

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTÔNIO MORAES

CARLOS EDUARDO ANDRADE FIOROTI

**TOXICIDADE RENAL E ÓSSEA INDUZIDA POR TENOFOFIR: RELATO DE CASO
E REVISÃO DE LITERATURA**

VITÓRIA
2020

CARLOS EDUARDO ANDRADE FIOROTI

**TOXICIDADE RENAL E ÓSSEA INDUZIDA POR TENOFOSFIR: RELATO DE CASO
E REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, como requisito parcial para obtenção do título de Residência Médica em Nefrologia.

Orientador: Prof. Dr. Weverton Machado Luchi

Vitória
2020

CARLOS EDUARDO ANDRADE FIOROTI

**TOXICIDADE RENAL E ÓSSEA INDUZIDA POR TENOFOFIR:RELATO DE CASO
E REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, como requisito parcial para obtenção do título de Residência Médica em Nefrologia.

Aprovada em _____ de _____ de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Weverton Machado Luchi
Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes - UFES
Orientador

Prof. Dr. Lauro Monteiro Vasconcellos Filho
Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes - UFES

Dra. Myriam Santos Almeida
Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes - UFES

RESUMO

O tenofovir disoproxil fumarato (TDF) é o análogo de nucleosídeo que está entre os antirretrovirais de escolha para compor a terapia inicial de portadores do vírus HIV e hepatite B. Apesar da significativa eficácia, boa tolerabilidade e menor incidência de efeitos adversos metabólicos, o TDF responde por mais da metade dos casos de tubulopatias causadas pelos antirretrovirais em pacientes HIV.

As alterações são mais evidentes após o primeiro ano de uso, e acomete especialmente o túbulo proximal, induzindo fosfatúria, podendo evoluir nos casos mais graves para Síndrome de Fanconi e necrose tubular aguda. Pode também cursar com diabetes insípido nefrogênico e progredir com doença renal crônica (DRC). O mecanismo de lesão renal ainda não é completamente compreendido, porém sabe-se que há toxicidade ao DNA mitocondrial, estresse oxidativo e estímulo a vias de apoptose, prejudicando mecanismos de transporte molecular, acidificação urinária e produção de calcitriol.

Além do envolvimento renal, esta droga está intimamente relacionada a toxicidade óssea, caracterizada por alterações na densidade mineral óssea, osteomalácia, osteonecrose e fraturas. Essas alterações estão relacionadas a alteração da expressão de genes em osteoblastos e osteoclastos, fosfatúria, acidose e alteração no metabolismo da vitamina D, gerando um hiperparatireoidismo secundário sustentado.

Em geral o tratamento dos pacientes consiste em suspensão da droga, correção dos distúrbios hidroeletrólíticos e da acidose associados à tubulopatia proximal, além de suplementação de vitamina D e tratamento da osteoporose quando presente. É de extrema importância monitorizar a função glomerular, tubular e marcadores de metabolismo ósseo dos pacientes em uso de TDF, principalmente os de alto risco, devido o elevado percentual de pacientes que persiste com disfunção renal mesmo após suspensão do medicamento.

Neste trabalho serão relatados dois casos clínicos de toxicidade renal e óssea acompanhados no ambulatório de Nefrologia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM), bem como uma revisão da literatura sobre o assunto, para que, posteriormente sirva de base para criação de um protocolo de monitoramento do envolvimento renal e ósseo dos pacientes em uso de TDF atendidos no HUCAM.

Palavras-chave: Tenofovir. Nefrotoxicidade. Tubulopatia. Toxicidade óssea.

ABSTRACT

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is the nucleoside analogue that is among the antiretrovirals of choice for the initial therapy of HIV and hepatitis B carriers. Despite the significant efficacy, good tolerability and lower incidence of metabolic adverse effects, TDF accounts for more than half of the cases of tubulopathies caused by antiretrovirals in HIV patients.

The changes are more evident after the first year of use, and especially affect the proximal tubule, inducing phosphaturia, which may progress in the most severe cases to Fanconi syndrome and acute tubular necrosis. It can also develop nephrogenic diabetes insipidus and progress with chronic kidney disease (CKD). The mechanism of kidney injury is not yet fully understood, but it is known that there is toxicity to mitochondrial DNA, oxidative stress and stimulation of apoptosis pathways, impairing molecular transport mechanisms, urinary acidification and calcitriol production.

In addition to renal involvement, this drug is closely related to bone toxicity, characterized by changes in bone mineral density, osteomalacia, osteonecrosis and fractures. These changes are related to changes in gene expression in osteoblasts and osteoclasts, phosphaturia, acidosis and changes in vitamin D metabolism, generating sustained secondary hyperparathyroidism.

In general, the treatment of patients consists of drug suspension, correction of hydroelectrolytic disorders and acidosis associated with proximal tubulopathy, in addition to vitamin D supplementation and treatment of osteoporosis when present. It is extremely important to monitor the glomerular, tubular function and bone metabolism markers of patients in use of TDF, especially those at high risk, due to the high percentage of patients who persist with renal dysfunction even after drug withdrawal.

In this paper, two cases of renal and bone toxicity followed up at the Nephrology outpatient clinic of Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM) will be reported, as well as a review of the literature on the subject, so that, later on, it may serve as a basis for creating a protocol for monitoring renal and bone involvement of patients using TDF treated at HUCAM.

Keywords: Tenofovir. Nephrotoxicity. Tubulopathy. Bone toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Ressonância magnética de quadril	14
Figura 02 – Tomografia computadorizada de tórax	14
Figura 03 – Tomografia computadorizada de pelve	15
Figura 04 – Raio-x de pelve	15
Figura 05 – Vias de transporte do tenofovir	17
Figura 06 – Mecanismos moleculares de lesão renal pelo tenofovir	18
Figura 07 – Microscopia óptica na nefropatia induzida por tenofovir	20
Figura 08 – Microscopia eletrônica na nefropatia induzida por tenofovir	21
Figura 09 – Mecanismos de toxicidade óssea associada ao tenofovir	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Exames laboratoriais referentes ao caso clínico 1	13
Tabela 02 – Exames laboratoriais referentes ao caso clínico 2	16

LISTA DE ABREVIATURAS

TDF	Tenofovir disoproxil fumarato
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
DRC	Doença renal crônica
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes
FDA	Food and drug administration
IRA	Injúria renal aguda
DMO	Densidade mineral óssea
AZT	Zidovudina
3TC	Lamivudina
EAS	Exame de elementos e sedimentos anormais na urina
PTH	Paratormônio
Tm/TFG	Relação transporte máximo / Taxa de filtração glomerular
USG	Ultrassonografia
RNM	Ressonância nuclear magnética
TC	Tomografia computadorizada
EFZ	Efavirenz
OATs	Transportadores de ânions orgânicos
OAT-1	Transportador de ânion orgânico 1
OAT-3	Transportador de ânion orgânico 3
MRP-2	Proteína de resistência a multidrogas 2
MRP-3	Proteína de resistência a multidrogas 3
MRP-4	Proteína de resistência a multidrogas 4
DNA	Ácido desoxirribonucleico
mtDNA	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ATP	Trifosfato de adenosina
NTA	Necrose tubular aguda
DDI	Didanosina
TARV	Terapia antirretroviral
FRAX	Fractureriskassessment tool
TAF	Tenofovir alafenamida

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	08
2 – OBJETIVOS	10
3 – METODOLOGIA	11
4 – RELATO DE CASO	12
5 – REVISÃO DA LITERATURA	17
6 – DISCUSSÃO SOBRE O CASO	26
7 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 – INTRODUÇÃO

O tenofovir disoproxil fumarato (TDF) foi o primeiro inibidor da transcriptase reversa nucleotídeo aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Desde o seu lançamento em 2001 a droga se tornou amplamente utilizada e atualmente é um dos antirretrovirais mais utilizadas no mundo [1]. Sua alta atividade antiviral, perfil metabólico seguro e posologia favorável foram responsáveis por este sucesso. No Brasil o TDF faz parte do esquema de primeira linha para o tratamento da infecção pelo HIV e da Hepatite B crônica.

