

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ATAZANAVIR E A
FUNÇÃO RENAL**

ANA JÚLIA BRETANHA LUZ

Porto Alegre

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ATAZANAVIR E A
FUNÇÃO RENAL**

ANA JÚLIA BRETANHA LUZ

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sprinz

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas, UFRGS, como
requisito para obtenção do título de
Mestre.**

Porto Alegre

2012

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha família pelo carinho e apoio dado nos momentos mais difíceis.

À Deus por me manter forte para seguir em frente.

Às minhas amigas que me auxiliaram, às que compreenderam minha ausência em momentos importantes de suas vidas, e às que, longe ou perto, estavam comigo.

Ao Prof. Dr. Eduardo Sprinz pelo auxílio na realização deste trabalho, pela competência e exigência que estimularam meu crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Rafael Linden pela colaboração com o processamento das amostras.

À Prof. Dr. Sídia Maria Callegari-Jacques pela prestação e carisma.

E, finalmente, à equipe do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas pela oportunidade de crescimento, aprendizado e realização profissional.

**“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo
de vencer.”**

Mahatma Gandhi

RESUMO

Introdução

A introdução da terapia antirretroviral altamente potente (HAART) diminuiu dramaticamente a mortalidade dos indivíduos infectados pelo HIV. No entanto, a variabilidade nas concentrações e o uso prolongado desses fármacos podem ter conseqüências relevantes na área da terapia antirretroviral (TARV). Dentre essas, têm-se observado alterações metabólicas e fatores de riscos cardiovasculares, como também, alterações na função renal.

O rim tem um papel importante no metabolismo e excreção dos medicamentos antirretrovirais e isso torna-o vulnerável a vários tipos de lesões. Muitos estudos têm sido realizados para avaliar os fatores de risco que podem contribuir para a insuficiência renal em pacientes infectados pelo HIV.⁹ Esses fatores são numerosos e dependem de características subjacentes do paciente, bem como do regime de drogas. Alguns estudos têm ligado certos medicamentos antirretrovirais, especialmente o tenofovir (TDF) e os inibidores de protease (IPs) lopinavir / ritonavir (LPV / RTV), atazanavir / ritonavir (ATV / RTV) e indinavir (IDV), com redução na taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) e anormalidades nos túbulos renais.

As alterações nas concentrações plasmáticas dos antirretrovirais (ARV) podem ser suficientes para não ocorrer a manutenção da supressão viral e promover falência no tratamento, ou, por outro lado, gerar efeitos adversos. Portanto, torna-se

necessário o desenvolvimento de estratégias específicas para minimizar as ocorrências dessas anormalidades e preservar a eficácia da TARV.

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de ATV e a função renal em uma coorte de indivíduos infectados pelo HIV com doença controlada (carga viral indetectável e $CD4 > 200/mm^3$).

Métodos

Cento e quatro pacientes foram consecutivamente selecionados no período de Abril a Novembro de 2011. Para inclusão no estudo, os pacientes deveriam estar em uso de ATV por no mínimo 6 meses, com carga viral indetectável (< 50 cópias/mL) por um período igual ou superior a 12 meses, com contagens de linfócitos T $CD4+$ superiores a 200 células/ mm^3 e com idade maior que 18 anos. Os indivíduos foram divididos em quatro grupos de tratamento de acordo com o esquema do ATV. As concentrações plasmáticas do ATV foram comparados com função renal utilizando o Modelo de Regressão Linear Simples.

Resultados

No grupo de tratamento com ATV não potenciado, as concentrações plasmáticas foram estatisticamente menores ($p = 0,001$) do que as concentrações encontradas em outros grupos. Nenhuma diferença estatística foi encontrada na função renal entre os grupos. Finalmente, não foi encontrada associação entre os níveis plasmáticos de ATV e função renal (CKD-EPI, $p = 0,079$; MDRD, $p = 0,059$).

Conclusão

De acordo com os achados deste estudo, os níveis plasmáticos do ATV não estão associados com alteração na função renal. Estudos prospectivos são necessários para que se observe com maior exatidão se a função renal alterada atribuída ao uso de ATV realmente existe ou se está relacionada com o uso de RTV, TDF, ou a outros fatores ainda não identificados.

