámetros no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TFV en función de si estos parámetros eran normales o estaban alterados. (Tabla 9).

Parámetros de función renal		TFV (C_{12h})	<i>p</i>
TmPO ₄ /TFG	Normal	106 (78-166)	0,20
	Alterado	124,5 (94,75-189)	
ETF	Normal	109 (83-179)	0,8
	Alterado	112 (61-176)	
EFac	Normal	109 (82-176)	0,5
	Alterado	135 (94-208)	
ClCr	Normal	110,5 (83-172)	0,8
	Alterado	139 (66-219)	

Tabla 9. Niveles de TFV (C_{12h}) en función de si los parámetros renales evaluados eran normales o estaban alterados. Se consideran valores alterados: TmPO₄/TGF <2,5; ETF >1200 mg/día; Efa >15%, ClCr <60 mL/min/1,73m².

Se determinó el mejor punto de corte (cut-off) para C_{12h} TFV que discriminaba entre tener alteración renal o no, definida por la presencia de β_2 microglobulina alterada o bien por la presencia RTF alterada. El mejor punto de corte para C_{12h} TFV que discriminaba para β_2 microglobulina alterada fue el de 140 ng/mL, con un 64% de sensibilidad y un 72% de especificidad, área bajo la curva=0,723, $p=0,009$. Para la RTF, el mejor punto de corte para C_{12h} TFV fue el de 133,5 ng/mL, con un 58% de sensibilidad y un 73% de especificidad, área bajo la curva=0,649, $p=0,018$ (Figura 19).

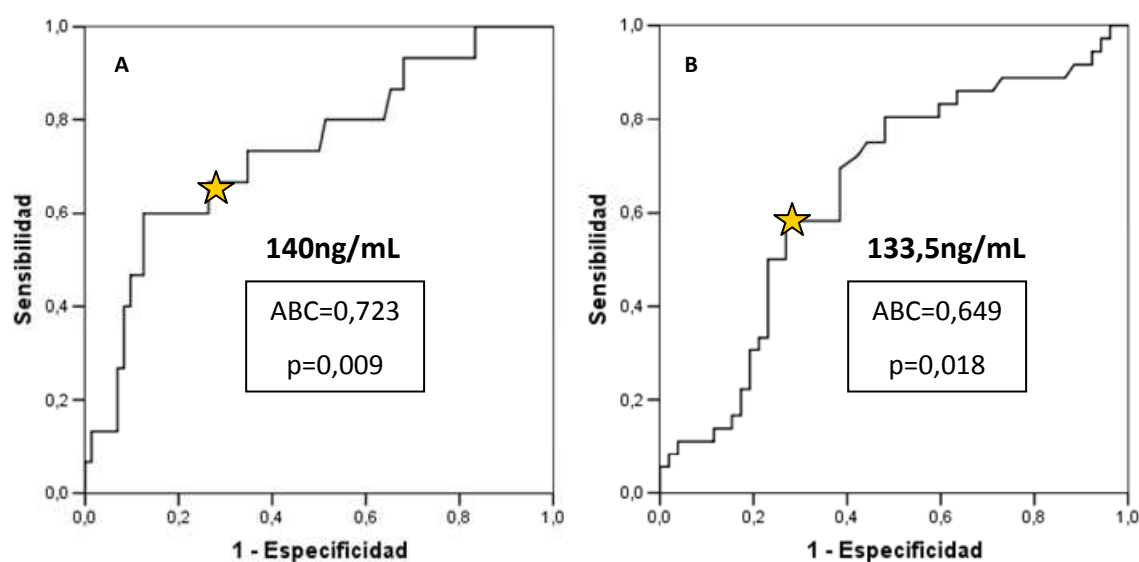


Figura 19. Curva ROC con los valores de sensibilidad y especificidad para cada posible punto de corte de C_{12h} TFV para predecir β_2 microglobulina alterada (A) y RTF alterada (B). ABC: Área bajo la curva.

Empleando el punto de corte de 133,5 ng/mL también para β_2 microglobulina, por ser más restrictivo, los valores de sensibilidad y especificidad fueron de 64% y 67%, respectivamente, $p=0,004$.

2.4 Impacto de fármacos antirretrovirales concomitantes sobre los niveles de tenofovir.

De los 98 pacientes incluidos en el estudio, un 59 % recibían IP de forma concomitante (27 ATV, 13 LPV, 6 FOS, 5 TPV, 5 SQV y 2 DRV) y un 41% ITINAN (22 EFV, 18 NVP). Todos los IP estaban potenciados con RTV (IP/r) excepto 7 pacientes que tomaban ATV sin potenciar.

Teniendo en cuenta que la magnitud del efecto de los IP sin RTV sobre los niveles de TFV es similar a la de los ITINAN, se agrupó a los pacientes en función de si tomaban ITINAN o IP sin RTV o bien IP/r. La C_{12h} de TFV fue 105,5 (82,25-135) ng/mL vs 131 (81-194) ng/mL, respectivamente ($p=0,09$) (Figura 20).

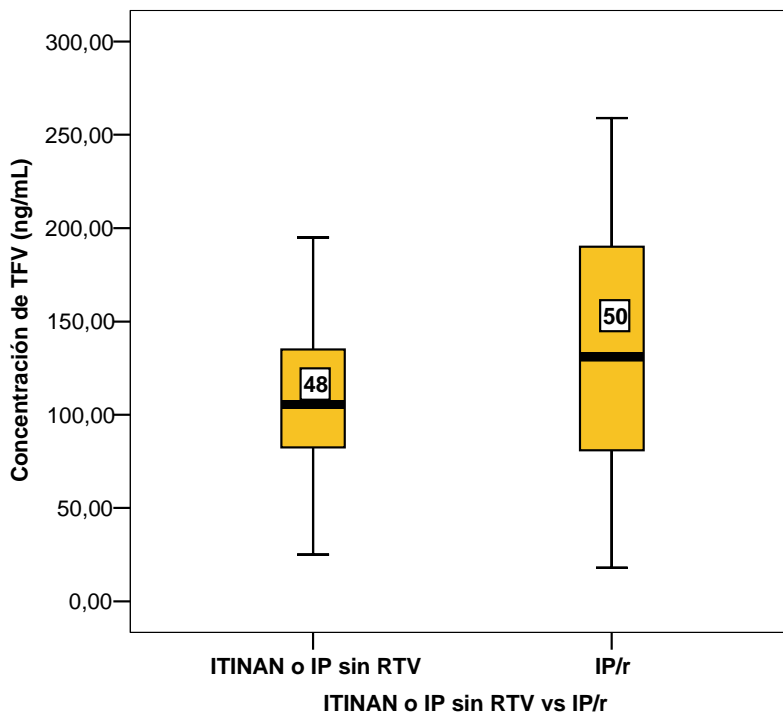


Figura 20. Niveles de TFV (C_{12h}) en función de si los pacientes tomaban ITINAN o IP sin RTV frente a IP/r. ITINAN: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de Proteasa; RTV: Ritonavir; IP/r: Inhibidores de Proteasa potenciados con RTV.

Se evaluó la contribución de cada IP/r en el aumento de la C_{12h} de TFV. La C_{12h} de TFV fue mayor en aquellos que recibían de forma concomitante ATV, LPV y DRV frente al resto de IP/r; 142 (86-212) vs 105 (81-135), respectivamente ($p=0,01$) (Figura 21).

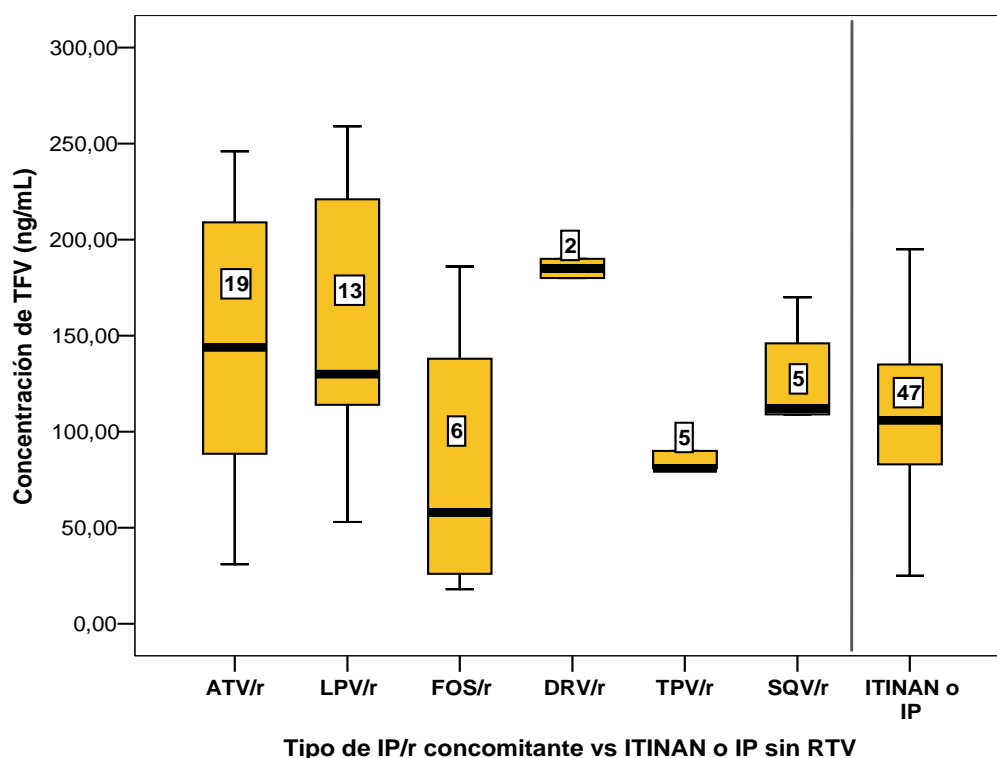


Figura 21. Nivel de TFV (C_{12h}) en función del tipo de IP/r concomitante y en comparación con el obtenido con ITINAN o IP sin ritonavir. ATV: atazanavir; LPV: lopinavir; FOS: fosamprenavir; DRV: darunavir; TPV: tipranavir; SQV: saquinavir; ITINAN: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de Proteasa.

Empleando el cut-off para C_{12h} TFV de 133,5 ng/mL establecido en el apartado anterior, se observó que el 48% de los pacientes que recibían IP/r tenían niveles de TFV por encima del cut-off, mientras que en el grupo que recibía ITINAN o IP sin potenciar, este porcentaje se reducía a un 27%, $p=0,034$ (Figura 22).

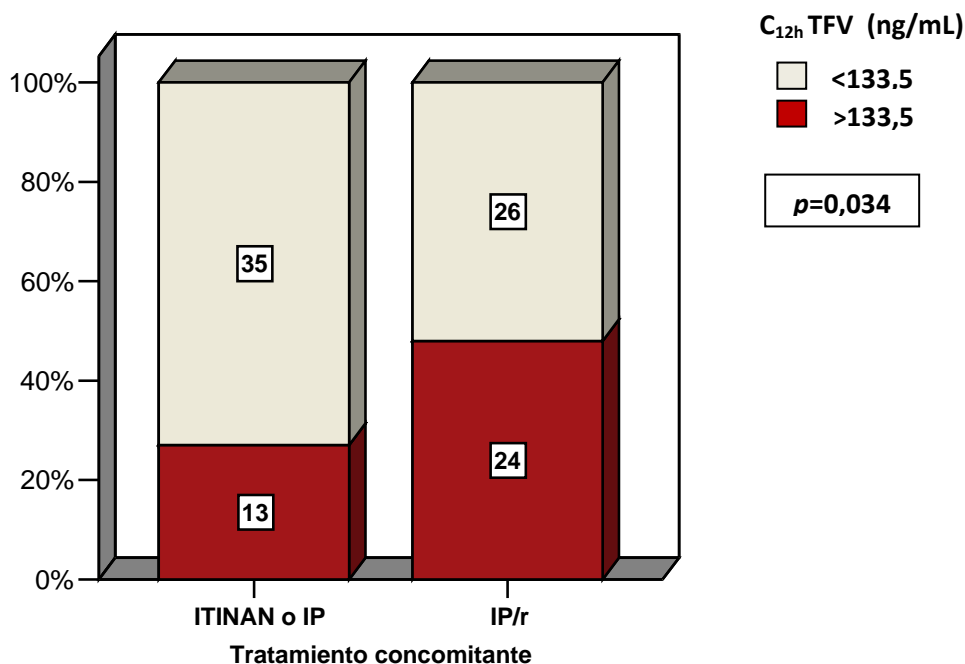


Figura 22. Porcentaje de pacientes con C_{12h} TFV mayor o menor de 133,5ng/mL en función de si toman de forma concomitante IP/r frente a ITINAN o IP sin potenciar.

Se realizaron regresiones logísticas para evaluar las variables relacionadas con presentar niveles de TFV superiores al cut-off establecido (TFV>133,5 ng/mL). Las variables incluídas fueron: edad, sexo, raza, IMC, CV basal de VIH, nivel de CD4, coinfección con los virus VHB y VHC, tratamiento concomitante con IP/r, fármacos concomitantes nefrotóxicos y uso previo de ddl. De todas las variables incluídas, el tratamiento concomitante con IP/r (OR: 4,16 IC95% [1,36-12,68], $p=0,012$) y el sexo femenino (OR: 8,6 IC95% [1,48-50,01], $p=0,017$) se relacionaron independientemente con niveles de TFV superiores al cut-off. Teniendo en cuenta el tipo de IP/r, el uso de ATV, LPV o DRV, también se relacionó de forma independiente con presentar niveles de TFV superiores al cut-ff, OR: 2,78 IC95% [1,14-6,8], $p=0,025$. (Tabla 10).

C _{12h} TFV >133,5 ng/mL	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC95%)	<i>p</i>	OR (IC95%)	<i>p</i>
Edad (por año)	1,03 [0,97-1,72]	0,31	-	-
Sexo femenino	6,21 [1,56-24,75]	0,01	8,6 [1,48-50,01]	0,017
Raza caucásica	3,11 [0,69-13,92]	0,13	0,35 [0,07-1,67]	0,18
IMC	1,03 [0,89-1,18]	0,69	-	-
Carga viral VIH, log (copias/mL)	0,95 [0,72-1,26]	0,73	-	-
Nivel de CD4 (células/mL)	1,001 [1,000-1,003]	0,11	1,00 [0,99-1,001]	0,66
Coinfección VHC y/o VHB	1,03 [0,42-2,53]	0,94	-	-
IP/r concomitante	2,48 [1,07-5,78]	0,035	4,16 [1,36-12,68]	0,012
Fármacos neurotóxicos	1,54 [0,51-4,68]	0,44	-	-
Uso previo de ddl	1,22 [0,10-13,94]	0,87	-	-

Tabla 10. Principales predictores de niveles de TFV superiores a 133,5 ng/mL.

2.5 Variables asociadas con alteración renal

Se realizaron regresiones logísticas para evaluar las variables relacionadas con el desarrollo de alteración renal, definida por la presencia de RTF alterada. Las variables que se incluyeron en el análisis fueron edad, sexo, IMC, CV basal de VIH, nivel de CD4, coinfección con los virus VHC y VHB, otras enfermedades relevantes (HTA, diabetes), tratamiento con IP/r concomitante, uso previo de ddl, fármacos concomitantes nefrotóxicos, tiempo en tratamiento con TDF y niveles de TFV (cut-off de C_{12h} TFV). Los predictores independientes de presentar alteración de la RTF en el análisis multivariante fueron: el nivel de TFV > 133,5ng/mL (OR 5,85 IC95% (1,97-17,53), *p*=0,002) y el tiempo en tratamiento con TDF (OR 1,04 IC95% (1,007-1,065), *p*=0,017) **(Tabla 11).**

RTF alterada	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC95%)	<i>p</i>	OR (IC95%)	<i>p</i>
Edad (por año)	1,05 [0,99-1,10]	0,072	0,79 [0,41-1,52]	0,48
Sexo femenino	0,80 [0,21-2,97]	0,74	-	-
IMC	0,97 [0,84-1,13]	0,74	-	-
Carga viral VIH, log (copias/mL)	0,68 [0,50-0,94]	0,018	0,78 [0,54-1,13]	0,19
Nivel de CD4 (células/mL)	1,001 [1,00-1,003]	0,10	1,001 [1,00-1,003]	0,086
Coinfección VHC y/o VHB	1,57 [0,62-3,95]	0,34	-	-
HTA, Diabetes	2,76 [1,028-7,40]	0,044	1,58 [0,42-5,93]	0,49
IPs concomitante	1,32 [0,56-3,11]	0,52	-	-
Uso previo de ddl	3,93 [0,34-45,08]	0,27	-	-
Fármacos nefrotóxicos	7,32 [0,88-60,64]	0,17	0,24 [0,05-1,19]	0,085
Tiempo en tratamiento con TDF	1,03 [1,002-1,051]	0,032	1,04 [1,007-1,065]	0,017
C_{12h} TFV >133,5 ng/mL	3,8 [1,54-9,37]	0,004	5,85 [1,97-17,53]	0,002

Tabla 11. Principales predictores de alteración en la RTF.

Por último, se analizó el impacto de la combinación de factores clásicos relacionados con alteración renal (edad avanzada, sexo femenino, peso corporal bajo, HTA y diabetes) y de niveles altos de TFV>133,5 ng/mL (cut-off establecido en este estudio) sobre la RTF. Se consideró edad avanzada un valor superior a 60 años y peso corporal bajo si el IMC era inferior a 21. Si consideráramos la existencia de 2 o más factores para predecir alteración renal, los valores predictivos positivo y negativo eran del 71% y 73%, respectivamente ($p<0,001$) (Figura23).

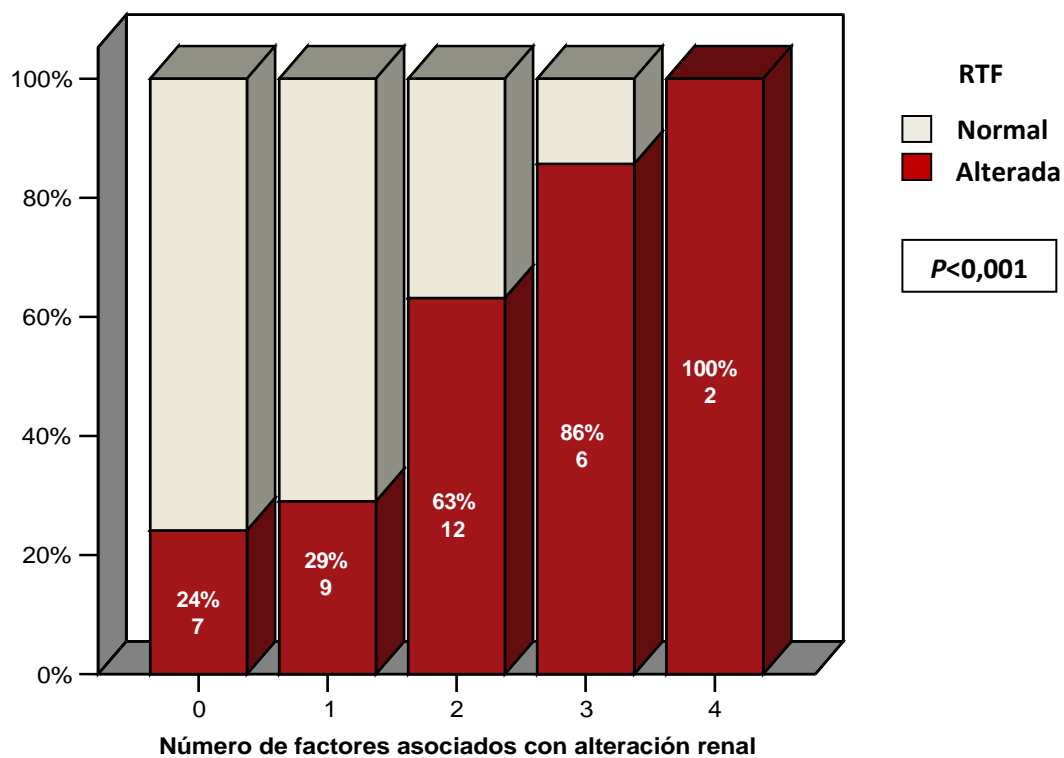


Figura 23. Porcentaje y número de pacientes con RTF alterada según número de factores asociados con alteración renal (edad>60), sexo femenino, peso corporal bajo (IMC<21), HTA, diabetes y niveles de TFV>133,5 ng/mL.

3. Resultados estudio 3: Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos, cambios en la función renal y niveles en plasma de tenofovir.

3.1 Características de la población de estudio.

Se incluyeron 96 pacientes en tratamiento con TDF. Se empleó como criterio de función renal la RTF y se definieron casos y controles en base a la presencia o no de RTF alterada. Las características de la población de estudio se resumen en la **tabla 12**. Un total de 39 pacientes (40%) tenían la función renal alterada, estimada por la RTF. La mediana de tiempo en tratamiento con TDF fue de 34 (11-48) meses. No hubo diferencias significativas en cuanto a sexo, raza, IMC, coinfección con VHC y/o VHB ni exposición a IP entre los grupos. Sin embargo, en el grupo de pacientes con RTF alterada, la mediana de edad, el tiempo en tratamiento con TDF y los niveles de TFV fueron superiores que en el grupo de pacientes con RTF normal.

Variables	RTF normal N=57	RTF alterada N=39	p
Edad (años)	41 (35-44)	46 (39-52)	0,04
Sexo masculino, n (%)	52 (88)	36 (87)	0,93
Raza Caucásica, n (%)	53 (90)	36 (87)	0,42
IMC	23,6 (21,3-26,6)	22,6 (20,3-26,5)	0,22
Coinfectado VHC y/o VHB, n (%)	17 (30)	17 (43)	0,18
Otras enfermedades (HTA, Diabetes), n (%)	11 (19)	14 (35)	0,10
Carga viral VIH, log (copias/mL)	1,69	1,69	0,92
Recuento de CD4 (células/ μ L)	441 (297-612)	540 (349-782)	0,2
Mediana de tiempo en tratamiento (meses)	24 (6,5-44)	43 (8-54)	0,001
Tratamiento con IP/r concomitante, n (%)	30 (53)	16 (41)	0,29
TFV>133,5 (ng/mL), n (%)	14 (24)	23 (59)	0,001

Tabla 12. Características de los 96 pacientes incluidos en el estudio.

3.2 Asociación entre polimorfismos genéticos y cambios en la función renal.

Se analizaron SNPs en los genes *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6*, *SLC22A11* y *SLC34A1*.

En la **Tabla 13 (Anexo I)** se describen las frecuencias genotípicas y alélicas entre los casos y controles. Todos los SNPs estudiados se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

De todos los SNPs analizados, los SNPs *rs899494*, en el gen *ABCC4*, y *rs3812036*, en el gen *SLC34A1*, mostraron asociación con la RTF. De los pacientes con el genotipo CC en el gen *ABCC2-669*, un 46% presentaban la RTF alterada frente a un 23% en los

portadores de los genotipos *CT* o *TT* ($p=0,053$) (**Figura 24**). Así mismo, de pacientes portadores de al menos un alelo *T* (*CT* o *TT*) en el gen *SLC34A1*, un 54% tenían la RTF alterada frente a un 30% en los portadores del genotipo *CC* ($p=0,03$) (**Figura 25**).

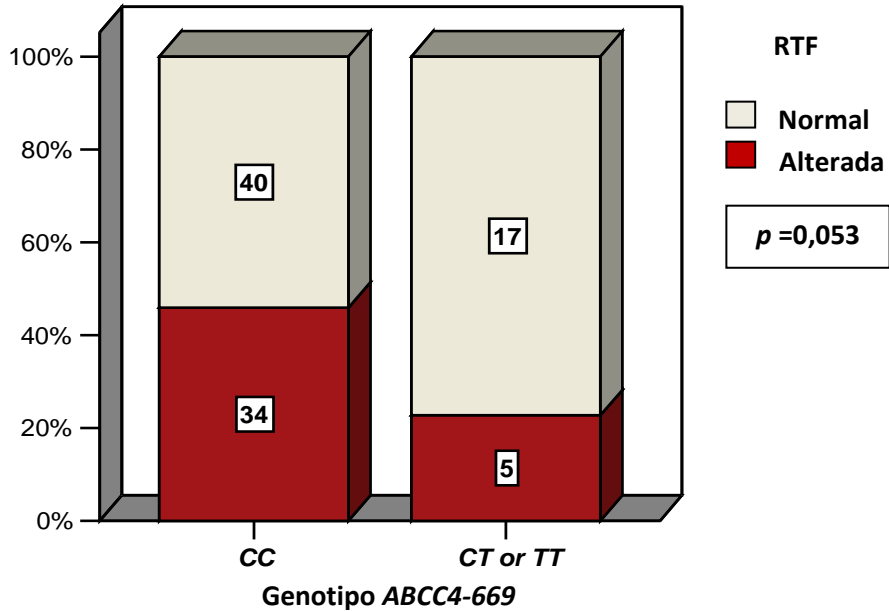


Figura 24. Porcentaje de pacientes con la RTF normal o alterada según el genotipo en *ABCC4* (SNP *rs899494*).

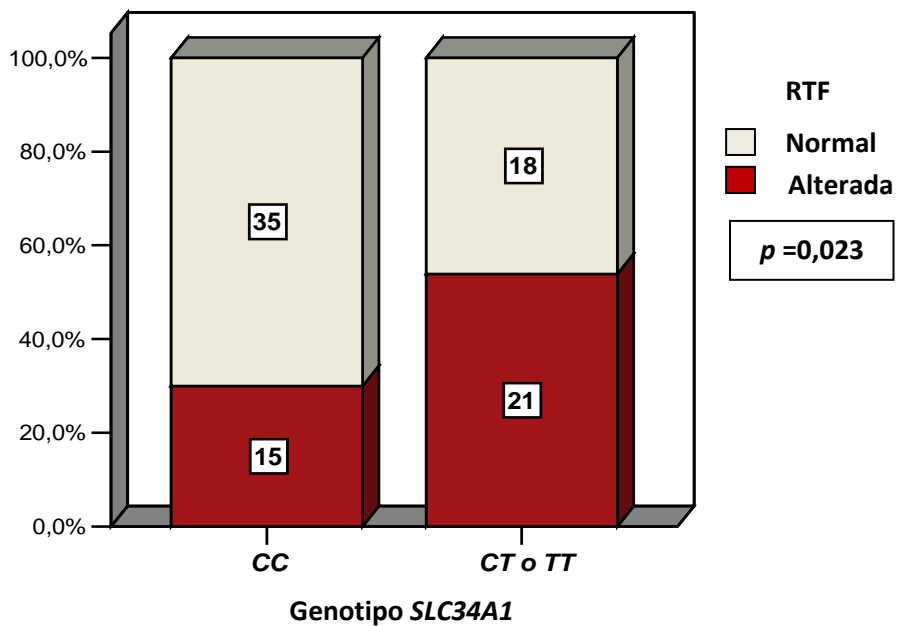


Figura 25. Porcentaje de pacientes con la RTF normal o alterada según el genotipo en *SLC34A1* (SNP *rs3812036*).

3.3 Asociación entre haplotipos genéticos y cambios en la función renal.

Se construyeron haplotipos para *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6* y *SLC34A1* empleando distintos SNPs:

- para *ABCC2*: -24 (*rs717620*), 1249 (*rs2273697*), 3563 (*rs8187694*) y 3972 (*rs3740066*);
- para *ABCC4*: 669 (*rs899494*), 3463 (*rs1751034*) y 4131 (*rs3742106*);
- para *ABCB1*: 3435 (*rs1045642*), 1236 (*rs1128503*) y 2677 (*rs2032582*);
- para *SLC22A6*: Intrones *rs10897312*, *rs4149172*, *rs1156862* y *rs3017670*;
- para *SLC34A1*: Intrones *rs3812036* y *rs6420094*.

La distribución y frecuencia de los haplotipos en los casos y controles se muestra en la **tabla 14 (Anexo I)**.

De todos los haplotipos analizados, los haplotipos *ABCC2-CGTC* y *SLC34A1-TT* se asociaron significativamente con alteración de la RTF. Entre los pacientes con el haplotipo *ABCC2-CGTC*, un 48% tenían la RTF alterada frente a un 28% en los portadores de otro haplotipo ($p=0,048$). Así mismo, entre los portadores del haplotipo *SLC34A1-TT*, un 54% tenían la RTF alterada frente a un 28% en los portadores de otro haplotipo ($p=0,03$) (**Figuras 26 y 27**).

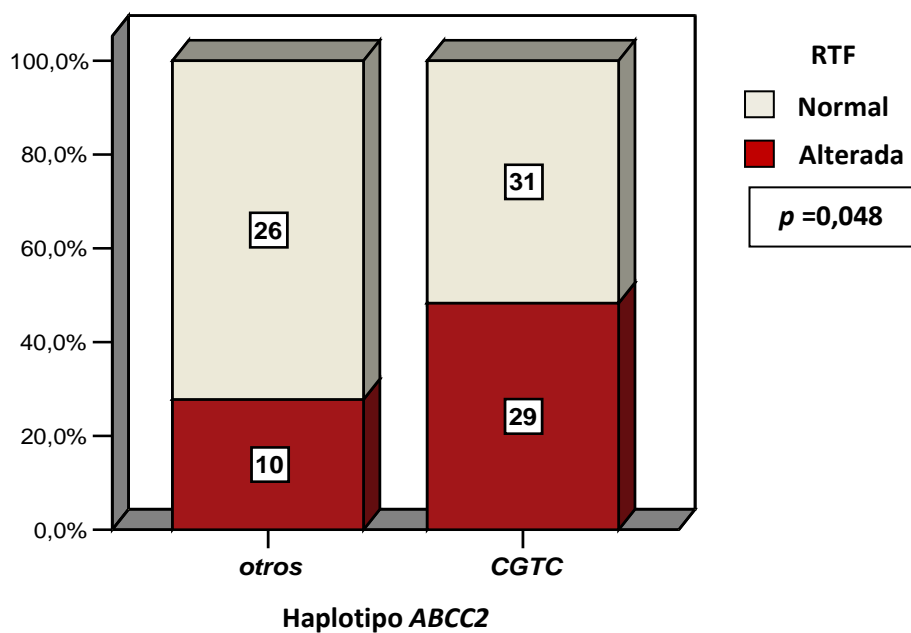


Figura 26. Porcentaje de pacientes con la RTF normal o alterada en función de si son portadores del haplotipo ABCC2-CGTC.

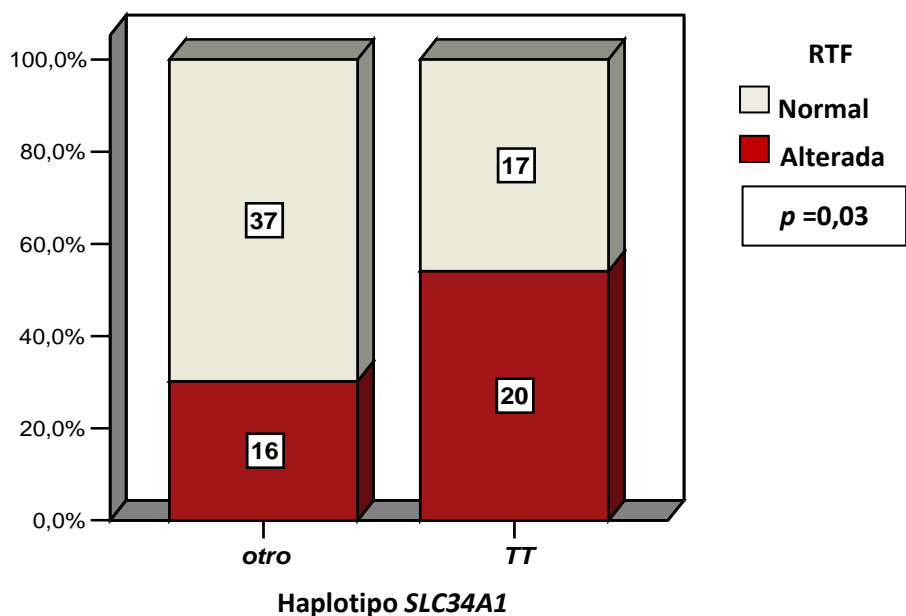


Figura 27. Porcentaje de pacientes con la RTF normal o alterada en función de si son portadores del haplotipo SLC34A1-TT.

Se analizó la asociación entre la presencia de los dos haplotipos antes señalados y la alteración en la RTF. Entre los pacientes portadores de 1 haplotipo, un 46% tenían la RTF alterada y entre los que presentaban los 2 haplotipos, el porcentaje aumentaba a un 68%. La presencia de los dos haplotipos conjuntamente tuvo unos valores predictivo positivo y negativo del 68% en ambos casos ($p=0,006$) (**Figura 28**).

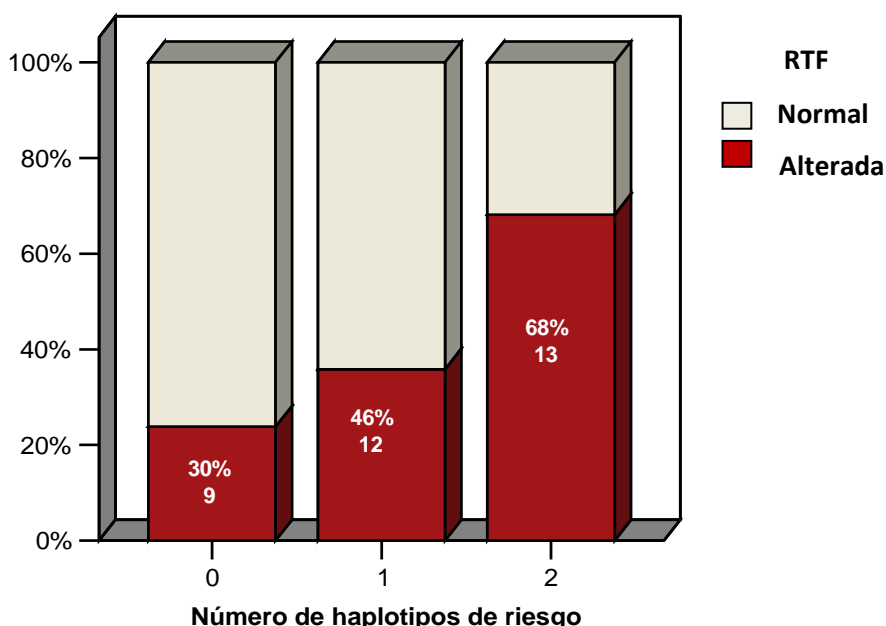


Figura 28. Porcentaje de pacientes con RTF normal o alterada en función de si presentan alguno de los haplotipos considerados de riesgo (Haplotipos *SLC34A1-TT* y *ABCC2-CGTC*).

3.4 Asociación entre polimorfismos genéticos y niveles de TFV.

Se analizaron SNPs en los genes *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6*, *SLC22A11* y *SLC34A1*.

En la **Tabla 15** se describen las frecuencias genotípicas y alélicas en función de si los pacientes presentaban niveles de TFV menores o mayores de 133,5 ng/mL (**Anexo I**).

Todos los SNPs estudiados se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

De todos los polimorfismos estudiados, sólo el *ABCB1-3435* (*rs1045642*) se asoció con los niveles de TFV. Los pacientes con el genotipo *CC* tenían concentraciones de TFV más altas que los pacientes con los genotipos *CT* o *TT*. (143 [85-194] vs 118 [76-144] ng/mL, respectivamente, $p=0,028$). (Figura 29).

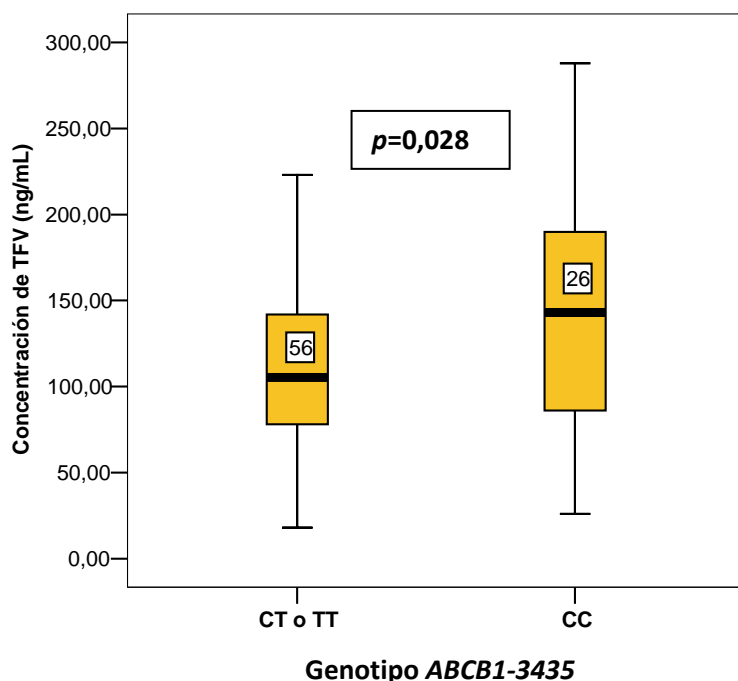


Figura 29. Nivel de TFV (C_{12h}) en función el genotipo *CC* o *CT/TT* en el gen *ABCB1* (SNP *rs1045642*).

Teniendo en cuenta el cut-off establecido para los niveles de TFV ng/mL en el estudio 2 (133,5 ng/mL), se observó que entre los pacientes portadores del genotipo *CC*, un 54% tenían niveles superiores al cut-off de 133,5 ng/mL frente a un 30% en los pacientes portadores del genotipo *CT* o *TT*, $p=0,042$ (Figura 30).

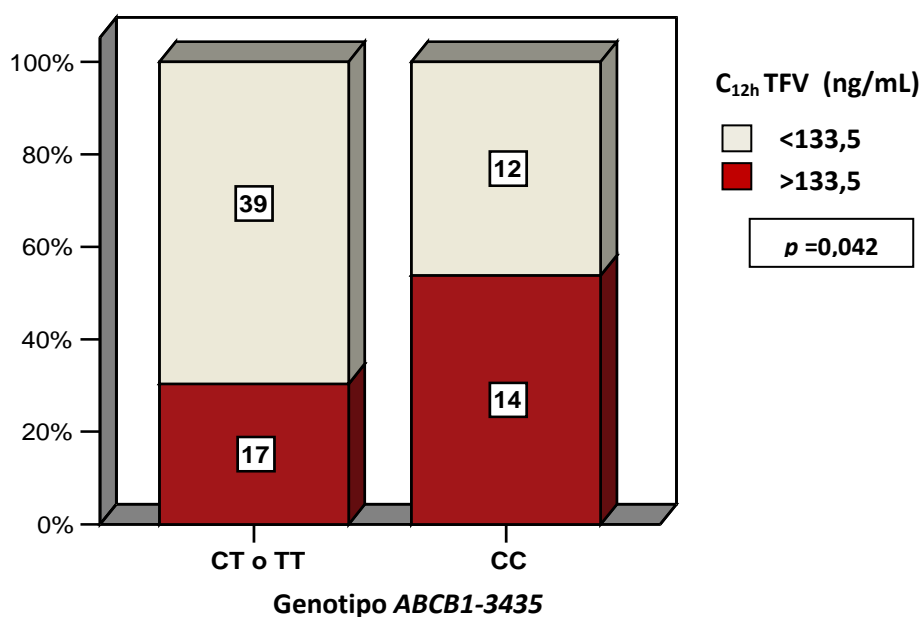


Figura 30. Porcentaje de pacientes con C_{12h} TFV mayor o menor de 133,5ng/mL en función del genotipo CC o CT/TT en ABCB1 (*rs1045642*).

Se construyeron haplotipos para ABCB1 empleando los SNPs en las posiciones 1236 (*rs1128503*), 2677 (*rs2032582*) y 3435 (*rs1045642*). La distribución y frecuencia de los haplotipos en función de si los pacientes tenían niveles de TFV mayores o menores de 133,5 ng/mL se muestra en la **tabla 16 (Anexo I)**.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en función de los haplotipos. De todos los analizados, se observó que el haplotipo CGC fue más frecuente en el grupo de pacientes con niveles de TFV superiores a 133,5 ng/mL (OR (IC95%) 2,83 (0,92-8,66), $p=0,063$), mientras que el haplotipo CGT fue más frecuente en el grupo con niveles menores de 133,5 ng/ml (3,98 (0,82-19,37), $p=0,071$).