O TDF sofre depuração renal por uma combinação de filtração glomerular e secreção tubular e o mecanismo pelo qual ele causa lesão renal ainda não é completamente compreendido [2]. Apesar de grandes estudos prospectivos terem demonstrado que o TDF é relativamente seguro para o rim [3], diversos casos de nefrotoxicidade incluindo disfunção tubular, injúria renal aguda (IRA) e diabetes insípido nefrogênico têm sido relatados desde 2001 [4-10].

Os dados de segurança pós-comercialização cobrindo 455.392 pessoas-ano expostas ao TDF mostraram evento adverso renal grave em apenas 0,5% dos pacientes e elevações da creatinina sérica em 2,2% [3], porém a incidência de efeitos adversos varia bastante na literatura: de 1,6 por 100 pessoas-ano [11;12], a 1,5 por 1.000 pessoas / ano [3] demonstrando a inconsistência sobre o assunto.

Além do quadro de nefrotoxicidade, os pacientes em uso de TDF podem apresentar alterações na densidade mineral óssea (DMO) mais pronunciadas do que pacientes em uso de outros regimes antirretrovirais. A diminuição da DMO compatível com um diagnóstico de osteopenia ou osteoporose ocorre em 40 a 90% dos pacientes infectados pelo HIV [13]. Essa diminuição é mais pronunciada nos esquemas contendo TDF, sugerindo que o tenofovir tem um efeito ósseo independente do paciente, fatores virológicos e imunológicos [14]. Estudos sugerem que a alteração da expressão de genes em osteoblastos e osteoclastos, a fosfatúria, e a acidose e redução da produção de calcitriol no rim pelo dano tubular são os principais

responsáveis pela diminuição da DMO [15]. As fraturas são a complicação mais grave da doença óssea; em uma revisão de 164 pacientes com síndrome de Fanconi associada ao TDF, fraturas foram relatadas em 2% dos pacientes [16].

Por ser um medicamento amplamente utilizada na prática clínica, é de extrema relevância o conhecimento de seus efeitos adversos para que possamos monitorar adequadamente os pacientes, a fim de intervir precocemente e evitar danos induzidos pela droga. Neste trabalho serão relatados dois casos clínicos acompanhados no ambulatório de Nefrologia do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) em que foram evidenciados toxicidade renal e óssea associadas ao uso do TDF. Além disso, será realizado uma revisão de literatura sobre o tema, que servirá de base para a construção de um futuro protocolo de monitoramento dos pacientes em uso de TDF atendidos no HUCAM.

2 – OBJETIVOS

Relatar dois casos clínicos de toxicidade renal e óssea induzidas pelo TDF que se encontram em acompanhamento no ambulatório de Nefrologia do HUCAM e realizar uma revisão bibliográfica sobre o assunto para que sirva de base na construção de um futuro protocolo de atendimento dos pacientes em uso de TDF no HUCAM.

3- METODOLOGIA

Foi realizada pesquisa bibliográfica, utilizando o banco de dados PubMed/Medline (disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), com os seguintes localizadores: "tenofovirandnephrotoxicity"; "tenofovirandbonetoxicity".

Para o relato de caso foi realizada revisão do prontuário e dos exames complementares realizados pelos pacientes.

4 – RELATO DE CASO

Caso Clínico 1

Mulher de 55 anos, com diagnóstico de HIV há 13 anos, em uso de zidovudina, lamivudina e TDF, sendo este último introduzido há cerca de 2 anos. Foi admitida no setor de emergência do HUCAM com queixa de constipação intestinal e dores ósseas difusas, mais intensas no quadril. Relata que as dores surgiram há cerca de 1 ano, porém se intensificaram no último mês.

Rotina de abdome agudo afastou patologias obstrutivas. Exames laboratoriais (Tabela 1) evidenciaram acidose metabólica, hiperclôremia, hipocalcemia, hipofosfatemia, hipouricemia. Amilase, lipase e função hepática normais, sugerindo que o quadro abdominal era secundário a íleo metabólico. Apresentava função renal alterada com creatinina 2,41mg/dL, ureia 25mg/dL e um exame de elementos e sedimentos anormais da urina (EAS) com proteinúria e glicosúria. Urina de 24 horas demonstrou proteinúria, glicosúria, elevação das frações de excreção de fósforo, potássio e ácido úrico. Relação transporte máximo de fósforo / taxa de filtração glomerular (T_m/TFG) baixo (0,22), indicando déficit da capacidade de reabsorção de fósforo. Além disso, apresentava paratormônio (PTH) e fosfatase alcalina aumentados, com redução de 25OH-vitamina D (17ng/mL). Realizou ultrassonografia (USG) de rins e vias urinárias que não demonstrou alterações.

A Ressonância Nuclear Magnética (RNM) de quadril evidenciou fratura completa de terço médio do ramo isquiopúbico direito e osteonecrose de cabeça de fêmur direito (Figura 1), enquanto a Tomografia Computadorizada (TC) de tórax demonstrou fraturas incompletas sem desalinhamento em segundo e quinto arcos costais à esquerda (Figura 2). Foi também realizado densitometria óssea, evidenciando um T-score de -2,7 em colo femoral.

O TDF foi suspenso no primeiro dia da internação, e apesar das medidas laxativas, a melhora do quadro foi observada somente após a correção dos distúrbios hidroeletrólíticos e ácido-base. Foi substituído o esquema de terapia antirretroviral (TARV) para abacavir, lamivudina e fosamprenavir com ritonavir. Após dois meses sem a medicação, em reposição oral de potássio, bicarbonato de sódio e vitamina D,

retornou com os seguintes exames: Creatinina 1,43 mg/dL, potássio 4,1 mEq/L e bicarbonato 24,5 mEq/L, PTH de 35ng/dL. Evoluiu com queda progressiva da creatinina, normalização dos eletrólitos séricos e ausência de albuminúria e glicosúria após 12 meses de seguimento (Tabela 1). Após 32 meses de seguimento encontra-se com DRC estágio 3A (CKD-EPI – 56 mL/min/1,73m²) e em tratamento de osteoporose com alendronato.

Tabela 1 - Exames laboratoriais referentes ao caso clínico 1

Exames	Admissão	2 meses	12 meses	32 meses	Valores de referência
Sangue					
Creatinina (mg/dL)	2,41	1,55	1,31	1,1	0,5 - 0,9
Ureia (mg/dL)	25	44	45	27	16 - 40
pH	7,15	7,36	7,41	-	7,35 - 7,45
Bicarbonato (mmol/L)	11	24,5	24,2	-	22 - 26
Anión Gap	+18	+11,5	+13,8	-	8 - 16
Cloro (mEq/L)	114	106	103	106	98 - 109
Sódio (mEq/L)	143	142	141	142	135 - 145
Potássio (mEq/L)	2,3	4,34	4,4	4,4	3,5 - 5,1
Magnésio (mEq/L)	-	2,22	2,46	2,3	1,7 - 2,5
Cálcio (mg/dL)	-	8,9	10,4	9,5	8,6 - 10
Fósforo (mg/dL)	2,1	-	3,74	4,1	2,5 - 4,5
Ácido úrico (mg/dL)	2,0	1,98	-	2,5	2,6 - 6,7
Glicose (mg/dL)	92	-	104	-	60 - 110
Paratormônio (pg/mL)	98,2	35	68,7	66,8	15 - 68,3
Fosfatase alcalina (U/L)	758	1210	154	163	68 - 240
25-OH Vitamina D (ng/mL)	17	-	32,4	30,2	> 30
Amostra de urina					
pH	7,0	7,0	-	5,0	5,5 - 6,5
Densidade	1,005	1,020	-	1,009	1,015 - 1,025
Proteína (albumina)	++	75 mg/dL	Ausente	Ausente	< 15mg/dL
Glicose	++	100 mg/dL	Ausente	Ausente	<30mg/dL
Ânion Gap	+14	-	-	-	0 a -200 meq/L
Urina de 24 horas					
Proteinúria 24h (mg)	1.680	74	-	46	<150mg/24h
Glicosúria 24h (g)	11	Ausente	-	-	< 0,5g/24h
FE* Fósforo	56%	-	-	-	<20%
FE* Potássio	35%	32%	-	-	<30%
FE* Ácido úrico	31%	42%	-	4,21%	6 - 12%
Tm/TFG** Fósforo (mg/dL)	0,22	-	-	-	2,2 - 3,6