PALAVRAS-CHAVE: Atazanavir, Função Renal, Concentração Plasmática.

ABSTRACT

Background

The introduction of highly potent antiretroviral therapy (HAART) has dramatically decreased mortality rates of the subjects infected with HIV. However, the variability in concentrations and prolonged use of these drugs may have important consequences in the area of antiretroviral therapy (ART). Among these have been observed metabolic changes and cardiovascular risk factors, but also changes in renal function.

The kidney plays an important role in the metabolism and excretion of antiretroviral drugs and that makes it vulnerable to various injuries. Many studies have been conducted to evaluate the risk factors that may contribute to renal failure in HIV-infected patients. Some studies have linked certain antiretroviral drugs, especially tenofovir (TDF) and protease inhibitors (PIs) lopinavir / ritonavir (LPV / RTV), atazanavir / ritonavir (ATV / RTV) and indinavir (IDV), reducing the estimated glomerular filtration rate (eGFR) and abnormalities in the renal tubules.

Changes in plasma concentrations of antiretrovirals (ARVs) may not be sufficient to place the maintenance of viral suppression and failure to promote the treatment, or, on the other hand, have adverse effects. Therefore, it becomes necessary to develop specific strategies to minimize the occurrence of these abnormalities and to preserve the effectiveness of ART.

Objective

The purpose of this study is to assess the association between ATV plasma levels and renal function in a cohort of subjects infected with HIV whose disease is under control (undetectable viral load and $CD4 > 200/mm^3$).

Methods

One hundred and four subjects were consecutively enrolled between April and November 2011. In order to be included in the study, patients had to be on ATV for at least six months, with undetectable viral load for a period equal to or longer than 12 months, with T CD4+ lymphocyte counts higher than $200\text{ cells}/mm^3$ and older than 18 years. Subjects were divided into four treatment groups according to ATV regimen. ATV plasma concentrations were compared with renal function using the Simple Linear Regression Model.

Results

In treatment group with ATV unboosted, the plasma concentrations were statistically smaller ($p=0.001$) than the concentrations found in the other groups. No statistical difference was found in renal function among the groups. Finally, no association was found between ATV plasma levels and renal function (CKD-EPI, $p=0.079$; MDRD, $p=0.059$).

Conclusion

According to the findings of this study, plasma levels of ATV are not associated with impaired renal function. Prospective studies with larger samples are required in order to more accurately observe if changes in renal function attributed to the use of ATV actually exist or if they are related to the use of RTV, TDF or other factors yet to be identified.

Keywords: Atazanavir, Renal Function, Plasma Concentration.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Baseline and Demographic Data.....	54
Tabela 2: Baseline and Demographic Data for each Group of Treatment (mean \pm SD or as indicated).	55

Lista de Figuras

Figura 1: Treatment Groups (% / n)	56
Figura 2: Plasma Concentration of ATV versus Treatment Groups	57

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Abacavir
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ARV	Antirretroviral
ATV	Atazanavir
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
ddl	Didanosina
DRC	Doença Renal Crônica
d4T	Estavudina
EFZ	Efavirenz
EFDR	Estágio Final de Doença Renal
HAART	Terapia Antirretroviral Altamente Potente
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HIVAN	Nefropatia Associada ao HIV
IDV	Indinavir
IP	Inibidores da Protease
ITRN	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos
ITRNt	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos
ITRNN	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos

IRA	Insuficiência Renal Aguda
LRA	Lesão Renal Aguda
LPV	Lopinavir
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MTF	Monitoramento Terapêutico Farmacológico
NIA	Nefrite Intersticial Aguda
NVP	Nevirapina
RTV	Ritonavir
SF	Síndrome de Fanconi
TARV	Terapia Antirretroviral
3TC	Lamivudina
TDF	Tenofovir
TFG	Taxa de Filtração Glomerular