3.5 Factores que afectan a los niveles de TFV.

Para analizar el impacto de los polimorfismos sobre los niveles de TFV, se realizaron regresiones logísticas incluyendo los polimorfismos genéticos en *ABCB1* estudiados y las variables ya relacionadas con presentar niveles de TFV superiores al cut-off de 133,5 ng/mL en el estudio 2. Las variables incluidas en el análisis multivariante fueron: sexo, raza, nivel de CD4, tratamiento concomitante con IP/r, ser portador del haplotipo *ABCB1-CGC* (de riesgo). De todas las variables incluidas, el tratamiento concomitante con IP/r (OR: 3,29 IC95% [1,18-9,12], $p=0,022$), el sexo femenino (OR: 11,37 IC95% [1,81-71,16], $p=0,009$) y ser portador del haplotipo *ABCB1-CGC* (OR: 6,69 (1,10-40,853), $p= 0,037$), se relacionaron independientemente con niveles de TFV superiores al cut-off (**Tabla 17**).

C_{12h} TFV >133,5 ng/mL	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Edad (por año)	1,29 [0,80-1,24]	0,28	-	-
Sexo femenino	4,57 [1,08-19,22]	0,04	11,37 [1,81-71,16]	0,009
Raza caucásica	3,03 [0,67-13,74]	0,15	0,28[0,05-1,65]	0,16
IMC	0,97 [0,84-1,13]	0,77	-	-
Carga viral VIH, log (copias/mL)	0,93 [0,71-1,30]	0,81	-	-
Nivel de CD4 (células/mL)	0,99 [0,99-1,003]	0,30	-	-
Coinfección VHC y/o VHB	1,11 [0,41-2,95]	0,83	-	-
IP/r concomitante	2,66 [1,07-6,61]	0,034	3,29 [1,18-9,12]	0,022
Fármacos nefrotóxicos	1,20 [0,34-4,12]	0,78	-	-
Uso previo de ddl	1,24 [0,10-14,25]	0,83	-	-
Haplotipo <i>ABCB1-CGC</i>	2,83 [0,93-8,66]	0,067	3,48 [0,98-12,26]	0,05

Tabla 17. Predictores de niveles de TFV superiores al cut-off de 133,5 ng/mL.

3.6 Factores predictores de daño renal.

Se realizaron regresiones logísticas para evaluar las variables relacionadas con el desarrollo de alteración renal, definida por la presencia de RTF alterada, incluyendo las variables encontradas en los estudios 2 y 3. Las variables que se incluyeron en el análisis fueron: edad, sexo, IMC, CV basal de VIH, nivel de CD4, coinfección con los virus VHC y VHB, otras enfermedades relevantes (HTA, diabetes), tratamiento con IP/r concomitante, uso previo de ddl, fármacos concomitantes nefrotóxicos, tiempo en tratamiento con TDF, niveles de TFV > 133,5 ng/mL y presencia de haplotipos de riesgo (*SLC34A1-TT* y *ABCC2-CGTC*). Las variables relacionadas de forma independiente con la RTF alterada fueron: el nivel de CD4 (OR:1,00 IC95% (1,002-1,004), $p=0,0434$), el tiempo en tratamiento con TDF (OR: 1,04 IC95% [1,01-1,007], $p=0,045$), el nivel de TFV>133,5 ng/mL (OR:9,68 IC95% (2,57-36,45), $p=0,001$), y la existencia de los haplotipos de riesgo *SLC34A1-TT* y *ABCC2-CGTC* (OR:7,76 IC95% (1,62-37,06), $p=0,010$).

(Tabla 18).

RTF alterada	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Edad (por año)	1,07 [1,01-1,12]	0,013	0,98 [0,91-1,57]	0,567
Sexo femenino	1,05 [,30-3,5]	0,93	-	-
IMC	0,94 [0,82-1,13]	0,41	-	-
Carga viral VIH, log (copias/mL)	0,69 [0,51-0,94]	0,019	0,90 [0,56-1,44]	0,67
Nivel de CD4 (células/mL)	1,001 [1,00-1,003]	0,07	1,00 [1,002-1,004]	0,034
Coinfección VHC y/o VHB	1,84 [0,77-4,51]	0,17	3,13 [0,92-10,61]	0,067
HTA o Diabetes	2,19 [0,86-5,55]	0,099	2,58 [0,62-10,39]	0,19
IPs concomitante	1,60 [0,66-3,86]	0,29	-	-
Uso previo de ddl	3,03 [0,26-34,08]	0,37	-	-
Fármacos nefrotóxicos	1,17 [0,38-3,53]	0,78	-	-
Tiempo en tratamiento con TDF	1,04 [1,014-1,06]	0,002	1,04 [1,01-1,007]	0,045
C_{12h} TFV >133,5 ng/mL	4,52 [1,76-11,306]	0,002	9,68 [2,57-36,45]	0,001
2 Haplotipos de riesgo	4,46 [1,61-12,39]	0,004	7,76 [1,62-37,06]	0,010

Tabla 18. Principales predictores de la RTF alterada. Haplotipos considerados de riesgo: *SLC34A1-TT* y *ABCC2-CGTC*.

Por último, se analizó el impacto de la combinación de factores clásicos relacionados con alteración renal (edad avanzada, sexo femenino, peso corporal bajo, HTA y diabetes), niveles de TFV>133,5 ng/mL y la presencia de los haplotipos de riesgo establecidos en este objetivo, sobre el desarrollo de RTF alterada. Se consideró edad avanzada un valor superior a 60 años, peso corporal bajo si el IMC era inferior a 21 y presencia de los 2 haplotipos considerados de riesgo *SLC34A1-TT* y *ABCC2-CGTC*. Cuando estaban presentes 2 o más factores, los valores predictivos positivo y negativo eran del 68% y 79%, respectivamente ($p<0,001$) (**Figura 31**).

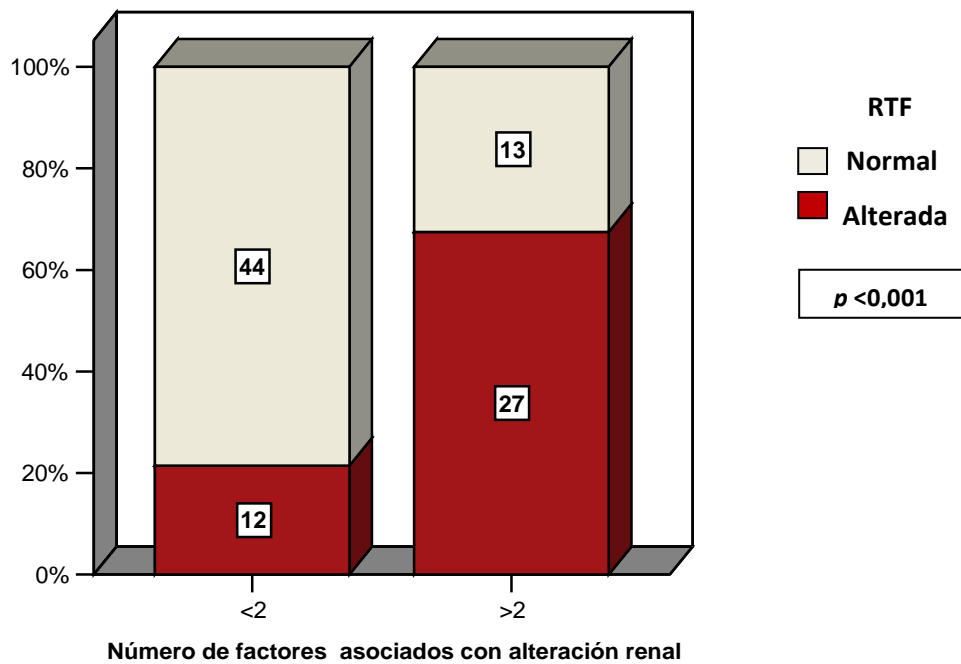
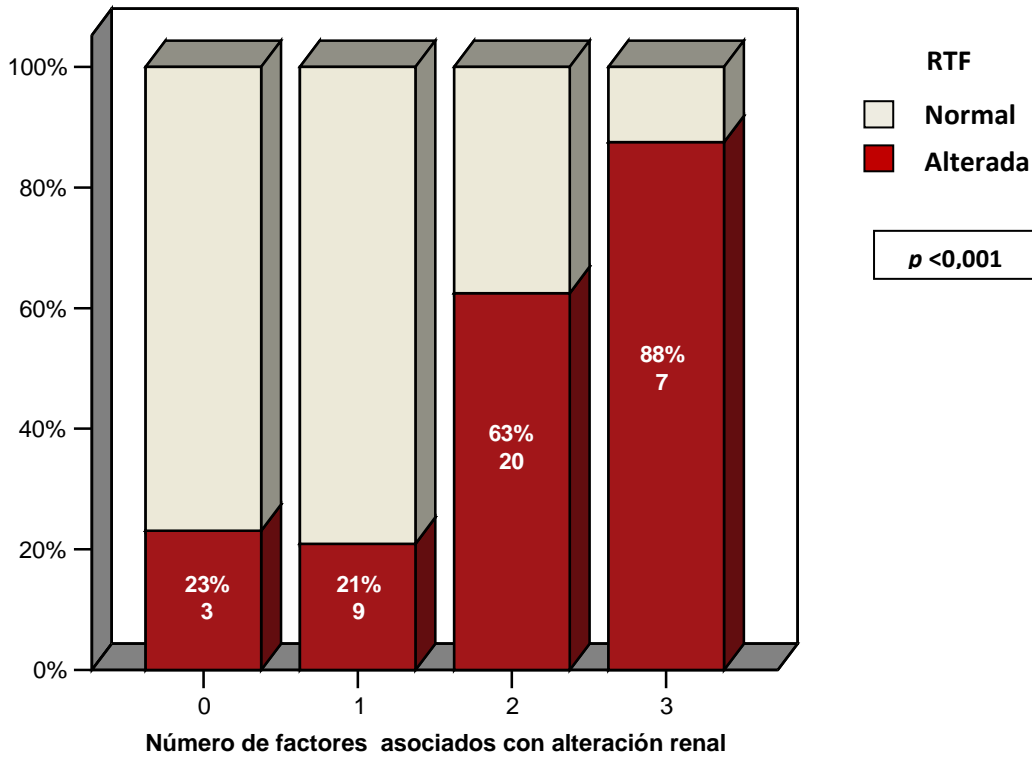


Figura 231. Porcentaje y número de pacientes con RTF alterada según número de factores asociados con alteración renal: clásicos (edad>60, sexo femenino, peso corporal bajo (IMC<21), HTA y diabetes; niveles de TFV>133,5 ng/mL y presencia de los 2 haplotipos de riesgo).

VI. DISCUSIÓN

La introducción del TARGA como estándar de tratamiento de la infección por VIH ha supuesto un cambio radical en el curso de la infección y en la evolución de los pacientes. El aumento de la esperanza de vida y la disminución de la incidencia de las infecciones clásicas oportunistas, ha dado paso a la problemática de la toxicidad del tratamiento antirretroviral y la emergencia de otras comorbilidades, como la enfermedad renal, ósea, hepática o cardiovascular (Cotter A.G. et al., 2011; Neuhaus J. et al., 2010; Schwartz E.J. et al, 2005).

Actualmente, Tenofovir es uno de los fármacos más empleados como parte del TARGA, tanto en primera línea como en pacientes pretratados, ya que combina excelentes propiedades como son su potencia antiviral, tolerabilidad y dosificación de una vez al día. Sin embargo, cada vez son más los casos comunicados de pacientes en tratamiento con tenofovir que presentan alteración de la función renal, principalmente de origen tubular (Haverkort M.E. et al., 2011; Peyrere H. et al., 2004; Rollot F. et al., 2003; Vilches-Aparicio V. et al., 2010; Zaidan M. et al., 2013; Zimmerman AE. et al., 2006). Por tanto, es necesario caracterizar los factores de riesgo asociados al desarrollo de toxicidad renal para poder detectarla de forma temprana y prevenir complicaciones futuras. Entre los factores relacionados con un aumento del riesgo de nefrotoxicidad en pacientes tratados con TDF se encuentran aquellos factores relacionados con la farmacocinética y la farmacogenética del TDF.

A continuación, se discuten los resultados obtenidos en relación al papel que pueden jugar las concentraciones plasmáticas y los factores genéticos del TDF en la alteración renal asociada al tratamiento con este fármaco.

Cuantificación de tenofovir en muestras de plasma de pacientes VIH.

Para la cuantificación de los niveles plasmáticos de TFV en muestras de pacientes VIH se desarrolló y validó un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución con detección espectrométrica de masas (HPLC-MS/MS). En líneas generales, los análisis mediante el uso de la espectrometría de masas se caracterizan por alcanzar límites de detección del orden de femtomoles, lo que permite cuantificar las bajas concentraciones de muchos fármacos empleados en clínica. Esta característica supone una ventaja respecto a otras técnicas empleadas en la cuantificación de fármacos que emplean detección UV (HPLC-UV), que a pesar de ser el método más ampliamente utilizado, no alcanza los límites de detección de la espectrometría de masas ni es tan específico, especialmente para muestras complejas. La técnica desarrollada en el presente trabajo presentó diversas ventajas respecto a las técnicas convencionales. En primer lugar tiene una elevada sensibilidad, por lo que es posible detectar una sustancia en presencia de otras similares. En segundo lugar, esta técnica requiere poco volumen de muestra para la cuantificación ya que emplea un volumen de inyección menor. Así en nuestra técnica, el volumen de inyección fue de 5µL, 10-20 veces menor que el volumen necesario para otras técnicas de HPLC-UV ([Kandagal P.B., et al 2008](#); [Kou H. et al., 2012](#); [Sentenac S. et al, 2003](#)), por lo que el volumen de plasma requerido para la cuantificación también es menor. Y por último, el procesamiento de las muestras es rápido y sencillo, basado en una precipitación de proteínas sin posterior evaporación al vacío de la muestra, lo que reduce el tiempo de procesamiento respecto a otros métodos publicados de cuantificación de TDF mediante HPLC-MS, que requieren ambos pasos ([D'Avolio A. et al., 2008](#); [Gehrig A.K., et al, 2007](#); [Nirogi et al., 2008](#)). La elución de las muestras se realizó en un tiempo total de 10 min en

comparación con las técnicas de HPLC-UV que suele ser de 15-30 minutos, y con un flujo de fase móvil menor (Kou H. et al., 2012; Sentenac S. et al, 2003). Además, la técnica presentó una buena especificidad, no existieron interferencias analíticas con otros antirretrovirales, un aspecto muy importante en este tipo de pacientes que reciben terapia combinada. Estas características facilitarían su implementación en otros laboratorios de cuantificación de fármacos, ya que por su sencillez sería fácilmente reproducible. Por otro lado, estas ventajas analíticas conllevan también un ahorro en solventes, material fungible y tiempo del personal de laboratorio, que suponen un valor añadido para la utilización de esta técnica.

A pesar de las ventajas de este método, uno de sus inconvenientes principales es su elevado coste de mantenimiento y la necesidad de una infraestructura suficiente para albergar el equipo; por lo que desde un punto de vista práctico, su implementación tendría sentido en un contexto de monitorización farmacológica global de los pacientes VIH, incluyendo tanto la cuantificación de TFV como la de otros ARV o fármacos concomitantes incluidos en la terapia. Por otro lado, se ha demostrado que la toxicidad asociada al uso de TDF es concentración dependiente (Ezinga M. et al., 2012; Haverkort M.E. et al., 2011; Rodríguez-Nóvoa S. et al., 2010), lo que apoyaría el uso de la MCP de TFV para estudios farmacocinéticos relacionados con la función renal. Sin embargo, hay que tener en cuenta que TDF se administra en forma de profármaco, por lo que la forma activa intracelular, TFV fosforilado, no es la que se cuantificaría con la monitorización de las concentraciones plasmáticas. En este sentido, existen datos que correlacionan los niveles plasmáticos de TFV con las concentraciones intracelulares (Baheti G. et al.; 2011). A pesar de esto, existen otras limitaciones para la

aplicación de la MCP de TFV como son la variabilidad intraindividual, tanto en los niveles como en el aclaramiento, mayor de un 30% (Baheti G. et al., 2011; Gagnieu M.C. et al., 2008; Gerard L. et al., 2007;), la falta de un rango terapéutico definido para TFV y de un cut-off establecido para la toxicidad renal.

En series de casos publicados de pacientes con alteración renal en los que se midió la concentración en plasma de TFV, los niveles estaban por encima de la concentración esperada, de acuerdo con los estudios farmacocinéticos realizados en pacientes VIH; por ejemplo: $C_{min} > 100$ ng/mL (Ezinga M. et al., 2012; Giacomet V. et al. 2013; Poizot-Martin I. et al., 2013; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010) o $C_{max} > 1000$ ng/mL (Peyrière H. et al. 2004; Ter Heine R. et al. 2009) en comparación con los valores definidos en la ficha técnica, C_{min} 64 ng/mL y C_{max} 326 ng/mL, respectivamente (Gilead Sciences, 2013). Sin embargo, en la práctica clínica es habitual discontinuar el fármaco cuando se detectan anomalías en los parámetros renales para recuperar la funcionalidad renal (Campbell L.J., et al. 2012; Peyrière H., et al. 2004; Wever K. et al., 2010; Zimmermann A.E., et al. 2006). En este contexto, la cuantificación de niveles de TFV sería útil para ajustar dosis, monitorizar la evolución de los niveles y preservar la utilización del fármaco.

Con estas premisas, el método desarrollado se empleó en el siguiente objetivo para cuantificar los niveles de TFV en muestras de plasma de pacientes VIH y estudiar su asociación con el desarrollo de toxicidad renal.

Asociación entre niveles plasmáticos de Tenofovir y alteración renal.

La toxicidad renal asociada al uso de TDF es principalmente de origen tubular, por lo tanto, los parámetros normalmente empleados para monitorizar la función renal, como la CrS o la TFG, que evalúan la función glomerular, pueden permanecer normales en los primeros estadios en presencia de daño tubular subclínico. Así, en la mayoría de los estudios iniciales sobre seguridad renal de TDF o en estudios prospectivos posteriores en los que se ha evaluado la función renal empleando la CrS o la TFG, la prevalencia de alteración renal fue de un 1-2% (Gallant J.E., et al., 2008; Izzedine H. et al., 2007; Nelson M.R. et al., 2007). Sin embargo, otros estudios a largo plazo que han incluido parámetros de función tubular, han reportado prevalencias del 10-20 % (Calza L. et al., 2013; Ezinga M. et al., 2012; Nishijima T., et al. 2013; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010).

Debido a la falta de consenso para definir la existencia de alteración renal tubular, los parámetros analizados varían entre los diferentes estudios. Entre los parámetros más empleados destacan: la evaluación de la excreción urinaria de fosfatos y ácido úrico, la detección de proteínas de bajo peso molecular como β 2-microglobulina y α 1-microglobulina en orina, y la detección de glucosuria en ausencia de hiperglucemia. En la mayoría de los estudios mencionados, definían la existencia de alteración de la función tubular cuando 2 o más de los anteriores están presentes, siendo alguno de ellos un parámetro característico de Síndrome de Fanconi (glucosuria no diabética, hiperfosfaturia o hiperaminoaciduria).

En este estudio, evaluamos la función renal en base a criterios de funcionalidad glomerular y tubular en un grupo de pacientes en tratamiento con TDF y lo comparamos con un grupo control. Los resultados obtenidos concuerdan con los datos de los estudios previamente mencionados, observando diferencias en la función renal entre los grupos sólo al evaluar parámetros de función tubular. Las prevalencias de alteración tubular en el grupo de TDF fueron también similares a las descritas por otros autores, alrededor de un 10-20% al considerar la existencia de más de 2 parámetros tubulares alterados y de hasta el 30-60% al analizarlos de forma individual (Fux C.A. et al. 2007; Kinai E. et al., 2009; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010).

En relación al impacto de los niveles de TFV, los pacientes que presentaban valores alterados en los parámetros de función tubular tenían niveles de TFV más altos que los pacientes con los parámetros normales, de acuerdo con la hipótesis existente de que la toxicidad renal por TDF es concentración dependiente (Ezinga M. et al., 2012; Poizot-Martin I. et al. 2013; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010; Ter Heine R. et al. 2009). La diferencia en los niveles fue estadísticamente significativa para los parámetros β 2-microglobulina y RTF. Ambos se han descrito como marcadores precoces de daño tubular (Fux C.A. et al., 2007; Gatanaga H., et al., 2006; Hall A.M., et al. 2009; Kinai E. et al., 2005) y nuestros hallazgos concuerdan con la hipótesis de que estos marcadores son además específicos de alteración tubular asociada a TDF. En este estudio, el mejor punto de corte de niveles de TFV que predice la alteración de la RTF fue de 133,5 ng/mL.

No existe consenso sobre la concentración plasmática de TDF a partir de la cual se pueden aparecer alteraciones de la función tubular renal. Estudios anteriores de

asociación entre niveles de TFV y alteración renal han definido puntos de corte para el nivel de TFV distintos a los encontrados en este trabajo (Poizot-Martin I. et al. 2013; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010). Esta discrepancia puede ser explicada por las diferencias entre los estudios a nivel de las características de los pacientes, del tratamiento y de la metodología analítica.

En primer lugar, ciertas características de los pacientes pueden afectar tanto a la farmacocinética del TFV como a la función renal, entre ellas, edad, sexo, peso corporal, raza, coinfección con VHC y/o VHB, comorbilidades como HTA o diabetes. En nuestro estudio contábamos con un 30% de pacientes coinfectados con hepatitis C y un 12% con HTA, mientras que en otros previamente mencionados, los pacientes con factores de riesgo relacionados con alteración renal o con enfermedad renal existente no estaban incluidos (Calcagno A., et al. 2013; Poizot-Martin I. et al. 2013). Si bien la inclusión de pacientes con otros factores de riesgo podría enmascarar el papel del TDF en la alteración renal, la realidad es que los pacientes VIH son heterogéneos, la coinfección con VHC ocurre hasta en un tercio de los pacientes y la existencia de otras comorbilidades es muy habitual, por lo que nuestros datos reflejarían la realidad de la práctica clínica.

En segundo lugar, las características del tratamiento y su duración pueden afectar tanto a los niveles de TFV como al impacto sobre la función renal, así como la medicación concomitante nefrotóxica, interacciones con fármacos y alimentos, etc. En el presente estudio, el tiempo en tratamiento con TDF fue similar al de otros estudios que han evaluado el impacto de las concentraciones de TFV sobre la función renal (Calcagno A. et al. 2013; Poizot-Martin I. et al. 2013; Rodríguez-Nóvoa S. et al. 2010).

Respecto a la medicación concomitante, un 54% de los pacientes recibían un IP y un

13% otra clase de medicación nefrotóxica. Los estudios farmacocinéticos han demostrado que los IP potenciados aumentan las concentraciones plasmáticas de TFV, alrededor de un 30%, y la asociación TDF-IP/r se ha relacionado con diversos grados de alteración renal (Calcagno A. et al. 2013; Goicoechea M. et al. 2008; Mocroft A. et al. 2010). La magnitud de la interacción varía entre los IP, siendo ATV/r y LPV/r los que más frecuentemente se han asociado con un aumento en la exposición de TFV (Kearney B.P., et al. 2006; Ryom L. et al., 2013; Young J., et al. 2012).

En nuestro estudio, ajustando por estos factores de variabilidad, sólo el sexo femenino y el uso concomitante de IP/r se relacionaron de forma independiente en el análisis multivariante con niveles de TFV superiores al cut-off de riesgo establecido. Entre los distintos IP, los que se asociaron con un mayor aumento de la exposición de TFV fueron ATV/r, LPV/r y DRV/r. En relación a la contribución del DRV/r, el impacto sobre las concentraciones de TFV tendría que ser evaluado en un mayor número de pacientes, ya que en este estudio sólo lo recibían de forma concomitante 2 de los 98 incluidos.

En tercer lugar, los aspectos técnicos de la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de TFV pueden explicar la discrepancia encontrada con otros estudios. No existe un método estandarizado por lo que los límites de detección y rangos de cuantificación varían entre las distintas técnicas (D'Avolio A. et al., 2008; Poizot-Martin I. et al. 2013). Además, debido a la prolongada vida media de eliminación del TFV, algunos estudios determinan la C_{24h} , como es el caso del estudio recientemente publicado por Poizot-Martin et al. , en el que relacionan un mayor grado de deterioro renal con concentraciones de TFV > 90 ng/mL. Sin embargo, en nuestro estudio

determinamos la C_{12h} de TFV, por lo que el cut-off es mayor, en concordancia con el propuesto previamente por Rodríguez-Novoa et al., de 160 ng/mL.

Por último, debido al diseño transversal de este estudio, sólo se realizó una determinación de la concentración plasmática de TFV. Debido a la variabilidad intraindividual en la exposición plasmática de TFV, la determinación de los parámetros renales y los niveles de TFV de forma prospectiva daría una idea más precisa del impacto de la interacción, permitiendo incluso establecer una relación causal para la asociación “TDF-alteración tubular”.

Los resultados de este estudio apoyarían el uso de las concentraciones plasmáticas de TFV como una herramienta más en la evaluación y seguimiento de la función renal en los pacientes VIH. La MCP de TFV sería especialmente útil en pacientes con otros factores conocidos de riesgo y en concreto, en pacientes que reciben IP/r como tercer fármaco en la terapia ARV.

Respecto al valor de la RTF como parámetro para evaluar la función renal cabría discutir:

- la hipofosfatemia en los pacientes VIH es frecuente y su etiología es multifactorial (Badiou S. et al., 2006; Buchacz K. et al., 2006; Day S.L., 2005), por lo que existe debate sobre qué parámetros serían los más adecuados para evaluar la pérdida de fosfato y la contribución del TDF. Distintos estudios han mostrado que la RTF sería un marcador apropiado de alteración tubular asociada al uso de TDF (Hall A. Et al., 2009, Kinai E. et al. 2009; Woodward C.L. et al. 2009). En nuestro estudio, el mayor porcentaje de pacientes con RTF alterada en el grupo de TDF frente al grupo control apoyaría que este parámetro es específico de TDF, y la elevada prevalencia respecto al resto

indicaría que es un marcador sensible para la detección temprana de alteración tubular.

- existen otros marcadores específicos de daño tubular temprano como las proteínas de bajo peso molecular y enzimas de origen tubular, que se encuentran aumentadas en orina en respuesta a una alteración estructural de las células renales, y proteínas no constitutivas de las células renales, cuya expresión se induce como respuesta a un daño. Se ha propuesto que el uso combinado de los distintos marcadores permitiría predecir mejor el riesgo de desarrollo de toxicidad, así como la localización y la progresión. Entre éstos marcadores, la enzima tubular NAG y las proteínas inducibles NGAL o KIM se han relacionado con diversas patologías renales, y con toxicidad tubular en pacientes VIH, pero no específicamente con el uso de TDF. En cuanto a las proteínas de bajo peso molecular β 2-microglobulina y RBP, diversos estudios las han relacionado con toxicidad renal por TDF ([Gatanaga H. et al., 2006](#); [Kinai E. et al., 2005](#), [Papaleo A., et al. 2007](#); [Post F.A. et al., 2010](#), [Oboho I JAIDS 2013](#)). Ambas proteínas se han descrito como marcadores tempranos de proteinuria de origen tubular y su presencia en orina reflejaría un defecto en la reabsorción. La cuantificación de la β 2-microglobulina en orina está afectada por el pH y por la degradación debida a enzimas proteolíticas, por lo que se prefiere la determinación de la RBP ([Campbell L.J. et al. 2012](#); [Hall A. et al, 2009](#); [Hall A. et al., 2011](#)) que en este aspecto es mucho más robusta. Sin embargo, ninguna de las dos proteínas se determina de forma rutinaria en los laboratorios de bioquímica, por lo que el empleo de la RTF como marcador tubular resultaría más sencillo y económico, ya que se calcula a partir de los datos de fósforo y creatinina determinados en los análisis habituales en la práctica clínica.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, la detección de parámetros tubulares alterados de forma aislada sería indicativa de algún grado de disfunción. Las consecuencias a largo plazo de la disfunción tubular, especialmente, de la repercusión de la pérdida de fosfato sobre el hueso, justificaría el empleo de la RTF como un parámetro sensible para detectar disfunción tubular de forma temprana.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, la detección de parámetros tubulares alterados de forma aislada sería indicativa de algún grado de disfunción, sin que tenga porqué existir daño tubular. Sin embargo, debido a la preocupación por las consecuencias a largo plazo de la disfunción tubular, especialmente, de la repercusión de la pérdida de fosfato sobre el hueso, el empleo de la RTF podría ser un parámetro sensible para detectar disfunción tubular de forma temprana. La posible sobreestimación de pacientes con función alterada estaría justificada por el beneficio de detectar de forma temprana a pacientes de riesgo, a lo que habría que añadir el bajo coste y la sencillez de su determinación.

Asociación entre polimorfismos genéticos, niveles de tenofovir y cambios en la función renal.

La mayoría de los estudios que han investigado la contribución de factores genéticos del huésped en el desarrollo nefrotoxicidad asociada a TDF, se han centrado en el estudio de polimorfismos en las proteínas de transporte OATs, MPRs y P-gp. En concreto, los polimorfismos en los genes que codifican para las proteínas MRP2, MPR4 y MRP7 (codificadas por los genes *ABCC2*, *ABCC4* y *ABCC10*) son los que se han asociado más frecuentemente con disfunción tubular (Izzedine H. et al., 2006; Kiser J.J. et al 2008; Pushpakon S.P. et al., 2010; Rodríguez-Novoa S. et al., 2009) y en algunos casos, con mayor acumulación de TFV en el interior de la célula tubular (Kiser J.J. et al., 2008); sin embargo, no se han descrito estas asociaciones para polimorfismos en los genes que codifican para OAT o P-gp. Hasta la fecha, este es el primer estudio en el que además de estudiar polimorfismos en las proteínas de transporte de TFV, se investiga el impacto de polimorfismos en el gen *SLC34A1*, que codifica para el principal transportador de fosfato a nivel de la célula tubular renal, la proteína NPT2a, y se evalúa su impacto sobre la función renal en pacientes VIH.

Respecto a las proteínas transportadoras de TFV, en nuestro estudio encontramos que el genotipo CC en la posición 669 de *ABCC4* (MPR4) presentó una mayor prevalencia en el grupo con alteración de la RTF que en el grupo control; en línea con los datos del estudio publicado por Izzedine et al en 2006, que asociaron este SNP con mayor riesgo de tubulopatía. Las frecuencias alélicas en nuestro grupo control fueron similares a las reportadas en población general caucásica, lo que podría indicar que este SNP está asociado con alteración renal debida a TDF. Respecto a otros miembros de la misma

familia, polimorfismos en MPR7 y en MRP2, se han relacionado con alteración renal en diversos estudios (Izzedine H. et al., 2006; Pushpakon S.P. et al., 2010; Rodríguez-Novoa S. et al., 2009). Concretamente, el genotipo *ABCC2* -24 CC y el alelo *ABCC2*-1249 A, se han encontrado más frecuentemente en pacientes con disfunción tubular que en pacientes con función normal (Giacomet V. et al. 2013; Izzedine H. et al., 2006; Rodríguez-Novoa S. et al., 2009). Sin embargo, en nuestro estudio no encontramos tal asociación. Se ha demostrado que MRP4 es el principal transportador de TFV a nivel apical, regulando la concentración de TFV en el interior de la célula tubular (Imaoka T. et al. 2007; Ray A.S. et al., 2006). Por el contrario, el papel de MRP2 en el transporte de TFV no está claro, y el mecanismo por el cual los polimorfismos en MPR2 influirían en el desarrollo de la disfunción tubular no está bien esclarecido. Algunos autores han sugerido que estos SNPs podrían modular la expresión y funcionalidad de MPR2 (Izzedine H. et al., 2006), mientras que otros autores sostienen que dichos SNP no afectan a la funcionalidad de MPR2 (Hirouchi M. et al., 2004, Ray. A.S. et al. 2007). Parece por tanto que los SNPs más frecuentemente observados en MPR2 podrían un papel indirecto, bien por afectar al transporte de otras sustancias que influirían en la toxicidad de TFV o bien por encontrarse en desequilibrio de ligamiento con otros SNP que sí estarían asociados directamente con la expresión de proteínas implicadas en el transporte de TFV (Nguyen T.D. et al., 2012, Nishijima T. et al., 2012; Ray A.S. et al., 2006).

En relación al papel de los haplotipos, en nuestro estudio encontramos que el haplotipo *ABCC2*-*CGTC* fue más frecuente en los pacientes con RTF alterada; mientras que el resto de haplotipos presentaron prevalencias menores en comparación con el grupo con RTF normal. Estos datos son similares a los encontrados en el estudio de

Rodríguez S, et al, sin embargo, difieren de los publicados por Izzedine et al, que postulaban que el haplotipo *ABCC2-CATC* se asocia con riesgo de desarrollo de disfunción tubular.

Las diferencias entre los distintos estudios pueden deberse a los diseños de los mismos, al número de pacientes incluidos, a las características demográficas, al tiempo de exposición a TDF y al criterio empleado para definir la alteración renal. En nuestro estudio, definimos los casos en base a presentar la RTF alterada, mientras que otros estudios emplean un mayor número de parámetros para definir la alteración tubular (Pushpakon S.P. et al., 2010; Rodríguez-Novoa S. et al., 2009). Estos aspectos subrayan la importancia de llegar a un consenso para definir el diagnóstico clínico de la disfunción tubular.

Por otro lado, los pacientes del grupo con RTF alterada tenían mayor edad, mayor tiempo en tratamiento y también niveles de TFV más altos que el grupo control. Los dos primeros factores, edad y tiempo en tratamiento, podrían enmascarar el verdadero papel de los polimorfismos sobre la RTF, ya que son factores de riesgo asociados con alteración de la función renal. Sin embargo, el hecho de que los niveles de TFV fueran más altos en el grupo con RTF alterada que en el grupo control, apoyaría la idea de que existe una correlación entre los factores farmacogenéticos y farmacocinéticos en relación al desarrollo de la alteración renal. En este estudio, no encontramos asociación entre polimorfismos en las proteínas de transporte a nivel renal y los niveles de TFV, pero sí entre la presencia del genotipo *ABCB1-3435 CC*, que codifica para la proteína de transporte P-gp, y niveles de TFV superiores al cut-off de 133,5 ng/mL. Este polimorfismo se ha relacionado con una mayor exposición plasmática para otros fármacos (Fellay J. et al., 2002, Rodríguez-Novoa S. et al., 2006;

Rodríguez-Novoa S. et al., 2007), pero hasta la fecha, no se había encontrado asociación con los niveles de TFV.

Considerando estos datos, podríamos concluir que: el polimorfismo *ABCB1-3435 CC* parece estar relacionado con una mayor exposición plasmática de TFV; por otro lado, TFV podría acumularse en el interior celular consecuencia de un transporte defectivo por parte de MPR4, debido a la presencia del polimorfismo *ABCC4-669 CC*, y esta acumulación podría ser la sería la responsable de la alteración de la función renal.

En cuanto al papel de los polimorfismos en el transportador de fosfato NTP2a, en este estudio se analizaron SNPs en el gen que codifica para esta proteína (*SLC34A1*). El alelo *rs3812036 C>T* y el haplotipo *TT*, obtenido con la combinación de los dos SNP (*rs381203* y *rs6420094*), fueron más prevalentes en el grupo con RTF alterada que en el grupo control. Este SNP se encuentra en una región intrónica del gen *SLC34A1*, y su repercusión sobre la función de la proteína no se ha determinado. La proteína NPT2a media la reabsorción de fósforo desde la orina al interior de la célula tubular y su expresión está regulada en función de las necesidades del organismo para reabsorber fosfato (Foster i. et al., 2006; Murer H., et al. 2003; Segawa H. et al., 2005). En modelos animales en los que se ha bloqueado la expresión de NPT2a, los ratones exhibían hipofosfatemia, hipercalciuria y deformaciones óseas (Beck L. et al., 1998). Uno de los reguladores de la expresión de NPT2a es la PTH, que induce una regulación a la baja, provocando su internalización y degradación, lo que conlleva la pérdida de fosfato en orina (Traebert M. et al., 2000). El uso de TDF se ha relacionado con desarrollo de hiperparatiroidismo secundario (Childs K.E., et al., 2010; Rosenvinge M.M., et al. 2010), que favorecería la pérdida de fosfato en orina debido a un transporte defectivo por

parte de NPT2a. Por otro lado, estudios en humanos han relacionado dos mutaciones en el exón 3 del gen que codifica para NPT2a, que resultan en un cambio de aminoácido, relacionadas con hipofosfatemia y fosfaturia en pacientes con urolitiasis y osteoporosis (Prié D. et al., 2002; Virkki L.V. et al., 2003).

En nuestro estudio, la mayor prevalencia del SNP *rs3812036 C>T* en los pacientes con RTF alterada podría indicar que este polimorfismo está implicado en una menor capacidad para reabsorber fósforo.

Futuros estudios en los que se evalúe la funcionalidad de este SNP así como otros que puedan afectar a la expresión y actividad de la proteína y/o sus reguladores, proporcionarían información muy valiosa para esclarecer el complejo puzzle que supone la regulación de fosfato en el organismo, y concretamente, la relación entre el uso de TDF, la pérdida de fosfato y, en última instancia, la pérdida de masa ósea.

En conclusión, debido a naturaleza de la patología renal en los pacientes tratados con TDF, la evaluación de la función tubular, empleando tanto parámetros séricos como urinarios, permitiría detectar de forma temprana los indicios de disfunción tubular antes de que exista daño glomerular. Sin embargo, la mayoría de los marcadores específicos de función tubular, como las proteínas de bajo peso molecular, las enzimas tubulares o las proteínas específicamente inducibles, no se determinan de rutina en la práctica clínica. En este contexto, la determinación de la RTF, la determinación de las concentraciones plasmáticas de TFV así como el estudio de factores genéticos permitiría detectar a aquellos pacientes que podrían beneficiarse de una monitorización más estrecha de la función renal para evitar.

El manejo de estos factores, junto con otros ya bien conocidos relacionados con el desarrollo de nefrotoxicidad (demográficos, infección por VIH per se, mediación nefrotóxica, comorbilidades) permitirían una mejor individualización de la terapia y la posibilidad de identificar a los pacientes con mayor riesgo de presentar alteración de la función renal que podrían beneficiarse de una discontinuación temprana del fármaco, antes de que sea evidente el daño glomerular.

En este sentido, dado la reciente aprobación de TDF para su uso en la terapia para la Hepatitis B, todo lo aprendido tras su uso prolongado como parte de la terapia VIH debe tenerse en cuenta en el seguimiento de los pacientes en tratamiento para el VHB. Y por último hay que señalar que ya se está aplicando el estudio de los factores farmacocinéticos y farmacogenéticos en el desarrollo clínico de medicamentos, lo que proporcionará información muy valiosa sobre la eficacia y toxicidad, permitiendo una mayor individualización de la terapia desde las primeras etapas, además de la información derivada de su aplicación a posteriori en los estudios postcomercialización a largo plazo.

VII. CONCLUSIONES

1. La técnica diseñada para la cuantificación de niveles plasmáticos de tenofovir fue sensible, específica y reproducible, lo que apoyaría su implantación como herramienta para monitorizar los niveles de tenofovir en pacientes seleccionados, con riesgo potencial de desarrollar alteraciones renales u óseas.
2. Los pacientes en tratamiento con TDF presentan alteración de los parámetros tubulares renales más frecuentemente que los que no reciben TDF como parte de la terapia, siendo la RTF uno de los parámetros más frecuentemente alterado.
3. En base a la utilización del parámetro “reabsorción tubular de fosfatos (RTF)”, los pacientes con niveles de TDF superiores a 133,5ng/mL tenían mayor riesgo de presentar alteración renal en comparación con los pacientes con niveles de TDF menores. Este riesgo se ve incrementado en los pacientes que reciben de forma concomitante IP/r.
4. Polimorfismos en proteínas de transporte a nivel intestinal y renal afectan a la farmacocinética del TFV y a la función renal. El polimorfismo CC en el gen *ABCB1* que codifica para la P-gp está relacionado con una mayor exposición plasmática de TFV; la presencia de ciertos haplotipos en genes que codifican para las proteínas de transporte de TFV a nivel renal MRP2 y

MRP4, y en el gen que codifica para el transportador de fosfato NPT2a, están relacionados con la presencia de RTF alterada.