Legenda: FE* = Fração de excreção; Tm/TFG** = Transporte máximo/taxa de filtração glomerular

Figura 1 - RNM de quadril com osteonecrose de cabeça de fêmur direito

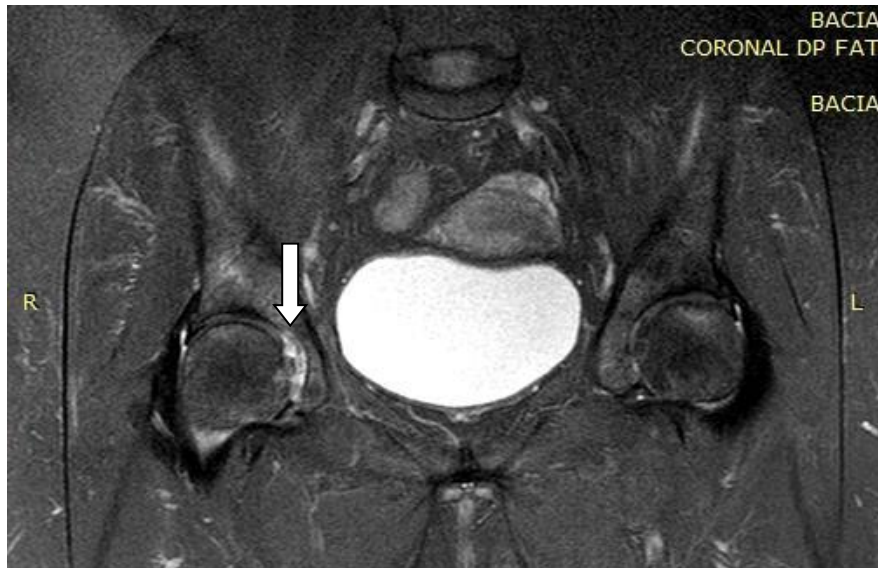
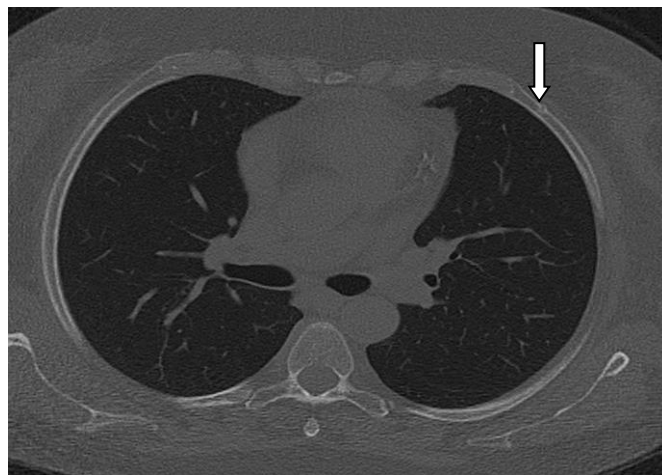


Figura 2 - TC de tórax com fratura incompleta em quinto arco costal esquerdo



Caso Clínico 2

Mulher de 62 anos, HIV positiva em uso de lamivudina, efavirenz e TDF há cerca de 4 anos. Foi admitida em pronto socorro de um hospital da grande Vitória por dor coxofemoral bilateral após queda da própria altura. A TC de bacia (Figura 3) evidenciou redução difusa da densidade óssea, fraturas antigas no ramo ísquio-púbico e no púbis direito, fraturas com consolidação parcial de colo femoral direito e

subtrocantérica à esquerda. Foi realizada correção cirúrgica com posterior alta hospitalar (Figura 4).

Após um mês da alta hospitalar, foi readmitida com quadro de fraqueza muscular progressiva, vômitos e parestesia de membros superiores e inferiores há cerca de 15 dias. Os exames laboratoriais (Tabela 2) evidenciaram acidose metabólica hiperclorêmica, hipofosfatemia, hipocalcemia, hipouricemia e alteração de função renal. O EAS demonstrou glicosúria e proteinúria e a análise dos eletrólitos urinários evidenciou frações de excreção de fósforo e potássio elevadas. A relação transporte máximo de fósforo / taxa de filtração glomerular estava baixa (0,36).

Figura 3 - TC de pelve com fraturas com consolidação parcial de colo femoral direito (seta branca) e subtrocantérica à esquerda (seta amarela)

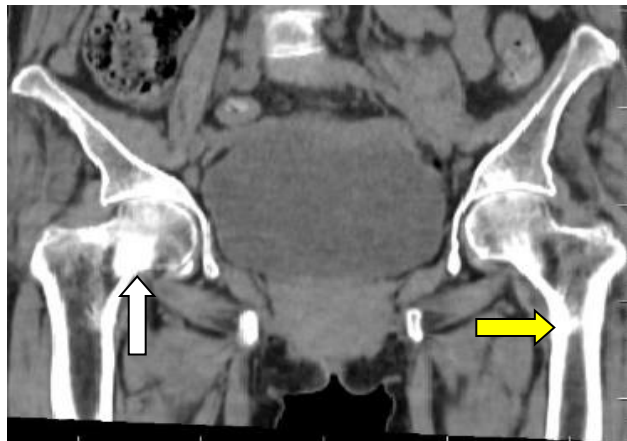


Figura 4 - Raio-X de pelve de controle pós-operatório



Os exames de avaliação do metabolismo ósseo demonstraram elevações do PTH e da fosfatase alcalina, além de redução de 25OH-Vitamina D. Foi realizado densitometria óssea que demonstrou T-score de -4,5 em região de coluna lombar L1-L4 (osteoporose). O TDF suspenso e iniciado reposições de potássio, bicarbonato de sódio e vitamina D. O esquema de TARV foi alterado para darunavir, ritonavir, abacavir e lamivudina. O paciente evoluiu com melhora parcial da função renal e do hiperparatireoidismo secundário, persistindo com o quadro de tubulopatia proximal mesmo após 12 meses do início do quadro e em estágio 3B de DRC (CKD-EPI 42 mL/min/1,73 m²) (Tabela 2).