Sumário

Agradecimentos.....	3
RESUMO	5
LISTA DE ABREVIATURAS	8
Sumário	14
1. INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 A terapia antirretroviral (TARV).....	18
2.2 Atazanavir (ATV).....	19
2.2.1 Farmacologia e farmacocinética	19
2.3 Nefropatia associada ao HIV	24
2.4 Nefropatia associada aos antirretrovirais.....	26
2.5 Avaliação da função renal.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
3 OBJETIVOS.....	38
3.1 Principal	38
3.2 Secundários.....	38
ARTIGO	39
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
ANEXOS.....	59
Anexo 1 : Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	59
Anexo 2: Ficha de registro/Questionário.....	61

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o número estimado de pessoas vivendo com HIV no mundo até dezembro de 2009 foi de 33,3 milhões de pessoas e o número de óbitos ocasionados pela AIDS foi 1,8 milhões.¹ Desde o início da epidemia, em 1980, até junho de 2011, o Brasil tem 608.230 casos registrados da doença. Em 2010, foram notificados 34.218 casos e a taxa de incidência de AIDS no Brasil foi de 17,9 casos por 100 mil habitantes.² A mortalidade de pacientes portadores do HIV tem diminuído drasticamente desde a introdução da terapia antirretroviral altamente potente (HAART).³⁻⁶ Atualmente, a HAART é uma combinação de medicamentos que inclui vários fármacos das diferentes classes de antirretrovirais (ARV), que são geralmente os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos/ nucleotídeos (ITRNs/ ITRNt), inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNNs) e os inibidores da protease (IPs).⁵

No entanto, a variabilidade nas concentrações e o uso prolongado desses fármacos podem ter conseqüências relevantes na área da terapia antirretroviral (TARV).⁷ Dentre essas, têm-se observado alterações metabólicas e fatores de riscos cardiovasculares, como também, alterações na função renal, podendo ocorrer, por exemplo, tubulopatias (traduzidas por necrose tubular aguda ou por defeitos isolados); Síndrome de Fanconi; obstrução intratubular por deposição de cristais; glomerulopatias; microangiopatia trombótica; insuficiência renal crônica.⁸

Muitos estudos têm sido realizados para avaliar os fatores de risco que podem contribuir para a insuficiência renal em pacientes infectados pelo HIV.⁹ Esses fatores são numerosos e dependem de características subjacentes do paciente, bem como do regime de drogas.¹⁰

Entre os ARVs, o tenofovir (TDF), um ITRNt, está entre os mais comumente associados à nefrotoxicidade.¹¹⁻¹³ O uso de TDF tem sido associado com pequenos decréscimos, mas estatisticamente significativos, na função renal.¹⁴ Também é descrita a presença de tubulopatia proximal renal, especialmente em pacientes com infecção avançada pelo HIV.¹⁵ Alguns estudos farmacocinéticos demonstram que a exposição ao TDF é maior quando ele é co-administrado com lopinavir / ritonavir (LPV / RTV) ou atazanavir / ritonavir (ATV / RTV), ambos IPs, levantando a preocupação com relação ao aumento da nefrotoxicidade, provavelmente devido à elevação nos níveis plasmáticos de TDF nos túbulos proximais.^{14,16,17} Além disso, o ATV, por si só, embora raramente, é descrito como sendo capaz de causar nefrite aguda intersticial.¹⁸

As diretrizes da **Sociedade Americana de Doenças Infecciosas** destacam que indivíduos infectados pelo HIV apresentam maior risco de desenvolver doença renal, no entanto, as pessoas que utilizam drogas injetáveis, especialmente cocaína, aqueles com um forte histórico familiar de doença renal, dislipidemia, tabagistas, e aqueles que estão recebendo certos medicamentos também devem ser monitorados para o desenvolvimento da DRC.¹⁹ Os principais medicamentos associados à DRC incluem indinavir (IDV), ATV e TDF.¹⁰ IDV, TDF e nevirapina (NVP) estão entre os agentes antirretrovirais associados à insuficiência renal aguda (IRA).²⁰

As alterações nas concentrações plasmáticas dos ARVs podem ser suficientes para não ocorrer a manutenção da supressão viral e promover falência no tratamento, ou, por outro lado, gerar efeitos adversos.^{7,21-23} Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias específicas para minimizar as ocorrências dessas anormalidades e preservar a eficácia da TARV.²⁴