5. La consideración de factores farmacocinéticos y farmacogenéticos relacionados con el uso de TDF son factores importantes a tener en cuenta para el seguimiento clínico de los pacientes VIH, ya que ayudarían en la optimización de la terapia.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. ADHOC International Steering Committee (2002). A randomized placebo-controlled trial of adefovir dipivoxil in advanced HIV infection: the ADHOC trial. *HIV Med.* Oct;3(4):229-38.
2. Alcamí J (2008). Ciclo replicativo del VIH. Dianas terapéuticas consolidadas y dianas potenciales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 26 Supl 12:3-10.
3. Anderson P.L., et al. (2007) Atazanavir-containing renal calculi in an HIV-infected patient. *AIDS.* May 11;21(8):1060-2.
4. Anderson P.L., Kakuda T.N. and Lichtenstein K.A. (2004) The cellular pharmacology of nucleoside- and nucleotide-analogue reverse-transcriptase inhibitors and its relationship to clinical toxicities. *Clin Infect Dis* ; 38:743–53.
5. Ando M., et al. (2011). Kidney tubular damage in the absence of glomerular defects in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *Nephrol Dial Transplant.* Oct;26(10):3224-9.
6. Back D., et al. (2002). Therapeutic drug monitoring in HIV infection: current status and future directions. *AIDS,* Mar;16 Suppl 1:S5-37. Review.
7. Badiou S., et al. (2006). Is tenofovir involved in hypophosphatemia and decrease of tubular phosphate reabsorption in HIV-positive adults? *J Infect.* May;52(5):335-8.
8. Baheti G. et al. (2011). Plasma and Intracellular Population Pharmacokinetic Analysis of Tenofovir in HIV Infected Patients. *Antimicrob Agents Chemother.* Nov;55(11):5294-5299.
9. Barre-Sinoussi, F., et al. (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science,* 220(4599): p. 868-71.
10. Beck L., et al. (1998). Targeted inactivation of Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Apr 28;95(9):5372-7.
11. Berns J.S., Kasbekar N. (2006). Highly active antiretroviral therapy and the kidney: an update on antiretroviral medications for nephrologists. *Clin J Am Soc Nephrol.* Jan; 1(1):117-29.
12. Birkus G, Hitchcock M.J. and Cihlar T. (2002) Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* Mar;46(3):716-23.
13. Boesecke C. and Cooper D. (2008). Toxicity of HIV protease inhibitors: clinical considerations. *Curr Opin HIV AIDS.* Nov;3(6):653-9.

14. Boffito M., et al. (2005) Current status and future prospects of therapeutic drug monitoring and applied clinical pharmacology in antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 10(3):375-92
15. Brinkman K., et al. (1999). Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. *Lancet.* Sep 25;354(9184):1112-5
16. Buchacz K., et al. HIV Outpatient Study (HOPS) Investigators. (2006). Evaluation of hypophosphataemia in tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-exposed and TDF-unexposed HIV-infected out-patients receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med.* Oct;7(7):451-6
17. Calcagno A., et al. (2013) Tenofovir plasma concentrations according to companion drugs: a cross-sectional study of HIV-positive patients with normal renal function. *Antimicrob Agents Chemother.* Apr;57(4):1840-3.
18. Calza L., et al. (2013) Incidence of renal toxicity in HIV-infected, antiretroviral-naïve patients starting tenofovir/emtricitabine associated with efavirenz, atazanavir/ritonavir, or lopinavir/ritonavir. *Scand J Infect Dis.* Feb;45(2):147-54.
19. Campbell L.J., et al. (2012). Total protein, albumin and low-molecular-weight protein excretion in HIV-positive patients. *BMC Nephrol.* Aug 10;13:85.
20. Cassetti I., et al. (2007). The safety and efficacy of tenofovir DF in combination with lamivudine and efavirenz through 6 years in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients. *HIV Clin Trials.* May-Jun;8(3):164-72
21. Childs K.E., et al. (2010) Short communication: Inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *AIDS Res Hum Retroviruses.* Aug;26(8):855-9
22. Cihlar T., et al. (2001) Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 20:641-648.
23. Cihlar T., et al. (2002) Tenofovir exhibits low cytotoxicity in various human cell types: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Res.* Apr;54(1):37-45.
24. Cihlar T., et al. (2007) Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. *Antivir Ther.* 12(2):267-72

25. Cooper R.D., et al. (2010) Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis.* Sep 1;51(5):496-505
26. Côté H.C., et al (2006). Exploring mitochondrial nephrotoxicity as a potential mechanism of kidney dysfunction among HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 11(1):79-86
27. Cotter A.G. and Mallon P.W. (2011). HIV infection and bone disease: implications for an aging population. *Sex Health.* Dec;8(4):493-501.
28. Courtney V., et al. Pharmacologic Characteristics of Indinavir, Didanosine, and Stavudine in Human Immunodeficiency Virus-Infected Children Receiving Combination Therapy. (2000) *Antimicrob Agents Chemother.* April; 44(4): 1029–1034
29. Crockcroft D.W., et al. (1976). Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 16:31-41.
30. D'Avolio A., et al. (2008). A new assay based on solid-phase extraction procedure with LC-MS to measure plasmatic concentrations of tenofovir and emtricitabine in HIV infected patients. *J Chromatogr Sci.* Jul;46(6):524-8.
31. Day S.L., 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.* Mar 1;38(3):301-4.
32. Dieleman J.P., et al. (2002). Risk factors for urological symptoms in a cohort of users of the HIV protease inhibitor indinavir sulfate: the ATHENA cohort. *Arch Intern Med.* Jul 8;162(13):1493-501
33. Duong M., et al. (2004). Usefulness of therapeutic drug monitoring of antiretrovirals in routine clinical practice. *HIV Clin Trials.* Jul-Aug;5(4):216-23
34. Elens L., et al. (2011). Functional defect caused by the 4544G>A SNP in ABCC2: potential impact for drug cellular disposition. *Pharmacogenet Genomics.* Dec;21(12):884-93.
35. Emerman, M. and M.H. Malim. (1998). HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology. *Science.* 280(5371): p. 1880-4.
36. Estrada V, (2011). *Manual del SIDA. 9ª Edición.* Madrid. Publicaciones Permanyer.
37. Ezinga M., et al. (2012) Kidney tubular dysfunction is related to tenofovir disoproxil fumarate plasma concentration. Abstract 603 In 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. March 5-8, Seattle.

38. Fellay J., et al. (2002). Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* . 5;359(9300):30-6.
39. Fletcher C.V., et al. (2000) Zidovudine triphosphate and lamivudine triphosphate concentration-response relationships in HIV-infected persons. *AIDS*. Sep 29;14(14):2137-44.
40. Fletcher C.V., et al. (2002). Concentration-controlled compared with conventional antiretroviral therapy for HIV infection. *AIDS*. Mar 8;16(4):551-60.
41. Forster I.C., et al. (2006). Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective. *Kidney Int*. Nov;70(9):1548-59.
42. "Fux C.A., et al. (2007). Tenofovir use is associated with a reduction in calculated glomerular filtration rates in the Swiss HIV Cohort Study. *Antivir Ther*.12:1165-1173.
43. "
44. Gagnieu M.C., et al. (2008). Population pharmacokinetics of tenofovir in AIDS patients. *J Clin Pharmacol*. Nov;48(11):1282-8.
45. Gallant J.E., et al. (2008) The 3-year renal safety of a tenofovir disoproxil fumarate vs. a thymidine analogue-containing regimen in antiretroviral-naïve patients. *AIDS*. Oct 18;22(16):2155-63
46. Gallo, R.C., A. Sliski, and F. Wong-Staal. (1983). Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. *Lancet*, 2(8356): p. 962-3.
47. Gatanaga H., et al. (2006). Urinary beta2-microglobulin as a possible sensitive marker for renal injury caused by tenofovir disoproxil fumarate. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Aug;22(8):744-8.
48. Gehrig A.K., et al. (2007). Electrospray tandem mass spectroscopic characterisation of 18 antiretroviral drugs and simultaneous quantification of 12 antiretrovirals in plasma. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 21(16):2704-16.
49. Gerard L., et al. (2007) Renal function in antiretroviral-experienced patients treated with tenofovir disoproxil fumarate associated with atazanavir/ritonavir. *Antivir Ther* 12:31-39
50. Giacomet V., et al. (2013) Tenofovir-induced renal tubular dysfunction in vertically HIV-infected patients associated with polymorphisms in ABCC2, ABCC4 and ABCC10 genes. *Pediatr Infect Dis J*. Oct;32(10)
51. Gilead Sciences. (2013). Viread. Product Monograph.

52. Goicoechea M., et al. (2008) Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis* 197:102-108.
53. Gupta S.K., et al. (2005). Guidelines for the management of chronic kidney disease in HIV-infected patients: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. Jun 1;40(11):1559-85
54. Haase M., et al. (2009). Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. Dec;54(6):1012-24.
55. Hall A.M., et al. (2009). Subclinical tubular injury in HIV-infected individuals on antiretroviral therapy: a cross-sectional analysis. *Am J Kidney Dis*. Dec;54(6):1034-42.
56. Haverkort M.E., et al. (2011). Tenofovir-induced Fanconi syndrome and osteomalacia in two HIV-infected patients: role of intracellular tenofovidiphosphate levels and review of the literature. *Scand J Infect Dis*. Oct;43(10):821-6.
57. Herlitz L.C., et al. (2010) Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int*. Dec;78(11):1171-7
58. Hirouchi M., et al. (2004). Characterization of the cellular localization, expression level, and function of SNP variants of MRP2/ABCC2. *Pharm Res*. May;21(5):742-8.
59. Imaoka T., 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*. Feb;71(2):619-27.
60. Izzedine H., Baumelou A. and Deray G. (2005). Acute renal failure in HIV patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22:2757-2762.
61. Izzedine H., et al. (2006). Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis*. 194:1481-1491.
62. Kahn J., et al. (1999) Efficacy and safety of adefovir dipivoxil with antiretroviral therapy: a randomized controlled trial. *JAMA*. Dec 22-29;282(24):2305-12.
63. Kandagal P.B., et al. (2008). Method for the Determination of Tenofovir in Pharmaceutical Formulations and Spiked Human Plasma. *Analytical letters*. 41: 561-570.
64. Karpas, A. (2004). Human retroviruses in leukaemia and AIDS: reflections on their discovery, biology and epidemiology. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 79(4): p. 911-33.

65. Kearney B.P., et al. (2006) Pharmacokinetics and safety of tenofovir disoproxil fumarate on coadministration with lopinavir/ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Nov 1;43(3):278-83.
66. Kinai E. and Hanabusa H. (2005). Renal tubular toxicity associated with tenofovir assessed using urine-beta 2 microglobulin, percentage of tubular reabsorption of phosphate and alkaline phosphatase levels. *AIDS.* Nov 18;19(17):2031-3.
67. Kinai E. and Hanabusa H. (2009) Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 25:387-394.
68. Kiser J.J., et al. (2008) The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther.* Feb;83(2):265-72
69. Kiser J.J., et al. (2008). Clinical and genetic determinants of intracellular tenofovir diphosphate concentrations in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Mar 1;47(3):298-303.
70. Kohler J.J., et al. (2009) Tenofovir renal toxicity targets mitochondria of renal proximal tubules. *Lab Invest.* May;89(5):513-9
71. Kou H. et al. (2012). Quantification of tenofovir in human plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography coupled with UV detection. *Ther Drug Monit.* Oct;34(5):593-8.
72. Kuwabara T., et al. (2009). Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int.* Feb;75(3):285-94.
73. Lebrecht D., et al. (2009). Mitochondrial tubulopathy in tenofovir disoproxil fumarate-treated rats. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Jul 1;51(3):258-63
74. Leiri I., et al. (2009). Genetic polymorphisms of uptake (OATP1B1, 1B3) and efflux (MRP2, BCRP) transporters: implications for inter-individual differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of statins and other clinically relevant drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* Jul;5(7):703-29.
75. Levey A.S., 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.* 130:461-70
76. Levey A.S., et al. (2009). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* May 5;150(9):604-12.
77. Libório A.B., et al. (2008) Rosiglitazone reverses tenofovir-induced nephrotoxicity. *Kidney Int.* (7):910-8

78. Locht P., et al. (2003). Long-term assessment of neuropsychiatric adverse reactions associated with efavirenz. *HIV Med.* 2003 Jan;4(1):62-6.
79. López S., et al. (2006) Longitudinal study on mitochondrial effects of didanosine-tenofovir combination. *AIDS Res Hum Retroviruses.* Jan;22(1):33-9.
80. Lucas G.M., et al. (2007). End-stage renal disease and chronic kidney disease in a cohort of African-American HIV-infected and at-risk HIV-seronegative participants followed between 1988 and 2004. *AIDS,* Nov 30;21(18):2435-43
81. Mallal S., et al. (2002). Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet.* 359(9308):727-32.
82. Mallants R., 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.* Oct-Nov;35(10-11):1055-66.
83. Marchewka Z., Kuźniar J. and Długosz A. (2001). Enzymuria and beta2-mikroglobulinuria in the assessment of the influence of proteinuria on the progression of glomerulopathies. *Int Urol Nephrol.* 33(4):673-6.
84. Mathew G. and Knaus S.J. (2006) Acquired Fanconi's syndrome associated with tenofovir therapy. *J Gen Intern Med.* Nov;21(11):C3-5.
85. McComsey G.A., et al. (2011) Bone mineral density and fractures in antiretroviral-naive persons randomized to receive abacavir-lamivudine or tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine along with efavirenz or atazanavir-ritonavir: Aids Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *J Infect Dis.* Jun 15;203(12):1791-801
86. Mehandru, S., et al.(2004). Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med.* 200(6): p. 761-70.
87. Miller V., et al. (1997). Clinical experience with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS.* 11 Suppl A:S157-64.
88. Mocroft A., et al. (2010). Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS.* Jul 17;24(11):1667-78.
89. Murer H., et al. (2003). Regulation of Na/Pi transporter in the proximal tubule. *Annu Rev Physiol.* ;65:531-42. Review.
90. Nelson M.R., et al. (2007) The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: the first 4 years. *AIDS* 21:1273-1281

91. Neuhaus J., et al. (2010). Risk of all-cause mortality associated with nonfatal AIDS and serious non-AIDS events among adults infected with HIV. *AIDS*. Mar 13;24(5):697-706.
92. Nguyen T.D., et al. (2013). Functional characterization of ABCC2 promoter polymorphisms and allele-specific expression. *Pharmacogenomics J*. Oct;13(5):396-402.
93. Nirogi R., et al. (2008). Simultaneous quantification of a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz, a nucleoside reverse transcriptase inhibitor emtricitabine and a nucleotide reverse transcriptase inhibitor tenofovir in plasma by liquid chromatography positive ion electrospray tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. Apr; 3 (4): 371–381.
94. Nishijima T., et al. (2013). Urinary beta-2 microglobulin and alpha-1 microglobulin are useful screening markers for tenofovir-induced kidney tubulopathy in patients with HIV-1 infection: a diagnostic accuracy study. *J Infect Chemother*. Oct;19(5):850-7
95. Oboho I., et al. (2013). Tenofovir use and urinary biomarkers among HIV-infected women in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *J Acquir Immune Defic Syndr*. Apr 1;62(4):388-95.
96. Papaleo A., et al. (2007). Increased beta-2 microglobulinuria in human immunodeficiency virus-1-infected children and adolescents treated with tenofovir. *Pediatr Infect Dis J*. Oct;26(10):949-51.
97. Peyrière H., et al. (2004). Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: report of 7 cases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Mar 1;35(3):269-73
98. Poizot-Martin I., et al. (2013) Renal impairment in patients receiving a tenofovir-cART regimen: impact of tenofovir trough concentration. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Apr 1;62(4):375-80.
99. Popovic, M., et al. (1983). Isolation and transmission of human retrovirus (human t-cell leukemia virus). *Science*, 1983. 219(4586): p. 856-9.
100. Post F.A., et al. (2010) Randomized comparison of renal effects, efficacy, and safety with once-daily abacavir/lamivudine versus tenofovir/emtricitabine, administered with efavirenz, in antiretroviral-naive, HIV-1-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Sep;55(1):49-57
101. Pozniak A.L., et al. (2006) Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz versus fixed-dose zidovudine/lamivudine and efavirenz in antiretroviral-naive patients: virologic, immunologic, and morphologic changes--a 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Dec 15;43(5):535-40.

102. Prié D., et al. (2002). Nephrolithiasis and osteoporosis associated with hypophosphatemia caused by mutations in the type 2a sodium-phosphate cotransporter. *N Engl J Med.* Sep 26;347(13):983-91.
103. Pushpakom S.P., et al. (2011). Genetic variants of ABCC10, a novel tenofovir transporter, are associated with kidney tubular dysfunction. *J Infect Dis.* Jul 1;204(1):145-53
104. Ray A.S., et al. (2006). Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother.* Oct;50(10):3297-304.
105. Ray A.S. and Cihlar T. (2007). Unlikely association of multidrug-resistance protein 2 single-nucleotide polymorphisms with tenofovir-induced renal adverse events.
106. Rendón A., et al. (2005). Clinical benefit of interventions driven by therapeutic drug monitoring. *HIV Med.* Sep;6(5):360-5
107. Robertson E.E. and Rankin G.O. (2006). Human renal organic anion transporters: characteristics and contributions to drug and drug metabolite excretion. *Pharmacol Ther.* Mar;109(3):399-412
108. Rodríguez Nóvoa S., et al. (2006). Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C-->T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clin Infect Dis* 42(2): 291-5.
109. Rodríguez-Nóvoa S., et al. (2007). Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS* 21(1): 41-6.
110. Rodríguez-Novoa S., et al. (2009). Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis.* 48:e108-e116.
111. Rodríguez-Nóvoa S., et al. (2010) Impairment in kidney tubular function in patients receiving tenofovir is associated with higher tenofovir plasma concentrations. *AIDS.* Apr 24;24(7):1064-6.
112. Rosenvinge M.M., et al. (2010) Tenofovir-linked hyperparathyroidism is independently associated with the presence of vitamin D deficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Aug;54(5):496-9
113. Ryom L., et al. (2013). Association between antiretroviral exposure and renal impairment among HIV-positive persons with normal baseline renal function: the D:A:D study. *J Infect Dis.* May 1;207(9):1359-69.
114. Schwartz E.J., et al. (2005). Highly active antiretroviral therapy and the epidemic of HIV+ end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* Aug;16(8):2412-20.

115. Seelamgari, A., et al. (2004). Role of viral regulatory and accessory proteins in HIV-1 replication. *Front Biosci*, 2004. 9: p. 2388-413.
116. Segawa H., et al. (2005). Internalization of renal type IIc Na-Pi cotransporter in response to a high-phosphate diet. *Am J Physiol Renal Physiol*. Mar;288(3):F587-96.
117. Sentenac S., et al. (2003). Sensitive determination of tenofovir in human plasma samples using reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. Aug 15;793(2):317-24.
118. Sola-Del Valle D.A., et al. (2011). Urinary NGAL is a useful clinical biomarker of HIV-associated nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. Jul;26(7):2387-90.
119. Stellbrink H.J., et al. (2010) Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis*. Oct 15;51(8):963-72.
120. Stephens M. and Donnelly P.A. (2003). A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet*. 73:1162-9.
121. Stephens M., Smith N.J. and Donnelly P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet*. Apr;68(4):978-89.
122. Stevens L.A., et al. (2011). Comparison of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equations: risk factors for and complications of CKD and mortality in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Am J Kidney Dis*. Mar;57(3 Suppl 2):S9-16.
123. Ter Heine R., et al. (2009) Prolonged exposure to tenofovir monotherapy 1 month after treatment discontinuation because of tenofovir-related renal failure. *Antivir Ther*. 14(2):299-301.
124. Tong L., et al. (2007) Effects of human immunodeficiency virus protease inhibitors on the intestinal absorption of tenofovir disoproxil fumarate in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. Oct;51(10):3498-504
125. Traebert M., et al. (2000). Internalization of proximal tubular type II Na-P(i) cotransporter by PTH: immunogold electron microscopy. *Am J Physiol Renal Physiol*. Jan;278(1):F148-54.
126. Uwai U., et al. (2007). Renal transport of adefovir, cidofovir, and tenofovir by SLC22A family members (hOAT1, hOAT3, and hOCT2). *Pharm Res*. Apr;24(4):811-5.

127. van Gelder J., et al. (2002). Intestinal absorption enhancement of the ester prodrug tenofovir disoproxil fumarate through modulation of the biochemical barrier by defined ester mixtures.
128. Varmus, H. and N. Nathanson. (1998). Science and the control of AIDS. *Science*. 280(5371): p. 1815.
129. Vilchez-Aparicio V., et al. (2010) Fanconi syndrome associated with tenofovir treatment: a presentation of two cases. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Nov;28(9):653-4.
130. Virkki L.V., et al. (2003). Functional characterization of two naturally occurring mutations in the human sodium-phosphate cotransporter type IIa. *J Bone Miner Res*. Dec;18(12):2135-41.
131. Vormfelde S.V., et al. (2006). Torsemide renal clearance and genetic variation in luminal and basolateral organic anion transporters. *Br J Clin Pharmacol*. Sep;62(3):323-35
132. Weiss J., et al. (2007) Inhibition of MRP1/ABCC1, MRP2/ABCC2, and MRP3/ABCC3 by nucleoside, nucleotide, and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Drug Metab Dispos*. Mar;35(3):340-4
133. Wever K., van Agtmael M.A. and Carr A. (2010). Incomplete reversibility of tenofovir-related renal toxicity in HIV-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 55:78-81.
134. Wood S.M., et al. (2009) Tenofovir-associated nephrotoxicity in two HIV-infected adolescent males. *AIDS Patient Care STDS*. Jan;23(1):1-4
135. Woodward C.L., et al. (2009). Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV Med*. Sep;10(8):482-7.
136. Wyatt CM et al. (2006) Acute renal failure in hospitalized patients with HIV: risk factors and impact on in-hospital mortality. *AIDS*. Feb 28;20(4):561-5.
137. Young J., et al.(2012) Renal function in patients with HIV starting therapy with tenofovir and either efavirenz, lopinavir or atazanavir. *AIDS*. Mar 13;26(5):567-75
138. Zaidan M., et al. (2013) Tubulointerstitial nephropathies in HIV-infected patients over the past 15 years: a clinico-pathological study. *Clin J Am Soc Nephrol*. Jun;8(6):930-8.
139. Zimmermann A.E., et al. (2006) Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis* 42:283-290.

IX. ANEXOS

ANEXO I. Tablas 13-16

Tabla 13. Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNPs estudiados en los genes *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6*, *SLC22A11* y *SLC34A1* en los pacientes con RTF normal o alterada.

Gen (proteína), SNP	RTF normal	RTF alterada	<i>p</i>
ABCC2 (MRP2)			
-24C→T, rs717620			0,45
CC	32 (56)	26 (67)	
CT	23 (40)	11 (28)	
TT	2 (4)	2 (5)	
C	87 (76)	63 (81)	
T	27 (24)	15 (19)	
1249G→A, rs2273697			0,08
GG	33 (58)	29 (74)	
GA	20 (35)	9 (23)	
AA	4 (7)	1 (3)	
G	86 (75)	67 (86)	
A	28 (24)	11 (14)	
3563T→A, rs8187694			0,33
TT	52 (91)	32 (82)	
TA	4 (7)	3 (8)	
AA	1(2)	0	
T	108 (95)	67 (86)	
A	6 (5)	3 (4)	
3972C→T, rs3740066			0,08
CC	17 (30)	19 (49)	
CT	31 (54)	16 (41)	
TT	9 (16)	4 (10)	
C	65 (57)	54 (69)	
T	49 (43)	24 (31)	
4544G→A, rs8187710			0,17
GG	51 (89)	31 (79)	
GA	6 (11)	8 (21)	
AA	0	0	
G	108 (95)	70 (90)	
A	6 (5)	8 (10)	
ABCC4 (MRP4)			

3463A→G, rs1751034			0,82
AA	36 (63)	26 (67)	
AG	20 (35)	12 (31)	
GG	1 (2)	1 (2)	
A	92 (81)	64 (82)	
G	22 (19)	14 (18)	
4131T→G, rs3742106	UTR3		0,75
TT	22 (39)	16 (41)	
TG	25 (44)	17 (44)	
GG	10 (17)	6 (15)	
T	69 (61)	49 (63)	
G	45 (39)	29 (37)	
669C→T, rs899494			0,046
CC	40 (70)	34 (87)	
CT	16 (28)	5 (13)	
TT	1 (2)	0	
C	96 (84)	73 (94)	
T	18 (16)	5 (6)	
ABCB1 (P-gp)			
3435C→T, rs1045642			
CC	18 (32)	12 (32)	
CT	25 (45)	21 (55)	0,52
TT	13 (23)	5 (13)	
C	61 (55)	45 (59)	
T	51 (45)	31 (41)	
1236C→T, rs1128503			0,32
CC	18 (33)	13 (38)	
CT	22 (41)	16 (47)	
TT	14 (26)	5 (15)	
C	58 (54)	42 (62)	
T	50 (46)	26 (38)	
2677G→T/A, rs2032582			0,91
GG	24 (46)	11 (32)	
GT	14 (27)	20 (59)	
TT	14 (27)	3 (9)	
GA	0	2 (5)	
TA	0	1 (3)	
G	62 (60)	42 (62)	
T	42 (40)	27 (36)	

A	0	3 (4)	
SLC22A6 (OAT1)			
453G→A, rs4149170			0,27
GG	48 (86)	30 (77)	
GA	8 (14)	9 (23)	
AA	0	0	
G	104 (93)	69 (88)	
A	8 (7)	9 (12)	
G→A, rs10897312			0,52
GG	46 (84)	29 (78)	
GA	9 (16)	8 (22)	
AA	0	0	
G	101 (92)	66 (89)	
A	9 (8)	8 (11)	
T→C, rs4149172			
TT	31 (58)	19 (51)	0,28
CT	20 (38)	14 (38)	
CC	2 (4)	4 (11)	
T	82 (77)	52 (70)	
C	24 (23)	22 (30)	
G→A, rs11568621			0,72
GG	45 (83)	31 (86)	
GA	9 (17)	5 (14)	
AA	0	0	
G	99 (92)	67 (93)	
A	9 (8)	5 (7)	
G→A, rs3017670			0,16
GG	37 (68)	32 (86)	
GA	15 (28)	3 (8)	
AA	2 (4)	2 (6)	
G	89 (82)	67 (91)	
A	19 (18)	7 (9)	
T→A, rs6591722			0,94
TT	24 (44)	17 (46)	
TA	23 (43)	15 (40)	
AA	7 (13)	5 (14)	
T	71 (66)	49 (66)	
A	37 (34)	40 (54)	
SLC22A11 (OAT4)			

T→A, rs11231809			0,16
TT	28 (49)	10 (26)	
TA	22 (39)	13 (33)	
AA	7 (12)	16 (41)	
T	78 (68)	33 (42)	
A	36 (32)	45 (58)	
SLC34A1 (NPT2a)			
A→G, rs6420094			0,16
AA	29 (55)	14 (39)	
AG	21 (40)	19 (53)	
GG	3 (5)	3 (8)	
A	79 (74)	47 (65)	
G	27 (26)	25 (35)	
C→T, rs3812036			0,05
CC	35 (66)	15 (42)	
CT	14 (26)	17 (47)	
TT	4 (8)	4 (11)	
C	84 (79)	47 (65)	
T	22 (21)	25 (35)	

Tabla 14. Distribución de los haplotipos *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6* y *SLC34A1* entre casos y controles. Los datos se refieren a n (%) de haplotipos (el doble del número de pacientes ya que 1 paciente tiene 2 haplotipos). Se muestran los valores de p , OR (CI95%) cuando la diferencia en la distribución de un haplotipo, frente a los demás, entre los dos grupos era menor de 0,1.

Haplotipo	RTF normal	RTF alterada	p	OR (CI95%)
ABCC2 (MRP2)				
CGTC	34 (30)	35 (45)	0,05	2,43 (1,00-5,91)
CGTT	19 (17)	9 (12)	-	
CGAC	6 (5)	7 (9)	-	
CATC	25 (22)	10 (13)	-	
CATT	3 (2)	1 (2)	-	
TGTT	27 (24)	13 (17)	-	
TGTC	0	1 (2)	-	

ABCC4 (MRP4)				
CAT	42 (37)	26 (33)	-	
CAG	42 (37)	34 (43)	-	
CGT	11 (9)	12 (14)	-	
CGG	1 (1)	2 (3)	-	
TAG	9 (8)	1 (2)	-	
TAT	1 (1)	1 (2)	-	
TGG	7 (6)	2 (3)	-	
TGT	1 (1)	0	-	
ABCB1 (P-gp)				
CGC	49 (44)	39 (51)	-	
CGT	10 (9)	3 (4)	-	
TGC	1 (1)	2 (3)	-	
CTAC	6 (5)	3 (4)	-	
CTAT	7 (6)	1 (2)	-	
TTAC	39 (35)	27 (34)	-	
TTAT	0	1 (2)	-	
SLC22A6 (OAT1)				
GTGG	57 (52)	39 (53)	-	
GCGG	16 (15)	15 (20)	-	
GTGA	20 (18)	7 (9)	-	
ACGG	8 (7)	7 (9)	-	
GTAG	8 (7)	5 (7)	-	
GG	0	1 (2)	-	
GTAA	1 (1)	0	-	
SLC34A1 (NPT2a)				
CA	79 (73)	45 (63)	-	
CG	7 (7)	2 (3)	-	
TA	3 (3)	2 (3)	-	
TT	19 (17)	23 (32)	0,025	2,72 (1,13-6,51)

Tabla 15. Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNPs estudiados en los genes *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6*, *SLC22A11* y *SLC34A1* en los pacientes con niveles de TFV menores o mayores de 133,5 ng/mL.

Gen (proteína), SNP	TFV<133,5	TFV>133,5	<i>p</i>
ABCC2 (MRP2)			
-24C→T, rs717620			0,29
CC	33 (63)	19 (59)	
CT	18 (35)	10 (31)	
TT	1 (2)	3 (10)	
C	84 (81)	48 (75)	
T	20 (19)	16 (25)	
1249G→A, rs2273697			0,38
GG	30 (58)	23 (72)	
GA	18 (34)	8 (25)	
AA	4 (8)	1 (3)	
G	78 (75)	54 (84)	
A	26 (25)	10 (16)	
3563T→A, rs8187694			0,57
TT	47 (90)	28 (87)	
TA	4 (8)	4 (13)	
AA	1 (2)	0	
T	98 (94)	60 (94)	
A	6 (6)	4 (6)	
3972C→T, rs3740066			0,99
CC	20 (38)	12 (37)	
CT	24 (46)	15 (47)	
TT	8 (15)	5 (16)	
C	64 (62)	39 (61)	
T	40 (38)	25 (39)	
4544G→A, rs8187710			0,49
GG	47 (90)	27 (84)	
GA	5 (10)	5 (16)	
AA	0	0	
G	99 (95)	59 (92)	
A	5 (5)	5 (8)	
ABCC4 (MRP4)			

3463A→G, rs1751034			0,73
AA	34 (65)	21 (66)	
AG	17 (33)	11 (34)	
GG	1 (2)	0	
A	85 (82)	53 (83)	
G	19 (18)	11 (17)	
4131T→G, rs3742106			0,36
TT	22 (42)	10 (31)	
TG	21 (40)	18 (56)	
GG	9 (18)	4 (13)	
T	65 (62)	38 (59)	
G	39 (38)	26 (41)	
669C→T, rs899494			0,59
CC	42 (81)	24 (75)	
CT	10 (19)	8 (25)	
TT	0	0	
C	94 (90)	56 (87)	
T	10 (10)	8 (13)	
ABCB1 (P-gp)			
3435C→T, rs1045642			0,049
CC	12 (23)	14 (45)	
CT	27 (54)	14 (45)	
TT	12 (23)	3 (10)	
C	51 (50)	42 (68)	
T	51 (50)	20 (32)	
1236C→T, rs1128503			0,47
CC	15 (32)	13 (45)	
CT	22 (47)	12 (41)	
TT	10 (21)	4 (14)	
C	52 (55)	38 (65)	
T	42 (45)	20 (35)	
2677G→T/A, rs2032582			0,62
GG	17 (36)	14 (47)	
GT	18 (38)	12 (40)	
TT	10 (22)	3 (10)	
GA	1 (2)	1 (3)	
TA	1 (2)	0	
G	52 (56)	41 (68)	
T	39 (42)	18 (30)	

A	2 (2)	1 (2)	
SLC22A6 (OAT1)			
453G→A, rs4149170			0,76
GG	43 (84)	26 (81)	
GA	8 (16)	6 (19)	
AA	0	0	
G	94 (92)	58 (90)	
A	8 (8)	6 (10)	
G→A, rs10897312			0,55
GG	40 (80)	26 (87)	
GA	10 (20)	4 (13)	
AA	0	0	
G	90 (90)	56 (93)	
A	10 (10)	4 (7)	
T→C, rs4149172			0,58
TT	28 (58)	16 (53)	
CT	18 (38)	11 (37)	
CC	2 (4)	3 (10)	
T	74 (77)	43 (72)	
C	22 (23)	17 (28)	
G→A, rs11568621			0,75
GG	43 (86)	29 (83)	
GA	7 (14)	5 (17)	
AA	0	0	
G	93 (93)	53 (91)	
A	7 (7)	5 (9)	
G→A, rs3017670			0,17
GG	34 (69)	26 (87)	
GA	13 (27)	4 (13)	
AA	2 (4)	0	
G	81 (83)	56 (93)	
A	17 (17)	4 (7)	
T→A, rs6591722			0,62
TT	18 (37)	14 (47)	
TA	25 (51)	12 (40)	
AA	6 (12)	4 (13)	
T	61 (62)	40 (67)	
A	37 (38)	20 (33)	
SLC22A11 (OAT4)			

T→A, rs11231809			0,89
TT	25 (48)	14 (44)	
TA	19 (37)	12 (37)	
AA	8 (15)	6 (19)	
T	69 (66)	40 (63)	
A	35 (34)	24 (37)	
SLC34A1 (NPT2a)			
A→G, rs6420094			0,65
AA	25 (50)	13 (46)	
AG	21 (42)	14 (50)	
GG	4 (8)	1 (4)	
A	71 (71)	40 (71)	
G	29 (29)	16 (29)	
C→T, rs3812036			0,60
CC	29 (59)	15 (52)	
CT	15 (31)	12 (41)	
TT	5 (10)	2 (7)	
C	73 (74)	42 (72)	
T	25 (26)	16 (28)	

Tabla 16. Distribución de los haplotipos *ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6* y *SLC34A1* en función de si los pacientes tenían niveles de TFV menores o mayores de 133,5 ng/mL. Los datos se refieren a n (%) de haplotipos (el doble del número de pacientes ya que 1 paciente tiene 2 haplotipos). Se muestran los valores de *p*, OR (CI95%) cuando la diferencia en la distribución de un haplotipo, frente a los demás, entre los dos grupos era menor de 0,1.

Haplotipo	TFV<133,5	TFV>133,5	<i>p</i>	OR (CI95%)
ABCB1 (P-gp)				
CGC	41 (40)	37 (59)	0,063	2,83 (0,92-8,66)
CGT	11 (11)	2 (3)	0,071	0,29 (0,07-1,26)
TGC	2 (2)	1 (2)	-	
CTAC	4 (4)	3 (5)	-	
CTAT	4 (4)	3 (5)	-	
TTAC	39 (38)	16 (26)	-	
TTAT	1 (1)	0	-	

ANEXO II. Publicaciones surgidas de esta tesis.

- **Alvarez E** and Rodriguez-Novoa S. The pharmacogenetics of HIV treatment; a practical clinical approach. *Journal of Pharmacogenomics and Pharmacoproteomics* 2013; 4:116
- **Alvarez E**, Soriano V and Rodriguez-Novoa S. A critical appraisal and update on the specific role of Tenofovir in the management of HIV. *Virus Adaptation and Treatment* 2011;3 55–69
- Garrido C, de Mendoza C, **Alvarez E**, Garcia F, Morello J, Garcia-Bujalance S, Ribera E, Rodriguez-Novoa S, Gutierrez F, Soriano V. Plasma raltegravir exposure influences the antiviral activity and selection of resistance mutations. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Apr 3. PubMed PMID: 21457126
- Jiménez-Nácher I, **Alvarez E**, Morello J, Rodriguez-Nóvoa S, de Andrés S, Soriano V. Approaches for understanding and predicting drug interactions in human immunodeficiency virus-infected patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2011 Apr;7(4):457-77. 2011 Feb 23. PubMed PMID: 21342079
- Morello J, **Alvarez E**, Cuenca L, Vispo E, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V, Rodriguez-Novoa S. Use of serum bilirubin levels as surrogate marker of early virological response to atazanavir-based antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Mar 23. PubMed PMID: 21348813

- Rodriguez-Nóvoa S, **Alvarez E**, Labarga P, Soriano V. Renal toxicity associated with tenofovir use. *Expert Opin Drug Saf.* 2010 Jul;9(4):545-59. PubMed PMID:20384533.

- Vispo E, Mena A, Maida I, Blanco F, Cordoba M, Labarga P, Rodriguez-Novoa S, **Alvarez E**, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Hepatic safety profile of raltegravir in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Mar;65(3):543-7. PubMed PMID: 20032006.

ANEXO III. Copia de las publicaciones relacionadas con esta tesis.

Critical appraisal and update on tenofovir in management of human immunodeficiency virus infection

Elena Alvarez¹
Judit Morello¹
Vincent Soriano²
Pablo Labarga²
Sonia Rodriguez Nóvoa¹

¹Pharmacokinetic and Pharmacogenetic Unit, Service of Infectious Diseases, ²Department of Infectious Diseases, Hospital Carlos III, Madrid, Spain

Abstract: Tenofovir is currently one of the most widely used nucleoside reverse transcriptase inhibitors in the treatment of human immunodeficiency virus (HIV) due to its good efficacy, tolerability, and convenience as a once-daily dosage. It is a drug of choice both for first-line therapy in naïve and pretreated patients, along with two other active drugs as part of a highly active antiretroviral therapy. Moreover, tenofovir can be used to treat hepatitis B virus-infected patients as well as coinfecting patients who meet criteria to be treated for HIV or hepatitis B virus infection, and more recently some studies have supported its use as part of pre-exposure prophylaxis. Although large clinical trials and postmarketing studies have shown a gentle renal profile for tenofovir, some prospective cohort studies and case reports have raised concern about renal damage and bone disorders associated with use of tenofovir in a small proportion of patients, and apprehension lingers over its long-term usage. Renal toxicity from tenofovir seems to be linked to tubular damage, so classical markers for monitoring renal function that mainly assess glomerular function would not be advisable to detect early renal impairment. Management of toxicity associated with tenofovir should be based on assessment of optimal biomarkers for the detection and monitoring of renal disease.

Keywords: tenofovir, antiretroviral treatment, kidney, human immunodeficiency virus, hepatitis B

Introduction

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), the first nucleotide analog approved for the treatment of human immunodeficiency virus (HIV) infection, was introduced a decade ago as part of the antiretroviral armamentarium. Since then, this drug has replaced most nucleoside analogs as the backbone of many antiretroviral combination regimens in the Western world, where lipoatrophy and other side effects of nucleoside analogs have become the major drawback of this drug family. The coformulation of tenofovir with emtricitabine (Truvada[®]) or with emtricitabine and efavirenz (Atripla[®]) as a single pill to be taken once daily has further increased the popularity of this drug. Other attractive features of TDF are its potent antiviral activity when compared with abacavir in subjects having high viral loads, its relatively high genetic barrier for resistance, and its activity against hepatitis B virus, which makes the drug particularly attractive for treatment of individuals coinfecting with HIV and hepatitis B virus. However, widespread use of the drug has allowed the recognition of some mild and long-term side effects in a subset of patients with prolonged TDF exposure, mainly associated with kidney tubular dysfunction and loss of bone density.