Tabela 2 - Exames laboratoriais referentes ao caso clínico 2

Exames	Admissão	2 meses	7 meses	12 meses	Valores de referência
Sangue					
Creatinina (mg/dL)	2,2	1,41	1,5	1,32	0,5 - 0,9
Ureia (mg/dL)	53	-	78	50	16 - 40
pH	7,25	7,32	-	7,30	7,35 - 7,45
Bicarbonato (mmol/L)	10,6	22,7	-	19,3	22 - 26
Anión Gap	+10,4	-	-	-	8 - 16
Cloro (mEq/L)	118	-	112	-	98 - 109
Sódio (mEq/L)	139	-	144	-	135 - 145
Potássio (mEq/L)	1,7	3,7	3,8	-	3,5 - 5,1
Magnésio (mEq/L)	1,5	1,97	-	-	1,7 - 2,5
Cálcio (mg/dL)	8,9	9,8	4,5 (iônico)	-	8,6 - 10
Fósforo (mg/dL)	1,7	2,32	2,6	2,4	2,5 - 4,5
Ácido úrico (mg/dL)	1,2	-	-	-	2,6 - 6,7
Glicose (mg/dL)	-	-	93	-	60 - 110
Paratormônio (pg/mL)	606	55,7	-	196,8	15 - 68,3
Fosfatase alcalina (U/L)	1032	978	-	1032	68 - 240
25-OH Vitamina D (ng/mL)	8,7	45,8	-	22,3	> 30
Amostra de urina					
pH	8,0	-	-	-	5,5 - 6,5
Densidade	1,010	-	-	-	1,015 - 1,025
Proteína (albumina)	+	100mg/dL	-	100mg/dL	< 15mg/dL
Glicose	+++	300mg/dL	-	300mg/dL	<30mg/dL
Ânion Gap	+38	-	-	-	0 a -200 meq/L
Relação Albumina-Creatinina (mg/g)	-	3800	-	-	-
Urina de 24 horas					
FE* Fósforo	52,6%	49,5%	-	-	<20%
FE* Potássio	51,46%	25%	-	-	<30%
Tm/TFG** Fósforo (mg/dL)	0,36	-	-	-	2,2 - 3,6

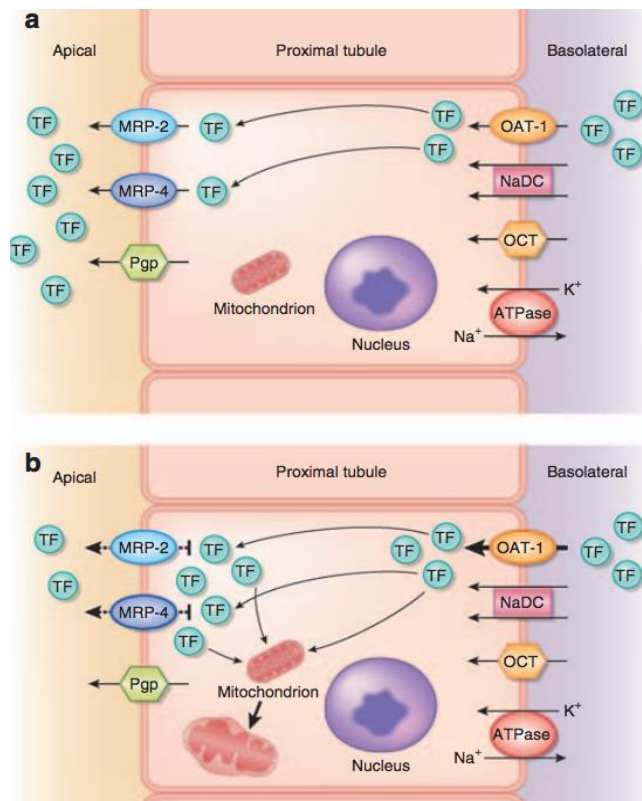
Legenda: FE* = Fração de excreção; Tm/TFG** = Transporte máximo/taxa de filtração glomerular

5 – REVISÃO DA LITERATURA

5.1 - Toxicidade renal induzida pelo tenofovir

O TDF sofre depuração renal por uma combinação de filtração glomerular e secreção tubular. Aproximadamente 20 a 30% da droga é ativamente transportada através da célula tubular proximal renal por transportadores de ânions orgânicos (OATs) [17]. O mecanismo pelo qual o tenofovir causa lesão renal ainda não é completamente compreendido, todavia a interferência nas proteínas transportadoras do túbulo renal parece ser o principal mecanismo envolvido [2]. A entrada do TDF na célula epitelial do túbulo renal ocorre através da membrana basolateral, principalmente pelos transportadores OAT-1 e em menor grau OAT-3 [1,2] (Figura 5a). Em seguida, sua secreção para a luz tubular é dependente de um processo ativo mediado por proteínas que incluem a proteína de resistência a multidrogas 2 (MRP-2), 4 (MRP-4) e possivelmente 3 (MRP-3) (Figura 5b). Essas proteínas são bombas dependentes de energia que enviam seus substratos para o filtrado glomerular [1,2].

Figura 5 - Vias de transporte do TDF pelas do túbulo proximal



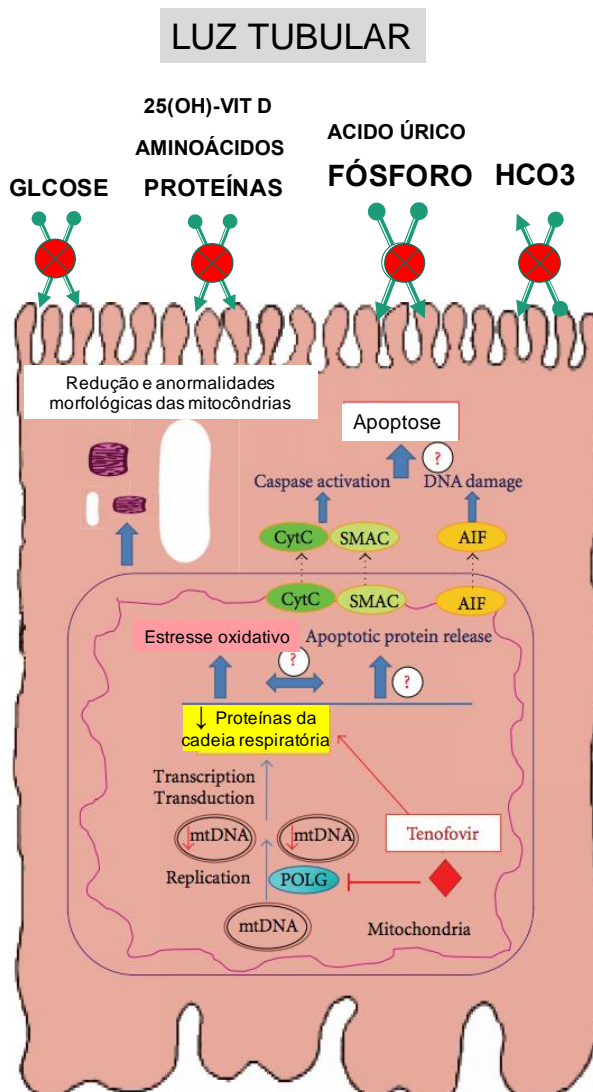
Legenda:

(a) O ânion orgânico tenofovir (TF) é transportado para o interior das células tubulares proximais através do transportador OAT-1 presente na membrana basolateral. Uma vez dentro da célula, o tenofovir é secretado no espaço urinário pelos transportadores de efluxo apical MRP-2 e MRP-4.

(b) Distúrbios na via secretora do TF (atividade aumentada do OAT-1 ou diminuída do transporte de efluxo MRP) podem levar a concentrações aumentadas de TF na célula, o que pode causar depleção e disfunção do DNA mitocondrial.

O mecanismo proposto de lesão renal induzido pelo TDF, especialmente envolvendo o túbulo proximal, ocorre através de toxicidade mitocondrial. Isso é apoiado por anormalidades mitocondriais ultraestruturais encontradas nos pacientes com tubulopatia induzida pelo TDF [18]. O TDF bloqueia a replicação do DNA mitocondrial (mtDNA) através da inibição da enzima polimerase gama, além de promover disfunção oxidativa da cadeia respiratória o que levará a geração de espécies reativas de oxigênio e redução da produção de ATP (Figura 6) [1,19].