Correspondence: Sonia Rodriguez-Novoa
Pharmacokinetic and Pharmacogenetic
Unit, Service of Infectious Diseases,
Hospital Carlos III, C/Sinesio Delgado 10,
28029 Madrid, Spain
Tel +34 453 2694
Fax +34 453 2696
Email sonia_r_novoa@hotmail.com

Treatment challenges in management of HIV infection

Since the identification of HIV in 1983^{1,2} and until the approval of zidovudine in 1987, neither a cure nor long-term survival was expected for persons infected with the virus. During the years that followed, efforts were focused on developing more and better compounds against the virus. The nucleoside reverse transcriptase inhibitors, to which zidovudine belongs, were soon complemented with other molecules, such as didanosine, zalcitabine, stavudine, and lamivudine. However, it was not until the introduction of the protease inhibitors in 1996 that the expectations of antiretroviral therapy experienced a dramatic shift. Only then was it appreciated that triple combination therapy could provide unprecedented control of HIV replication, CD4 gain, and ultimately prolonged survival. The combination of three drugs, ie, two nucleoside reverse transcriptase inhibitors and one protease inhibitor or non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) is known as highly active antiretroviral therapy, and has become the paradigm for antiretroviral treatment.

TDF, a unique nucleotide analog and the first approved to treat HIV infection, was introduced to the market in 2001. Moreover, further drug families directed to other targets in the life cycle of the virus were developed, including NNRTIs and, more recently, the entry inhibitors and integrase inhibitors.

Nowadays, there are 25 drugs approved for the treatment of HIV infection. Some of these drugs are coformulated in combinations and allow once-daily dosage, thereby simplifying therapy and improving compliance. TDF is currently one of the most widely used nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors in the treatment of HIV infection due to its excellent combination of good potency, tolerability, and convenience as a once-daily dosage. TDF is marketed either as a single agent (Viread®) or coformulated with emtricitabine, or with emtricitabine + efavirenz, the latter being the “gold standard” in patients initiating antiretroviral therapy. TDF + emtricitabine is also considered to be a combination of choice when antiretroviral therapy is initiated with a boosted protease inhibitor, and in patients with good virological control in whom an alternative nucleoside reverse transcriptase inhibitor has to be substituted to avoid or reverse toxicity. More recently, TDF + raltegravir (the first integrase inhibitor marketed) has been included as an option for initial therapy because it is very effective in terms of virological suppression and CD4 gain, as well as having a good safety profile. In this review we summarize the most relevant aspects of TDF use.

Pharmacology

TDF is the fumarate salt of the prodrug, tenofovir. Following gastrointestinal absorption, tenofovir disoproxil undergoes initial diester hydrolysis and is transformed into tenofovir, a nucleotide analog of adenosine monophosphate, and subsequently undergoes phosphorylation by cellular enzymes to form the active compound, tenofovir diphosphate. Tenofovir diphosphate inhibits HIV reverse transcriptase by competing with the natural substrate, deoxyadenosine 5'-triphosphate, causing DNA chain termination. The *in vitro* anti-HIV 50% inhibitory concentration (IC_{50}) is in the range of 1–6 μ M.^{3,4}

TDF has a low bioavailability of 25% in the fasted state. Administration of TDF with a high-fat meal enhances its bioavailability by 40%. Thus, it is recommended that TDF be administered with food. After oral administration, tenofovir is minimally bound to plasma proteins and distributed to most tissues, with the highest concentrations occurring in the kidney, liver, and intestine. *In vitro* studies have shown that neither TDF nor tenofovir are substrates for the cytochrome P450 (CYP) enzymes. Moreover, tenofovir does not inhibit *in vitro* drug metabolism mediated by any of the major human CYP450 isoforms, so it is unlikely that clinically significant interactions involving tenofovir and drugs metabolized by CYP450 would occur. The terminal half-life of tenofovir in plasma is approximately 12–18 hours. It is primarily excreted via the kidney by both glomerular filtration and active tubular secretion.³ Regarding the pathway of active tubular secretion, tenofovir enters the proximal tubule cells via human organic anion transporters 1 and 3^{5,6} and is excreted into the urine by multidrug resistant protein 4; the role of MRP2 and MRP7 in this process is under study (Figure 1).^{7–12} Coadministration of TDF and drugs that reduce renal function or compete for active tubular secretion via transport proteins, human organic anion transporters, or multidrug resistant proteins (eg, cidofovir and didanosine)¹³ may increase serum concentrations of TDF and/or the coadministered drug. TDF should not be coadministered with nephrotoxic agents, ie, the aminoglycosides, amphotericin B, foscarnet, ganciclovir, pentamidine, vancomycin, cidofovir, or interleukin-2.³

Pharmacokinetic studies have demonstrated that coadministration of TDF and protease inhibitors results in increased tenofovir exposure, probably due to increased absorption^{14–17} or to a reduction in renal clearance of tenofovir,^{18,19} but this seems not to be clinically relevant. However, coadministration of TDF and didanosine is not recommended. Although didanosine has no effect on the pharmacokinetics of TDF, didanosine exposure increases by 40%–60%, increasing the risk of didanosine-related side effects.^{20–22} Further, increased

exposure to didanosine could enhance the mitochondrial toxicity of TDF to the kidneys, and may account for the greater risk of renal toxicity in patients treated with a combination of TDF and didanosine.²³

Clinical experience with tenofovir

The efficacy and safety of TDF has been evaluated in multiple clinical trials conducted in both treatment-naïve and antiretroviral-experienced patients (Table 1). In two prospective, randomized, controlled trials (903 and 934) that evaluated the efficacy and safety of TDF vs either stavudine or zidovudine in combination with efavirenz and lamivudine or emtricitabine in antiretroviral-naïve patients over 144 weeks, the TDF arm demonstrated greater and more prolonged effectiveness in terms of viral suppression and CD4 gain.^{24–27} Similar results were observed in two placebo-controlled studies (902 and 907) which included HIV treatment-experienced individuals with detectable viral load on stable combination antiretroviral therapy.^{28,29}

Tenofovir + emtricitabine and abacavir + lamivudine are fixed-dose combinations commonly used along with NNRTIs or ritonavir-boosted protease inhibitors as first-line therapy, but there is conflicting evidence concerning their relative efficacy. Several trials have suggested higher efficacy for TDF + emtricitabine,^{30–32} especially in the subset of patients with high viral load, whereas other studies have shown no difference in efficacy when comparing these nucleoside reverse transcriptase inhibitor backbones through 96 weeks.^{33–35} Lack of human leucocyte antigen (HLA) B*5701 allele determination in patients who initiated abacavir in some of these studies might explain these different results.

Antiretroviral therapy failure can be caused by selection of resistance mutations that decrease susceptibility to a specific antiretroviral drug. The signature mutation for tenofovir is K65R, which is associated with a modest decrease in sensitivity to tenofovir *in vitro*, although K65R selection occurs infrequently in tenofovir-treated patients.³⁶ This mutation may also be selected for by prior treatment with nucleoside analogs, such as didanosine, abacavir, stavudine, and lamivudine,³⁷ thus leading to potential cross-resistance among these drugs. TDF should be avoided in antiretroviral-experienced patients with strains harboring the K65R mutation.³⁸ Simultaneous presence of the lamivudine-associated M184V reverse transcriptase mutation and K65R further reduces the replicative capacity of the virus. TDF resistance is also associated with thymidine analog resistance mutations. The presence of three or more thymidine analog resistance mutations has been associated with a decreased

response to tenofovir, particularly if these mutations include M41L or L210W.³⁷

With regard to adverse effects, TDF has not shown the mitochondrial toxicity linked with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Moreover, TDF has a low risk of lipatrophy and a favorable effect on the lipid profile compared with the older nucleoside analog agents, such as stavudine or zidovudine.^{24–27,39} Nevertheless, when comparing TDF + emtricitabine vs abacavir + lamivudine, greater increases in bone turnover and decreases in bone density were observed in subjects treated with TDF + emtricitabine.^{30,33,40} No difference in estimated glomerular filtration rate between the treatment arms was reported, but increases in tubular dysfunction markers were observed in the TDF + emtricitabine arm.^{32,35} In the abacavir group, serious (Grade 3/4) adverse events occurred more frequently and earlier than in the TDF group, and were likely related to hypersensitivity reactions to abacavir. Furthermore, abacavir regimens were associated with more serious events unrelated to acquired immunodeficiency syndrome, particularly cardiovascular events.^{30,32,33} TDF is frequently administered in combination with protease inhibitors. Most regimens offer comparable levels of virological efficacy,^{15,24,41–45} so selection of the regimen will be based on tolerability and convenience of the drugs in order to improve adherence and outcomes of therapy.

Tenofovir-associated renal toxicity

Only 1%–2% of HIV-infected adults receiving TDF show signs of nephrotoxicity.^{46–50} In many prospective clinical trials that have compared patients exposed to TDF vs other antiretroviral drugs, renal safety assessed by glomerular filtration rate was found to be similar in both groups of patients.^{24,26,27} In addition, some case-control and cohort studies have described no significant renal dysfunction associated with TDF use in clinical practice.^{46,47,50,51} However, other studies have found a greater increase in serum creatinine and a modest decline in creatinine clearance in subjects treated with TDF vs patients not exposed to TDF.^{52–59} Moreover, in some of these studies, development of renal injury has been attributed to underlying causes unrelated to TDF use.^{47,50,51} Nevertheless, it is noteworthy that patients in whom TDF was related to a decline in renal function were on protease inhibitor-based regimens. Coadministration of protease inhibitors and TDF is known to increase TDF exposure and thereby the potential nephrotoxic effect of TDF.^{14–19} The influence of protease inhibitors on the renal safety profile of TDF has been evaluated in several studies.^{14,18,19,53,54} Although one study found a greater decrease in renal function with protease inhibitors,⁵⁴ most agreed that

Table 1 Main trials that have examined the efficacy and safety of tenofovir in HIV-infected patients

Trial name	Study design	Patients (n)	Follow-up	Main efficacy results	Adverse events	Main implications
Study 903 ²⁶	Noninferiority, prospective, randomized, multicenter, double-blind, controlled trial TDF vs D4T + 3TC/EFV	602 naïve patients 299 TDF arm, 301 d4T arm	144 weeks	TDF/FTC superior in terms of virologic suppression; the two arms had similar immunological efficacy	Similar renal profile; TDF displayed better lipid profile and less lipodystrophy but greater loss of BMD	TDF + FTC/3TC demonstrates superior durability of viral suppression and safety profile
Study 934 ^{24,27}	Noninferiority, prospective, randomized, multicenter, open-label controlled trial TDF/FTC vs AZT/3TC + EFV	517 naïve patients 258 TDF arm 259 AZT arm	144 weeks	TDF/FTC superior in terms of virologic suppression and CD4 response	Similar renal profile; TDF displayed better lipid profile and less lipodystrophy	Three reasons for TDF use vs ABC: no need for HLA-B*5701 test; greater virological response in patients with VL > 100,000 copies/mL; no CV events
BICOMBO ³⁰	Randomized, multicenter, open-label clinical trial TDF/FTC vs ABC/3TC + NNRTIs or PIs No HLA-B*5701 screening	335 pretreated patients with RNA-HIV < 200 copies/mL 167 ABA/3TC 168 TDF/FTC	96 weeks	TDF/3TC superior in terms of virologic suppression; no significant difference between groups in CD4 cell count; ABC/3TC did not meet the noninferiority outcome for treatment efficacy compared with TDF/FTC	ABC/3TC had more serious (Grade 3–4) AE. Increases in total and LDL cholesterol; no differences in GFR	no need for HLA-B*5701 test; greater virological response in patients with VL > 100,000 copies/mL; no CV events
ACTG A5202 study ²²	Prospective, randomized, double-blind equivalence study TDF/FTC vs ABC/3TC + EFV or ATV/r No HLA-B*5701 screening	1858 naïve patients 399 TDF/FTC 398 ABC/3TC	96 weeks	ABC/3TC did not suppress HIV as well as TDF/FTC in patients with high viral load and time to virologic failure was shorter; no significant difference between groups in CD4 cell count	ABC/3TC had more serious (Grade 3–4) AE and higher cholesterol levels; TDF/FTC + ATV/r showed lower CrCl than ABC arm	*Long-term consequences of tubular dysfunction are unclear
STEAL ³³	Noninferiority, randomized, open-label trial of TDF/FTC vs ABC/3TC + NNRTIs or PIs; HLA-B*5701-negative HIV-1-infected adults	360 pretreated patients with RNA-HIV < 50 copies/mL 180 TDF/FTC 180 ABC/3TC	96 weeks	Similar virological efficacy and similar rate of virological failure	ABC/3TC showed more serious non-AIDS events, mainly CV events and lipid endpoints; TDF/FTC caused more BMD loss; no difference in GFR	
HEAT ³⁵	Noninferiority, randomized, multicenter double-blind, placebo-matched study of TDF/FTC vs ABC/3TC + LPV, no HLA-B*5701 screening	688 naïve patients 343 ABC/3TC 345 TDF/FTC	96 weeks	Similar efficacy in patients with baseline HIV-1 RNA > 100,000 copies/mL or CD4 cell counts < 50 cells/ μ L; comparable safety and tolerability, and similar rate of virological failure	Similar discontinuation due to AE (6%); similar GFR and tubular parameters	
ASSERT ³¹	Multicenter, randomized, open-label study of TDF/FTC vs ABC/3TC + EFV, HLA-B*5701-negative HIV-1-infected adults	385 naïve patients 197 TDF/FTC 195 ABC/3TC	96 weeks	TDF greater efficacy for virological suppression; no differences in CD4 gain	AEs similar between arms (but HS for ABC arm); no difference in GFR; TDF/FTC showed increases in markers of tubular dysfunction, bone turnover and decreases in BMD	

Abbreviations: TDF, tenofovir disoproxil fumarate; d4T, stavudine; 3TC, lamivudine; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; AZT, zidovudine; ABC, abacavir; ATV/r, atazanavir/ritonavir; LPV/r, lopinavir/ritonavir; NNRTIs, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PIs, protease inhibitors; CrCl, creatinine clearance; GFR, glomerular filtration rate; AE, adverse effect; CV, cardiovascular; BMD, bone mineral density; HS, hypersensitivity.

the combination of TDF and a protease inhibitor was safe and well tolerated.^{14,19,53}

In addition to the data derived from these studies, a large number of case reports have raised concern about cases of renal damage in patients with normal glomerular filtration rate exposed long-term to TDF (Table 2). While some individuals presented with acute renal failure,^{48,60–67} most subjects initially showed tubulopathy, occasionally with overt Fanconi syndrome.^{68–78} An early sign of tubular dysfunction is hypophosphatemia, although other signs and symptoms of kidney tubulopathy include glucosuria with normal serum glucose levels, mild proteinuria, acidosis, and hypokalemia. A subset of individuals may show evidence of nephrogenic diabetes insipidus.^{68–72,76} The chronic consequences of significant loss of phosphate, proteins, and glucose are currently unknown, but are worrisome for an increased risk of premature osteoporosis and osteomalacia.^{79,80} In addition, some studies have suggested a link between TDF use, secondary hyperparathyroidism, and low vitamin D levels, which also lead to a greater risk of osteopenia and osteoporosis.^{81,82}

In spite of some studies having reported that impaired renal function related to TDF use generally improved after TDF discontinuation,^{48,61,70,72,83} in some cases renal function did not fully recover, although renal damage did not progress.^{84,85} Those studies in which renal function improved after TDF withdrawal have often been based on short-term follow-up or have looked only at creatinine clearance, a marker of glomerular disease that may not detect abnormalities in renal tubular function.

It is noteworthy that even though TDF is not yet licensed for use in HIV-infected individuals younger than 18 years of age, it is often used off-label in this age group as part of a salvage regimen. As with adults, some cases of proximal renal tubular dysfunction and bone disorders have been reported.^{85–90} Bone density loss tends to occur more often in less skeletally mature children, who are at higher risk of growth disorders. Because children are likely to take antiretroviral therapy for longer than adults, and are more prone to long-term toxicity related to TDF use, alternative TDF dosing regimens and careful monitoring of bone density and renal function is indicated in the pediatric and adolescent population.

The most frequent risk factors for developing TDF-induced nephrotoxicity include baseline renal dysfunction, a low CD4 count, older age, and low body weight.^{47,50,91} Classical risk factors associated with renal damage in HIV patients, such as pre-existing systemic conditions, HIV itself, antiretroviral therapy, or use of nephrotoxic agents, may also enhance the potential risk of nephrotoxicity associated with TDF.^{91,92}

More recently, TDF-associated renal proximal tubulopathy has been linked to genetic variants in transporter proteins involved in tenofovir excretion (Figure 1).⁹³ Polymorphisms in these genes would lead to intracellular accumulation of tenofovir. This is the case for polymorphisms in the *ABCC2* gene which encodes for MRP2. The haplotype *CATC* (defined as the combination of the polymorphisms at positions-24, 1249, 3563, and 3972)⁹⁴ and the allele *-24C*⁹⁵ have been associated with an increased risk of TDF-associated tubulopathy. Moreover, MRP4, coded by the *ABCC4* gene, is also implicated. The 669-C > T polymorphism at the *ABCC4* gene has been found to be more frequent in patients sustaining renal tubular damage,⁹⁴ although this finding has not been confirmed by others.⁹⁵ The rs9349256 polymorphism at the *ABCC10* gene that encodes for MRP7 has recently also been associated with urine phosphate wasting and β_2 -microglobulinuria, which are indicative of renal tubular dysfunction.¹² Currently, information about the effect of genetic polymorphisms on the risk of renal toxicity using TDF is a matter of controversy and requires further examination.

Few studies have examined the association between tenofovir exposure and renal toxicity. In most cases, patients developing tubulopathy had tenofovir levels above the concentration expected according to pharmacokinetic studies done in HIV-infected patients.^{74,76,96} In a recent study, patients with tubulopathy displayed significantly higher tenofovir plasma concentrations than patients with normal tubular function. The threshold established to define tubulopathy in this study was above 160 ng/mL.⁹⁷ These results suggest an association between tenofovir plasma exposure and TDF-associated renal toxicity, primarily recognizable as tubular dysfunction. If these data are confirmed, the quantitation of tenofovir plasma levels could be useful in the management of patients.

Tenofovir and bone mineral loss

According to the HIV Outpatient Study, HIV-infected persons seem to experience bone fractures more frequently than people without HIV and, moreover, the decline in bone density seems to be accelerated in HIV-infected persons.^{98,99} HIV infection in itself induces inflammation, which may result in accelerated loss of bone mineral density. On the other hand, antiretroviral therapy and some drugs in particular may increase the loss of bone mineral density. In the SMART (Strategies for Management of Anti-Retroviral Therapy) study, 240 HIV patients were randomized either to continue antiretroviral treatment or to interrupt it guided by CD4 cell counts. In patients who continued to be treated, bone mineral density decreased by

Table 2 Cases of renal damage in patients treated with tenofovir (2002–2009). Summary of kidney complications that have been communicated for patients treated with tenofovir between 2002 and 2009

Study	Cases (n)	Median months on treatment with TDF	ARV concomitant/ drugs with potential interaction	Other pathologies	Basal serum Cr (mg/dL)	Serum Cr on TDF (mg/dL)	Diagnosis
Verhelst et al ⁶⁹	1	5	ddl, LPV/r/TMP-SMZ	HCV	0.88	2.2	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Coca and Perazella ⁶¹	1	1.5	ddl, ABC	Mild CKD, HCV	1.9	6.2	ATN
Creput et al ⁷⁰	1	1	ATV/r, ddl, d4T		0.82	4.0	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Karras et al ⁷²	3	12	ABC, LPV/r, ddl, 3TC, APV/r, T20		0.91 0.93	7.8 1.74	Fanconi syndrome Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Dupont et al ⁶⁶	2	13	DDC, LPV/r, 3TC/TMP-SMZ	On hemodialysis	1.15 0.84	2.71 20 2.5	ATN ARF
Rollot et al ⁷⁶	1	27	3TC, ddl, LPV/r	Hypertension			Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus; elevated ddi and TDF levels
Schaaf et al ⁸³	1	2	3TC, d4T, LPV/r/TMP-SMZ	Chronic hepatitis C	0.79	3.5	ARF
Peyriere et al ⁷⁴	7	10.3	3TC, EFV, LPV/r, ddl, APV/r, ABC, NVP/IFN, TMP-SMZ	HCV, Crohn's disease	0.77	1.14 CrCl 41 mL/min	ATN (elevated TDF levels)
Rifkin and Perazella ⁷⁵	5	12.6	ABC, ATV, 3TC, AZT, SQV, EFV, APV, ddl, ATV, DLV, LPV/r		1.1 1.2 1.1 1.3 1.0	1.8 2.1 1.7 2.6 1.6 1.81	Fanconi syndrome
Barrios et al ⁹¹	1	1	ddl, EFV	Hypertension, hypercholesterolemia			Renal dysfunction
Parsonage et al ⁴⁹	2	25	ddl, 3TC, LPV/r/ibuprofen, rofecoxib, ABC, diclofenac	HBV, Kaposi's sarcoma, hypertension	0.73 1.0	1.9 3.98	Osteopenia, osteomalacia
Zimmermann et al ⁴⁸	5	20.2	DDI, d4T, 3TC, NVP, SQV, LPV/r, ATV/r, EFV, TMP-SMZ	HBV, HCV, diabetes mellitus type 2	1.0 0.8 1.0 0.7 0.8	3.4 7.4 1.8 7.1 4.2	Acute tubular necrosis ARF ARF ARF
Mathew and Knaus ⁷³	1	6	3TC, EFV			2.5	Fanconi syndrome
De la Prada et al ⁷⁸	1	2	LPV/r, T20	Hypertension	1.24	7.74	Fanconi syndrome Tubular damage

Kapinsou and Ansar ⁶³	1	60	EFV, 3TC	HBV, HCV	0.8	9.8	Renal insufficiency associated with ATV use
Vallecillo-Sánchez et al ⁶⁴	2	2.5	ATV/r, 3TC, TDF, FTC, Salbutamol inhaler	COPD, hypertension	0.96	1.8 CrCl 45 mL/min	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Irizarry-Alvarado et al ⁷¹	3	6.6	ddI, LPV/r, FPV, TMP-SMZ	HCV, HBV	1.10	1.56 CrCl 67 mL/min	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Di Biagio et al ⁷⁹	1	1	3TC, EFV	HCV, osteoporosis, mild chronic renal insufficiency	1.7	1.0	Fanconi syndrome
Heine et al ⁸⁶	1		LPV/r, 3TC/diclofenac	HCV		10.43 CrCl 7 mL/min	Elevated TDF and LPV levels
Labarga et al ⁷⁷	3	>24	Pls	Diabetes, hypertension		CrCl 79–118 mL/min	Fanconi syndrome with normal GFR
Wood et al ⁶⁷	2	20.5	LPV/r		0.9 CrCl 121 mL/min	3.2 CrCl 35.9 mL/min	CKD

Note: *Proximal tubular renal dysfunction criteria: glucosuria (urine glucose >300 mg/day) with normal glycemia (plasma glucose <100 mg/dL), hyperaminoaciduria (any amino acid in urine, with the exception of histidine, glycine and serine), fractional tubular resorption of phosphorus <0.82; total excretion of phosphorus >1200 mg/day; fractional excretion of uric acid >15%; and β_2 -microglobulinuria >1 mg/day. Tubular damage when 2 or more criteria were present, being at least one of the Fanconi syndrome defining alterations (glycosuria in nondiabetic patients, hyperaminoaciduria, or hyperphosphaturia).

Abbreviations: TDF, tenofovir; ddI, didanosine; LPV, lopinavir; ATV, atazanavir; d4T, stavudine; ABC, abacavir; 3TC, lamivudine; APV, amprevinavir; FPV, fosamprenavir; T20, enfuvirtide; DDC, zalcitabine; TMP-SMZ, cotrimoxazole; EFV, efavirenz; NVP, nevirapine; RVB, ribavirin; IFN, interferon; SQV, saquinavir; AZT, zidovudine; DLV, delavirdine; r, ritonavir; Cr, creatinine; CrCl, creatinine clearance; ALP, alkaline phosphatase; TRP, tubular reabsorption of phosphate; β_2 -MG, betamicroglobulin; HCV, hepatitis C virus; HBV, hepatitis B virus; CKD, chronic kidney disease; ATN, acute tubular necrosis; ARF, acute renal failure; COPD, chronic obstructive pulmonary disease.

0.8% per year at the hip ($P < 0.001$) and 0.4% ($P = 0.04$) or 2.4% ($P < 0.001$) at the spine (depending on the technique used, ie, either dual-energy radiographic absorptiometry or quantitative computed tomography). In contrast, bone mineral density remained stable or increased after 1 year in the group in which antiretroviral therapy was interrupted.¹⁰⁰ Several clinical trials have shown that certain antiretrovirals may have a greater impact than others on loss of bone density. Although initially the protease inhibitors were thought to be associated with the greatest amount of bone loss,¹⁰¹ more recent studies have failed to confirm this association.¹⁰² Nevertheless, TDF use has been consistently associated with a decrease in bone density. Among other studies supporting this link are the 903 trial,²⁶ ASSERT,^{31,40} and STEAL (Simplification with Tenofovir-Emtricitabine or Abacavir-Lamivudine).³³ In all of these studies, patients receiving TDF had higher rates of bone density loss than those randomized to receive either stavudine or abacavir (Table 3). TDF use is associated with higher rates of renal tubular dysfunction compared with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors,^{56,77} the phosphate loss associated with this damage being the primary driver of loss of bone density.

Parathyroid hormone is the major systemic determinant of bone turnover. Elevations in parathyroid hormone result in bone mineral loss.¹⁰³ In HIV patients on antiretroviral treatment, parathyroid hormone elevations have been reported in up to 20%–40% of cases.⁸¹ In a recent study conducted in 564 HIV patients, some of whom received TDF and others did not, 44% vs 24%, respectively ($P < 0.001$) developed hyperparathyroidism over 71 months. Moreover, a significant decrease in plasma calcium levels was observed in the TDF group,¹⁰⁴ which might explain the elevation in parathyroid hormone.

Vitamin D deficiency causes parathyroid hormone elevations in the general population.¹⁰⁵ This deficit can occur in up to 37% of patients with HIV infection.¹⁰⁶ Vitamin D deficiency causes greater parathyroid hormone elevations in patients treated with TDF than in those treated with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors.⁸² However, in TDF-treated patients, parathyroid hormone elevations may not only depend on vitamin D deficiency, given that similar vitamin D levels, measured as 25(OH)₂D₃ and 1,25(OH)₂D₃, are seen in patients treated with and without TDF.^{104,107} Activation of 25(OH)₂D₃ into 1,25(OH)₂D₃, which is the active form of vitamin D, takes place in the proximal tubule of the nephron and is stimulated by parathyroid hormone. Given that TDF may cause tubular damage, impaired activation of 25(OH)₂D₃ may occur, which subsequently may decrease the intestinal absorption of calcium, leading to a greater parathyroid hormone increase in an

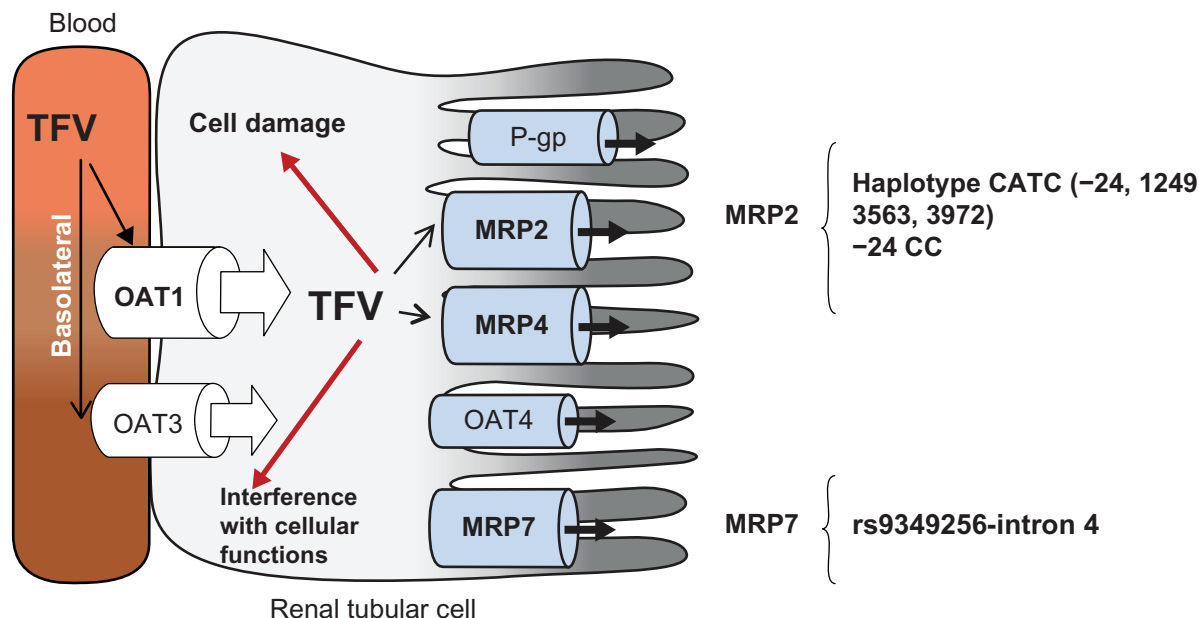


Figure 1 Main transporter proteins involved in elimination of tenofovir from tubular renal cells. TFV enters kidney cells using OAT1 and in a lesser extent, OAT3 and it is eliminated by MPR4. Genetic polymorphisms in transporter proteins may influence the elimination of TFV. The more relevant polymorphisms associated with tubulopathy are listed on the right side of the figure.

Abbreviations: TFV, tenofovir; OAT1, organic anion transporter protein-1; OAT3, organic anion transporter protein-3; MRP4, multidrug resistant protein-4; MRP2, multidrug resistant protein-2; MRP7, multidrug resistant protein-7.

attempt to correct this imbalance. Whatever the mechanism, it seems clear that patients treated with TDF have an imbalance between parathyroid hormone, vitamin D, and calcium in plasma. Recognition of this abnormality has provided a rationale for empiric administration of vitamin D to patients treated with TDF. Although a decrease in parathyroid hormone levels may occur, it happens regardless of baseline

25(OH)D₃ levels, something that is not seen in patients who do not receive TDF.¹⁰⁸

Tenofovir for prevention of HIV infection

The recent publication of two trials, ie, CAPRISA (Centre for the AIDS Program of Research in South Africa)¹⁰⁹ and

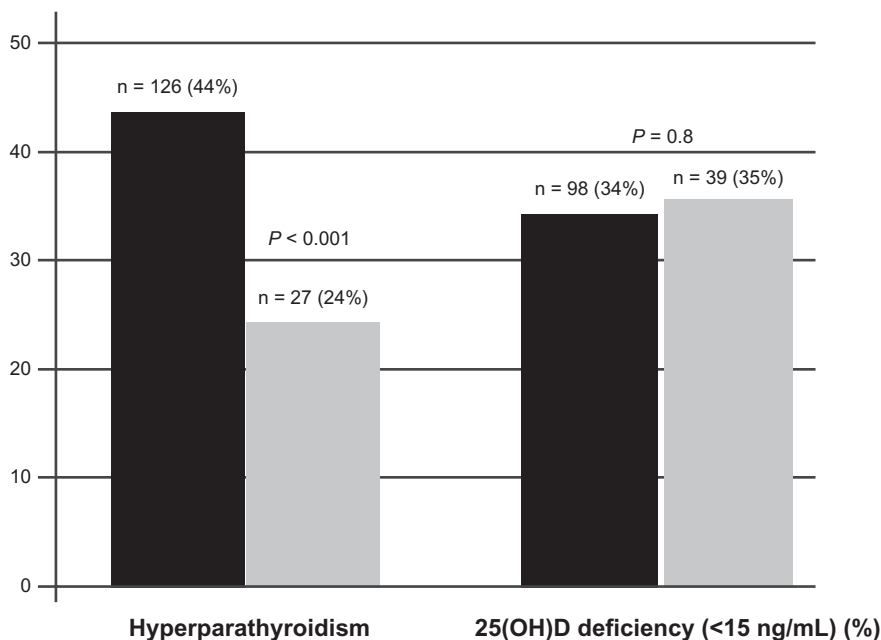


Figure 2 Prevalence of hyperparathyroidism and 25-hydroxyvitamin D deficiency according to TDF use. Light grey bars represent TDF users while the black ones represent those patients not taking TDF. Frequency of hyperparathyroidism differs significantly among TDF and non-TDF users, whereas no difference was found for 25(OH)D levels between groups.

Table 3 Most relevant studies that have examined bone parameters in subjects with HIV treated by TDF vs patients not exposed to TDF

Study (reference)	Comparative groups	Patients (n)	Bone-related parameters	Main findings
Study 903 ²⁶	TDF vs d4T + 3TC/EFV	299 TDF 301 d4T	Change in BMD Lumbar spine: -2.2% TDF vs -1.0% d4T; $P = 0.01$. Hip: -2.8% TDF vs -2.4% d4T; $P = 0.06$	Greater loss of BMD in the TDF arm
ASSERT study ^{31,40}	TDF/FTC vs ABC/3TC + EFV	197 TDF/FTC 195 ABC/3TC	Change in BMD: Lumbar spine: -2.4% TDF vs -1.6% ABC; $P = 0.036$ Hip: -3.6% TDF vs -1.6% ABC; $P < 0.001$. BMD loss >6: 13% TDF vs 3% ABC in the hip. 10% TDF vs 5% ABC in the spine	TDF/FTC: Increases in markers of tubular dysfunction, bone turnover and decreases in BMD
STEAL study ³³	TDF/FTC vs ABC/3TC + NNRTIs or Pls	180 TDF/FTC 180 ABC/3TC	Mean difference in hip t score, 0.16; 95% CI: 0.08-0.23; $P < 0.001$ Rates of bone disorders: 8.5 TDF vs 4.4 ABC; $P = 0.0032$	Greater loss of BMD in the TDF arm
Kinai and Hanabusa ⁵⁶	TDF vs other NRTI	40 TDF 23 NRTI	Change in % TRP from baseline to 96 weeks: 94 to 90% $P = 0.04$ TDF 96 to 94% $P = 0.33$ NRTI	Consider close monitoring or TDF discontinuation if persistent decline of % TRP
Labarga et al ⁷⁷	TDF vs non-TDF	154 TDF 49 non-TDF 181 naïve	TRP rate in TDF vs non-TDF and naïve: 0.82, 0.85 and 0.87	Close monitoring of accelerated bone mineral loss and renal insufficiency
Rosenvinge et al ⁶²	TDF vs non-TDF	108 TDF 86 non-TDF	PTH levels: 7.2 TDF vs 4.3 non-TDF (pg/mL) PTH in VDD (<50 nmol/L): 8.2 TDF vs 4.6 non-TDF (pg/mL)	VDD is associated with TDF linked Hyper-PTH
Pocaterra et al ¹⁰⁷	TDF vs non-TDF	214 TDF 232 Pls	Overall: 17.5% patients Hyper-PTH (ULN = 65 pg/mL) 77.4% patients VDD (<30 mg/dL) TDF group: 75.4% PTH > 65 vs 55.9% PTH < 65 in TDF group, $P = 0.002$	Association between hyper-PTH, TDF use and 25(OH)D levels beside classical factors
Labarga et al ¹⁰⁴	TDF vs non-TDF	433 TDF 131 non-TDF	Hyper-PTH: 37% TDF vs 14% non-TDF; $P < 0.001$ Hyper-PTH + VDD (<15 ng/mL): 44% TDF vs 10% non-TDF; $P < 0.001$	Hyper-PTH and bone resorption might develop in the subset of patients taking TDF with suboptimal 25(OH)D levels
Childs et al ⁸¹	TDF vs non-TDF	45 HAART	PTH levels: 80 pg/mL TDF vs 55 pg/mL non-TDF; $P = 0.02$ In VDD (< 30 ng/mL): PTH elevated in 41% TDF vs 0% non-TDF; $P = 0.018$	Use of TDF and the level of 25(OH)D were independently associated with PTH levels

Abbreviations: TDF, tenofovir disoproxil fumarate; d4T, stavudine; 3TC, lamivudine; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; ABC, abacavir; NNRTIs, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; Pls, protease inhibitors; NRTI, nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PL, placebo; BMD, bone mineral density; TRP, tubular reabsorption of phosphate; PTH, parathyroid hormone; hyper-PTH, hyperparathyroidism; ULN, upper limit of normal; VDD, vitamin D deficiency.

iPrEX (Pre Exposure Prophylaxis Initiative),¹¹⁰ has raised unprecedented interest in pre-exposure prophylaxis as a way to combat the HIV pandemic. CAPRISA examined nearly 900 heterosexually active women in South Africa and demonstrated that use of topical vaginal TDF reduced the risk of

HIV acquisition by 39% overall, rising to 54% in the subset of women with high gel adherence.

The iPrEX trial examined nearly 2500 homosexual men in South America, South Africa, Thailand, and the US, and was the first to show that daily oral TDF + emtricitabine

could reduce the risk of HIV infection by 44% overall, increasing to 73% in the subset of men with sustained good drug adherence.

These trial results have been greeted with huge enthusiasm, especially in the wake of disappointing results from several prior studies, but have also raised numerous questions about who could potentially benefit, the long-term risks of these interventions, and cost and access issues. Moreover, antiretroviral use for preventing infection in HIV-seronegative individuals at risk must be considered in the context of other interventions that may help equally to reduce HIV acquisition.

While Truvada has not been approved so far for HIV prevention, doctors may prescribe drugs for off-label use, and some individuals engaged in high-risk behaviors might consider immediate use of the drug as pre-exposure prophylaxis. For these reasons, on January 28, 2011, the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) released new guidance intended to offer instructions and cautions for people interested in using pre-exposure prophylaxis immediately, while awaiting more extensive clinical trial data for longer-term use and other at-risk populations. The CDC guidance is available at: <http://www.cdc.gov/nchstp/newsroom/PrEPMSMGuidanceGraphic.html>.

Briefly, the CDC recommendations for pre-exposure prophylaxis are:

- Confirm that the person seeking pre-exposure prophylaxis is at substantial ongoing high risk for acquiring HIV infection
- Test for HIV, including, if symptomatic, acute HIV infection that may not be detectable with a standard antibody test, given that using just two antiretroviral drugs could lead to resistance if HIV is present; repeat HIV testing every 3 months while on pre-exposure prophylaxis
- Screen for and treat other sexually transmitted diseases, including syphilis, gonorrhea, hepatitis B and C, and repeat testing every 6 months while on pre-exposure prophylaxis
- Test for kidney function (creatinine clearance), because tenofovir may produce renal injury in some individuals, and monitor kidney function after 3 months and then annually while on pre-exposure prophylaxis
- Screen for, and if uninfected, vaccinate against hepatitis B; if infected, consider the dual use of Truvada for treatment, because TDF and emtricitabine are both active against HBV and HIV
- Provide pre-exposure prophylaxis as part of a comprehensive prevention approach, along with risk-reduction

counseling and condoms; assess risk behavior every 3 months while on pre-exposure prophylaxis

- Stress importance of and offer support for drug adherence.

It should be kept in mind that the iPrEX trial did not provide evidence that using Truvada only before or after sex encounters is effective. Pre-exposure prophylaxis has the potential to contribute to effective and safe HIV prevention for homosexual men engaged in high-risk behaviors, but its maximal cost-effectiveness will be obtained taking into consideration a number of factors, including the following:

- Homosexual men at high-risk for HIV acquisition need to be targeted
- Pre-exposure prophylaxis must be delivered as part of a comprehensive set of prevention services, including risk-reduction and medication adherence counseling, ready access to condoms, and diagnosis and treatment of sexually transmitted diseases
- Monitoring of HIV status, side effects, adherence, and risk behaviors at regular intervals is mandatory.

Finally, all these efforts for helping to reduce HIV acquisition must be accompanied by appropriate information and education about safer lifestyles, particularly high-risk sexual practices.

Tenofovir for hepatitis B treatment

TDF was licensed in 2008 for the treatment of hepatitis B infection. It is a potent inhibitor of hepatitis B virus reverse transcriptase, with an IC_{50} of 0.14–1.5 μ M.³ TDF along with entecavir are currently the preferred first-line choices for treatment in hepatitis B-monoinfected patients. TDF has been demonstrated to be effective either in nucleos(t)ide analogs-naïve patients or in patients with prior resistance to lamivudine and/or adefovir, although in the latter situation the response tends to be lower.^{111–113}

Of 350 million people worldwide infected with the hepatitis B virus, approximately four million are coinfecting with HIV. HIV modifies the natural history of the hepatitis B virus, favoring chronification and accelerating progression to cirrhosis and end-stage liver disease.¹¹⁴ In patients who need to be treated for either HIV or hepatitis B virus infection, early initiation of antiretroviral treatment, including drugs active against hepatitis B virus (lamivudine, emtricitabine, TDF) is recommended. At this time, TDF is preferred to lamivudine as the only active anti-hepatitis B virus agent in this context, given its higher genetic barrier to resistance. Thus, the coformulation of TDF + emtricitabine is the most popular nucleoside reverse transcriptase inhibitor backbone

in coinfecting patients.¹¹⁵ Because prolonged TDF exposure may cause kidney dysfunction in a small proportion of treated individuals, renal function should be carefully and periodically monitored in individuals coinfecting with HIV and hepatitis B virus.

Patient-focused perspectives

The availability of highly active antiretroviral therapy has markedly improved survival rates and quality of life in patients infected with HIV. The natural history of HIV infection has been changed into a manageable chronic disease requiring long-term antiretroviral treatment. Because patients need to continue their treatment lifelong, the preferred antiretroviral regimen will be one that, along with efficacy, optimizes the likelihood of patient compliance. One strategy to improve adherence is to facilitate the intake of medication, for example, by reducing the pill burden, including drugs that allow once-daily dosage or those with no food restrictions.

Antiretroviral drugs are characterized by differing rates of response and adverse events. It is known that drug metabolism and drug toxicity may vary greatly between individuals, affecting both efficacy and toxicity. Strategies aimed at individualizing therapy would help to diminish this variability. Genetic variations might explain a proportion of this variability. In recent years, a number of associations between human genetic variants and predisposition to drug toxicity and risk of virologic failure have been described. These include the HLA class II allele *HLA-DRB*0101* associated with nevirapine hypersensitivity,^{116,117} *HLA-B*5701* with abacavir hypersensitivity reaction,^{118–121} *CYP2B6* alleles, with the central nervous system side effects of efavirenz,^{122–125} *UGT1A1* alleles or polymorphisms in genes encoding for P glycoprotein both related to atazanavir-associated hyperbilirubinemia,^{126–128} and polymorphisms in genes encoding for transporter proteins with renal proximal tubulopathy in patients taking TDF.^{7,12,93,95} Moreover, therapeutic drug monitoring may be helpful, allowing dose adjustments, especially when using a drug with a narrow therapeutic range, because small changes in drug levels lead to loss of efficacy and/or increased risk of toxicity. It may also be of aid in those cases in which information about drug interactions is still scarce, ie, for agents which have recently entered the marketplace.^{129–131}

Conclusion

TDF is one of the most widely used antiretroviral drugs in clinical practice due to its potent antiviral activity, acceptable safety profile, and convenient administration.

The antiretroviral regimen currently recommended for initial therapy is the combination of TDF + emtricitabine, with addition of a convenient third agent, ie, efavirenz, raltegravir, or one of the newer ritonavir-boosted protease inhibitors (darunavir or atazanavir). TDF is also indicated in other situations, tt for replacing other nucleoside reverse transcriptase inhibitors in patients already with undetectable viremia, in an attempt to avoid or reverse the development of mitochondrial-related side effects, mainly lipodystrophy. TDF maintains its activity in most patients harboring drug-resistant variants, with only a few thymidine-associated mutations selected in prior episodes of treatment failure. Other situations in which TDF is being used include the treatment of patients coinfecting with HIV and hepatitis B virus, and more recently, with great anticipation as part of pre-exposure prophylaxis. TDF is generally well tolerated in the short-term. However, a subset of individuals on prolonged TDF therapy may develop kidney tubular dysfunction and/or bone mineral loss. Periodic monitoring of renal function, in particular for tubular abnormalities, examining both plasma and urine biochemistry, may enable early recognition of individuals in whom the drug should be stopped to prevent more serious tubular damage and compromise of glomerular function. In this regard, information derived from pharmacogenetics and pharmacokinetics may help to identify the subset of individuals at greater risk for developing more severe renal injury.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

1. Gallo R, Montagnier L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *N Engl J Med*. 2003;349:2283–2285.
2. Broder S, Gallo R. A pathogenic retrovirus (HTLV-III) linked to AIDS. *N Engl J Med*. 1984;311:1292–1297.
3. Tenofovir. Summary of product characteristics. Foster City, CA: Gilead Sciences; 2010.
4. Fung HB, Stone EA, Piacenti FJ. Tenofovir disoproxil fumarate: A nucleotide reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Clin Ther*. 2002;24:34–45.
5. Cihlar T, Ho ES, Lin DC, Mulato AS. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2001;20:641–648.
6. Ray A, Cihlar T, Robinson KL, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3297–3304.
7. Imaoka T, Kusuvara H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, Sugiyama Y. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. *Mol Pharmacol*. 2007;71:619–627.
8. Mallants R, Van Oosterwyck K, Van Vaecck L, Mols R, De Clercq E, Augustijns P. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites. *Xenobiotica*. 2005;35:1055–1066.

9. Miller DS. Nucleoside phosphonate interactions with multiple organic anion transporters in renal proximal tubule. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;299:567–574.
10. van Aubel RA, Smeets PH, Peters JG, Bindels RJ, Russel FG. The MRP4/ABCC4 gene encodes a novel apical organic anion transporter in human kidney proximal tubules: Putative efflux pump for urinary cAMP and cGMP. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:595–603.
11. Van Aubel R, Smeets PH, van den Heuvel JJ, Russel FG. Human organic anion transporter MRP4 (ABCC4) is an efflux pump for the purine end metabolite urate with multiple allosteric substrate binding sites. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;288:F327–F333.
12. Pushpakom S, Liptrott N, Rodriguez-Novoa S. Genetic variants of ABCC10 are associated with kidney tubular dysfunction in patients treated with tenofovir-containing regimens. Abstr 742. Proceedings of the 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 16–19, 2010, San Francisco, CA.
13. Ray AS, Olson L, Fridland A. Role of purine nucleoside phosphorylase in interactions between 2',3'-dideoxyinosine and allopurinol, ganciclovir, or tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:1089–1095.
14. Kearney BP, Mathias A, Mittan A, Sayre J, Ebrahimi R, Cheng AK. Pharmacokinetics and safety of tenofovir disoproxil fumarate on coadministration with lopinavir/ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;43:278–283.
15. Malan N, Su J, Mancini M, et al. Gastrointestinal tolerability and quality of life in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: Data from the CASTLE study. *AIDS Care.* 2010;22:677–686.
16. Taburet AM, Piketty C, Chazallon C, et al. Interactions between atazanavir-ritonavir and tenofovir in heavily pretreated HIV-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:2091–2096.
17. Tong L, Phan TK, Robinson KL, et al. Effects of HIV protease inhibitors on the intestinal absorption of tenofovir disoproxil fumarate in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:3498–3504.
18. Kiser JJ, Carten ML, Aquilante CL, et al. The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;83:265–272.
19. Cihlar T, Ray AS, Laflamme G, et al. Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. *Antivir Ther.* 2007;12:267–272.
20. Barrios A, Rendon A, Negredo E, et al. Paradoxical CD4+ T-cell decline in HIV-infected patients with complete virus suppression taking tenofovir and didanosine. *AIDS.* 2005;19:569–575.
21. Garcia-Benayas T, Rendon AL, Rodriguez-Novoa S, et al. Higher risk of hyperglycemia in HIV-infected patients treated with didanosine plus tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006;22:333–337.
22. Martinez E, Milinkovic A, de Lazzari E, et al. Pancreatic toxic effects associated with co-administration of didanosine and tenofovir in HIV-infected adults. *Lancet.* 2004;364:65–67.
23. Lopez S, Negredo E, Garrabou G, et al. Longitudinal study on mitochondrial effects of didanosine-tenofovir combination. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2006;22:33–39.
24. Arribas JR, Pozniak AL, Gallant JE, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naïve patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008;47:74–78.
25. Cassetti I, Madruga JV, Suleiman JM, et al; Study 903E Team. The safety and efficacy of tenofovir DF in combination with lamivudine and efavirenz through 6 years in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients. *HIV Clin Trials.* 2007;8:164–172.
26. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, et al; 903 Study Group. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: A 3-year randomized trial. *JAMA.* 2004;292:191–201.
27. Pozniak AL, Gallant JE, DeJesus E, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz versus fixed-dose zidovudine/lamivudine and efavirenz in antiretroviral-naïve patients: Virologic, immunologic, and morphologic changes: A 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;43:535–540.
28. Schooley RT, Ruane P, Myers RA, et al. Tenofovir DF in antiretroviral-experienced patients: Results from a 48-week, randomized, double-blind study. *AIDS.* 2002;16:1257–1263.
29. Squires K, Pozniak AL, Pierone G, et al. Tenofovir disoproxil fumarate in nucleoside-resistant HIV-1 infection: A randomized trial. *Ann Intern Med.* 2003;139:313–320.
30. Martinez E, Arranz JA, Podzamczar D, et al; BICOMBO Study Team. A simplification trial switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to once-daily fixed-dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine in HIV-1-infected patients with virological suppression. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51:290–297.
31. Post FA, Moyle GJ, Stellbrink HJ, et al. Randomized comparison of renal effects, efficacy, and safety with once-daily abacavir/lamivudine versus tenofovir/emtricitabine, administered with efavirenz, in antiretroviral-naïve, HIV-1-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;55:49–57.
32. Sax PE, Tierney C, Collier AC, et al; AIDS Clinical Trials Group Study A5202 Team. Abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine for initial HIV-1 therapy. *N Engl J Med.* 2009;361:2230–2240.
33. Martin A, Bloch M, Amin J, et al. Simplification of antiretroviral therapy with tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine: A randomized, 96-week trial. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1591–1601.
34. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, et al; RAVE (Randomized Abacavir versus Viread Evaluation) Group UK. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipodystrophy. *AIDS.* 2006;20:2043–2050.
35. Smith KY, Patel P, Fine D, et al; HEAT Study Team. Randomized, double-blind, placebo-matched, multicenter trial of abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine with lopinavir/ritonavir for initial HIV treatment. *AIDS.* 2009;23:1547–1556.
36. Wainberg MA, Miller MD, Quan Y, et al. In vitro selection and characterization of HIV-1 with reduced susceptibility to PMPA. *Antivir Ther.* 1999;4:87–94.
37. McColl DJ, Margot NA, Wulfsohn M, Coakley D, Cheng A, Miller M. Patterns of resistance emerging in HIV-1 from antiretroviral-experienced patients undergoing intensification therapy with tenofovir disoproxil fumarate. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;37:1340–1350.
38. Von WV, Yerly S, Boni J, et al. Factors associated with the emergence of K65R in patients with HIV-1 infection treated with combination antiretroviral therapy containing tenofovir. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1299–1309.
39. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, et al; 934 Study Group. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med.* 2006;354:251–260.
40. Stellbrink HJ, Orkin C, Arribas JR. Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis.* 2010;51:963–972.
41. Estrada V, Fuster M. Darunavir in treatment-naïve patients. The ARTEMIS study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26 Suppl 10: S10–S13. Spanish.
42. Johnson M, Grinsztejn B, Rodriguez C, et al. 96-week comparison of once-daily atazanavir/ritonavir and twice-daily lopinavir/ritonavir in patients with multiple virologic failures. *AIDS.* 2006;20:711–718.
43. Molina JM, Andrade-Villanueva J, Echevarria J, et al; CASTLE Study Team. Once-daily atazanavir/ritonavir compared with twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients: 96-week efficacy and safety results of the CASTLE study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;53:323–332.
44. Smith K, Weinberg W, DeJesus E, et al. Fosamprenavir or atazanavir once daily boosted with ritonavir 100 mg, plus tenofovir/emtricitabine, for the initial treatment of HIV infection: 48-week results of ALERT. *AIDS Res Ther.* 2008;28:5.
45. Walmsley S, Avihingsanon A, Slim J, et al. Gemini: A non-inferiority study of saquinavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir as initial HIV-1 therapy in adults. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;50:367–374.

46. Izzedine H, Hulot JS, Vittecoq D, et al. Long-term renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral-naive HIV-1-infected patients. Data from a double-blind randomized active-controlled multicentre study. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20:743–746.
47. Nelson MR, Katlama C, Montaner JS, et al. The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: The first 4 years. *AIDS*. 2007;21:1273–1281.
48. Zimmermann AE, Pizzoferrato T, Bedford J, Morris A, Hoffman R, Braden G. Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: A case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis*. 2006;42:283–290.
49. Parsonage MJ, Wilkins EG, Snowden N, Issa BG, Savage MW. The development of hypophosphataemic osteomalacia with myopathy in two patients with HIV infection receiving tenofovir therapy. *HIV Med*. 2005;6:341–346.
50. Madeddu G, Bonfanti P, De Socio GV, et al. Tenofovir renal safety in HIV-infected patients: Results from the SCOLTA project. *Biomed Pharmacother*. 2008;62:6–11.
51. Jones R, Stebbing J, Nelson M, et al. Renal dysfunction with tenofovir disoproxil fumarate-containing highly active antiretroviral therapy regimens is not observed more frequently: A cohort and case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;37:1489–1495.
52. Gallant JE, Parish MA, Keruly JC, Moore RD. Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1194–1198.
53. Gerard L, Chazallon C, Taburet AM, Girard PM, Aboulker JC, Piketty C. Renal function in antiretroviral-experienced patients treated with tenofovir disoproxil fumarate associated with atazanavir/ritonavir. *Antivir Ther*. 2007;12:31–39.
54. Goicoechea M, Liu S, Best B, et al. Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis*. 2008;197:102–108.
55. Mauss S, Berger F, Schmutz G. Antiretroviral therapy with tenofovir is associated with mild renal dysfunction. *AIDS*. 2005;19:93–95.
56. Kinai E, Hanabusa H. Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25:387–394.
57. Winston A, Amin J, Mallon P, et al. Minor changes in calculated creatinine clearance and anion-gap are associated with tenofovir disoproxil fumarate-containing highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2006;7:105–111.
58. Fux CA, Simcock M, Wolbers M, et al. Tenofovir use is associated with a reduction in calculated glomerular filtration rates in the Swiss HIV Cohort Study. *Antivir Ther*. 2007;12:1165–1173.
59. Mocroft A, Kirk O, Gatell J, et al. Chronic renal failure among HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2007;21:1119–1127.
60. Bpharm S, Talbot A, Trottier B. Acute renal failure in four HIV-infected patients: Potential association with tenofovir and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2008;19:75–76.
61. Coca S, Perazella M. Rapid communication: Acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci*. 2002;324:342–344.
62. Izzedine H, Baumelou A, Deray G. Acute renal failure in HIV patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22:2757–2762.
63. Kapitsinou PP, Ansari N. Acute renal failure in an AIDS patient on tenofovir: A case report. *J Med Case Reports*. 2008;2:94.
64. Vallecillo-Sanchez G, Guelar-Grimberg A, Gonzalez-Mena A, Knobel-Freud H. Acute renal failure associated with the use of tenofovir combined with atazanavir in patients with HIV infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26:316–317. Spanish.
65. Malik A, Abraham P, Malik N. Acute renal failure and Fanconi syndrome in an AIDS patient on tenofovir treatment – case report and review of literature. *J Infect*. 2005;51:E61–E65.
66. Dupont C, Meier F, Loupy A, Page B, Rouveix E. Acute renal failure and tenofovir: Two new cases. *Antivir Ther*. 2003;8(Suppl 1):76.
67. Wood SM, Shah SS, Steenhoff AP, Meyers KE, Kaplan BS, Rutstein RM. Tenofovir-associated nephrotoxicity in two HIV-infected adolescent males. *AIDS Patient Care STDS*. 2009;23:1–4.
68. Callens S, De Roo A, Colebunders R. Fanconi-like syndrome and rhabdomyolysis in a person with HIV infection on highly active antiretroviral treatment including tenofovir. *J Infect*. 2003;47:262–263.
69. Verhelst D, Monge M, Meynard JL, et al. Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: A first case report. *Am J Kidney Dis*. 2002;40:1331–1333.
70. Creput C, Gonzalez-Canali G, Hill G, Piketty C, Kazatchkine M, Nochy D. Renal lesions in HIV-1-positive patient treated with tenofovir. *AIDS*. 2003;17:935–937.
71. Irizarry-Alvarado JM, Dwyer JP, Brumble LM, Alvarez S, Mendez JC. Proximal tubular dysfunction associated with tenofovir and didanosine causing Fanconi syndrome and diabetes insipidus: A report of 3 cases. *AIDS Read*. 2009;19:114–121.
72. Karras A, Lafaurie M, Furco A, et al. Tenofovir-related nephrotoxicity in human immunodeficiency virus-infected patients: Three cases of renal failure, Fanconi syndrome, and nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Infect Dis*. 2003;36:1070–1073.
73. Mathew G, Knaus SJ. Acquired Fanconi's syndrome associated with tenofovir therapy. *J Gen Intern Med*. 2006;21:C3–C5.
74. Peyriere H, Reynes J, Rouanet I, et al. Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: Report of 7 cases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;35:269–273.
75. Rifkin BS, Perazella MA. Tenofovir-associated nephrotoxicity: Fanconi syndrome and renal failure. *Am J Med*. 2004;117:282–284.
76. Rollet F, Nazal EM, Chauvelot-Moachon L, et al. Tenofovir-related Fanconi syndrome with nephrogenic diabetes insipidus in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: The role of lopinavir-ritonavir-didanosine. *Clin Infect Dis*. 2003;37:e174–e176.
77. Labarga P, Barreiro P, Martin-Carbonero L, et al. Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *AIDS*. 2009;23:689–696.
78. De la Prada FJ, Prados AM, Tugores A, Uriol M, Saus C, Morey A. Acute renal failure and proximal renal tubular dysfunction in a patient with acquired immunodeficiency syndrome treated with tenofovir. *Nefrologia*. 2006;26:626–630. Spanish.
79. Di Biagio A, Rosso R, Monteforte P, Russo R, Rovetta G, Viscoli C. Whole body bone scintigraphy in tenofovir-related osteomalacia: A case report. *J Med Case Reports*. 2009;3:8136.
80. Woodward CL, Hall AM, Williams IG, et al. Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV Med*. 2009;10:482–487.
81. Childs KE, Fishman SL, Constable C, et al. Short communication: Inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010;26:855–859.
82. Rosenvinge MM, Gedela K, Copas AJ, et al. Tenofovir-linked hyperparathyroidism is independently associated with the presence of vitamin D deficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;54:496–499.
83. Schaaf B, Aries SP, Kramme E, Steinhoff J, Dalhoff K. Acute renal failure associated with tenofovir treatment in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis*. 2003;37:e41–e43.
84. Wever K, van Agtmael MA, Carr A. Incomplete reversibility of tenofovir-related renal toxicity in HIV-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;55:78–81.
85. Judd A, Boyd KL, Stohr W, et al. Effect of tenofovir disoproxil fumarate on risk of renal abnormality in HIV-1-infected children on antiretroviral therapy: A nested case-control study. *AIDS*. 2010;24:525–534.
86. Soler-Palacin P, Melendo S, Noguera-Julian A, et al. Prospective study of renal function in HIV-infected pediatric patients receiving tenofovir-containing HAART regimens. *AIDS*. 2011;25:171–176.
87. Rosso R, Parodi A, Torrisi C, De Terlizzi F, Viscoli C, Vignolo M. A tailored dose of tenofovir could reduce its impact on bone mass in HIV Type 1-infected children and adolescents: A report from 5 years of clinical experience. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010;26:1265–1266.

88. Riordan A, Judd A, Boyd K, Cliff D, et al. Tenofovir use in human immunodeficiency virus-1-infected children in the United Kingdom and Ireland. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:204–209.
89. Purdy JB, Gafni RI, Reynolds JC, Zeicher S, Hazra R. Decreased bone mineral density with off-label use of tenofovir in children and adolescents infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr*. 2008;152:582–584.
90. Gafni RI, Hazra R, Reynolds JC, et al. Tenofovir disoproxil fumarate and an optimized background regimen of antiretroviral agents as salvage therapy: Impact on bone mineral density in HIV-infected children. *Pediatrics*. 2006;118:e711–e718.
91. Barrios A, Garcia-Benayas T, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS*. 2004;18:960–963.
92. Gupta SK. Tenofovir-associated Fanconi syndrome: Review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS*. 2008;22:99–103.
93. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V. Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics*. 2009;10:1675–1685.
94. Izzedine H, Hulot JS, Villard E, et al. Association between ABC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis*. 2006;194:1481–1491.
95. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: A pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis*. 2009;48:e108–e116.
96. Ter Heine R, Huitema AD, Jansen RS, et al. Prolonged exposure to tenofovir monotherapy 1 month after treatment discontinuation because of tenofovir-related renal failure. *Antivir Ther*. 2009;14:299–301.
97. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, D'Avolio A, et al. Impairment in kidney tubular function in patients receiving tenofovir is associated with higher tenofovir plasma concentrations. *AIDS*. 2010;24:1064–1066.
98. Young B, Dao CN, Buchacz K, Baker R, Brooks JT. Increased rates of bone fracture among HIV-infected persons in the HIV Outpatient Study (HOPS) compared with the US general population, 2000–2006. *Clin Infect Dis*. 2011;52:1061–1068.
99. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: A meta-analytic review. *AIDS*. 2006;20:2165–2174.
100. Grund B, Peng G, Gibert CL, et al. Continuous antiretroviral therapy decreases bone mineral density. *AIDS*. 2009;23:1519–1529.
101. Tebas P, Powderly WG, Claxton S, et al. Accelerated bone mineral loss in HIV-infected patients receiving potent antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:F63–F67.
102. Amiel C, Ostertag A, Slama L, et al. BMD is reduced in HIV-infected men irrespective of treatment. *J Bone Miner Res*. 2004;19:402–409.
103. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266–281.
104. Labarga P, Barreiro P, Martin-Carbonero L, et al. Prevalence and mechanisms of hyperparathyroidism in HIV+ patients treated with TDF. Abstr 824. Proceedings of the 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA, February 27–March 2, 2011.
105. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA*. 2005;294:2336–2341.
106. Rodriguez M, Daniels B, Gunawardene S, Robbins GK. High frequency of vitamin D deficiency in ambulatory HIV-positive patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25:9–14.
107. Pocaterra D, Carenzi L, Ricci E, et al. TDF therapy is independently associated to hyperparathyroidism in HIV-infected treated patients. Abstr 825. Proceedings of the 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA, February 27–March 2, 2011.
108. Havens P, Hazra R, Stephensen C, et al. Vitamin D3 supplementation decreases PTH in HIV-infected youth being treated with TDF-containing combination ART: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial: Adolescent Trials Network Study 063. Abstr 80. Proceedings of the 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA, February 27–March 2, 2011.
109. Abdool KQ, Abdool SS, Frohlich JA, et al; CAPRISA004 Trial Group. Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. *Science*. 2010;329:1168–1174.
110. Grant RM, Lama JR, Anderson PL, et al; iPrEx Study Team. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men. *N Engl J Med*. 2010;363:2587–2599.
111. Benhamou Y, Tubiana R, Thibault V. Tenofovir disoproxil fumarate in patients with HIV and lamivudine-resistant hepatitis B virus. *N Engl J Med*. 2003;348:177–178.
112. Soriano V, Puoti M, Peters M, et al. Care of HIV patients with chronic hepatitis B: Updated recommendations from the HIV-Hepatitis B Virus International Panel. *AIDS*. 2008;22:1399–1410.
113. Tan J, Degertekin B, Wong SN, Husain M, Oberhelman K, Lok AS. Tenofovir monotherapy is effective in hepatitis B patients with antiviral treatment failure to adefovir in the absence of adefovir-resistant mutations. *J Hepatol*. 2008;48:391–398.
114. Puoti M, Airolidi M, Bruno R, et al. Hepatitis B virus co-infection in human immunodeficiency virus-infected subjects. *AIDS Rev*. 2002;4:27–35.
115. Panel of Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents; 1–166. Department of Health and Human Services. January 10, 2011. Available at: <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines>. Accessed May 10, 2011.
116. Gatanaga H, Yazaki H, Tanuma J, et al. HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *AIDS*. 2007;21:264–265.
117. Littera R, Carcassi C, Masala A, et al. HLA-dependent hypersensitivity to nevirapine in Sardinian HIV patients. *AIDS*. 2006;20:1621–1626.
118. Hetherington S, McGuirk S, Powell G, et al. Hypersensitivity reactions during therapy with the nucleoside reverse transcriptase inhibitor abacavir. *Clin Ther*. 2001;23:1603–1614.
119. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, et al. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet*. 2002;359:1121–1122.
120. Mallal S, Nolan D, Witt C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet*. 2002;359:727–732.
121. Mallal S, Phillips E, Carosi G, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med*. 2008;358:568–579.
122. Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: An Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS*. 2004;18:2391–2400.
123. Rodriguez-Novoa S, Barreiro P, Rendon A, et al. Influence of 516G > T polymorphisms at the gene encoding the CYP450–2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1358–1361.
124. Rotger M, Colombo S, Furrer H, et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15:1–5.
125. Rotger M, Tegude H, Colombo S, et al. Predictive value of known and novel alleles of CYP2B6 for efavirenz plasma concentrations in HIV-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81:W557–W566.
126. Rodriguez-Novoa S, Martin-Carbonero L, Barreiro P, et al. Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS*. 2007;21:41–46.
127. Rodriguez-Novoa S, Barreiro P, Rendon A, et al. Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C > T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clin Infect Dis*. 2006;42:291–295.
128. Rotger M, Taffe P, Bleiber G, et al. Gilbert syndrome and the development of antiretroviral therapy-associated hyperbilirubinemia. *J Infect Dis*. 2005;192:1381–1386.

129. Back DJ, Khoo SH, Gibbons SE, Barry MG, Merry C. Therapeutic drug monitoring of antiretrovirals in human immunodeficiency virus infection. *Ther Drug Monit.* 2000;22:122–126.
130. Brown KC, Paul S, Kashuba AD. Drug interactions with new and investigational antiretrovirals. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48:211–241.
131. Duong M, Golzi A, Peytavin G, et al. Usefulness of therapeutic drug monitoring of antiretrovirals in routine clinical practice. *HIV Clin Trials.* 2004;5:216–223.

Virus Adaptation and Treatment

Publish your work in this journal

Virus Adaptation and Treatment is an international, peer-reviewed open access journal focusing on the study of virology, viral adaptation and the development and use of antiviral drugs and vaccines to achieve improved outcomes in infection control and treatment. The journal welcomes original research, basic science, clinical & epidemiological

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/virus-adaptation-and-treatment-journal>

studies, reviews & evaluations, expert opinion and commentary, case reports and extended reports. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Dovepress

Expert Opinion

AUTHOR COPY AND COLOUR FIGURE ORDER FORM

1. ARTICLE DETAILS

Manuscript ID: 463254 First author: Vincent Soriano

Title: Renal toxicity associated with tenofovir use

Journal title: *Expert Opinion on* Drug Safety (EODS)

Volume and issue: 9(4)

2. AUTHOR COPIES

You are entitled to order up to five copies of the journal issue your article appears in at the author's preferential rate of GBP £15 / USD \$25 / €20 per copy. Please note, this price is only valid if the form is received before the issue goes to press.

I wish to order copies of the issue my article appears in at £15 / \$25 / €20 per copy.

Delivery Address: _____

3. COLOR FIGURES

I require the following number of figures to be printed in colour: _____

Figure numbers: _____

Please charge: £100 / \$150 / €120 per figure

3. PAYMENT

Journals Copies Cost	Colour Figures	Total Cost

Option 1) Pay by credit card

Credit Card Please charge my AMEX/VISA/MasterCard (delete as appropriate)

Card No / / / Exp.date /

CVV number (last 3 or 4 digits on reverse of card):

Name on credit card:

Address where registered:

Signature:

Date:

Option 2) Invoice to: _____

Signed: _____ Date: _____

Please return the completed form to your Production Editor

Journal: Expert Opinion on Drug Safety (EODS)

Title: Renal toxicity associated with tenofovir use

ID: 463254

Corresponding author: Vincent Soriano

AUTHOR: Please complete the colour figure order form that accompanies your proof if you require figures to appear in colour in the print version of the journal; once you have completed your article and credit card details, email or fax the form back to the production editor. The following queries have arisen during the editing of your manuscript. Please answer the queries by making the necessary corrections on the CATS online corrections form. Once you have added all your corrections, please press the SUBMIT button.

Page number	Line number	Query
		AQ1: Please provide the telephone and fax numbers for the corresponding author.
		AQ2: Please provide the citation for reference 75 in the text.
		AQ3: Please check that the declaration of interest is reflective of the submitted form and relevant to this article.
5		AQ4: APV has been defined as both “Amprenavir” and “Fosamprenavir”. To avoid confusion please provide an alternative abbreviation for Fosamprenavir in the footnote to Table 1 and please substitute all instances of the abbreviated form of Fosamprenavir with the alternative abbreviation.
5		AQ5: TDF has been defined as “tenofovir disoproxil fumarate” and TFV as “tenofovir” in the text but in the footnote to Table 1 TDF has been defined as “tenofovir”. Is this okay, or should all instances of

		TDF in Table 1 be changed to TFV?
5		AQ6: Please define the abbreviation VIH in the footnote to Table 1.

Expert Opinion

1. Introduction
2. Mechanisms of renal toxicity associated with TFV use
3. TFV therapy: clinical experience
4. Factors associated with renal toxicity in patients on TFV treatment
5. Conclusion
6. Expert opinion

informa
healthcare

Renal toxicity associated with tenofovir use

Sonia Rodriguez-Nóvoa, Elena Alvarez, Pablo Labarga & Vincent Soriano[†]

[†]*Hospital Carlos III, Department of Infectious Diseases, Calle Sinesio Delgado, Madrid, Spain*

Importance of the field: Tenofovir (TFV) is a nucleotide analogue widely used for the treatment of HIV infection. Despite its proven efficacy and safety, cases of kidney tubular dysfunction have increasingly been reported and concern exists about the risk of nephrotoxicity associated with the long-term use of TFV.

Areas covered in this review: Evidences about the renal toxicity associated with TFV use as well as predictors are examined. The most relevant publications assessing TFV safety and those which have reported cases of tubular dysfunction were identified and carefully revised.

What the reader will gain: Renal damage of clinical significance caused by TFV is uncommon in the short-mid-term. It occurs more frequently in subjects with underlying kidney conditions. TFV primarily results in kidney tubular dysfunction and less frequently in glomerular abnormalities. Kidney damage may progress over time under long-term TFV exposure but is reversible in most cases on drug discontinuation.

Take home message: Severe renal damage associated with TFV use is uncommon and of multifactorial origin. However, mild tubular dysfunction is recognized in a substantial proportion of TFV-treated individuals and tends to increase with cumulative exposure.

Keywords: hepatitis B, HIV, kidney, renal damage, tenofovir, tubular dysfunction

Expert Opin. Drug Saf. (2010) 9(4):1-15

1. Introduction

Nearly 34 million people are currently living with HIV worldwide. The widespread use of antiretroviral drugs has allowed control of complications associated with severe immunodeficiency in most HIV-infected patients in developed countries, with dramatic declines in morbidity and mortality. Besides involvement of HIV itself as a cause of organ damage, the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) and other medications frequently used in this population has been followed by an increasing rate of drug-related renal complications. Many antimicrobials used to treat opportunistic infections, such as acyclovir, cidofovir, amphotericin B, foscarnet or pentamidine, may be associated with nephrotoxicity [1]. Renal damage secondary to the use of antiretrovirals occurs rarely, with the exception of indinavir [2], a protease inhibitor rarely used nowadays.

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is the first nucleotide reverse transcriptase inhibitor (NRTI) approved for the treatment of HIV disease. It is a bioavailable prodrug of tenofovir (TFV), a potent inhibitor of the reverse transcriptase of both HIV and HBV [3]. TDF is currently widely used due to its excellent properties, combining good potency, tolerability and convenience (one pill once a day), either as single agent (Viread) or co-formulated with emtricitabine (Truvada), or with emtricitabine plus efavirenz (Atripla). Despite demonstration of a relatively good renal safety profile in registrational clinical trials, a number of reports have alerted about cases of tubular damage and occasionally of renal insufficiency in patients treated with TDF [4-8]. Herein, we summarize the most relevant studies conducted so

Article highlights.	
<ul style="list-style-type: none"> Given its proven antiviral potency and good safety profile, tenofovir (TFV) has become the most widely prescribed antiretroviral drug in Western countries. However, concern about its potential for nephrotoxicity has been a matter of recent interest. Tubular dysfunction is the primary renal injury using TFV. Mitochondrial toxicity seems to be the main cellular involved mechanism. While use of TFV in registrational studies has only rarely been associated with cases of renal insufficiency, reports of Fanconi syndrome and/or acute renal failure have increasingly been reported with a broader use of the drug in larger and more diverse populations. The presence of pre-existing renal conditions, other co-morbidities (diabetes, hepatitis C), concomitant use of other potentially nephrotoxic drugs, older age, low body weight and low CD4 counts, all increase the risk of kidney damage by TFV. Genetic factors, involving polymorphisms at cellular transporter genes, may influence the susceptibility to TFV-associated renal injury. Tubular damage associated with TFV use is generally mild and occurs with low frequency. However, its long-term consequences warrant careful examination. Although progression to overt renal insufficiency seems to be very rare, chronic loss of phosphorus may lead to premature osteomalacia. Mild tubular abnormalities associated with TFV use are relatively common and long-term exposure may lead to significant bone mineralization and occasionally to renal insufficiency. Thus, periodic evaluation of kidney parameters, including both glomerular and tubular function tests, are warranted in patients treated with TFV. 	<p>79</p> <p>80</p> <p>85</p> <p>90</p> <p>95</p> <p>100</p> <p>105</p>
<p>This box summarizes key points contained in the article.</p>	

56 far assessing the kidney safety profile of TDF and characterize which factors are associated with an increased risk of renal toxicity in people treated with this drug.

60 **2. Mechanisms of renal toxicity associated with TFV use**

65 TFV is eliminated by a combination of glomerular filtration and active tubular secretion. Several transporter proteins are involved in its active tubular secretion. TFV enters into the kidney tubular cells through the basolateral membrane, involving organic anion transporters (OATs), mainly OAT1 and to a lesser extent OAT3 [9,10]. Once TFV is inside the tubular cells, its secretion is an active process which depends on the efflux by the transporter proteins multidrug resistant protein-4 (MRP4) and multidrug resistant protein-2 (MRP2), which are encoded by *ABCC4* and *ABCC2* genes, respectively [11-15]. While the role of MRP4 on TFV excretion is well established, the involvement of MRP2 is still under debate [10].

75 The mechanism by which TDF may cause renal damage is unclear. Two possible mechanisms of cell toxicity have been postulated. The first mechanism is mediated by mitochondrial

toxicity. This effect could be similar to that well established for adefovir or cidofovir. However, the potential of TFV to interfere with the mitochondrial function is low [16-18], because it is a weaker inhibitor of the DNA polymerase γ than most other NRTI triphosphates [17]. The incorporation of TFV into a DNA primer-template by the DNA pol γ is also less efficient than for other NRTIs, supporting a weak inhibition of mtDNA synthesis in cells treated with TFV [16]. Experimental studies in animals, however, support that mitochondrial injury is the primary mechanism of tubular damage caused by TFV [19,20].

A second mechanism of TDF toxicity is based on the interference with the normal function of tubular cells. There are few data about the interaction of nucleos(t)ide analogues and transporter proteins located at the renal tubule [12]. In animal models, adefovir and cidofovir have shown interference with the function of the transporter protein *mrp2*. Competitive interactions with transporter proteins could result in a reduced efflux of TFV and increased renal toxicity. In this regard, TFV may produce a concentration-dependent inhibition of MRPs [21]. Moreover, in animal models TFV may induce downregulation of genes coding for other transporter proteins involved in the excretion of several compounds [22]. This interference with the normal function of kidney transporters could lead to an accumulation of toxic compounds that may cause cell damage.

105 **3. TFV therapy: clinical experience**

Since the approval of TDF by regulatory agencies in the year 2000, multiple studies have examined its safety. There is overall agreement that the drug is relatively safe for the kidney, much more than other molecularly close nucleotide analogues, such as cidofovir and adefovir [3]. Based on their design, all these studies can be grouped into three categories. First, studies specifically evaluating the safety of TDF in comparison with other antiretroviral agents. Second, observational studies assessing the renal safety profile of TDF in large populations. Third, reports of cases of renal damage associated with TDF use.

120 **3.1 Renal safety of TFV versus other antiretrovirals**

Many prospective clinical trials have demonstrated that the glomerular filtration rate (GFR) is not or minimally reduced on average when comparing patients exposed to TDF versus other antiretroviral drugs [23-25]. In two prospective, randomized, controlled trials (studies 903 and 934) that compared TDF versus either stavudine or zidovudine in combination with efavirenz and lamivudine or emtricitabine in antiretroviral-naïve patients over 144 weeks, the median GFR steadily decreased from baseline, but did not differ significantly in both groups of patients. The GFR was estimated by the Cockcroft-Gault (CG) equation or using the modification of diet in renal disease (MDRD) equation. No cases of Fanconi syndrome were reported and no patients in either group discontinued their medication because of renal events.

134 In a study that examined a large population of HIV-
 135 infected patients under antiretroviral treatment (n = 4400),
 exposure to either indinavir or TFV was associated with
 increased odds of chronic renal failure (CRF) based on
 GFR values ≤ 60 ml/min. The authors estimated the GFR
 using the CG or MDRD equations [26]. Overall, 3.5% of
 140 patients developed CRF. This subset of patients was older, had
 lower CD4 count nadirs, and had previous AIDS diagnoses,
 diabetes and/or hypertension. In contrast, other studies have
 found very modest declines in GFR averaging 7 – 10 ml/min/
 year in subjects treated with TDF [27-30]. An observational
 145 cohort study that compared a TDF group with another
 receiving a different NRTI regimen reported that TDF use
 was associated with a greater increase in serum creatinine and a
 modest decline in creatinine clearance (CrCl) compared to the
 NRTI group [27]. After adjustments in a multivariate analysis,
 150 only TDF use and CD4 counts < 50 cells/mm³ remained as
 independently associated with CrCl decline.

A German study found that patients on TDF showed a
 lower mean GFR calculated by CrCl or cystatin C clearance
 compared to control patients never treated with TDF [31].
 155 An impaired GFR was recognized in 46% of patients on
 TDF compared with 32% of control patients. Moreover,
 proteinuria was more frequent in the group receiving TFV [31].

Prolonged treatment with TDF may cause progressive renal
 tubular dysfunction before overt declines in GFR. One study
 160 conducted in 40 patients treated with TDF and 23 exposed
 to other NRTIs for 96 weeks examined prospectively
 B2-microglobulinuria, percentage of tubular reabsorption of
 phosphate, alkaline phosphatase, serum creatinine and calcu-
 lated GFR [32]. The authors concluded that prolonged TDF
 165 exposure resulted in progressive renal tubular dysfunction as
 well as modest declines in GFR, taking as comparison expo-
 sure to other NRTI regimens. Interestingly, a reduction in the
 GFR in patients treated with TDF was associated with
 B2-microglobulinuria [32]. Similar findings were obtained in
 170 patients successfully treated with TDF for chronic hepatitis B:
 only mild abnormalities were found in the GFR after several
 years of TDF exposure [33].