Figura 6 – Mecanismos moleculares de lesão renal induzida pelo tenofovir e suas consequências



Legenda:

Após entrar na célula do túbulo proximal, o TDF desencadeará anormalidades funcionais e estruturais nas mitocôndrias, através da inibição da enzima DNA polimerase γ (POLG), do bloqueio da cadeia fosforilativa e da indução de proteínas da via das caspases. Logo, haverá redução da síntese de mtDNA, redução do número e aumento do tamanho das mitocôndrias, diminuição da oferta de ATP, estresse oxidativo e estímulo à apoptose. As células tubulares proximais lesionadas não conseguirão desempenhar suas funções, incluindo a reabsorção de proteínas de baixo peso molecular (proteína ligadora de vitamina D e β 2-microglobulina), glicose, aminoácidos, fosfato, ácido úrico, bicarbonato, assim como terá comprometimento da síntese de calcitriol através da enzima mitocondrial 1 α -hidroxilase. Como consequência poderemos encontrar um espectro de alterações laboratoriais, tais como: acidose, hipofosfatemia, hipouricemia, glicosúria, proteinúria de baixo peso molecular (β 2-microglobulina e a proteína ligadora da vitamina D), e redução da produção de calcitriol. Quando todas essas alterações estão presentes simultaneamente, estaremos diante de um quadro chamado de síndrome de Fanconi.

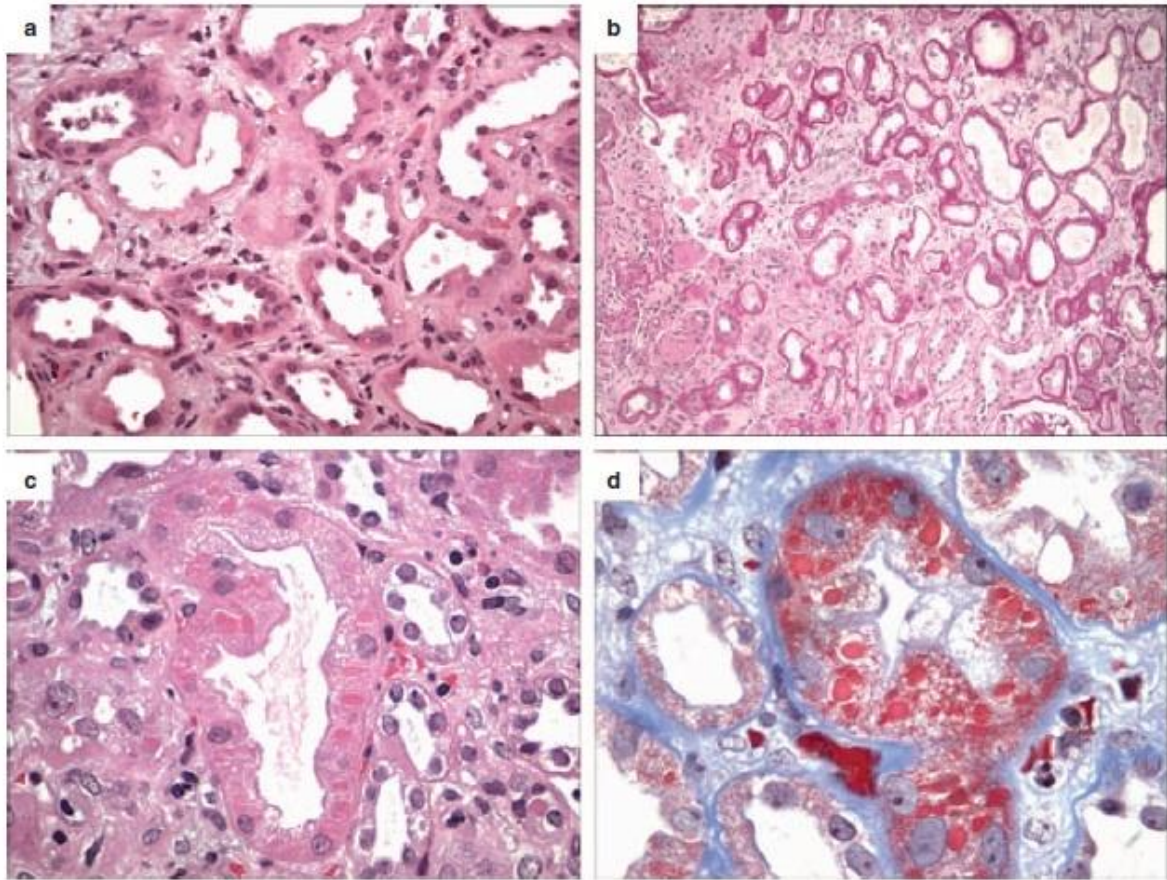
Fonte: Adaptado de Fernandez-Fernandez B, et al. Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. AIDS Res Treat. 2011.

Devido à diminuição da produção de ATP, as células tubulares proximais não podem garantir adequadamente a reabsorção de íons e moléculas pequenas, como glicose, fosfato, ácido úrico, aminoácidos, b2-microglobulina, assim como a reabsorção do bicarbonato filtrado. Portanto, essas substâncias serão excretadas em quantidades anormais na urina, ocasionando um aumento da fração de excreção das mesmas. Não necessariamente ocorre a perda de todos esses elementos concomitantemente, o que caracterizaria a chamada síndrome de Fanconi, sendo o transporte de fósforo em geral o mais acometido[1]. Além da diminuição da reabsorção proximal de fosfato estes pacientes também apresentam uma diminuição da ativação de vitamina D (calcitriol), o que contribui ainda mais para o surgimento de hipofosfatemia[1]. Adicionalmente, é possível que as anormalidades mitocondriais induzam apoptose de células epiteliais pela via das caspases, similar ao que ocorre como cidofovir, um análogo de nucleotídeo acíclico com estrutura semelhante ao TDF, o que explicaria a apresentação de necrose tubular aguda [19,20].

O TDF também diminui a expressão de aquaporina-2 nas células epiteliais ao longo dos ductos coletores medulares. Esta diminuição da reabsorção de água pode explicar o diabetes insipidus nefrogênico que algumas vezes está associado à síndrome de Fanconi [21,22].

À microscopia óptica, os achados se assemelham às alterações observadas em outras formas de necrose tubular aguda (NTA) tóxica e incluem ectasia luminal, simplificação citoplasmática e hipereosinofilia, contornos luminiais irregulares, nucléolos proeminentes e perda da borda da escova (Figura 7) [18]. Um achado distinto e adicional observado na nefrotoxicidade do TDF é a presença de inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas proeminentes nas células epiteliais tubulares proximais. Estas inclusões representam mitocôndrias gigantes que são visíveis ao microscópico de luz (Figura 7c) [18].