Although most studies assessing the renal safety profile of
 TDF have focused on the glomerular function, from animal
 175 studies it is clear that TDF causes primarily renal tubular
 damage [19,20,34]. An early clinical sign of renal tubular dys-
 function is hypophosphataemia, secondary to reduced phos-
 phate reabsorption and excessive loss of phosphates in the
 urine. In randomized, double-blind, placebo-controlled trials,
 180 a favorable renal safety profile of TDF was recognized in most
 patients with normal baseline renal function. A comparable
 incidence of hypophosphatemia was seen in patients on TDF
 versus other antiretrovirals, with no recognition of cases of
 severe renal dysfunction [23,24]. In agreement, a prospective
 185 study evaluated the incidence of hypophosphatemia in a
 cohort of patients who initiated either a TDF-based or a
 TDF-sparing regimen. The incidence of hypophosphatemia
 was more elevated in patients on TDF than in controls [35]. In
 188

another smaller study, however, which examined the proximal
 189 tubular reabsorption of phosphate in HIV-infected adults,
 190 hypophosphatemia due to decreased proximal tubular reab-
 sorption of phosphorus was relatively common, regardless of
 TDF exposure [36].

As the real prevalence of TDF-associated tubulopathy in the
 absence of any recognizable compromise in the glomerular
 195 filtrate remains largely unknown, information from observa-
 tional studies that have checked carefully the tubular function
 are very informative. In a large cross-sectional study conducted
 in Madrid, a total of 284 HIV-infected patients underwent in
 parallel an evaluation of glomerular and tubular parameters,
 200 adjusting for TDF exposure and taking as controls HIV-
 untreated individuals [37]. The kidney glomerular filtration,
 as measured by plasma creatinine levels or CrCl calculated
 using the Dubois formula or both, was overall within normal
 limits and comparable among study groups at baseline. Proxi-
 205 mal tubular dysfunction was defined in the presence of two or
 more well-defined urine abnormalities. Tubular dysfunction
 developed more frequently in patients receiving TDF and
 three cases of Fanconi syndrome were recognized. Interest-
 210 ingly, CrCl remained within normal values in all three
 patients. Univariate analysis showed that treatment with
 TDF or protease inhibitors was significantly associated with
 tubular damage. Patients with diabetes, lower CD4 counts and
 exposure to other nephrotoxic drugs tended to have abnormal
 tubular parameters as well. However, in the multivariate
 215 analysis only TDF use and older age remained as independent
 predictors of tubular damage in this population. Another
 interesting finding in this study was the recognition of an
 increased rate of tubular dysfunction in antiretroviral-naïve
 patients compared to those on HAART who did not receive
 220 TDF. Finally, patients on HAART including TDF showed
 the greatest β 2-microglobulin levels in urine [37], which is
 considered one of the most sensitive markers of tubular
 damage. The authors concluded that β 2-microglobulin moni-
 225 toring in urine could be useful in patients on TDF in an
 attempt to identify the subset of individuals at increased risk
 for renal complications.

3.2 Renal toxicity associated with TFV use

In a large multi-center retrospective analysis of
 230 > 10,000 patients treated with TDF, only 2% showed signs
 of nephrotoxicity [38]. Changes from baseline in serum creat-
 inine, CrCl and GFR through month 13 were generally mild
 and non-progressive. Baseline serum creatinine > 0.5 mg/dl,
 235 older age, low CD4 counts, low body weight and concomitant
 use of nephrotoxic medications were all associated with an
 increased serum creatinine > 0.5 mg/dl on TDF therapy.
 Moreover, development of serum creatinine > 2 mg/dl was
 mainly confined to subjects with baseline elevated serum
 creatinine and low body weight. An important limitation
 240 of the study, however, was the short follow-up, missing the
 recognition of events which might occur with longer duration
 on TDF therapy. 243

244 In the SCOLTA study, another observational study
 245 conducted in Italy, the incidence of severe adverse events
 was examined in 754 patients treated with TDF [39].
 Information on creatinine elevations was available for only
 354 individuals. During a mean follow-up of nearly
 20 months, creatinine elevations grade 2 – 4 occurred in
 250 2.5% of patients, leading to an overall incidence rate of
 1.6/100 person-years. Patients who developed renal damage
 were more frequently older, male, co-infected with HCV and
 had lower CD4 counts than those without nephrotoxicity.
 Thus, renal injury in patients receiving TDF seems to be
 255 associated with the presence of co-morbidities and with
 advanced HIV infection. An important limitation of the
 study was its poor sensitivity to pick up mild creatinine
 elevations, which might have clinical significance with
 extended follow-up.

260 3.3 Cases of renal damage associated with TFV use

The first report of kidney disease associated with TDF use
 appeared in the year 2002 in a patient who had normal
 baseline renal function [40]. Since then, single cases or small
 265 series of renal disease in patients on TDF therapy have been
 reported. While some individuals presented with acute renal
 failure [4,5,8,41-48], most subjects initially showed tubulopathy,
 occasionally with overt Fanconi syndrome [6,49-56]. Table 1
 records the main features of these reports.

270 Signs and symptoms of kidney tubulopathy including
 glucosuria in the setting of normal serum glucose levels,
 phosphate wasting with hypophosphatemia, proteinuria (usu-
 ally mild), acidosis and hypokalemia, with or without acute
 renal failure seem to be the most frequent renal lesion in
 275 subjects experiencing TDF nephrotoxicity. A subset of indi-
 viduals may show evidence of nephrogenic diabetes
 insipidus [4,57,58].

The most frequent risk factors for developing TDF-
 induced nephrotoxicity include baseline renal dysfunction,
 280 low CD4 counts and low body weight [36,37,57]. Pre-existing
 systemic conditions or concomitant use of potential nephro-
 toxic agents may contribute as well [45,46,57-64]. Among
 antiretroviral medications, the concomitant use of lopi-
 navir [4,42,43,45,46,49,50,54,58,62,63] or didanosine [41,51,57]
 285 has been suggested to play a role in some instances. A review
 of cases of TDF-associated nephrotoxicity reported to the
 FDA from 2001 through 2006 showed that 164 met the case
 definition for Fanconi syndrome [65]. The majority (83%) of
 these subjects received protease inhibitors along with TDF and
 290 in 34% of cases also didanosine.

4. Factors associated with renal toxicity in patients on TFV treatment

295 Several circumstances have been associated with an increased
 risk of nephrotoxicity in patients exposed to TDF. As
 shown in Figure 1, they can be grouped into four main
 298 categories: classical predisposing conditions; concomitant

antiretroviral medications; elevated TFV exposure and 299
 pharmacogenetic factors. 300

4.1 Classical factors associated with renal damage

In HIV-infected patients, pre-existing renal impairment, older
 age, advanced HIV infection, metabolic and vascular disease,
 use of nephrotoxic drugs, low body weight and use of protease 305
 inhibitors have all demonstrated predisposing to renal dam-
 age [60,65]. Basically, all these factors are the same that may
 enhance the risk of nephrotoxicity in patients treated with
 TDF. Older age is uniformly recognized as predictor of
 nephrotoxicity using TDF [60,65]. Likewise, low body 310
 weight [38], male gender [39,60], pre-existing renal impairment
 and concomitant use of nephrotoxic drugs are all associated
 with an increased risk of TDF-associated nephrotoxicity.

4.2 Concomitant antiretroviral drugs 315

The use of TDF along with didanosine has been associated
 with multiple side effects, including paradoxical CD4
 declines, pancreatitis and hyperglycemia [66-68]. Although
 the coadministration of didanosine has no effect on the
 pharmacokinetics of TDF, didanosine serum maximum con- 320
 centration and AUC increase by 28 and 44%, respectively.
 Several mechanisms have been proposed to explain the
 increased didanosine exposure in this setting, being the
 most widely accepted a blockage of the didanosine catabolic
 pathway by TDF [68,69]. On the other hand, TDF could 325
 enhance didanosine absorption or could impair its renal
 elimination mediated by the OAT1 [69]. An increased dida-
 nosine exposure in patients receiving TDF could enhance the
 mitochondrial toxicity of didanosine in the kidneys [70,71] and
 account for the greater risk of renal toxicity in patients treated 330
 with this combination. Currently, the use of TDF along with
 didanosine is no longer recommended.

With respect to protease inhibitors, interactions with TDF
 have generally been reported as clinically not relevant in 335
 clinical trials [72-74]. However, other studies have shown a
 decline in CrCl in patients receiving TDF along with protease
 inhibitors [29,30].

4.3 TFV exposure

Few studies have examined the association between TFV 340
 exposure and renal toxicity. In most cases, patients developing
 tubulopathy had TFV levels above the concentration expected
 according to the pharmacokinetic studies made in HIV-
 infected patients [47,74]. In a recent study, patients with
 tubulopathy displayed significantly higher TFV plasma con- 345
 centrations than patients with normal tubular function (182 vs
 106 ng/ml, respectively). A higher proportion of patients with
 tubulopathy were found when TFV plasma concentrations
 were above 160 ng/ml (42 vs 11%) [76]. These results suggest
 an association between TFV plasma exposure and TDF- 350
 associated renal toxicity, primarily recognizable as tubular
 dysfunction. In the latter study, other factors along with
 TFV plasma levels, as ABCC2-24 polymorphisms, low 353

Table 1. Reports of kidney complications in patients treated with tenofovir (2002 – 2009).

Study	Age/ gender	Months on treatment with TDF	Concomitant ARVs/ other drugs with potential interaction	Baseline CD4 count (cells/ μ l)	Baseline Cr	Laboratory findings	Other pathologies	Diagnosis
Verhelst <i>et al.</i> 2002 [40]	45/F	5	DDI, LPV/r TMP-SMZ		0.88	sCr 2.2 mg/dl, hypophosphatemia, proteinuria	HCV	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus Renal biopsy: ATN
Coca and Perazella 2002 [59]	44/M	1.5	DDI, ABC	229	1.9	sCr 6.2 mg/dl, \uparrow urea hypercholesterolemia	Mild chronic kidney disease, HCV	
Creput <i>et al.</i> 2003 [41]	60/M	1	ATV/r, DDI, D4T	318	0.82	sCr 4 mg/dl, proteinuria, phosphaturia, hypouricemia, glucosuria		Nephrogenic diabetes insipidus and Fanconi syndrome
Callens <i>et al.</i> 2003 [49]	47/F White		LPV/r, SQV, ABC, T20 TMP-SMZ	277		sCr 2.3 mg/dl, \uparrow urea 43 mg/dl, hypopotasemia, hypophosphoremia, hypouricemia, glucosuria, proteinuria, aminoaciduria		Fanconi syndrome and rhabdomyolysis
Karras <i>et al.</i> 2003 [4]	55	7	ABC, LPV/r		0.91	sCr 7.8 mg/dl, hypokalemia, \uparrow urine potassium, acidosis, hypophosphoremia, glucosuria, proteinuria, leukocyturia		Fanconi syndrome
	31	6	DDI, 3TC, APV/r, T20		0.93	sCr 1.74 mg/dl, proteinuria, normoglycemic glucosuria		
	42	11	3TC, ABC, LPV/r		1.15	sCr 2.71 mg/dl, hypokalemia, elevated urine potassium excretion, acidosis, hypophosphoremia, proteinuria, leukocyturia		Nephrogenic diabetes insipidus and Fanconi syndrome
Dupont <i>et al.</i> 2003 [42]	40/M	14	DDC, LPV/r	168	0.84	sCr 20 mg/dl, metabolic acidosis, lactate 7 mmol/l	CKD, hemodialysis	Renal biopsy: ATN with marked interstitial fibroedema
	35/F	12	LPV/r, 3TC TMP-SMZ	0		sCr 5.2 mg/dl, hypokalemia, metabolic acidosis, high urine potassium excretion		ARF ARF

*In this report, two cases of Fanconi syndrome occurred with regimens that did not include tenofovir.

ABC: Abacavir; ACEi: ACE inhibitor; ALP: Alkaline phosphatase; APV: Amprenavir; APV: Fosamprenavir; ARF: Acute renal failure; ATV: Acute tubular necrosis; ATV: Atazanavir; AZT: Zidovudine; B2-MG: β 2-Microglobulin; CKD: Chronic kidney disease; CrCl: Creatinine clearance; DDC: Zalcitabine; DDI: Didanosine; DLV: Delavirdine; D4T: Estavudine; EFV: Efavirenz; F: Female; FTC: Emtricitabine; GFR: Glomerular filtration rate; LPV: Lopinavir; M: Male; NVP: Nevirapine; r: Ritonavir; SCr: Serum creatinine; SQV: Saquinavir; TDF: Tenofovir; TMP-SMZ: Cotrimoxazol; TRP: Tubular reabsorption of phosphate; 3TC: Lamivudine; T20: Enfuvirtide.

Table 1. Reports of kidney complications in patients treated with tenofovir (2002 – 2009) (continued).

Study	Age/ gender	Months on treatment with TDF	Concomitant ARVs/ other drugs with potential interaction	Baseline CD4 count (cells/ μ l)	Baseline Cr	Laboratory findings	Other pathologies	Diagnosis
Rollot <i>et al.</i> 2003 [58]	34/M	27	3TC, DDI, LPV/r			Non-anion gap metabolic acidosis, normoglycemic glucosuria, aminoaciduria, proteinuria, hyponatremia, hypocalcemia, hypophosphoremia, hyperphosphaturia, hypouricemia	Hypertension	Fanconi syndrome and nephrogenic diabetes insipidus
Schaaf <i>et al.</i> 2003 [43]	51/M	2	3TC, D4T, LPV/r TMP-SMZ	80	0.79	sCr 3.5mg/dl, hyponatremia, no glucosuria, proteinuria, \uparrow albumina, α 1-microglobulin	HCV	ARF due to proximal tubular necrosis
Peyriere <i>et al.</i> 2004 [50]	48/F	8	3TC, EFV, LPV/r		0.77	sCr 1.14 mg/dl, CrCl 41 ml/min, uricemia 73 μ mol/l, hypophosphatemia, proteinuria, glucosuria, albumin 26%, hyperaminoaciduria		
	56/F	11	3TC, EFV, LPV/r		0.5	sCr 0.89 mg/dl, CrCl 64 ml/min, uricemia 96 μ mol/l, proteinuria, glucosuria, hypophosphatemia		
	49/M	9	3TC, DDI, APV/r		0.93	sCr 1.15 mg/dl, CrCl 59 ml/min, uricemia 130 μ mol/l, hypophosphatemia, proteinuria, glucosuria		
	35/F	11	ABC, LPV/r		0.87	sCr 3.97 mg/dl, CrCl 15 ml/min, proteinuria, glucosuria, hypophosphatemia	HCV, Crohn's disease	
	42/F	16	ABC, 3TC, LPV/r		0.7	sCr 1.54 mg/dl, CrCl 30 mmol/l, uricemia 121 μ mol/l, hypophosphatemia, proteinuria, glucosuria		
	41/F	16	ABC, NVP IFN		0.64	sCr 0.96 mg/dl, CrCl 37 ml/min, hypophosphatemia, proteinuria, glucosuria	HCV	

*In this report, two cases of Fanconi syndrome occurred with regimens that did not include tenofovir.

ABC: Abacavir; ACEi: ACE inhibitor; ALP: Alkaline phosphatase; APV: Amprenavir; ARF: Acute renal failure; ARV: Antiretroviral; ATN: Acute tubular necrosis; ATV: Atazanavir; AZT: Zidovudine;
B2-MG: β 2-Microglobulin; CKD: Chronic kidney disease; CrCl: Creatinine clearance; DDC: Zalcitabine; DDI: Didanosine; DLV: Delavirdine; D4T: Estavudine; EFV: Efavirenz; F: Female; FTC: Emtricitabine;
GFR: Glomerular filtration rate; LPV: Lopinavir; M: Male; NVP: Nevirapine; r: Ritonavir; SCr: Serum creatinine; SQV: Saquinavir; TDF: Tenofovir; TMP-SMZ: Cotrimoxazol; TRP: Tubular reabsorption of phosphate;
3TC: Lamivudine; T20: Enfuvirtide.

Table 1. Reports of kidney complications in patients treated with tenofovir (2002 – 2009) (continued).

Study	Age/ gender	Months on treatment with TDF	Concomitant ARVs/ other drugs with potential interaction	Baseline CD4 count (cells/ μ l)	Baseline Cr	Laboratory findings	Other pathologies	Diagnosis
	57/M	1.25	ABC, 3TC TMP-SMZ		0.97	sCr 4.3 mg/dl, CrCl 20 ml/min, hypophosphatemia, proteinuria, glucosuria		Renal biopsy: ATN due to tubulointerstitial nephropathy with lymphocytic infiltrate
Earle <i>et al.</i> 2004* [55]	43/F		3TC, LPV/r TMP-SMZ			sCr 1.1 mg/dl, CrCl 33 ml/min, hypophosphatemia, \uparrow ALP, mild metabolic acidosis, normoglycemic glucosuria, proteinuria, phosphaturia, aminoaciduria	Osteoporosis Lymphoma	
Rifkin and Perazella 2004 [53]	53/M	9	ABC, ATV		1.1	sCr 1.8 mg/dl, hypophosphatemia		Fanconi syndrome
	46/M	14	3TC, AZT, SQV		1.2	sCr 2.1 mg/dl, potassium 3.2 mg/dl, bicarbonate 17 meq/l, phosphate 1.9 mg/dl		Fanconi syndrome
	38/M	7	EFV, ABC, APV		1.1	sCr 1.7 mg/dl, potassium 3.5 mg/dl, bicarbonate 19 meq/l, hypophosphatemia		Fanconi syndrome
	45/M	15	DDI, ATV, DLV		1.3	sCr 2.6 mg/dl, potassium 3.3 mg/dl, bicarbonate 16 meq/l, hypophosphatemia		Fanconi syndrome
	34/M	18	ABC, LPV/r, EFV		1	sCr 1.6 mg/dl, potassium 3.8 mg/dl, bicarbonate 19 meq/l, hypophosphatemia		
Barrios <i>et al.</i> 2004 [60]	46/M	1	DDI, EFV	819		sCr 1.81 mg/dl, glucosuria, mild proteinuria	Hypertension, hypercholes- terolemia	Renal dysfunction
Parsonage <i>et al.</i> 2005 [61]	47/M	25	DDI, 3TC, LPV/r, ibuprofen, rofecoxib	200	0.73	sCr 1.9 mg/dl, hypophosphatemia	Kaposi sarcoma, HBV	Osteopenia, osteomalacia

*In this report, two cases of Fanconi syndrome occurred with regimens that did not include tenofovir.

ABC: Abacavir; ACEI: ACE inhibitor; ALP: Alkaline phosphatase; APV: Amprenavir; ARV: Antiretroviral; ATN: Acute tubular necrosis; ATV: Atazanavir; AZT: Zidovudine; B2-MG: β 2-Microglobulin; CKD: Chronic kidney disease; CrCl: Creatinine clearance; DDC: Didanosine; DDI: Didanosine; DLT: Delavirdine; DAT: Estavudine; EFV: Efavirenz; F: Female; FTC: Emtricitabine; GFR: Glomerular filtration rate; LPV: Lopinavir; M: Male; NVP: Nevirapine; r: Ritonavir; SCr: Serum creatinine; SQV: Saquinavir; TDF: Tenofovir; TMP-SMZ: Cotrimoxazol; TRP: Tubular reabsorption of phosphate; 3TC: Lamivudine; TZ0: Enfuvirtide.

Table 1. Reports of kidney complications in patients treated with tenofovir (2002 – 2009) (continued).

Study	Age/ gender	Months on treatment with TDF	Concomitant ARVs/ other drugs with potential interaction	Baseline CD4 count (cells/ μ l)	Baseline Cr	Laboratory findings	Other pathologies	Diagnosis
	56/F		ABC, LPV/r ibuprofen, diclofenac	200	1	sCr 3.98 mg/dl, hypophosphatemia, proteinuria	Hypertension	
Williams and Chadwick 2006 [51]	50/M	11	DDI, ABC			Hypophosphatemia, \uparrow ALP, hypocalcemia, glucosuria, aminoaciduria		Fanconi syndrome
Zimmermann <i>et al.</i> 2006 [62]	61/F	16	DDI, SQV, LPV/r, TMP-SMZ	124	1	sCr 3.4 mg/dl, acidosis, proteinuria, glucosuria	HBV	ATN
	53/M	20	D4T, LPV/r	195	0.8	sCr 7.4 mg/dl, acidosis, urea 9 mg/dl, albumin 2.5 mg/dl	HCV	ARF
	48/F	12	3TC, SQV, LPV/r, TMP-SMZ	20	1	sCr 1.8 mg/dl, urea nitrogen 53 mg/dl, proteinuria 0.65 g/day, hyperkalemia	HCV	ARF
	65/F	24	3TC, NVP, LPV/r	409	0.7	sCr 7.1 mg/dl, urea 68 mg/dl, hyperchloremia, acidosis		ARF
	52/F	29	ATV/r, 3TC, EFV	9	0.8	sCr 4.2 mg/dl, urea nitrogen 25 mg/dl, hypokalemia, hyperchloremia, acidosis, glucosuria, uric acid 2 mg/dl	Diabetes mellitus	ARF Fanconi syndrome
Mathew and Knaus 2006 [52]	38/F	6	3TC, EFV	37		sCr 2.5 mg/dl, hyperchloremia, metabolic acidosis, hypokalemia, hypophosphatemia, glucosuria, proteinuria		Fanconi syndrome
de la Prada <i>et al.</i> 2006 [63]	65/F	2	LPV/r, T20		1.24	sCr 7.74 mg/dl, urea 261 mg/dl, albumin 43 g/l, metabolic acidosis, hyperchloremia, glycosuria	Hypertension	Renal biopsy: tubular damage
Kapitsinou and Ansari 2008 [44]	53/F	60	EFV, 3TC		0.8	sCr 9.8 mg/dl, hypokalemia, acidosis, normoglycemic glucosuria, proteinuria	HBV, HCV	

*In this report, two cases of Fanconi syndrome occurred with regimens that did not include tenofovir.

ABC: Abacavir; ACEi: ACE inhibitor; ALP: Alkaline phosphatase; APV: Amprenavir; ARV: Acute renal failure; ARV: Antiretroviral; ATN: Acute tubular necrosis; ATV: Atazanavir; AZT: Zidovudine; B2-MG: B2-Microglobulin; CKD: Chronic kidney disease; CrCl: Creatinine clearance; DDC: Zalcitabine; DDI: Didanosine; DLV: Delavirdine; D4T: Estavudine; EFV: Efavirenz; F: Female; FTC: Emtricitabine; GFR: Glomerular filtration rate; LPV: Lopinavir; M: Male; NVP: Nevirapine; r: Ritonavir; SCr: Serum creatinine; SQV: Saquinavir; TDF: Tenofovir; TMP-SMZ: Cotrimoxazol; TRP: Tubular reabsorption of phosphate; 3TC: Lamivudine; T20: Enfuvirtide.

Table 1. Reports of kidney complications in patients treated with tenofovir (2002 – 2009) (continued).

Study	Age/ gender	Months on treatment with TDF	Concomitant ARVs/ other drugs with potential interaction	Baseline CD4 count (cells/ μ l)	Baseline Cr	Laboratory findings	Other pathologies	Diagnosis
	38/M	5	DDI, APV			sCr 2.4 mg/dl, hyperchloremia, hypophosphatemia, hypouricemia, non-anion gap metabolic acidosis, glucosuria	HBV	Fanconi syndrome, nephrogenic diabetes insipidus
Di Biagio <i>et al.</i> 2009 [56]	48/F	1	3TC, EFV	267	1.7	sCr 1.8 mg/dl, hypokalemia, hypophosphatemia, glucosuria, proteinuria	HCV, mild chronic renal insufficiency, osteoporosis	Fanconi syndrome
Ter Heine <i>et al.</i> 2009 [47]	46/M		LPV/r, 3TC/diclofenac			sCr 10.43 mg/dl, CrCl 7 ml/min, urea 38.6 mmol/l	HCV	
Wood <i>et al.</i> 2009 [48]	16/M	17	LPV/r	314	0.9	sCr 3.2 mg/dl, CrCl 36 ml/min, proteinuria		CKD stage 4 secondary to nephrotic medications and/or VIH nephropathy
	16/M	24	LPV/r	895		sCr 1 mg/dl, GFR 104 ml/min, hypophosphatemia, hypouricemia, \uparrow ALP, \uparrow B2-MG, %TRP decreased, glucosuria		TDF associated nephrotoxicity

*In this report, two cases of Fanconi syndrome occurred with regimens that did not include tenofovir.

ABC: Abacavir; ACEI: ACE inhibitor; ALP: Alkaline phosphatase; APV: Amprenavir; APV: Fosamprenavir; ARF: Acute renal failure; ARV: Antiretroviral; ATN: Acute tubular necrosis; ATV: Atazanavir; AZT: Zidovudine; B2-MG: β 2-Microglobulin; CKD: Chronic kidney disease; CrCl: Creatinine clearance; DDC: Zalcitabine; DDI: Didanosine; DLV: Delavirdine; D4T: Estavudine; EFV: Efavirenz; F: Female; FTC: Emtricitabine; GFR: Glomerular filtration rate; LPV: Lopinavir; M: Male; NVP: Nevirapine; r: Ritonavir; SCr: Serum creatinine; SQV: Saquinavir; TDF: Tenofovir; TMP-SMZ: Cotrimoxazol; TRP: Tubular reabsorption of phosphate; 3TC: Lamivudine; T20: Enfuvirtide.

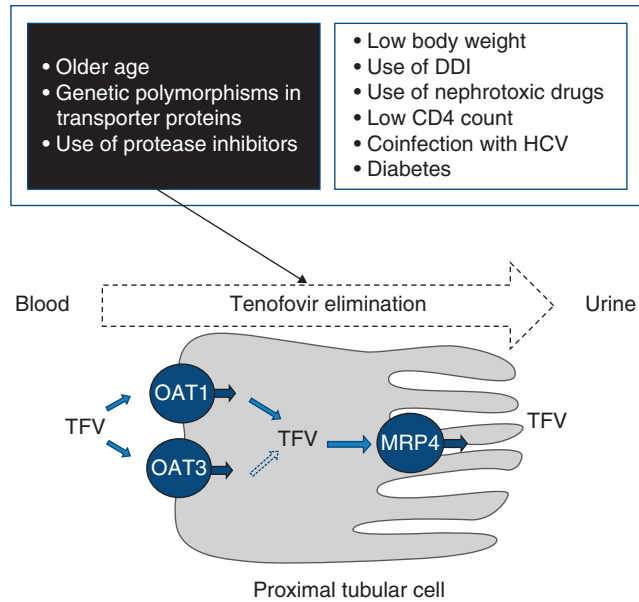


Figure 1. Factors associated with TFV renal toxicity. Mechanisms by which TFV is eliminated throughout kidney cells. TFV enters kidney cells using OAT1 and in less extent using OAT3. At the luminal surface, TFV is eliminated by MRP4. Factors influencing the elimination of TFV through kidney cells are within the black box. MRP2: Multidrug resistant protein-2; MRP4: Multidrug resistant protein-4; OAT1: Organic anion transporter protein-1; OAT3: Organic anion transporter protein-3; TFV: Tenofovir.

body weight and older age were found to contribute to an increased risk of TDF-associated tubulopathy [76].

4.4 Pharmacogenetic factors

Genetic variants in transporter proteins involved in TFV excretion have been associated with renal damage. This is the case for polymorphisms at the *ABCC2* gene. The haplotype 'CATC' (defined as the combination of the polymorphisms at positions -24, 1249, 3563 and 3972) [77] and the allele -24C [78] have been associated with an increased risk of TDF-associated tubulopathy. It remains still unclear by which mechanism these genetic variants may predispose to renal tubulopathy [79].

The MRP4, coded by the *ABCC4* gene, plays an important role in the excretion of TFV. A C>T polymorphism at the *ABCC4-669* gene has been found to be more frequent in patients experiencing renal tubular damage [77], although this finding has not been confirmed by others [78]. Currently, information about the effect of genetic polymorphisms on the risk of renal toxicity using TDF is a matter of controversy and requires further examination [79].

5. Conclusion

While most studies have shown a relatively good renal safety profile of TDF [27,38,80], reports of kidney damage associated with TDF therapy are increasingly been reported [65,81].

Several risk factors for developing nephrotoxicity in patients treated with TDF have been identified, including classical predisposing conditions for renal disease in the general population, such as older age, low body weight, concomitant use of nephrotoxic medications and HCV co-infection [60,65,81]. More recently, polymorphisms at genes that code for transporter proteins have also been associated with an increased risk of kidney tubular dysfunction in patients treated with TDF [77-79]. Moreover, TFV plasma levels have been associated with the risk of tubular damage. Clearly, TDF-associated renal damage is multifactorial, as shown in Figure 1.

Overall, TDF seems to be generally safe for the kidney in most subjects and at least in the short-term and especially with regard to glomerular function. However, assessment of the tubular function may permit recognizing kidney abnormalities more frequently in patients treated with TDF, and the long-term consequences of mild chronic tubular dysfunction must be examined. This advice is worthy as TDF has become the backbone of the most widely prescribed antiretroviral regimens.

6. Expert opinion

The safety of the long-term use of TDF remains uncertain and there is increasing concern about the consequences of chronic renal damage in patients receiving TDF [81]. Although initial clinical trials and post-marketing studies failed to show any serious and frequent renal toxicity of TDF [23,24,38,80], more recent evidences from case reports and cohort studies suggest a clear association between TDF prolonged use and nephrotoxicity [81]. Kidney damage may present as acute renal failure, generally during the first months of therapy, with impairment of the glomerular function. This situation is very unusual on TDF therapy. A second presentation is in the form of tubular dysfunction, often mild although overt Fanconi syndrome may develop in rare cases. This presentation is more common although chronic tubular damage may pass unrecognized given that the glomerular function is generally well preserved in most cases [37]. This mild tubular dysfunction may affect up to 20% of patients exposed to TDF [37]. The chronic consequences of significant loss of phosphate, proteins and glucose are currently unknown, but an increased risk of premature osteoporosis and osteomalacia is a worrisome complication [56,81].

Clinical trials comparing distinct antiretroviral regimens suggest that the risk of TDF toxicity is low, around 2%. However, clinical trials frequently limit enrolment to subjects who do not have risk factors. Therefore, clinical trials do not represent the 'real life', because they exclude patients with renal impairment or other predisposing conditions for renal insufficiency. The low rate of proximal tubular toxicity noticed in clinical practice may contribute to explain the inability of detecting renal toxicity in clinical trials. Furthermore, subtle changes in kidney function and electrolyte levels in patients with a normal GFR are more likely to go

436 misrecognized in this setting. In clinical practice when the
 440 renal function is compromised, as reflected by reductions in
 the CrCl, physicians usually take the decision to replace TDF
 in order to avoid a worsening of the renal function. Most of
 these cases have not been reported. Moreover, glomerular
 damage is easily identified by monitoring routine markers of
 renal function such as CrCl, but tubular dysfunction is often
 missed, as specific markers are not generally monitored.

445 Some important questions arise from the studies discussed
 above. First, it is necessary to identify the subset of patients
 who are at increased risk for developing renal toxicity on TDF.
 Second, how often should the renal function be monitored
 and what markers should be tested in order to detect earlier
 450 abnormalities of the glomerular and especially of the tubular
 function? Factors associated with renal toxicity in the
 general HIV population are the same that predispose to
 TDF-associated kidney toxicity (older age, pre-existing renal
 illnesses, use of nephrotoxic medications, etc.). Older age
 merits particular attention. Most likely, it predisposes to
 455 kidney damage given that it extends the exposure to drugs
 having exclusive or predominant renal clearance, and dose
 adjustments are frequently not made until the renal function is
 largely compromised. This aspect is relevant as the HIV
 population is globally getting older.

460 Several questions remain unanswered and require further
 examination. The influence of concomitant antiretroviral
 medications on the risk of TDF-associated nephrotoxicity is
 one of them. We already discussed why didanosine must not
 be given along with TDF. However, information on the effect
 of protease inhibitors warrants further studies. Moreover,
 465 more studies assessing the significance of TFV plasma levels
 and the risk of TDF-associated tubulopathy are warranted. If
 this association is confirmed in prospective, larger studies,
 469 therapeutic drug monitoring for TDF could be advisable,

especially in high-risk populations for developing 470
 kidney damage. Finally, the role of host genetics in the
 susceptibility to TDF-associated tubular damage must be
 further examined. Pharmacogenetics might allow the early
 recognition of patients prone at greater risk for developing
 tubular damage. 475

A second question to be solved is about how often the
 renal function should be monitored and which renal markers
 should be tested. Initial screening should include urinalysis
 and serum creatinine levels, with estimation of the GFR by
 either the CG or the MDRD equations. While these esti- 480
 mates of the glomerular function have not been well vali-
 dated in patients with HIV infection, both methods are more
 sensitive than serum creatinine alone. Distinction between
 glomerular and tubular function tests is crucial, as tubular
 dysfunction seems to be much more common in patients 485
 developing TDF kidney damage. Early recognition of renal
 dysfunction is key to avoiding the development of serious
 renal damage. While glomerular damage is easy to identify in
 clinical practice, because monitoring of CrCl is a reliable
 marker of renal function, the tubular function is more 490
 difficult to assess. Most tubular parameters are not checked
 on a routine basis in clinical practice. A persistent damage of
 kidney tubular cells may present clinically as overt Fanconi
 syndrome in the absence of suspicion. Moreover, chronic
 mild tubular dysfunction may be missed along with its effects 495
 on bone mineralization. A continuous loss of large amounts
 of phosphate in urine may result in premature osteopenia
 and osteomalacia.

Declaration of interest 500

The authors state no conflict of interest and have received no
 payment in preparation of this manuscript. 503

Bibliography

Papers of special note have been highlighted as either of interest (•) or of considerable interest (••) to readers.

1. Vandercam B, Moreau M, Goffin E, et al. Cidofovir-induced end-stage renal failure. *Clin Infect Dis* 1999;29(4):948-9
2. Gagnon R, Tecimer S, Watters A, Tsoukas C. Prospective study of urinalysis abnormalities in HIV-positive individuals treated with indinavir. *Am J Kidney Dis* 2000;36(3):507-15
3. Gallant J, Deresinski S. Tenofovir disoproxil fumarate. *Clin Infect Dis* 2003;37(7):944-50
4. Karras A, Lafaurie M, Furco A, et al. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients: three cases of renal failure, Fanconi syndrome, and nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Infect Dis* 2003;36(8):1070-3
5. James C, Steinhaus M, Szabo S, Dressier R. Tenofovir-related nephrotoxicity: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 2004;24(3):415-8
6. Malik A, Abraham P, Malik N. Acute renal failure and Fanconi syndrome in an AIDS patient on tenofovir treatment-case report and review of literature. *J Infect* 2005;51(2):E61-5
7. Young B, Buchacz K, Moorman A, et al.; HIV Outpatient Study (HOPS) Investigators. Renal function in patients with preexisting renal disease receiving tenofovir-containing highly active antiretroviral therapy in the HIV outpatient study. *AIDS Patient Care STDS* 2009;23(8):589-92
8. Izzedine H, Baumelou A, Deray G. Acute renal failure in HIV patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(10):2757-62
9. Cihlar T, Ho E, Lin D, Mulato A. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2001;20(4-7):641-8
10. Ray A, Cihlar T, Robinson K, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(10):3297-304
- **This study is one of the first to demonstrate the critical role of MRP4 and OATs in the elimination of tenofovir.**
11. Mallants R, Van OK, Van V, et al. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites. *Xenobiotica* 2005;35(10-11):1055-66
12. Miller D. Nucleoside phosphonate interactions with multiple organic anion transporters in renal proximal tubule. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;299(2):567-74
13. Imaoka T, Kusahara H, Adachi M, et al. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. *Mol Pharmacol* 2007;71(2):619-27
14. van Aubel R, Smeets P, Peters J, et al. The MRP4/ABCC4 gene encodes a novel apical organic anion transporter in human kidney proximal tubules: putative efflux pump for urinary cAMP and cGMP. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(3):595-603
15. van Aubel R, Smeets P, van den Heuvel J, Russel F. Human organic anion transporter MRP4 (ABCC4) is an efflux pump for the purine end metabolite urate with multiple allosteric substrate binding sites. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288(2):F327-33
16. Cihlar T, Birkus G, Greenwalt D, Hitchcock M. Tenofovir exhibits low cytotoxicity in various human cell types: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Res* 2002;54(1):37-45
17. Birkus G, Hitchcock M, Cihlar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(3):716-23
18. Cote H, Magil A, Harris M, et al. Exploring mitochondrial nephrotoxicity as a potential mechanism of kidney dysfunction among HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther* 2006;11(1):79-86
19. Kohler J, Hosseini S, Hoying-Brandt A, et al. Tenofovir renal toxicity targets mitochondria of renal proximal tubules. *Lab Invest* 2009;89(5):513-9
20. Lebrecht D, Venhoff AC, Kirschner J, et al. Mitochondrial tubulopathy in tenofovir disoproxil fumarate-treated rats. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51(3):258-63
21. Weiss J, Theile D, Ketabi-Kiyanvash N, et al. Inhibition of MRP1/ABCC1, MRP2/ABCC2, and MRP3/ABCC3 by nucleoside, nucleotide, and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Drug Metab Dispos* 2007;35(3):340-4
22. Liborio A, Andrade L, Pereira L, et al. Rosiglitazone reverses tenofovir-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 2008;74(7):910-18
23. Gallant J, Staszewski S, Pozniak A, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004;292(2):191-201
24. Izzedine H, Hulot J, Vittecoq D, et al. Long-term renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients. Data from a double-blind randomized active-controlled multicentre study. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(4):743-6
25. Arribas J, Pozniak A, Gallant J, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naïve patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47(1):74-8
26. Mocroft A, Kirk O, Gatell J, et al. Chronic renal failure among HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007;21(9):1119-27
27. Gallant J, Parish M, Keruly J, Moore R. Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis* 2005;40(8):1194-8
28. Cihlar T, Ray A, Laflamme G, et al. Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. *Antivir Ther* 2007;12(2):267-72
29. Goicoechea M, Liu S, Best B, et al. Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis* 2008;197(1):102-8
30. Gerard L, Chazallon C, Taburet A, et al. Renal function in

- antiretroviral-experienced patients treated with tenofovir disoproxil fumarate associated with atazanavir/ritonavir. *Antivir Ther* 2007;12(1):31-39
31. Mauss S, Berger F, Schmutz G. Antiretroviral therapy with tenofovir is associated with mild renal dysfunction. *AIDS* 2005;19(1):93-5
32. Kinai E, Hanabusa H. Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(4):387-94
33. Tan L, Gilleece Y, Mandalia S, et al. Reduced glomerular filtration rate but sustained virologic response in HIV/hepatitis B co-infected individuals on long-term tenofovir. *J Viral Hepat* 2009;16(7):471-8
34. Van Rompay K, Brignolo L, Meyer D, et al. Biological effects of short-term or prolonged administration of 9-[2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (tenofovir) to newborn and infant rhesus macaques. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(5):1469-87
35. Buchacz K, Brooks J, Tong T, et al. Evaluation of hypophosphataemia in tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-exposed and TDF-unexposed HIV-infected out-patients receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006;7(7):451-6
36. Badiou S, de Boever CM, Terrier N, et al. Is tenofovir involved in hypophosphatemia and decrease of tubular phosphate reabsorption in HIV-positive adults? *J Infect* 2006;52(5):335-8
37. Labarga P, Barreiro P, Martín-Carbonero L, et al. Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *AIDS* 2009;23(6):689-96
- This is a large cross-sectional study of markers of tubular damage in patients exposed to tenofovir. The authors found that patients receiving tenofovir were at greater risk of tubular damage without significant impairment of glomerular function compared to those not receiving tenofovir or drug-naïve patients.
38. Nelson M, Katlama C, Montaner J, et al. The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: the first 4 years. *AIDS* 2007;21(10):1273-81
- This study confirms the overall favorable safety profile of tenofovir in clinical trials. The authors state that risk factors for development of nephrotoxicity can be identified and may be useful in managing those patients at greatest risk.
39. Madeddu G, Bonfanti P, De Socio G, et al. Tenofovir renal safety in HIV-infected patients: results from the SCOLTA Project. *Biomed Pharmacother* 2008;62(1):6-11
- The authors found that the prevalence and incidence of nephrotoxicity is low and it is associated with the presence of co-morbidities and with advanced HIV infection.
40. Verhelst D, Monge M, Meynard JL, et al. Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: a first case report. *Am J Kidney Dis* 2002;40(6):1331-3
41. Creput C, Gonzalez-Canali G, Hill G, et al. Renal lesions in HIV-1-positive patient treated with tenofovir. *AIDS* 2003;17(6):935-7
42. Dupont C, Meier F, Loupy A, et al. Acute renal failure and tenofovir: two new cases. *Antivir Ther* 2003;8(Suppl):76
43. Schaaf B, Aries S, Kramme E, et al. Acute renal failure associated with tenofovir treatment in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2003;37(3):e41-3
44. Kapitsinou P, Ansari N. Acute renal failure in an AIDS patient on tenofovir: a case report. *J Med Case Reports* 2008;2:94
45. Vallecillo-Sanchez G, Guelar-Grimberg A, Gonzalez-Mena A, Knobel-Freud H. Acute renal failure associated with the use of tenofovir combined with atazanavir in patients with HIV infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(5):316-17
46. Bpharm S, Talbot A, Trottier B. Acute renal failure in four HIV-infected patients: Potential association with tenofovir and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2008;19(1):75-6
47. Ter Heine R, Huitema A, Jansen R, et al. Prolonged exposure to tenofovir monotherapy 1 month after discontinuation because of tenofovir-related renal failure. *Antivir Ther* 2009;14(2):299-301
48. Wood S, Shah S, Steenhoff A, et al. Tenofovir-associated nephrotoxicity in two HIV-infected adolescent males. *AIDS Patient Care STDs* 2009;23(1):1-4
49. Callens S, De R, Colebunders R. Fanconi-like syndrome and rhabdomyolysis in a person with HIV infection on highly active antiretroviral treatment including tenofovir. *J Infect* 2003;47(3):262-3
50. Peyriere H, Reynes J, Rouanet I, et al. Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: report of 7 cases. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35(3):269-73
51. Williams J, Chadwick D. Tenofovir-induced renal tubular dysfunction presenting with hypocalcaemia. *J Infect* 2006;52(4):e107-8
52. Mathew G, Knaus S. Acquired Fanconi's syndrome associated with tenofovir therapy. *J Gen Intern Med* 2006;21(11):C3-5
53. Rifkin B, Perazella M. Tenofovir-associated nephrotoxicity: Fanconi syndrome and renal failure. *Am J Med* 2004;117(4):282-4
54. Castrillo-Bustamante C, Vejo-Puente E, Velasco-Montes J, Hernandez-Hernandez JL. Severe hypokalemia and tenofovir. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(5):317-18
55. Earle K, Seneviratne T, Shaker J, Shoback D. Fanconi's syndrome in HIV+ adults: report of three cases and literature review. *J Bone Miner Res* 2004;19(5):714-21
56. Di Biagio A, Rosso R, Monteforte P, et al. Whole body bone scintigraphy in tenofovir-related osteomalacia: a case report. *J Med Case Reports* 2009;3:8136-9
57. Irizarry-Alvarado J, Dwyer J, Brumble L, et al. Proximal tubular dysfunction associated with tenofovir and didanosine causing Fanconi syndrome and diabetes insipidus: a report of 3 cases. *AIDS Read* 2009;19(3):114-21
58. Rollot F, Nazal EM, Chauvelot-Moachon L, et al. Tenofovir-related Fanconi syndrome with nephrogenic diabetes insipidus in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: the role of lopinavir-ritonavir-didanosine. *Clin Infect Dis* 2003;37(12):e174-6
59. Coca S, Perazella M. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of

- drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci* 2002;324(6):342-4
60. Barrios A, Garcia-Benayas T, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS* 2004;18(6):960-3
61. Parsonage M, Wilkins E, Snowden N, et al. The development of hypophosphataemic osteomalacia with myopathy in two patients with HIV infection receiving tenofovir therapy. *HIV Med* 2005;6(5):341-6
62. Zimmermann A, Pizzoferrato T, Bedford J, et al. Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis* 2006;42(2):283-90
63. de la Prada F, Prados A, Tugores A, et al. Acute renal failure and proximal renal tubular dysfunction in a patient with acquired immunodeficiency syndrome treated with tenofovir. *Nefrologia* 2006;26(5):626-30
64. Young B, Buchacz K, Baker R, et al.; HIV Outpatient Study Investigators. Renal function in tenofovir-exposed and tenofovir-unexposed patients receiving highly active antiretroviral therapy in the hiv outpatient study. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)* 2007;6(3):178-87
65. Gupta S. Tenofovir-associated Fanconi syndrome: review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS* 2008;22(2):99-103
66. Barrios A, Rendon A, Negredo E, et al. Paradoxical CD4+ T-cell decline in HIV-infected patients with complete virus suppression taking tenofovir and didanosine. *AIDS* 2005;19(6):569-75
67. Garcia-Benayas T, Rendon AL, Rodriguez-Novoa S, et al. Higher risk of hyperglycemia in HIV-infected patients treated with didanosine plus tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22(4):333-7
68. Barreiro P, Soriano V. Suboptimal CD4 gains in HIV-infected patients receiving didanosine plus tenofovir. *J Antimicrob Chemother* 2006;57(5):806-9
69. Ray A, Olson L, Fridland A. Role of purine nucleoside phosphorylase in interactions between 2',3'-dideoxyinosine and allopurinol, ganciclovir, or tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(4):1089-95
70. Yarchoan R, Pluda J, Thomas R, et al. Long-term toxicity/activity profile of 2',3'-dideoxyinosine in AIDS or AIDS-related complex. *Lancet* 1990;336(8714):526-9
71. Lopez S, Negredo E, Garrabou G, et al. Longitudinal study on mitochondrial effects of didanosine-tenofovir combination. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22(1):33-9
72. Buchacz K, Young B, Baker R, et al. Renal function in patients receiving tenofovir with ritonavir/lopinavir or ritonavir/atazanavir in the HIV Outpatient Study (HOPS) cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43(5):626-8
73. Johnson M, Grinsztejn B, Rodriguez C, et al. 96-week comparison of once-daily atazanavir/ritonavir and twice-daily lopinavir/ritonavir in patients with multiple virologic failures. *AIDS* 2006;20(5):711-18
74. Smith K, Weinberg W, De Jesus E, et al. Fosamprenavir or atazanavir once daily boosted with ritonavir 100 mg, plus tenofovir/emtricitabine, for the initial treatment of HIV infection: 48-week results of ALERT. *AIDS Res Ther* 2008;5:5
75. Barditch-Crovo P, Deeks S, Collier A, et al. Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected adults. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(10):2733-9
76. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, D'Avolio A, et al. Higher tenofovir plasma levels in patients with renal tubular damage [abstract 456]. In: 14th CROI, Montreal, Canada. February 2009
77. Izzedine H, Hulot J, Villard E, et al. Association between ABCB2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis* 2006;194(11):1481-91
- This article describes for the first time an association between proximal tubulopathy and an haplotype at ABCB2 in HIV+ patients receiving tenofovir.
78. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis* 2009;48(11):e108-16
- This article reports distinct associations between tenofovir-associated tubulopathy and diverse polymorphisms at genes coding for transporter proteins.
79. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V. Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics* 2009;10(10):1675-85
80. Jones R, Stebbing J, Nelson M, et al. Renal dysfunction with tenofovir disoproxil fumarate-containing highly active antiretroviral therapy regimens is not observed more frequently: a cohort and case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37(4):1489-95
81. Woodward C, Hall A, Williams I, et al. Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV Med* 2009;10(8):482-7

Affiliation

Sonia Rodríguez-Nóvoa¹, Elena Alvarez¹, Pablo Labarga² & Vincent Soriano^{†2}

[†]Author for correspondence

¹Hospital Carlos III, Pharmacokinetic & Pharmacogenetic Unit, Department of Infectious Diseases, Calle Sinesio Delgado 10, Madrid 28029, Spain

²Hospital Carlos III, Department of Infectious Diseases, Calle Sinesio Delgado 10, Madrid 28029, Spain

E-mail: vsoriano@dragonet.es



The Pharmacogenetics of HIV Treatment: A Practical Clinical Approach

Elena Álvarez Barco and Sonia Rodríguez Nóvoa*

Molecular Biology Laboratory, Pharmacogenetic Unit, Hospital Carlos III, Madrid, Spain

Abstract

HIV therapy is known to be associated with a large variability in efficacy and toxicity among different individuals even at standard doses. The reasons for this large inter-individual variability include race, gender, concomitant medications, drug compliance, underlying diseases and host genetic factors.

Pharmacogenetic studies have focused on drug-metabolizing enzymes and membrane drug transporters to provide a better understanding of the mechanism underlying the interindividual variations in drug exposure and response.

Despite of the high number of genetic polymorphisms discovered over the past few years, only a few of them became of clinical significance. In this review, the most relevant genetic polymorphisms affecting the activity and/or the expression of key drug-metabolizing enzymes and membrane drug transporters are summarized.

Keywords: HIV; Antiretroviral therapy; Pharmacogenetics

Introduction

The introduction of Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) as standard of care has changed the natural history of HIV infection into a manageable chronic disease requiring long-term Antiretroviral (ARV) Treatment. However, despite of the long-time experience and the vast drug armamentarium available for HIV infection, variability in efficacy and toxicity remains as an important limitation for managing HIV infection. There are multiple factors affecting the variability of ARV response, including ethnicity, gender, age, body weight, drug-drug and drug-food interactions, binding to plasma proteins, hepatic impairment, disease status, pregnancy, and host genetic factors. Genetic variations in pathways of drug absorption, disposition, metabolism and excretion (ADME) may explain the interpatient variability and therefore, genes encoding for transport proteins, drug-metabolizing enzymes or nuclear receptors that encode for both transporters and enzymes, have been the main targets of HIV pharmacogenetic studies so far (Figure 1).

“Pharmacogenetics” is the discipline that analyses the genetic basis for the interindividual variation in the body disposition of drugs.” The initial candidate genes studies, in which genetic variants of host factors that were already known to play a role in HIV-infection were tested, have lead to genome wide association studies (GWAS), in which not only one gene but in fact the whole genome is studied.

A number of associations between human genetic variants and predisposition to ARV drug toxicity or risk of virologic failure has been described in recent years. One of the most significant association is the one established between *HLA-B*5701* and Abacavir hypersensitivity reaction and therefore, the genetic test prior prescribing Abacavir has been introduced into antiretroviral guidelines as the standard of care for all patients. Other well-established associations include *HLA* class II allele *HLA-DRB*0101* and nevirapine-associated hypersensitivity, *CYP2B6* alleles and efavirenz central nervous system side effects, *UGT1A1* alleles and polymorphisms at genes coding for P-glycoprotein related with atazanavir-associated hyperbilirubinemia and polymorphisms in the *ABCC2* gene associated with TDF renal proximal tubulopathy.

Since pharmacogenetic factors impact the clinical outcome of HIV patients, this review provides examples of the most relevant genetic polymorphisms affecting the most common prescribed ARVs as a tool

for individualizing HIV therapy in the clinical setting. They are all summarized in table 1.

Pharmacogenetics of non nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs)

NNRTIs are used in combination with Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs) or Protease Inhibitors (PIs) as first line treatment for HIV infection. They are metabolized in the liver by the cytochrome P450 (CYP450) and their absorption and distribution is affected by the drug transporter P-glycoprotein (P-gp) [1,2]. Polymorphisms affecting these targets may explain the large variability that exists in NNRTI plasma levels and they may be also related with the adverse effects associated with them.

Pharmacogenetics of efavirenz

Efavirenz (EFV) is one of the most used NNRTIs in the first-line antiretroviral therapy for HIV-infected patients, as well as the preferred third drug in patients with tuberculosis (TB) coinfection requiring rifampin-containing therapy.

The fixed dose of 600 mg once daily of EFV is related with a significant intervariability in EFV plasma exposure and clinical effects. EFV shows a narrow therapeutic range (1-4 µg/mL) and there is a potential risk of infra or supra-therapeutic concentrations that are related with virological failure or central nervous system (CNS) symptoms. Furthermore, increased EFV exposure has been associated not only with CNS toxicity but also with the development of resistance after drug discontinuation [3].

EFV is oxidized primarily by hepatic CYP2B6 to form 8-hydroxy and 7-hydroxy efavirenz, and in a lesser extent by CYP3A4/5 and CYP2A6. Genetic polymorphisms of CYP2B6 are the most frequently

*Corresponding author: Sonia Rodríguez Nóvoa, Molecular Biology Laboratory, Hospital Carlos III Madrid, Spain, E-mail: sonia_r_novoa@hotmail.com

Received March 25, 2013; Accepted May 15, 2013; Published May 25, 2013

Citation: Barco EÁ, Rodríguez Nóvoa S (2013) The Pharmacogenetics of HIV Treatment: A Practical Clinical Approach. J Pharmacogenom Pharmacoproteomics 4: 116. doi:10.4172/2153-0645.1000116

Copyright: © 2013 Barco EÁ, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

	Drug	Gene (Protein)	Variants (ref.)	Genetic consequence	Clinical impact		Clinical relevance	References	
					Efficacy	Toxicity			
NNRTI	EFV	CYP2B6 (CYP2B6)	516C>T (rs3745274)	Gln172His Diminished function	Yes Higher plasma levels	Yes CNS adverse effects	EFV range: 1-4 µg/mL. TT genotype associated with more risk for CNS adverse effects	[6-9,13]	
			785A>G (rs2279343)	Lys262Arg Diminished function	Yes Higher plasma levels	Yes CNS adverse effects	Genotype 516/983 associated with increased CNS events	[10-14]	
			983T>C (rs28399499)	Ile328Thr Decreased protein expression	Yes Higher plasma levels	Yes CNS adverse effects	Genotype 516/983 associated with increased CNS events	[11-13]	
		ABCB1 (P-gp)	3435C>T (rs1045642)	Ile1145Ile Synonymous substitution. In LD with ABCB1 1236 and 2677	Controversial influence in plasma EFV levels	-	Decreased likelihood of virologic failure and decreased emergence of resistant virus	[1,17-19]	
	NVP	CYP2B6 (CYP2B6)	516C>T (rs3745274)	Gln172His Diminished function	Yes Higher plasma levels	No	-	[23,31-33]	
			983T>C (rs28399499)	Ile328Thr Decreased protein expression	Yes Higher plasma levels	No	-	[35,36]	
			ABCB1 (P-gp)	3435C>T (rs1045642)	Ile1145Ile Synonymous substitution. In LD with ABCB1 1236 and 2677	No	No	T allele associated with lower risk of hepatotoxicity	[37,39]
		HLA-DR	HLA-DRB1*0101	-	No	Yes HSR	Greater risk for hypersensitivity reaction	[24,25]	
		HLA-C	HLA-Cw*8	-	No	Yes HSR	Greater risk for hypersensitivity reaction.	[26,27]	
		HLA-B	HLA-B3505	-	No	Yes	NVP skin rash	[28]	
IPs	ATV	UGT1A1 (UGT1A1)	*28 (rs8175347) (rs887829)	*280=Promoter region. (Insertion at TATA Box)	No	Yes Gilbert's syndrome. Increased levels of bilirubin	Higher risk of hyperbilirubinemia.	[48,61-63]	
			ABCB1 (P-gp)	3435C>T (rs1045642) 2677G>T (rs2032585)	Ile1145Ile Synonymous substitution. Ala893Ser	Yes Lower ATV plasma levels.	No	ATV minimum effective concentration= 0.15 µg/mL. Risk of subtherapeutic levels in TT carriers.	[47-49]
			NR1I2 (PXR)	63396C>T (rs2472677)	-	Yes Lower ATV plasma levels	-	Risk of subtherapeutic levels in TT carriers	[53,54]
	LPV	SLCO1B1 (OATP1B1)	521T>C (rs4149056)	Val174Arg Reduced transport activity	Yes Higher LPV plasma levels with CC genotype	No	-	[64-67]	
NRTIs	ABC	HLA-B HLA-B*57:01	NA	-	No	Yes	Abacavir Hypersensitivity Reaction (ABC-HSR)	[72-73]	
			HLA complex P5 (HCP5)	335T>G (rs2395029)	Val112Gly	No	Yes	Alternative marker for screening of individuals at risk for ABC-HSR	[82-85]
	TFV	ABCC2 (MRP2)	CATC Haplotype (-24, 1249, 3563, 3972) (rs717620, rs2273697, rs8187694, rs3740066) -24CC (rs717620)	NA Val417Ile Val1188Glu Ile1324Ile	No No	Yes Yes	CATC Haplotype associated with greater risk of KTD. -24CC associated with higher risk of KTD	[99-100]	
			ABCC4 (MRP4)	3463A>G (rs1751034)	-	Yes Higher intracellular TFV-DP	No	-	[98]
			ABCC4 (MRP4)	-669C>T (rs899494)	-	No	Yes	Risk for KTD	[100]
		ABCC10 (MRP7)	Intron-4 (rs9349256)	-	No	Yes	Urine phosphate wasting and β2-microglobulinuria	[100]	
II	RAL	UGT1A1*28 [A(TA7)TAA]	*28 (rs8175347)	*280=Promoter region. (Insertion at TATA Box)	No	No	-	[109,110]	
			ABCB1 (P-gp)	3435C>T (rs1045642)	Ile1145Ile Synonymous substitution.	Yes	No	Allele T is associated with lower RAL plasma exposure	[113]

Abbreviations: NNRTIs: non nucleoside reverse transcriptase inhibitors, EFV: efavirenz; NVP: nevirapine; IPs: protease inhibitors; ATV: atazanavir; LPV: lopinavir; NRTIs: nucleoside reverse transcriptase inhibitors; ABC: abacavir; TFV: tenofovir; II: integrase Inhibitors; RAL: raltegravir; CYP2B6: cytochrome P-450 2B6 isoform; ABCB1: ATP-binding cassette subfamily-B, member1; P-gp: P-glycoprotein; HLA-DR: human leukocyte antigen-DR; HLA-C: human leukocyte antigen-C; HLA-B: human leukocyte antigen-B; UGT1A1: uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase 1A1; NR1I2: nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2; PXR: Pregnane X Receptor; SLCO1B1: solute carrier organic anion transporter 1B1; OATP1B1: organic anion transporter 1B1; HCP5: human leukocyte antigen complex P5; ABCC2: ATP-binding cassette subfamily-C, member2; ABCC4: ATP-binding cassette sub-family C member 4; ABCC10: ATP-binding cassette subfamily-C, member 10; MRP2: Multidrug resistance-associated protein 2; MRP4: Multidrug resistance-associated protein 4; MRP7: multidrug resistance-associated protein 7; Gln: glutamine; His: histidine; Lys: lysine; Arg: arginine; Ile: isoleucine; Thr: threonine; Ala: alanine; Ser: serine; Val: valine; Gly: glycine; Glu: glutamic acid; CNS: central nervous system; HSR: hypersensitivity reaction; KDF: kidney tubular dysfunction.

Table 1: Summary of most relevant genetic variants that affect antiretroviral pharmacokinetics and toxicity.

studied so far. The *CYP2B6* gene is highly polymorphic and as a consequence, there is a considerable interindividual variability in expression and function [4,5]. Since EFV shows a narrow therapeutic range, the risk of virological failure and toxic effects on the CNS is worrisome. One of the most relevant polymorphisms is the change 516G>T that leads to a lower enzyme activity of *CYP2B6* and therefore, to a greater EFV exposure. Thus, patients with the slow metabolizer genotype *CYP2B6-516TT* exhibit higher EFV plasma levels compared with genotypes *GG* or *GT*, being more prone to develop CNS adverse reactions [6-9] (Figure 2). The prevalence of the genotype *CYP2B6-516TT* is above 5% for different ethnicities (20% in black population and 6% in Caucasians) [6], and for this reason, the probability of dealing with patients harbouring the *TT* genotype may be quite common in clinical practice.

In addition, extensive *CYP2B6* genotyping of relevant single nucleotide polymorphisms (SNPs) studies have identified more variants that account for the variability in EFV pharmacokinetics. Subjects homozygous for the *CYP2B6*6* allele, that contains both 516G>T and the 785A>G polymorphisms, display significantly higher EFV plasma levels than heterozygous subjects or those with the common genotype [10]. The 983T>C polymorphism, a less frequent polymorphism only described in Hispanic and black populations, has been shown to impact in EFV exposure as well [11,12]. In a recent study, Ribaudó et al. [13] established that the *CYP2B6*18* allele, that harbours the 516G>T and 983T>C polymorphisms, better predict EFV pharmacokinetics and also, slow-metabolizer genotypes were associated with increased CNS events among white patients and decreased virologic failure among black patients. Similarly, the *CYP2B6*16* allele, that contains both 785A>G and 983T>C polymorphisms, has been associated with greater EFV exposure [14]. Moreover, novel alleles such as the allele *27 (defined by 593T>C) that results in 85% decrease in enzyme activity and the allele *28 (defined by 1132C>T), that results in protein truncation, have been also associated with a greater risk of showing high EFV plasma levels [15].

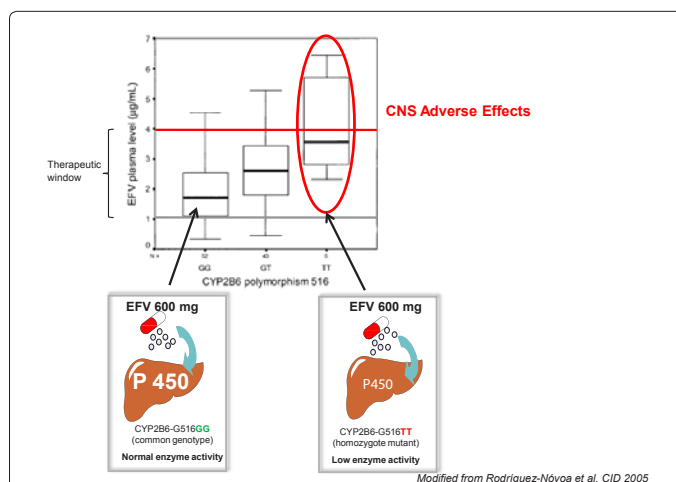


Figure 2: EFV plasma levels and polymorphisms in the *CYP2B6* gene.

The change 516G>T ([Gln172His]) in *CYP2B6* results in a lower enzyme activity of *CYP2B6* which leads to a greater EFV plasma levels. EFV plasma levels above 4µg/mL are associated to higher incidence of central nervous system toxicity. The graphic shows mean EFV plasma levels according to *CYP2B6-516* genotype.

EFV: Efavirenz; GG: common genotype; GT: heterozygote genotype; TT: homozygote polymorphic genotype; CNS: central nervous system.

With regards to transport proteins, the efflux transporter P-gp, which is encoded by the *ABCB1* (*MDR1*) gene, has been the most widely studied. The synonymous polymorphism 3435C>T in the *ABCB1* gene is related with lower expression of P-gp [16], and the allele *T* has been associated with lower EFV plasma concentrations [1,17]. In spite of this fact, the clinical consequences remain a matter of controversy with contradictory results [1,18,19]. Similarly, genetics polymorphisms in genes encoding for other proteins transporters such as the multidrug resistance proteins (MRPs) are being investigated.

In a recent study conducted in 128 HIV Caucasian patients, a pharmacokinetic/pharmacogenetic (PK/PG) model was proposed as a tool to optimize EFV dosage. The model included the *CYP2B6*6* allele, the polymorphism *ABCC4-19497C>T* and the level of gamma glutamyl transpeptidase (GGT) as the major factors influencing the EFV oral clearance [19]. However, this type of PK/PG models need to be further validated in another populations in order to become into a useful tool for individualizing the therapy.

Pharmacogenetics of nevirapine

Nevirapine (NVP) is also widely prescribed for HIV-1 infection, especially in source poor-settings and pregnant women (or those who are trying to achieve it) and their children. Nevertheless, its use is limited due to the related-adverse effects that appear more frequently during the first 6 weeks of treatment and a fragile genetic barrier to the development of drug resistance [20]. The main adverse effects associated with NVP use are rash, that can affect up to 15% of patients initiating NVP, an increase in transaminases even 5 times the normal level in about 20% of patients, fever, and the immune-mediated hypersensitivity reaction (HSR) that may manifests as hepatotoxicity [21,22]. The mechanism involved in the development of the adverse events related with NVP is not well understood. Cutaneous effects are most likely MHC class I-mediated, influenced by NVP *CYP2B6* metabolism, whereas hepatic toxicity is most likely MHC class II-mediated and unaffected by such metabolism [23].

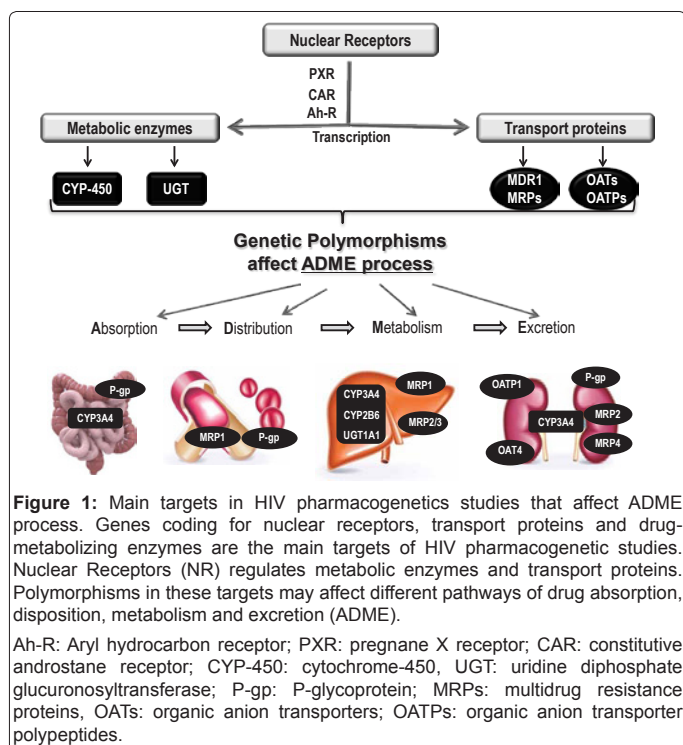


Figure 1: Main targets in HIV pharmacogenetics studies that affect ADME process. Genes coding for nuclear receptors, transport proteins and drug-metabolizing enzymes are the main targets of HIV pharmacogenetic studies. Nuclear Receptors (NR) regulates metabolic enzymes and transport proteins. Polymorphisms in these targets may affect different pathways of drug absorption, disposition, metabolism and excretion (ADME).

Ah-R: Aryl hydrocarbon receptor; PXR: pregnane X receptor; CAR: constitutive androstane receptor; CYP-450: cytochrome-450, UGT: uridine diphosphate glucuronosyltransferase; P-gp: P-glycoprotein; MRPs: multidrug resistance proteins, OATs: organic anion transporters; OATPs: organic anion transporter polypeptides.

Several human leukocyte antigens (*HLA*) class I and II alleles have been associated with rash and/or hepatitis reactions development. The simultaneous presence of allele *HLA-DRB1*01:01* and a CD4+ T lymphocyte count greater than 25% significantly increases the risk for hypersensitivity and hepatotoxicity reactions to NVP [24,25]. Similar associations have also been established for others HLA class I alleles such as *HLA*B14:02*, *HLA-Cw08* and *HLA-B*35:05* [26-28].

Up to the present year, the majority of these studies were focused on white populations, however in 2013, Phillips et al. [29] published the first study to be carried out in black population, where they highlight the need for HLA studies to be performed across other populations, more specifically those where different *HLA* alleles may be prevalent. In this study, both *HLA-B*58:01* and *HLA-DRB1*01:02* were independently associated with increased hepatotoxicity during NVP therapy [29]. In relation to rash reaction, a GWAS study conducted in Thai population has recently reported that genetic variations within *CCHCR1* (*rs1265112*) on chromosome 6p12.3 are strongly associated with NVP-induced rash [30].

NVP is metabolized primarily by CYP3A4 and 2B6 enzymes into its major metabolites 2-hydroxynevirapine and 3-hydroxynevirapine, respectively, with a minor contribution from CYP3A5 [31]. Several studies have reported that the polymorphisms *516G>T* and *983T>C* in the *CYP2B6* gene are associated with variations in NVP pharmacokinetics in ethnically diverse populations [32-36], although the clinical impact remains uncertain since an association between greater NVP exposure and toxic effects has not been fully demonstrated.

In regards to P-gp, it has been hypothesized that polymorphisms affecting its activity might influence intracellular concentrations, and therefore, the related toxicity. The polymorphism *ABCB1-3435C>T* has been associated with a decreased risk of hepatotoxicity in patients receiving NVP [37-39]; nevertheless, this observation is paradoxical since a lower expression of P-gp would lead to a greater accumulation of NVP inside the hepatocytes.

Pharmacogenetics of etravirine

Etravirine (ETV) is a second generation NNRTI approved by Food and Drug Administration (FDA) in 2008. It is metabolized by CYP3A, 2C9, and 2C19 and the resultant metabolites are glucuronidated by uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase (UGT) enzymes [40]. ETV concentrations are highly variable, explained in part by interactions with food intake and other medications.

The contribution of host genetic factors was investigated in a recent study in which, patients who carried the allele *CYP2C19*2*, that leads to a truncated protein, had lower ETV clearance [41]; however, this finding may not have clinical impact.

Pharmacogenetics of protease inhibitors

Protease Inhibitors (PIs) family includes the major number of ARVs and they are also the preferred third drug as part of HAART.

PIs have marked inter-individual variability in bioavailability and plasma pharmacokinetics, which might be explained by variation in drug metabolism. PIs are not only metabolized by CYP3A4 but also inhibitors of the CYP3A. Some of them are inhibitors of the UGT1A1, the enzyme responsible for bilirubin glucuronidation.

Furthermore, drug transporters, such as Pgp, play an important role in the disposition, metabolism and clearance of the PIs. Thus, genetic

polymorphisms affecting the expression/activity of enzymes and transport proteins may affect the bioavailability and body distribution of PIs [2,42-44].

Pharmacogenetics of atazanavir

Atazanavir (ATV) is currently recommended in first-line regimens for treatment-naïve HIV-infected patients as well as switch regimens for patients with intolerances to other ARV drugs.

Several drawbacks are associated with its clinical use, such as poor and highly variable oral bioavailability, the extensive metabolism of ATV by CYP3A4 in the liver and intestine as well as a large number of drug-drug interactions. In addition, the associated jaundice side effect is one of the main deterrents for patients' compliance.

Polymorphisms affecting efficacy of atazanavir: ATV bioavailability shows high interpatient variability and ATV plasma concentrations are influenced by many processes that are mediated by different transport proteins and metabolizer enzymes. Since ATV plasma concentrations correlate with treatment response, and in fact, a minimum effective concentration of 150 ng/mL has been proposed as a target in treatment guidelines, polymorphisms affecting ATV disposition affect its clinical efficacy.

P-gp has been demonstrated to transport ATV [45,46]. The polymorphism *ABCB1-3435C>T* has been associated with variations in ATV plasma levels regardless the dosage. Patients with the *CC* genotype display higher ATV levels than those with *CT/TT* genotype [47,48]. This nucleotide change does not change the encoded amino acid and therefore, it would not be the cause of altered activity of the transporter but may be associated with one or more causal variants in the poorly characterized stretch of linkage disequilibrium (LD) surrounding it [49]. It has been proposed that polymorphism *2677G>T/A* is responsible for the aforementioned functional consequences due to the fact that it is frequently linked to the *3435* SNP [50,51]. Nucleotide substitution at *2677G>T/A* results in changes in the amino acid 893, Ala893Ser/Thr, but the functional implication remains unknown so far.

Other transport proteins such as MRPs seem to play a minor role in ATV efflux from cells whereas organic anion transporter 1B1 (OATP1B1), encoded by *SLCO1B1*, is involved in the ATV uptake inside the cells [46, 52]. Studies focus on polymorphisms at these genes could be of great interest.

The transcription of metabolic enzymes and transport proteins is regulated by nuclear receptors (NR). One of the most important ones is the Pregnane X Receptor (PXR) encoded by the *NR1I2* gene. PXR regulates the expression of *CYP3A4*, *ABCB1* (P-gp) and *SLCO1B1* (OATP1B1) and consequently, genetic variations in this receptor may affect the antiretroviral pharmacokinetics [46]. The most studied polymorphism at *NR1I2* is the *63396C>T*, which has been associated with an increased activity of CYP3A4, leading to variations in ATV exposure. In this regard, homozygosity for the *NR1I2-63396-T* genotype is a predictor for sub-therapeutic ATV levels [53,54].

In the matter of the above, ATV plasma concentrations are associated with several SNPs involved in its distribution and metabolism. In a study conducted by Siccardi et al. [53], a score based in 3 SNPs, *ABCB1* (*3435C>T*), *SLCO1B1* (*521T>C*) and *PXR* (*63396C>T*), was proposed as the best predictor of unboosted ATV plasma exposure in the clinical setting [55]. The pharmacogenetic score was calculated as the sum of favourable genotypes. An "unfavourable genotype", defined as having none or 1 of the SNPs mentioned above present, was associated with

lower ATV plasma levels while “favourable genotype” which has 2 or 3 of the SNPs, was associated with greater ATV plasma levels. More recently, Bonora et al. [56] have shown that individualisation of ATV schedule according to the score based on these SNPs allowed to optimise ATV exposure when administered with TDF/FTC.

Polymorphisms related with Hiperbilirubinemia due to Atazanavir treatment: ATV is known to cause indirect hyperbilirubinemia by inhibiting the enzyme UGT1A1, which is responsible for bilirubin conjugation in the liver to be eliminated from the body. About 20%-50% of patients exposed to ATV may develop hyperbilirubinemia that can be severe in about 6% of cases [57]. Several studies have shown the correlation between ATV plasma levels and the risk of bilirubin elevations [47,48,58]. Polymorphisms at the *UGT1A1* gene have been related with a diminished activity of the enzyme, affecting the metabolism of bilirubin. The variant allele *UGT1A1*28* is associated with Gilbert’s syndrome, an inherited unconjugated hyperbilirubinemia disorder [59,60]. Allele *28 contains seven repeats of the dinucleotide TA (TA_n) at the promoter of the gene instead of six (TA₆) typically of the common allele (*UGT1A1*1*). In this setting, plasma bilirubin levels are further increased in ATV recipients when the *UGT1A1*28* allele is present [48,61,62] (Figure 3). Another polymorphism in the *UGT1A1* promoter (*rs887829*) associated with ATV hyperbilirubinemia has been proposed as the strongest genetic predictor of peak bilirubin in a GWAS conducted very recently. In this study, the likelihood of on-treatment hyperbilirubinemia in ATV recipients increased with higher baseline bilirubin and hemoglobin, and further increased with *rs887829* [63].

Pharmacogenetics of lopinavir

Lopinavir (LPV) is mainly metabolized by CYP3A enzymes and is also a substrate of the efflux transporters encoded by *ABCB1*, *ABCC1* and *ABCC2* genes, which contribute to its low and variable oral bioavailability.

A common SNP in the *SLCO1B1* gene, *521T>C*, has been associated with higher plasma levels of LPV [64-67], but the clinical significance is still uncertain and further studies are needed to confirm this association and to assess the impact on LPV pharmacokinetics.

Likewise, an association between *4544G>A* polymorphism in

ABCC2 and LPV accumulation in peripheral blood mononuclear cells has been reported in a small cohort of HIV-infected patients [68]. Nevertheless, further investigations are needed to confirm this association and to explore the real pharmacodynamic impact.

Pharmacogenetics of nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors

Nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) are the back bone commonly used in ARV therapy. Since its metabolism is little mediated by CYP450 enzymes, there is no evidence that genetic polymorphisms of P450 affect NRTI disposition. By contrast, MRPs are known to play a role in the cellular efflux of NRTIs and therefore, genetic variations in these proteins have been associated with intracellular levels of NRTIs [69]. In the other hand, pharmacogenetic studies of the HLA system may explain some of the toxicity reactions associated with this class of ARVs.

Pharmacogenetics of abacavir

Abacavir (ABC) is widely prescribed as part of the HAART regimen although about 5-8% of Caucasian patients who receive ABC develop a HSR within the first 6 weeks of treatment [70,71]. Symptoms include fever, rash, gastrointestinal disturbances, and lethargy. It normally improves after 24h of ABC discontinuation but subsequent rechallenge with ABC is extremely dangerous, resulting in a recurrence of symptoms and lastly, life threatening complications and death.

Fortunately, it has been discovered a strong association between ABC-HSR and the *57.1* haplotype at the *HLA* (defined by the presence of *HLA-B*57:01*, *HLA-DR7* and *HLA-DQ3*) [72-74]. The *HLA* region is the most polymorphic locus in the genome, which further complicates studies. Nevertheless, this association has been confirmed in different ethnicities despite of the fact that the prevalence of the *HLA-B*57:01* across different ethnic groups is heterogeneous (Caucasians 4%, Asians 2%, Hispanics 1% and Blacks 0.5%) [75-78]. One of the most important studies supporting the clinical usefulness of the screening of the *HLA-B*57:01* was the one published by Mallal et al. [75] in 2008 in which a large number of patients were enrolled. Prospective studies as well as cost-effectiveness studies of *HLA-B*57:01* testing have force its incorporation in the HIV treatment guidelines before prescribing ABC [78-81]. In fact, the *HLA-B*57:01* testing has been the first pharmacogenetic test used in the clinical practice to the management of HIV infection.

*HLA-B*57:01* testing is expensive, time consuming and requires specialized laboratories; in consequence, another genetic marker has been proposed as surrogate of the *HLA-B*57:01* allele. The polymorphism *335T>G* located within the *HLA* complex *P5* gene, *HCP5*, has been found to be in high linkage disequilibrium (LD) with *HLA-B*57:01* [82,83]. Several studies have explored the potential of *HCP5* testing to predict the ABC-HSR and they have demonstrated that *HCP5* testing is cheaper, less time-consuming and easier to perform than *HLA* typing [82-85] and therefore, genotyping the *HCP5* SNP has increasingly been adopted as a simple method to screen for susceptibility to ABC-HSR. However, the fact *HCP5* occurs within a region of copy number variation and the fact LD is incomplete and may vary between ethnicities, should be considered when using the *HCP5* SNP as a surrogate marker for *HLA-B*57:01* [86].

Pharmacogenetics of tenofovir

Tenofovir (TFV) is a NRTI widely used for the treatment of HIV infection. It is a drug of choice both for first line therapy in naives and

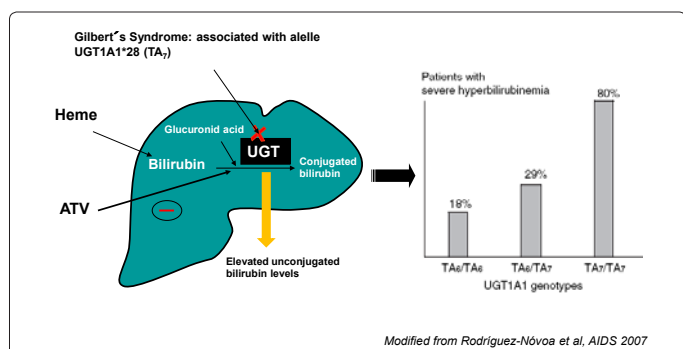


Figure 3: Hiperbilirubinemia associated with ATV and *UGT1A1* gene.

UGT1A1 is the liver enzyme that conjugates the bilirubin to be eliminated. The insertion of an extra dinucleotide (TA) on the *UGT1A1* promoter results in a decreased enzyme activity. Patients with this genetic condition who are treated with ATV will face higher risk of developing severe hiperbilirubinemia, compared to those not showing this specific genetic condition. The graphic shows the percentage of patients on ATV300/r who develop severe hiperbilirubinemia according to the *UGT1A1* genotype.

UGT1A1: uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1; *ATV*: atazanavir.

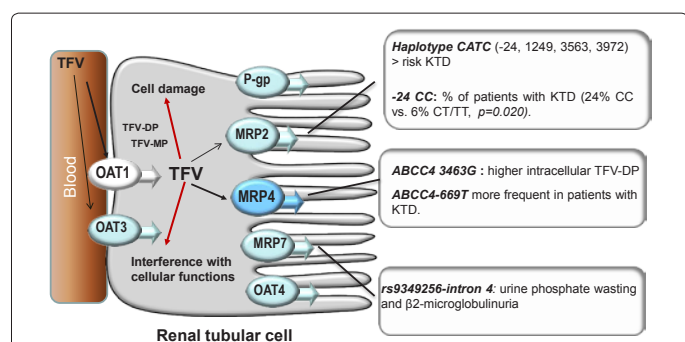


Figure 4: Main transport proteins involved in elimination of TFV from tubular renal cells.