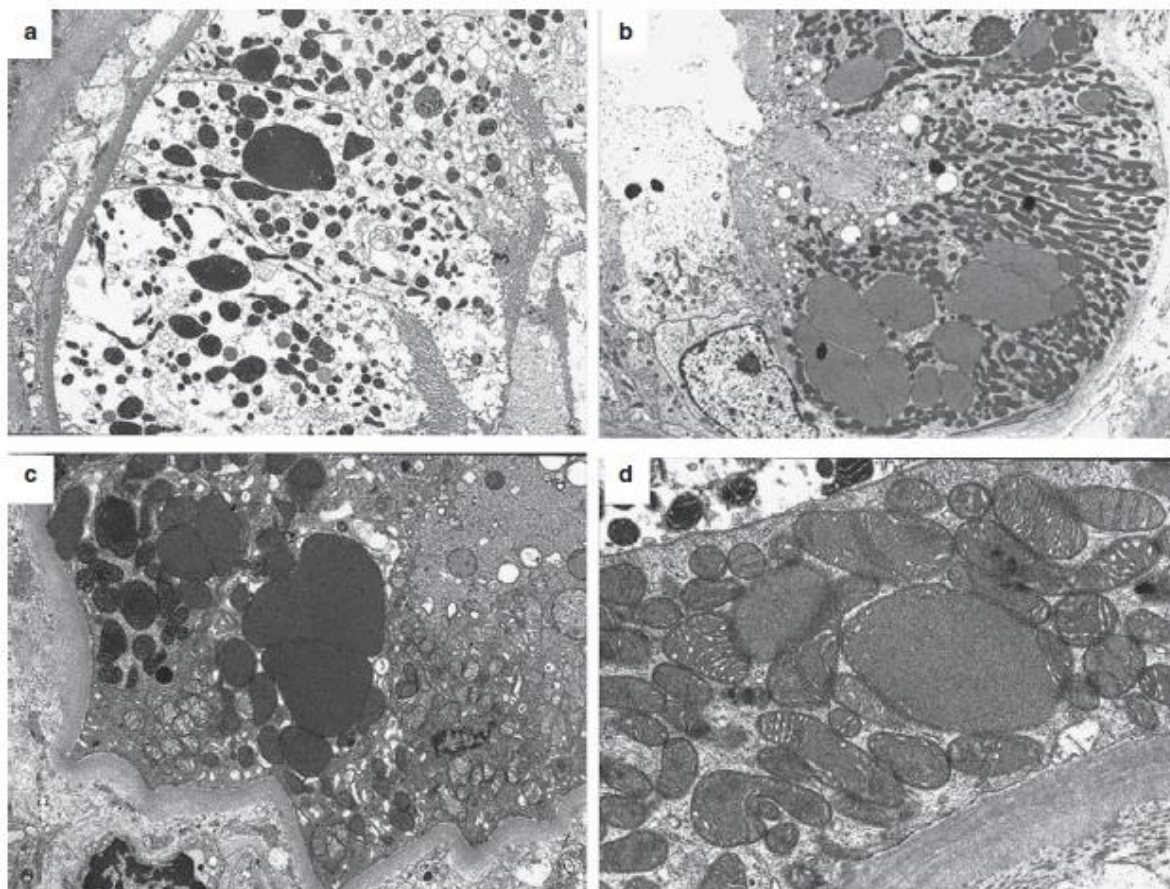
Figura 7 - Achados da microscopia de luz na nefrotoxicidade associada ao TDF



Legenda: (a) Os túbulos proximais exibem alterações degenerativas agudas difusas e graves, incluindo ectasia luminal com contornos irregulares, perda da borda da escova, e apoptose focal com descamação epitelial e edema intersticial adjacente. Esses achados são típicos de necrose tubular aguda tóxica. (b) Simplificação tubular, atrofia tubular crônica e fibrose intersticial, consistentes com uma nefropatia túbulo-intersticial aguda e crônica. (c) Inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas nas células epiteliais tubulares proximais, correspondendo às mitocôndrias gigantes vistas ultraestruturalmente. (d) As inclusões tubulares proximais coloram vermelho com a coloração tricrômica. (Herlitz LC: Acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int* 78: 1171– 1177, 2010).

Os principais achados ultraestruturais são alterações degenerativas tubulares proximais agudas e mitocôndrias dismórficas (Figura 8) [18]. As mitocôndrias variam muito em tamanho e forma, variando de pequenas a acentuadamente grandes, e arredondadas ou de contornos irregulares. Em algumas células, o número de mitocôndrias está acentuadamente reduzido, consistente com a depleção mitocondrial [18].

Figura 8 - Achados ultraestruturais na nefrotoxicidade associada ao TDF



Legenda: (a) e (b) Campos de pequena ampliação demonstrando a ampla variação de tamanho e forma das mitocôndrias nas células epiteliais tubulares proximais.(c) e (d) Em ampliação maior, observa-se que as mitocôndrias aumentadas estão desprovidas de cristas, e quando as mesmas estão presentes agrupam-se periféricamente. Herlitz LC: Acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int* 78: 1171– 1177, 2010).

A incidência da injúria renal após o início do tratamento com TDF apresenta uma ampla variedade na literatura devido a heterogeneidade dos dados publicados, oscilando de 1,6 por 100 pessoas-ano[11, 12], a 1,5 por 1.000 pessoas / ano [3]. Em geral, o envolvimento renal inicia-se após o primeiro ano de uso da droga e os fatores de risco identificados em trabalhos clínicos e experimentais incluem a idade avançada, menor contagem de linfócitos CD4, baixo peso, prescrição de um outro medicamento nefrotóxico simultaneamente, sexo masculino, redução da taxa de filtração glomerular, co-infecção pelo vírus da hepatite C, HIV avançado e deficiência de vitamina D [1,2,18, 23].

Vale ressaltar que quando a concentração plasmática aumenta ou quando a secreção apical é inibida, a concentração intracelular de TDF aumenta. Isso pode ocorrer devido a um aumento de atividade do OAT-1 e OAT-3 ou diminuição da atividade do MPR2 e MPR4. A probenecida, um fármaco uricosúrico, inibe efetivamente o OAT-1, diminuindo a entrada de TDF na célula tubular e consequentemente diminuindo sua concentração intracelular [18]. Os pacientes que apresentam uma redução da taxa de filtração glomerular apresentam aumento da secreção tubular de TDF, e, portanto, estarão mais expostos a toxicidade [24].

O possível papel da associação com didanosina(DDI) e lopinavir na nefrotoxicidade induzida pelo TDF ainda não está claro. Esses dois antirretrovirais estão frequentemente associados ao TDF nos casos de síndrome de Fanconi [25]. O DDI também induz toxicidade mitocondrial, que poderia exacerbar o dano gerado pelo TDF [26]. O lopinavir e ritonavir inibem parcialmente a excreção de TDF no lúmen urinário através do MRP4 [27] e isso pode resultar em uma diminuição da depuração do TDF e seu acúmulo citoplasmático nas células tubulares epiteliais.

Os fatores genéticos podem também estar envolvidos na incidência de certos casos de toxicidade tubular pelo TDF. Dois estudos demonstraram que polimorfismos no gene ABCC2, responsável pela codificação do MRP2, estão associados a um risco cinco a seis vezes maior de toxicidade tubular [2, 28].

Embora os distúrbios renais induzidos pelo TDF apresentem tendência a resolução após a retirada da droga, um percentual significativo de pacientes permanece com algum grau de disfunção renal e progridem com DRC. O tempo de recuperação dos distúrbios pode variar de dias a meses. Em um estudo de 24 pacientes que interromperam o uso de TDF devido desenvolvimento de lesão renal aguda, apenas 42% retornaram a sua função renal inicial [29]. Zimmerman et al. identificaram 5 de 27 pacientes com recuperação incompleta após quadro de toxicidade relacionada ao TDF [30]. No trabalho de Herlitz et al., onde foram avaliados 13 casos de nefrotoxicidade relacionada ao TDF, 6 pacientes alcançaram recuperação completa da função renal, e os cinco pacientes restantes com dados disponíveis apresentaram recuperação parcial, mas significativa. Portanto, é

importante o monitoramento cuidadoso dos pacientes que recebem terapia com TDF, especialmente os que apresentam fatores de risco para a toxicidade por esta droga, dada a possibilidade de evoluir com dano renal persistente, mesmo que leve.

5.2 - Toxicidade óssea induzida pelo tenofovir

A etiologia da diminuição da densidade mineral óssea em pacientes HIV é multifatorial, mas a toxicidade pelos antirretrovirais contribui significativamente [14]. A redução de DMO que ocorre durante a terapia antirretroviral é independente do regime utilizado, porém essa diminuição é mais pronunciada nos esquemas contendo TDF, sugerindo um efeito da droga no osso, independente das características do paciente, fatores virológicos e imunológicos. [14].

Não está totalmente claro se esse efeito negativo no osso é direto, mediado pelo efeito da droga nos osteoclastos e/ou osteoblastos, estimulando a reabsorção óssea, e/ou indireto, através do efeito da droga no túbulo renal proximal e no metabolismo da vitamina D [14]. Embora estudos in vitro sugiram que o TDF possa alterar a expressão gênica em osteoblastos e osteoclastos, a fosfatúria decorrente da disfunção tubular renal parece ser o principal mecanismo associado à diminuição da DMO (Figura 9), semelhante, mas em menor grau ao que é observado em osteomalácia induzida por tumores ou na síndrome de Fanconi [31].

Compondo o efeito da tubulopatia proximal no metabolismo ósseo, o TDF pode afetar o metabolismo da vitamina D, levando diretamente a um estado de hiperparatireoidismo secundário sustentado e aumento do "turnover" ósseo. Os níveis de paratormônio (PTH) aumentam logo após o início do TDF, sendo mais pronunciado naqueles pacientes com deficiência de 25-hidroxivitamina D [32].

Figura 9 - Mecanismos envolvidos na toxicidade óssea associada ao TDF



Em pacientes estáveis em uso de TARV contendo TDF, níveis séricos elevados de TDF interferem na ligação da proteína carreadora de vitamina D com o seu substrato, a 25-hidroxivitamina, reduzindo a disponibilidade deste precursor para produção da 1,25-dihidroxivitamina D, a forma biologicamente ativa[14]. Esse novo achado de deficiência funcional de vitamina D pode contribuir para elevação dos níveis de PTH nos pacientes em uso de TDF [33]. Dessa forma, estudos têm demonstrado que a suplementação de vitamina D (colecalfiferol ou ergocalciferol) no início da TARV contendo TDF atenua o aumento do PTH e a redução na DMO [34, 35].

O acometimento ósseo pode se expressar clinicamente por desmineralização óssea, osteomalacia, osteonecrose e fraturas. Pacientes com regime de TARV contendo TDF apresentaram uma perda da DMO de 1 a 3% maior comparado aos regimes sem TDF [14]. A perda da DMO já pode ser evidenciada em 24 semanas após o

início da droga [36]. Contudo, o uso prolongado não parece mostrar perdas adicionais além dos 3% que ocorrem logo após a introdução [37].

A osteomalácia ocorre quando a hipofosfatemia leva à uma inadequada mineralização durante a regeneração óssea. Existem inúmeros relatos de casos descrevendo a síndrome de Fanconi associada a osteomalácia [38], sendo que muitos deles estavam também recebendo inibidores da protease associados ao ritonavir. Os pacientes geralmente apresentam dor óssea intensa, geralmente ao redor da cintura pélvica. Cintilografia óssea de corpo inteiro mostra aumento da atividade em torno de várias articulações com vários pontos quentes, sugerindo pseudo-fraturas. O componente da osteomalácia secundária às alterações do metabolismo do fosfato, explica a melhora parcial observada com a suplementação de vitamina D, a associação com a alteração da fosfatase alcalina específica óssea e o rápido benefício em termos de DMO após a descontinuação do TDF, sugerindo um retorno ao normal que permite uma mineralização da matriz osteóide. [31].

As fraturas são as complicações mais graves da doença óssea. Em uma revisão de 164 pacientes com síndrome de Fanconi associada ao TDF fraturas foram relatadas em 2% dos pacientes [16]. Usando um banco de dados americano, Bedimo e colaboradores descobriram que o uso de TDF estava associado com um aumento de 12% no risco de fratura por fragilidade na era da TARV [39]. Não há um consenso claro de que indivíduos em TARV contendo TDF devam migrar para um regime menos tóxico para os ossos. As diretrizes sugerem que o TDF deve ser evitado nos pacientes com maior risco de fratura (ou seja, aqueles com fratura por fragilidade prévia, osteoporose ou osteopenia e um escore FRAX elevado) [40].

6–DISCUSSÃO

Os dois casos clínicos descritos englobam o cenário dos efeitos adversos do TDF: Lesão renal aguda, síndrome de Fanconi (acidose tubular renal proximal, com perda renal de fósforo, ácido úrico, glicose e proteínas), além de deficiência de vitamina D, hiperparatireoidismo secundário e lesões ósseas. O TDF foi suspenso em ambos os casos e foi iniciada reposição de bicarbonato de sódio, potássio e vitamina D (colecalciferol).

O paciente do caso clínico 1 evoluiu de maneira favorável, com melhora do ritmo de filtração glomerular, do quadro de tubulopatia proximal e do hiperparatireoidismo secundário (Tabela 1), mais evidente após 12 meses de tratamento. Além disso após 1 ano de uso de Alendronato a paciente realizou densitometria óssea de controle com melhora do quadro de osteoporose (menor T-score -0,9 em colo femoral). Por outro lado, o paciente do caso clínico 2 apresentou melhora da função renal, mas ainda persiste com quadro de tubulopatia proximal e hiperparatireoidismo secundário (Tabela 2) durante o seguimento ambulatorial, doze meses após a suspensão do TDF.

Em geral o tratamento dos pacientes com toxicidade induzida por TDF consiste em suspensão da droga, correção dos distúrbios hidroeletrolíticos e da acidose associados à tubulopatia proximal, além da suplementação de vitamina D e tratamento da osteoporose quando presente. Alguns autores sugerem suplementação empírica de vitamina D durante o uso de TDF visto que trabalhos demonstraram que isso atenua o aumento do PTH e a redução da DMO [15, 33, 34].

A persistência da disfunção renal demonstrada pela paciente do caso clínico 2 é condizente com os dados da literatura, visto que apenas cerca de 42% dos pacientes retornam a sua função renal inicial após o quadro de nefrotoxicidade induzida por TDF [28].

7–CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente o Tenofovir é um dos antirretrovirais mais utilizados em todo o mundo e responde por mais da metade dos casos de tubulopatias associadas a TARV. Apesar de sua alta atividade antiviral e trabalhos demonstrando perfil metabólico seguro, diversos casos de toxicidade renal e óssea foram relatados desde o seu lançamento, demonstrando uma inconsistência sobre o tema.

A fisiopatologia da lesão renal envolve toxicidade ao DNA mitocondrial, estresse oxidativo e estímulo a vias de apoptose, prejudicando vias de transporte molecular, acidificação urinária e produção de calcitriol. O acometimento ósseo pode ser expresso por desmineralização/osteomalacia, osteonecrose e fraturas devido a perda renal de fósforo, acidemia, redução de calcitriol, hiperparatiroidismo secundário, além do efeito direto do TDF sobre os osteoclastos e osteoblastos, estimulando a reabsorção óssea.

O tenofovir alafenamida (TAF) é um novo pró-fármaco associado a concentrações plasmáticas de tenofovir correspondentes a 10% daquelas observadas com o uso do TDF, portanto com menor probabilidade de toxicidade associada a droga. No Brasil o TAF foi aprovado pela Anvisa desde 2019. Em estudos de fase III, os pacientes virgens de tratamento que iniciaram o esquema com TAF apresentaram menor queda da TFG, menor proteinúria e menor redução da DMO quando comparados aos que iniciaram com o esquema contendo TDF. Além disso, nos pacientes que já estavam com o TDF e que migraram para o TAF apresentaram aumento da DMO. Apesar dos resultados iniciais otimistas, ainda são necessários mais dados antes da indicação dessa droga em pacientes de alto risco ou que desenvolveram efeitos adversos graves pelo TDF [41].