Genetic polymorphisms in transport proteins may influence the elimination of TFV. The more relevant polymorphisms associated with tubular damage are listed on the right side of the figure.

TFV: tenofovir; TFV-MP: tenofovir monophosphate; TFV-DP: tenofovir diphosphate; OAT1: organic anion transporter protein-1; OAT3: organic anion transporter protein-3; MRP2: multidrug resistant protein-2; MRP4: multidrug resistant protein-4; MRP7: multidrug resistant protein-7.

pre-treated patients along with other two active drugs as part of HAART. Despite of the gentle renal profile reported in large clinical trials and postmarketing studies [87-89], some prospective cohort studies and cases report have alerted about tubular renal damage associated with TFV in long term use [90-93].

The mechanism by which TFV may cause renal damage is not well understood, although interference with transport proteins in the renal tubule may play a role.

TFV enters the proximal tubule cells through the human organic anion transporters (OATs), encoded by *SLC22A* genes, mainly OAT1 and in a lesser extend OAT3 [94,95] and it is excreted into the urine by MRPs (encoded by *ABCC* genes), mainly MRP4 [96,97]. TFV-associated renal proximal tubulopathy has been linked to genetic variants in genes that encode for these proteins. Polymorphisms in *SLC22A* have been examined and no relationship with toxicity has been found [98,99], whereas, polymorphisms at the *ABCC2* gene, which encodes for MRP2, has been associated with TFV renal damage. The haplotype "CATC" (defined as the combination of the polymorphisms at positions -24C>T, 1249G>A, 3563T>A and 3972C>T) [100] and the allele -24C [98] have been associated with an increased risk of TFV-associated kidney tubular dysfunction (KTD). Furthermore, MRP4 (encoded by *ABCC4*) [98,100] and MRP7 (encoded by *ABCC10*) [101] seem to play a role in the pathogenesis of KTD. A 669C>T polymorphism at the *ABCC4* gene has been found to be more frequent in patients experiencing renal tubular damage [100] and another polymorphism within *ABCC10* gene has been associated with urine phosphate wasting and β2-microglobulinuria, which are indicative of renal tubular dysfunction [101]. Regardless of these associations, currently information about the effect of genetic polymorphisms on the risk of renal toxicity using TFV is a matter of controversy and requires further examination.

Besides pharmacogenetic markers related with KTD, TFV plasma concentrations have been also associated with an increased risk of KTD, since patients developing tubulopathy have higher TFV levels than patients with normal tubular function [102-104]. If these findings were demonstrated in prospective studies, it would be possible the early recognition of patients at risk of developing tubular damage. The use of pharmacogenetics markers along with TFV quantification may alert physicians to closely monitor renal function to avoid later kidney dysfunction.

Pharmacogenetics of integrase inhibitors

Integrase inhibitors (INI) are a novel family of ARVs, which prevent the integration of reverse transcribed viral cDNA into the cellular chromosomes, a key step in the HIV life cycle. Since they inhibit a different process from the classical ones, cross-resistance with other families is not expected. Raltegravir (RAL) is the first INI approved for the treatment of HIV infection for both naives and pretreated patients and it is a very attractive option of treatment due to its potency and good safety profile.

Pharmacogenetics of raltegravir

RAL plasma concentrations display a large inter and intra-individual variability, being the coefficient of variation (CV) 212% and 122%, respectively. Gender, race, age, body mass index, food intake, renal or hepatic insufficiency have not shown a clinically meaningful effect on RAL pharmacokinetics [105-108].

RAL is mainly metabolized by UGT1A1 and therefore, polymorphisms at this enzyme, such as the allele *28 associated with the well-known Gilbert syndrome, have been studied. Plasma concentrations of RAL have been reported to be slightly higher in individuals with the *UGT1A1*28/*28* genotype than in those with the *UGT1A1*1/*1* genotype. However, this increase is not clinically significant, and no dose adjustment of RAL is recommended for individuals with the *UGT1A1*28/*28* genotype [109,110].

RAL is not a substrate and neither inhibit nor induce CYP450 enzymes, nevertheless, it has been reported that RAL is a substrate of the P-gp [111,112], and consequently, polymorphisms in transport proteins might contribute to explain the large intra- and inter-individual variability of RAL exposure. A recent study in a Spanish HIV RAL-cohort showed that the polymorphism at *ABCB1-3435C>T* was associated with RAL concentrations. Patients carrying CT or TT genotypes displayed lower median RAL concentrations than those with the CC genotype. Although PK/PD analyses do not suggest a threshold RAL concentration associated with reduced efficacy, patients carrying CT/TT genotypes at the P-gp gene might be more prone to virological failure [113].

Moreover, it has been reported that RAL is a substrate for the influx transporters OAT1 (*SLC22A6*) and PEPT1 (*SLC15A1*) [114]. Further studies in which transport proteins involved in RAL disposition and elimination would be examined together might provide a better understanding of the pharmacokinetics of RAL.

Pharmacogenetics of entry inhibitors

HIV uses CCR5 and/or CXCR4 as a co-receptor to entry into host cells. The CCR5 is likely the most physiologically important coreceptor during natural infection and is involved in the activation of leukocytes. This protein belongs to the beta chemokine receptors family of integral membrane proteins and normal ligands for this receptor are able to suppress HIV-1 infection *in vitro*. Maraviroc (MVC) is the first licensed CCR5 antagonist and effectively inhibits the interaction between HIV and CCR5 [115], representing a useful clinical tool in the treatment of HAART-experienced patients harboring viruses with selective tropism for the CCR5 receptor. Patients infected with X4 or dual viruses are not benefit of MVC based regimen.

CCR5-Δ32 is an allele of CCR5. This allele is found in 5-14% of Europeans but is rare in Africans and Asians. The Δ32 deletion results in a nonfunctional receptor, thus preventing HIV R5 entry. The presence of two copies of this allele provides strong protection against

HIV infection whereas the presence of one copy of this allele delays disease progression [116]. However, genetic variations in the *CCR5* chemokine receptor gene have not shown to impact the virological response to MVC [117].

On the other hand, MVC is substrate of CYP3A4 and P-gp, hence, dose adjustment is frequently required when coadministered with drugs that alter its pharmacokinetics [118,119]. More recently, MVC has been identified as substrate of the transport protein OATP1B1 and the polymorphism *521T>C* seems to be associated with higher MVC plasma levels [119]. The clinical usefulness of this finding needs to be tested in larger cohort of patients and validated for different dose groups.

Thus, the only genetic test that is mandatory to perform before starting MVC treatment is the determination of the viral tropism that it is not a host genetic test but a viral genetic test [120].

Conclusion and Clinical Relevance

The pharmacogenomic field is a very recent discipline but is being avidly explored to understand and better predict efficacy and toxicity of treatments in several diseases. Pharmacogenetic studies have focused on drug-metabolizing enzymes and membrane drug transporters to contribute to the understanding of the mechanism underlying the interindividual variations in drug exposure and response. Novel techniques that allow studying a vast number of genes, such as the GWAS, provide very valuable information. Despite of the high number of genetic polymorphisms discovered over the past few years, only a few of them became of clinical significance. The study design, selection of genes variants, differences regarding the ethnicity, population variability or environment influence, along with the complexity of the genetic techniques and the interpretation of the results, are some of the variables that limit the application of pharmacogenomics.

In clinical practice, two of the more common scenarios to deal with when introducing pharmacogenetics into the clinic are: a) the target affected by genetic variants is linked with a well-defined condition (*HLA-B*57:01* and *ABC*, *UGT1A1*28* and *ATV*, *CYP2B6-516* and *EFV*, *HLA-DRB*0101* and *NVP*) and b) no consensus exists for defining an altered function/parameter (*ABCC* genes and *TDF*).

In the first scenario, the target affected by genetic variants is linked with a well-defined condition, and therefore is easy to interpret. The association between *HLA-B*5701* and *ABC*-HSR is the best example of the usefulness in bringing pharmacogenetics to the clinic. This genetic test has demonstrated to be cost-effective in most ethnic groups and current guidelines for ARV therapy advice to perform it prior initiation of *ABC* containing regimens. The Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium (CPIC) guidelines are published and updated periodically on <http://www.pharmgkb.org> in order to provide recommendations for the use of *ABC* based on *HLA-B* genotype.

In the case of *ATV*, the most relevant polymorphisms are those affecting *UGT1A1* and P-gp activity. Polymorphisms in the P-gp influence *ATV* plasma concentrations which are related both with response and increases in bilirubin plasma levels. This is particularly important when *ATV* is administered unboosted or in those pre-treated patients in whom greater *ATV* concentrations may be needed to inhibit virus replication, as well as in those patients with Gilbert's syndrome. Genotyping for *UGT1A1*28* and screening for *ABCB1 3435C>T* polymorphism would identify HIV-infected individuals at risk of developing hyperbilirubinemia and decrease episodes of jaundice.

Regarding NNRTIs, slow metabolizer recipients (*CYP2B6-TT*) could help to guide dose reductions and prevent toxicities and resistance after drug discontinuation in *EFV* recipients. Likewise, genetic screening for preventing the HRS and the risk hepatotoxicity would be a promising approach toward a safer use of NPV in clinical practice.

The second scenario is that in which no consensus exists for defining an altered function/parameter. This is the case of *TDF* and its association with kidney tubular dysfunction (KTD), in which neither the criteria to define KTD nor the mechanism implicated is well established. Several polymorphisms in renal transport proteins have been proposed to play a role in the development of KTD as well as higher *TDF* plasma levels. One of the main clinical consequences of the KTD is the phosphate waste which can ultimately lead to osteopenia and osteoporosis. In this regard, information derived from pharmacogenetics and pharmacokinetics studies may help to identify the subset of individuals at greater risk for developing more severe renal injury and loss of bone density.

In the lights of the above, the more tools the clinicians manage, the better clinical outcome will be achieved. Available pharmacogenetic tests combined with therapeutic drug monitoring (TDM) of parent drugs and/or metabolites, would be a complementary tool when attempts are made to individualize dosing regimen, maximize drug efficacy and enhance drug safety. In a recent review about pharmacogenomics, Rotimi and Jorde [121] also highlight the need for depth analysis of the available GWAS data, more advances in technologies and sequencing the complete genome (whole-genome sequencing-WGS-) to identify low frequency or rare variants that are associated with HIV infection. In addition, data collections should be extended to as many diverse populations as possible, being particularly important in African populations due to the high HIV prevalence rate and the high level of genetic diversity. In the future, the individualized medicine will likely consist of a combined approach using the knowledge of drug, virus, and host factors information to guide the personalized prescription in which, the right drug will be given to the right person.

References

1. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, et al. (2002) Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 359: 30-36.
2. Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB (2004) Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 75: 13-33.
3. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, et al. (2001) Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS* 15: 71-75.
4. Yamano S, Nhamburo PT, Aoyama T, Meyer UA, Inaba T, et al. (1989) cDNA cloning and sequence and cDNA-directed expression of human P450 IIB1: identification of a normal and two variant cDNAs derived from the *CYP2B* locus on chromosome 19 and differential expression of the IIB mRNAs in human liver. *Biochemistry*. 28: 7340-8.
5. Lang T, Klein K, Fischer J, Nüssler AK, Neuhaus P, et al. (2001) Extensive genetic polymorphism in the human *CYP2B6* gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics* 11: 399-415.
6. Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, et al. (2005) Influence of *CYP2B6* polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 15: 1-5.
7. Haas DW, Ribaldo HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, et al. (2004) Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group Study. *AIDS* 18: 2391-2400.

8. Rodríguez-Novoa S, Barreiro P, Rendón A, Jiménez-Nacher I, González-Lahoz J, et al. (2005) Influence of 516G>T polymorphisms at the gene encoding the CYP450-2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis* 40: 1358-1361.
9. Ribaud HJ, Haas DW, Tierney C, Kim RB, Wilkinson GR, et al. (2006) Pharmacogenetics of plasma efavirenz exposure after treatment discontinuation: an Adult AIDS Clinical Trials Group Study. *Clin Infect Dis* 42: 401-407.
10. Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N, Teruya K, Kikuchi Y, et al. (2004) Homozygous CYP2B6 *6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. *Biochem Biophys Res Commun* 319: 1322-1326.
11. Klein K, Lang T, Saussele T, Barbosa-Sicard E, Schunck WH, et al. (2005) Genetic variability of CYP2B6 in populations of African and Asian origin: allele frequencies, novel functional variants, and possible implications for anti-HIV therapy with efavirenz. *Pharmacogenet Genomics* 15: 861-873.
12. Wyen C, Hendra H, Vogel M, Hoffmann C, Knechten H, et al. (2008) Impact of CYP2B6 983T>C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 61: 914-918.
13. Ribaud HJ, Liu H, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, et al. (2010) Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group Study. *J Infect Dis* 202: 717-722.
14. Wang J, Sönnnerborg A, Rane A, Josephson F, Lundgren S, et al. (2006) Identification of a novel specific CYP2B6 allele in Africans causing impaired metabolism of the HIV drug efavirenz. *Pharmacogenet Genomics* 16: 191-198.
15. Rotger M, Tegude H, Colombo S, Cavassini M, Furrer H, et al. (2007) Predictive value of known and novel alleles of CYP2B6 for efavirenz plasma concentrations in HIV-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther* 81: 557-566.
16. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadée W (2005) Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics* 15: 693-704.
17. Heil SG, van der Ende ME, Schenk PW, van der Heiden I, Lindemans J, et al. (2012) Associations between ABCB1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2D6, and CYP3A5 alleles in relation to efavirenz and nevirapine pharmacokinetics in HIV-infected individuals. *Ther Drug Monit* 34: 153-159.
18. Winzer R, Langmann P, Zilly M, Tollmann F, Schubert J, et al. (2003) No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res* 8: 531-534.
19. Sánchez A, Cabrera S, Santos D, Valverde MP, Fuertes A, et al. (2011) Population pharmacokinetic/pharmacogenetic model for optimization of efavirenz therapy in Caucasian HIV-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 5314-5324.
20. Wainberg MA (2003) HIV resistance to nevirapine and other non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34: S2-S7.
21. Dieterich DT, Robinson PA, Love J, Stern JO (2004) Drug-induced liver injury associated with the use of nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors. *Clin Infect Dis* 38: S80-89.
22. Stern JO, Robinson PA, Love J, Lanes S, Imperiale MS, et al. (2003) A comprehensive hepatic safety analysis of nevirapine in different populations of HIV infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34: S21-33.
23. Yuan J, Guo S, Hall D, Cammett AM, Jayadev S, et al. (2011) Toxicogenomics of nevirapine-associated cutaneous and hepatic adverse events among populations of African, Asian, and European descent. *AIDS* 25: 1271-1280.
24. Martin AM, Nolan D, James I, Cameron P, Keller J, et al. (2005) Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1*0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *AIDS* 19: 97-99.
25. Vitezica ZG, Milpied B, Lonjou C, Borot N, Ledger TN, et al. (2008) HLA-DRB1*01 associated with cutaneous hypersensitivity induced by nevirapine and efavirenz. *AIDS* 22: 540-541.
26. Littera R, Carcassi C, Masala A, Piano P, Serra P, et al. (2006) HLA-dependent hypersensitivity to nevirapine in Sardinian HIV patients. *AIDS* 20: 1621-1626.
27. Gatanaga H, Yazaki H, Tanuma J, Honda M, Genka I, et al. (2007) HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *AIDS* 21: 264-265.
28. Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, et al. (2009) HLA-B*3505 allele is a strong predictor for nevirapine-induced skin adverse drug reactions in HIV-infected Thai patients. *Pharmacogenet Genomics* 19: 139-146.
29. Phillips E, Bartlett JA, Sanne I, Lederman MM, Hinkle J, et al. (2013) Associations between HLA-DRB1*0102, HLA-B*5801, and hepatotoxicity during initiation of nevirapine-containing regimens in South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr* 62: e55-57.
30. Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, et al. (2011) Genome-wide association study identifies variations in 6p21.3 associated with nevirapine-induced rash. *Clin Infect Dis* 53: 341-348.
31. Erickson DA, Mather G, Trager WF, Levy RH, Keirns JJ (1999) Characterization of the in vitro biotransformation of the HIV-1 reverse transcriptase inhibitor nevirapine by human hepatic cytochromes P-450. *Drug Metab Dispos* 27: 1488-1495.
32. Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, et al. (2005) Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 15: 1-5.
33. Mahungu T, Smith C, Turner F, Egan D, Youle M, et al. (2009) Cytochrome P450 2B6 516G-->T is associated with plasma concentrations of nevirapine at both 200 mg twice daily and 400 mg once daily in an ethnically diverse population. *HIV Med* 10: 310-317.
34. Chou M, Bertrand J, Segéral O, Verstuyft C, Borand L, et al. (2010) Population pharmacokinetic-pharmacogenetic study of nevirapine in HIV-infected Cambodian patients. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 4432-4439.
35. Wyen C, Hendra H, Vogel M, Hoffmann C, Knechten H, et al. (2008) Impact of CYP2B6 983T>C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 61: 914-918.
36. Schipani A, Wyen C, Mahungu T, Hendra H, Egan D, et al. (2011) Integration of population pharmacokinetics and pharmacogenetics: an aid to optimal nevirapine dose selection in HIV-infected individuals. *J Antimicrob Chemother* 66: 1332-1339.
37. Ritchie MD, Haas DW, Motsinger AA, Donahue JP, Erdem H, et al. (2006) Drug transporter and metabolizing enzyme gene variants and nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor hepatotoxicity. *Clin Infect Dis* 43: 779-782.
38. Haas DW, Bartlett JA, Andersen JW, Sanne I, Wilkinson GR, et al. (2006) Pharmacogenetics of nevirapine-associated hepatotoxicity: an Adult AIDS Clinical Trials Group collaboration. *Clin Infect Dis* 43: 783-786.
39. Ciccacci C, Borgiani P, Ceffa S, Sirianni E, Marazzi MC, et al. (2010) Nevirapine-induced hepatotoxicity and pharmacogenetics: a retrospective study in a population from Mozambique. *Pharmacogenomics* 11: 23-31.
40. Dickinson L, Khoo S, Back D (2010) Pharmacokinetic evaluation of etravirine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 6: 1575-1585.
41. Lubomirov R, Arab-Alameddine M, Rotger M, Fayet-Mello A, Martinez R, et al. (2013) Pharmacogenetics-based population pharmacokinetic analysis of etravirine in HIV-1 infected individuals. *Pharmacogenet Genomics* 23: 9-18.
42. Lee CG, Gottesman MM, Cardarelli CO, Ramachandra M, Jeang KT, et al. (1998) HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry* 37: 3594-3601.
43. Kim RB (2003) Drug transporters in HIV Therapy. *Top HIV Med* 11: 136-139.
44. Walubo A (2007) The role of cytochrome P450 in antiretroviral drug interactions. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 3: 583-598.
45. Zastre JA, Chan GN, Ronaldson PT, Ramaswamy M, Couraud PO, et al. (2009) Up-regulation of P-glycoprotein by HIV protease inhibitors in a human brain microvessel endothelial cell line. *J Neurosci Res* 87: 1023-1036.
46. Kis O, Zastre JA, Hoque MT, Walmsley SL, Bendayan R (2013) Role of drug efflux and uptake transporters in atazanavir intestinal permeability and drug-drug interactions. *Pharm Res* 30: 1050-1064.
47. Rodríguez Nóvoa S, Barreiro P, Rendón A, Barrios A, Corral A, et al. (2006) Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C-->T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clin Infect Dis* 42: 291-295.

48. Rodríguez-Nóvoa S, Martín-Carbonero L, Barreiro P, González-Pardo G, Jiménez-Nácher I, et al. (2007) Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS* 21: 41-46.
49. Soranzo N, Cavalleri GL, Weale ME, Wood NW, Depondt C, et al. (2004) Identifying candidate causal variants responsible for altered activity of the ABCB1 multidrug resistance gene. *Genome Res* 14: 1333-1344.
50. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, et al. (2000) Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 3473-3478.
51. Kroetz DL, Pauli-Magnus C, Hodges LM, Huang CC, Kawamoto M, et al. (2003) Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene. *Pharmacogenetics* 13: 481-494.
52. Janneh O, Anwar T, Jungbauer C, Kopp S, Khoo SH, et al. (2009) P-glycoprotein, multidrug resistance-associated proteins and human organic anion transporting polypeptide influence the intracellular accumulation of atazanavir. *Antivir Ther* 14: 965-74.
53. Siccardi M, D'Avolio A, Baietto L, Gibbons S, Sciadra M, et al. (2008) Association of a single-nucleotide polymorphism in the pregnane X receptor (PXR 63396C->T) with reduced concentrations of unboosted atazanavir. *Clin Infect Dis* 47: 1222-1225.
54. Schipani A, Siccardi M, D'Avolio A, Baietto L, Simiele M, et al. (2010) Population pharmacokinetic modeling of the association between 63396C->T pregnane X receptor polymorphism and unboosted atazanavir clearance. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 5242-5250.
55. Siccardi M, D'Avolio A, Bonora S, Baietto L, Gatti D et al. (2009) Combined effect of SLCO1B1 521T>C, PXR 63396C>T and ABCB1 3435C>T on the achievement of therapeutic concentrations of unboosted atazanavir. *Proceedings of the 10th International Workshop on Clinical Pharmacology of HIV Therapy*.
56. Bonora S, Vigano O, Calcagno A, Cusato J, Lanzafame M, et al. (2013) Pharmacogenetics-based Schedule Adjustment of Unboosted Atazanavir Associated with Tenofovir/Emtricitabine: A Randomized Controlled Study (REYAGEN). *Proceedings of the 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*.
57. Busti AJ, Hall RG, Margolis DM (2004) Atazanavir for the treatment of human immunodeficiency virus infection. *Pharmacotherapy* 24: 1732-1747.
58. Barrios A, Rendón AL, Gallego O, Martín-Carbonero L, Valer L, et al. (2004) Predictors of virological response to atazanavir in protease inhibitor-experienced patients. *HIV Clin Trials* 5: 201-205.
59. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, et al. (1995) The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 333(18): 1171-5.
60. Monaghan G, Ryan M, Seddon R, Hume R, Burchell B (1996) Genetic variation in bilirubin UPD-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* 347: 578-581.
61. Rotger M, Taffe P, Bleiber G, Gunthard HF, Furrer H, et al. (2005) Gilbert syndrome and the development of antiretroviral therapy-associated hyperbilirubinemia. *J Infect Dis* 192: 1381-1386.
62. Turatti L, Sprinz E, Lazzaretti RK, Kuhmmer R, Agnes G, et al. (2012) Short communication: UGT1A1*28 variant allele is a predictor of severe hyperbilirubinemia in HIV-infected patients on HAART in southern Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses* 28: 1015-1018.
63. Johnson D, Venuto C, Daar ES, Morse GD, Sax P, et al. (2013) Genome-wide Association Study of Atazanavir Pharmacokinetics (PK) and Indirect Hyperbilirubinemia. Abstract 520. *Proceedings of the 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, March 3-6, 2013, Atlanta.
64. Smith NF, Figg WD, Sparreboom A (2005) Role of the liver-specific transporters OATP1B1 and OATP1B3 in governing drug elimination. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 1: 429-445.
65. Kohlrausch FB, de Cássia Estrela R, Barroso PF, Suarez-Kurtz G (2010) The impact of SLCO1B1 polymorphisms on the plasma concentration of lopinavir and ritonavir in HIV-infected men. *Br J Clin Pharmacol* 69: 95-98.
66. Hartkoorn RC, Kwan WS, Shallcross V, Chaikan A, Liptrott N, et al. (2010) HIV protease inhibitors are substrates for OATP1A2, OATP1B1 and OATP1B3 and lopinavir plasma concentrations are influenced by SLCO1B1 polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics* 20: 112-120.
67. Schipani A, Egan D, Dickinson L, Davies G, Boffito M, et al. (2012) Estimation of the effect of SLCO1B1 polymorphisms on lopinavir plasma concentration in HIV-infected adults. *Antivir Ther* 17: 861-868.
68. Elens L, Yombi JC, Lison D, Wallemacq P, Vandercam B, et al. (2009) Association between ABCC2 polymorphism and lopinavir accumulation in peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients. *Pharmacogenomics* 10: 1589-1597.
69. Schuetz JD, Connelly MC, Sun D, Paibir SG, Flynn PM, et al. (1999) MRP4: A previously unidentified factor in resistance to nucleoside-based antiviral drugs. *Nat Med* 5: 1048-1051.
70. Hetherington S, McGuirk S, Powell G, Cutrell A, Naderer O, et al. (2001) Hypersensitivity reactions during therapy with the nucleoside reverse transcriptase inhibitor abacavir. *Clin Ther* 23: 1603-1614.
71. Hewitt RG (2002) Abacavir hypersensitivity reaction. *Clin Infect Dis* 34: 1137-1142.
72. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, et al. (2002) Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 359: 727-732.
73. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, et al. (2002) Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet* 359: 1121-1122.
74. Rodríguez-Nóvoa S, García-Gascó P, Blanco F, González-Pardo G, Castellares C, et al. (2007) Value of the HLA-B*5701 allele to predict abacavir hypersensitivity in Spaniards. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23: 1374-1376.
75. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, et al. (2008) HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 358: 568-579.
76. Maiers M, Gragert L, Klitz W (2007) High-resolution HLA alleles and haplotypes in the United States population. *Hum Immunol* 68: 779-788.
77. Li S, Jiao H, Yu X, Strong AJ, Shao Y, et al. (2007) Human leukocyte antigen class I and class II allele frequencies and HIV-1 infection associations in a Chinese cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 44: 121-131.
78. Saag M, Balu R, Phillips E, Brachman P, Martorell C, 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: 1111-1118.
79. Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, Telenti A, Benson C, et al. (2012) Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel. *JAMA* 308: 387-402.
80. O'Neal R (2011) Rilpivirine and complera: new first-line treatment options. *BETA* 23: 14-18.
81. Martin MA, Klein TE, Dong BJ, Pirmohamed M, Haas DW, et al. (2012) Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for HLA-B genotype and abacavir dosing. *Clin Pharmacol Ther* 91: 734-738.
82. Colombo S, Rauch A, Rotger M, Fellay J, Martinez R, et al. (2008) The HCP5 single-nucleotide polymorphism: a simple screening tool for prediction of hypersensitivity reaction to abacavir. *J Infect Dis* 198: 864-867.
83. Sanchez-Giron F, Villegas-Torres B, Jaramillo-Villafuerte K, Silva-Zolezzi I, Fernandez-Lopez JC, et al. (2011) Association of the genetic marker for abacavir hypersensitivity HLA-B*5701 with HCP5 rs2395029 in Mexican Mestizos. *Pharmacogenomics* 12: 809-814.
84. Rodríguez-Nóvoa S, Cuenca L, Morello J, Córdoba M, Blanco F, et al. (2010) Use of the HCP5 single nucleotide polymorphism to predict hypersensitivity reactions to abacavir: correlation with HLA-B*5701. *J Antimicrob Chemother* 65: 1567-1569.
85. Galván CA, Elbarcha OC, Fernández EJ, Beltramo DM, Soria NW (2011) Rapid HCP5 single-nucleotide polymorphism genotyping: a simple allele-specific PCR method for prediction of hypersensitivity reaction to Abacavir. *Clin Chim Acta* 412: 1382-1384.
86. Melis R, Lewis T, Millson A, Lyon E, McMillin GA, et al. (2012) Copy number variation and incomplete linkage disequilibrium interfere with the HCP5 genotyping assay for abacavir hypersensitivity. *Genet Test Mol Biomarkers* 16: 1111-1114.
87. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, et al. (2004) Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 292: 191-201.

88. Nelson MR, Katlama C, Montaner JS, Cooper DA, Gazzard B, et al. (2007) The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: the first 4 years. *AIDS* 21: 1273-1281.
89. Arribas JR, Pozniak AL, Gallant JE, Dejesus E, Gazzard B, et al. (2008) Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naive patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 47: 74-78.
90. Coca S, Perazella MA (2002) Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci* 324: 342-344.
91. Mauss S, Berger F, Schmutz G (2005) Antiretroviral therapy with tenofovir is associated with mild renal dysfunction. *AIDS* 19: 93-95.
92. Goicoechea M, Liu S, Best B, Sun S, Jain S, et al. (2008) Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis* 197: 102-108.
93. Kinai E, Hanabusa H (2009) Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25: 387-394.
94. Cihlar T, Ho ES, Lin DC, Mulato AS (2001) Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 20: 641-648.
95. Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, Tong L, Vela JE, et al. (2006) Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 3297-3304.
96. Mallants R, Van Oosterwyck K, Van Vaecck L, Mols R, De Clercq E, 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: 1055-1066.
97. Imaoka T, Kusuhashi H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, 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: 619-627.
98. Kiser JJ, Aquilante CL, Anderson PL, King TM, Carten ML, et al. (2008) Clinical and genetic determinants of intracellular tenofovir diphosphate concentrations in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 47: 298-303.
99. Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, et al. (2009) Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis* 48: e108-116.
100. Izzedine H, Hulot JS, Villard E, Goyenvalle C, Dominguez S, et al. (2006) Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis* 194: 1481-1491.
101. Pushpakom SP, Liptrott NJ, Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, Soriano V, et al. (2010) Genetic variants of *ABCC10* are associated with kidney tubular dysfunction in patients treated with tenofovir-containing regimens. Abstract 742. Proceedings of the 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections.
102. Peyrière H, Reynes J, Rouanet I, Daniel N, de Boever CM, et al. (2004) Renal tubular dysfunction associated with tenofovir therapy: report of 7 cases. *J Acquir Immune Defic Syndr* 35: 269-273.
103. Ter Heine R, Huitema AD, Jansen RS, Smits PH, van Gorp EC, et al. (2009) Prolonged exposure to tenofovir monotherapy 1 month after treatment discontinuation because of tenofovir-related renal failure. *Antivir Ther* 14: 299-301.
104. Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, D'Avolio A, Barreiro P, Albalater M, et al. (2010) Impairment in kidney tubular function in patients receiving tenofovir is associated with higher tenofovir plasma concentrations. *AIDS* 24: 1064-1066.
105. Iwamoto M, Hanley WD, Petry AS, Friedman EJ, Kost JT, et al. (2009) Lack of a clinically important effect of moderate hepatic insufficiency and severe renal insufficiency on raltegravir pharmacokinetics. *Antimicrob Agents Chemother* 53: 1747-1752.
106. Steigbigel RT, Cooper DA, Teppler H, Eron JJ, Gatell JM, et al. (2010) Long-term efficacy and safety of Raltegravir combined with optimized background therapy in treatment-experienced patients with drug-resistant HIV infection: week 96 results of the BENCHMRK 1 and 2 Phase III trials. *Clin Infect Dis* 50: 605-612.
107. Lennox JL, Dejesus E, Berger DS, Lazzarin A, Pollard RB, et al. (2010) Raltegravir versus Efavirenz regimens in treatment-naive HIV-1-infected patients: 96-week efficacy, durability, subgroup, safety, and metabolic analyses. *J Acquir Immune Defic Syndr* 55: 39-48.
108. Brainard DM, Friedman EJ, Jin B, Breidinger SA, Tillan MD, et al. (2011) Effect of low-, moderate-, and high-fat meals on raltegravir pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 51: 422-427.
109. Wenning LA, Petry AS, Kost JT, Jin B, Breidinger SA, et al. (2009) Pharmacokinetics of raltegravir in individuals with UGT1A1 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 85: 623-627.
110. Neely M, Decosterd L, Fayet A, Lee JS, Margol A, et al. (2010) Pharmacokinetics and pharmacogenomics of once-daily raltegravir and atazanavir in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 4619-4625.
111. Zembruski NC, Büchel G, Jödicke L, Herzog M, Haefeli WE, et al. (2011) Potential of novel antiretrovirals to modulate expression and function of drug transporters *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 66: 802-812.
112. Minuesa G, Erkizia I, Arimany-Nardi C, Pastor-Anglada M, Clotet B, et al. (2012) The Intracellular Disposition of Raltegravir Is Dependent on P-gp (*ABCB1*) Activity and Is Significantly Reduced in Primary CD4+ P-gp^{high} T Cells. Proceedings of the 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections.
113. Álvarez E, Cuenca L, Morello J, Garrido C, Vispo E, et al. (2011) Polymorphisms in the *ABCB1* gene (P-glycoprotein) influences raltegravir concentration. Proceedings of the 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment.
114. Moss DM, Kwan WS, Liptrott NJ, Smith DL, Siccardi M, et al. (2011) Raltegravir is a substrate for *SLC22A6*: a putative mechanism for the interaction between raltegravir and tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 879-887.
115. Westby M, van der Ryst E (2005) CCR5 antagonists: host-targeted antivirals for the treatment of HIV infection. *Antivir Chem Chemother* 16: 339-354.
116. Guérin S, Meyer L, Theodorou I, Boufassa F, Magierowska M, et al. (2000) CCR5 delta32 deletion and response to highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *AIDS* 14: 2788-2790.
117. Brumme ZL, Chan KJ, Dong W, Hogg R, O'Shaughnessy MV, et al. (2001) CCR5Delta32 and promoter polymorphisms are not correlated with initial virological or immunological treatment response. *AIDS* 15: 2259-2266.
118. Abel S, Russell D, Taylor-Worth RJ, Ridgway CE, Muirhead GJ. (2008) Effects of CYP3A4 inhibitors on the pharmacokinetics of maraviroc in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 65: 27-37.
119. Siccardi M, D'Avolio A, Nozza S, Simiele M, Baietto L, et al. (2010) Maraviroc is a substrate for OATP1B1 *in vitro* and maraviroc plasma concentrations are influenced by *SLCO1B1* 521 T>C polymorphism. *Pharmacogenet Genomics* 20: 759-765.
120. Vandekerckhove LP, Wensing AM, Kaiser R, Brun-Vézinet F, Clotet B, et al. (2011) European guidelines on the clinical management of HIV-1 tropism testing. *Lancet Infect Dis* 11: 394-407.
121. Rotimi CN, Jorde LB (2010) Ancestry and disease in the age of genomic medicine. *N Engl J Med* 363: 1551-1558.

X. ABREVIATURAS

3TC: Lamivudina.

ABC: Abacavir.

ABC: Área Bajo la Curva.

ABCB: del inglés ATP-binding cassette subfamily-B (superfamilia de transportadores dependientes de ATP, subfamilia B).

ABCC: del inglés ATP-binding cassette subfamily-C (superfamilia de transportadores dependientes de ATP, subfamilia C).

ADN: Ácido DesoxirriboNucleico.

ADNc: ADN complementario.

ADNccc: ADN circular covalentemente cerrado.

ADNds: ADN de cadena doble

ADNmt: ADN mitocondrial.

ALT: alanina aminotransferasa.

APV: Amprenavir.

ARN: Ácido RiboNucleico.

ARNm: Ácido RiboNucleico mensajero.

ARNss: Ácido RiboNucleico de cadena sencilla.

ARV: Antirretroviral.

ATP: del inglés, Adenosine 5'TriPhosphate (adenosina 5'trifosfato).

ATV: Atazanavir.

AZT: Zidovudina.

C_{12h} :Concentración a las 12 horas

CCR5: C-C chemokine receptor type 5

CG: Cockcroft-Gault.

CKD-EPI: del inglés Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration.

ClCr: Aclaramiento de creatinina.

COBI: Cobicistat.

CrS: Creatinina Sérica.

CV: Carga viral plasmática.

C_{valle}: concentración plasmática Valle.

CXCR4: CXC chemokine Receptor 4

CYP450: Sistema enzimático Citocromo P-450

D4t: Estavudina.

ddl: Didanosina.

ddx: dideoxiuridina.

DEXA: del inglés Dual-energy X-ray absorptiometry (absorciometría de rayos X de doble energía)

DRV: Darunavir.

DTP: Daño Tubular Proximal.

DTR: Disfunción Tubular Renal.

EA: Efecto Adverso.

EDTA: del inglés, Etilen-Diamine-Tetraacetic Acid (ácido etilendiaminotetracético).

EF: Excreción fraccionada.

EFac: Excreción Fraccionada de ácido úrico.

EFV: Efavirenz.

EMA: del inglés, European Medicines Agency (agencia europea de medicamentos).

ENF: Enfuvirtida (T20).

ERC: Enfermedad Renal Crónica.

ETF: Excreción Total de Fosfato.

ETR: Etravirina.

EVG: Elvitegravir.

FDA: Food and Drug Administration

FG: Filtrado glomerular.

FTC: Emtricitabina.

gp: Glicoproteína.

GWAS: del inglés, Genome Wide Association Studies (estudios de asociación de genoma completo).

HLA: del inglés, Human Leukocyte Antigen (antígeno leucocitario humano).

HPLC: del inglés High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Resolución).

HTA: Hipertensión arterial.

ABREVIATURAS

IC50: Concentración de fármaco necesaria para inhibir la producción viral un 50%.

IDV: Indinavir.

IF: Inhibidores de la fusión.

IN: Integrasa Viral.

InIN: Inhibidores de la Integrasa.

IP/r: Inhibidores de proteasa potenciados con ritonavir.

IP: Inhibidores de la proteasa

IQR: del inglés, interquartile range (rango intercuartílico).

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido

ITINAN(t): Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleótido

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido

Kb: Kilobases

LMWP: del inglés Low Molecular Weight Proteins (proteínas de bajo peso molecular).

LPV: Lopinavir.

MCH: del inglés Major Histocompatibility Complex (complejo mayor de histocompatibilidad).

MCP: Monitorización de Concentraciones Plasmáticas.

MDRD: del inglés Modification of Diet in Renal Disease.

MRP: del inglés Multidrug resistance-associated protein (Proteína de Multirresistencia a fármacos).

MVC: Maraviroc

NAG: del inglés N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (enzima N-acetil-beta-D-glucosaminidasa).

NAVIH: Nefropatía asociada a VIH.

NCBI: del inglés National Center for Biotechnology Information (centro nacional de información biotecnológica).

NGAL: del inglés Neutrophil gelatinase associated lipocalin (lipocalina asociada a la neutrófilo gelatinasa).

NK: del inglés, Natural Killer.

NPTa: del inglés, Sodio-Phosphate (Na-P) Cotransporter, type IIa (Transportador de Na-K, tipo IIa, también NaP11a)

NVP: Nevirapina.

OAT: del inglés Organic Anion Transporter (proteína transportadora de aniones orgánicos)

OATP: del inglés organic anion transporter polypeptide (polipéptidos transportadores de aniones orgánicos).

OR: del inglés odds ratio (razón de probabilidades).

PCR: del inglés Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa).

pegIFN: interferón pegilado.

P-gp: del inglés P-glycoprotein (glicoproteína-P)

PR: proteasa.

RAL: Raltegravir.

RBP: del inglés Retinol Binding Protein (Proteína de unión a Retinol).

RBV: ribavirina.

RHS: Reacción de Hipersensibilidad.

ROC: del inglés Receiver Operating Characteristic.

RPV: Rilpivirina.

RT: del inglés Retrotranscriptase (Transcriptasa Inversa Viral).

RTF: Reabsorción Tubular de Fosfato

RT-PCR: del inglés Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa).

RTV: Ritonavir.

SF: Síndrome de Fanconi.

SI: estándar interno.

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

SLC: del inglés SoLute Carrier (transportador de soluto).

SNP: del inglés Single Nucleotide Polymorphism (polimorfismo de nucleótido único).

SQV: Saquinavir.

TAR: Tratamiento Antirretroviral.

TARGA: Terapia Antirretroviral de Gran Actividad.

TDF: Tenofovir.

TFG: Tasa de Filtrado Glomerular.

ABREVIATURAS

TFV: Tenofovir disoproxil.

TI: Transcriptasa Inversa Viral.

TmPO4: Tasa máxima de reabsorción de fosfato.

TPV: Tipranavir.

UNAIDS: del inglés The Joint United Nations Programme on HIV and AIDS.

VHB: Virus de la Hepatitis B.

VHC: Virus de la Hepatitis C.

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