A monitorização dos pacientes em uso de TDF é de extrema importância devido o elevado percentual de pacientes que persiste com algum grau de disfunção renal mesmo após a suspensão do medicamento. Devemos estar atentos para os pacientes de alto risco (idade avançada, menor contagem de linfócitos CD4, baixo peso, prescrição de um medicamento nefrotóxico ao mesmo tempo que TDF, sexo

masculino, alteração prévia do clearance de creatinina, co-infecção pelo vírus da hepatite C, HIV avançado e deficiência de vitamina D), monitorar a função glomerular, tubular e marcadores de metabolismo mineral e ósseo para que possamos intervir precocemente em casos de toxicidade e evitar danos irreversíveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tourret J, Deray G, Isnard-Bagnis C: Tenofovir Effect on the Kidneys of HIV-Infected Patients: A Double-Edged Sword? *J Am Soc Nephrol*. 2013 Oct; 24(10): 1519–1527.
2. Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, Morello J, Cuenca L, González-Pardo G, Khoo S, Back D, Owen A: Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: A pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis* 48: e108–e116, 2009.
3. 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; 21:1273–81.
4. Verhelst D, Monge M, Meynard JL, Fouqueray B, Mougnot B, Girard PM, Ronco P, Rossert J: Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: A first case report. *Am J Kidney Dis* 40: 1331–1333, 2002.
5. Coca S, Perazella M. Acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci* 2002; 324: 342–4.
6. Rifkin B, Perazella M. Tenofovir-associated nephrotoxicity: Fanconi syndrome and renal failure. *Am J Med* 2004; 117:282–4.
7. Mauss S, Berger F, Schmutz G. Antiretroviral therapy with tenofovir is associated with mild renal dysfunction. *AIDS* 2005; 19:93–5.
8. 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; 36:1070–3.
9. Barrios A, Garcia-Benayas T, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS* 2004; 18:960–3.
10. 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; 35:269–73.
11. Antoniou T, Raboud J, Chirhin S, Yoong D, Govan V, Gough K, Rachlis A, Loutfy M: Incidence of and risk factors for tenofovir-induced nephrotoxicity: A retrospective cohort study. *HIV Med* 6: 284–290, 2005.
12. Madeddu G, Bonfanti P, De Socio GV, Carradori S, Grosso C, Marconi P, Penco G, Rosella E, Miccolis S, Melzi S, Mura MS, Landonio S, Ricci E, Quirino T; CISAI Group: Tenofovir renal safety in HIV-infected patients: Results from the SCOLTA Project. *Biomed Pharmacother* 62: 6–11, 2008.

13. Brown TT, McComsey GA, King MS, et al.: Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51:554–561.
14. Philip M. Grant, Aoife G. Cotter: Tenofovir and bone health. *Curr Opin HIV AIDS* 2016, 11:326–332.
15. Casado JL: Renal and bone Toxicity with the use of Tenofovir: Understanding at the end. *AIDS Rev.* 2016 Apr-Jun;18(2):59-68.
16. Gupta SK: Tenofovir-associated Fanconi syndrome: review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS* 22:99–103, 2008.
17. Cihlar T, Lin DC, Pritchard JB, Fuller MD, Mendel DB, Sweet DH. The antiviral nucleotide analogs cidofovir and adefovir are novel substrates for human and rat renal organic anion transporter 1. *Mol Pharmacol* 1999; 56:570 – 80.
18. Herlitz LC, Mohan S, Stokes MB, Radhakrishnan J, D'Agati VD, Markowitz GS: Tenofovir nephrotoxicity: Acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int* 78: 1171– 1177, 2010.
19. Fernandez-Fernandez, B, Montoya-Ferrer A, et al. Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. *AIDS Res Treat*, 2011. doi: 10.1155/2011/354908.
20. 15. Ortiz A, Justo P, Sanz A, Melero R, Caramelo C, Guerrero MF, Strutz F, Müller G, Barat A, Egido J: Tubular cell apoptosis and cidofovir-induced acute renal failure. *Antivir Ther* 10:185–190, 2005.
21. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V: Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics* 10: 1675–1685, 2009.
22. Libório AB, Andrade L, Pereira LV, Sanches TR, Shimizu MH, Seguro AC: Rosiglitazone reverses tenofovir-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 74: 910–918, 2008.
23. Canale D, de Bragança AC, Gonçalves JG, et al. Vitamin D deficiency aggravates nephrotoxicity, hypertension and dyslipidemia caused by tenofovir: role of oxidative stress and renin-angiotensin system. *PLoS One*. 2014;9(7):e103055. Published 2014 Jul 21. doi:10.1371/journal.pone.0103055.
24. Mark A. Perazella, Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondriopathy - *Kidney International* (2010) 78, 1060 – 1063. doi: 10.1038/ki.2010.344.
25. 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* 42: 283–290, 2006.
26. Côté HC, Magil AB, Harris M, Scarth BJ, Gadawski I, Wang N, Yu E, Yip B, Zalunardo N, Werb R, Hogg R, Harrigan PR, Montaner JS: Exploring mitochondrial

nephrotoxicity as a potential mechanism of kidney dysfunction among HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy. *AntivirTher*11: 79–86, 2006.

27. Cihlar T, Ray AS, Laflamme G, Vela JE, Tong L, Fuller MD, Roy A, Rhodes GR: Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. *AntivirTher*12: 267–272, 2007.

28. Izzedine H, Hulot JS, Villard E, Goyenvalle C, Dominguez S, Ghosn J, Valantin MA, Lechat P, Deray AG: Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis* 194: 1481–1491, 2006.

29. Wever K, van Agtmael MA, Carr A: Incompletereversibility of tenofovir-relatedrenal toxicity in HIV-infected men. *J AcquirImmune DeficSyndr* 55: 78–81, 2010.

30. Zimmerman A, Pizzoferrato T, Bedford J et al. Tenofovir-associatedacute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions.*Clin Infect Dis* 2006; 42: 283–290.

31. Casado, JL: Renal and Bone Toxicity with the Use of Tenofovir: Understanding at the End. *AIDS Reviews*. 2016;18.

32. Masia M, Padilla S, Robledano C, et al. Early changes in parathyroid hormone concentrations in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy with tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; 28:242–246.

33. Havens PL, Kiser JJ, Stephensen CB, et al. Association of higher plasma vitamin D binding protein and lower free calcitriol levels with tenofovirdisoproxil fumarate use and plasma and intracellular tenofovir pharmacokinetics: cause of a functional vitamin D deficiency? *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5619–5628.

34. Havens PL, Stephensen CB, Hazra R, et al. Vitamin D3 decreases parathyroid hormone in HIV-infected youth being treated with tenofovir: a randomized,placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2012; 54:1013–1025.

35. Overton ET, Chan ES, Brown TT, et al. Vitamin D and calcium attenuate bone loss with antiretroviral therapy initiation: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2015; 162:815–824.

36. McComsey GA, Kitch D, Daar ES, et al. 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 A5224 s, a substudy of ACTG A5202. *J Infect Dis* 2011; 203:1791–1801.

37. Grant P, Kitch D, McComsey G, et al. Long-term bone mineral density changes in antiretroviral-treated HIV-infected individuals. IAS 2015. 8th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. July 19–22, 2015. Vancouver. Abstract TUPDB0103.

38. Mateo L, Holgado S, Marinoso ML, et al. Hypophosphatemic osteomalacia induced by tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Rheumatol* 2014.
39. Bedimo R, Maalouf NM, Zhang S, et al. Osteoporotic fracture risk associated with cumulative exposure to tenofovir and other antiretroviral agents. *AIDS* 2012; 26:825–831.
40. Brown TT, Hoy J, Borderi M, et al. Recommendations for evaluation and management of bone disease in HIV. *Clin Infect Dis* 2015; 60:1242–1251.
41. Buti M, Gane E, et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection: a randomized, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet*, 2016, Volume 1, issue 3, P196-206.