É neste contexto que pode ser aplicado o monitoramento dos ARVs. O objetivo do monitoramento terapêutico farmacológico (MTF) é dosar a concentração do fármaco para controlar o regime de medicação do paciente e otimizar o efeito.²⁵ Porém, ocorre uma grande variação entre indivíduos na relação dose e resposta e, com isso, fica difícil de encontrar uma dose única para uma mesma resposta. Por exemplo, fármacos com índices terapêuticos limitados e indivíduos com uma grande variação na farmacocinética, uma dose pode ser terapêutica para um indivíduo e, ao mesmo tempo, tóxica para outro. É nestas situações que o MTF torna-se uma parte essencial do tratamento clínico.^{7,25}

Esta revisão bibliográfica tem o objetivo de fornecer uma análise crítica e abrangente da literatura buscando comprovar a variabilidade farmacocinética do ATV e a associação com a função renal, justificando a necessidade do MTF para prevenção de efeitos adversos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A terapia antirretroviral (TARV)

O principal objetivo da TARV é reduzir a morbidade e mortalidade associada ao HIV.³⁻⁶ Para que essa redução ocorra, a carga viral do HIV deve ser alcançada e mantida indetectável (<50 cópias/mL).²⁶

A contagem de linfócitos T CD4+ serve como indicador da função imunológica em pacientes que têm infecção pelo HIV. É um dos principais fatores na decisão de iniciar TARV e profilaxia de infecções oportunistas, e é o mais forte preditor de progressão da doença subsequente. Atualmente, a TARV é recomendada em indivíduos assintomáticos, com contagem de linfócitos T CD4+ < 350/mm³.⁵

A terapia inicial geralmente inclui a combinações de três fármacos: dois ITRNs associados a um ITRNN ou a um IP reforçado com RTV (IP/r). Porém, o esquema preferencial para início da terapia é: 2 ITRN + ITRNN; e o esquema alternativo: 2 ITRN + IP/r.^{26,27}

Os inibidores da transcriptase reversa bloqueiam o ciclo de replicação do HIV na síntese do DNA dependente do RNA, a etapa de transcrição reversa. Enquanto os inibidores não-nucleosídicos são muito seletivos para a transcriptase reversa do HIV-1, os análogos nucleosídicos e nucleotídicos inibem uma variedade de reações de polimerização do DNA além daquelas da transcriptase reversa do HIV-1.²⁸ Regimes baseados em ITRNN demonstraram uma alta potência virológica e durabilidade. Porém, as principais desvantagens dos ITRNNs disponíveis atualmente envolvem a prevalência

de cepas virais resistentes em pacientes virgens de tratamento e uma barreira genética baixa para o desenvolvimento de resistência.⁵

Os IP/r, por sua vez, oferecem maior barreira genética à resistência que os ITRNNs. De fato, a resistência a qualquer IP/r resulta do acúmulo de mutações, enquanto apenas uma mutação de ITRNN confere resistência completa ao efavirenz (EFZ) e à NVP. Em consequência à barreira genética dos fármacos, a barreira genética dos esquemas contendo IP/r também é maior.⁵

2.2 Atazanavir (ATV)

2.2.1 Farmacologia e farmacocinética

O ATV é um azapeptídeo inibidor da protease do HIV-1, que inibe seletivamente o processamento de poliproteínas Gag e Gag-Pol virais em células infectadas pelo HIV-1, pertencentes ao grupo M, subtipos A, B, C, D, AE, AG, F, G e J, em células infectadas, assim, evitando a formação de vírions maduros.²⁹⁻³²

É rapidamente absorvido com uma C_{max} ocorrendo após cerca de 2,5 h após a administração, o que demonstra uma farmacocinética não linear, característica que permite que este medicamento seja utilizado uma vez por dia.^{29,31,32} A farmacocinética em adolescentes e adultos jovens pode diferir daquela em crianças jovens e adultos mais velhos, por se tratar de um processo significativamente variável decorrente da

absorção ácido-dependente, das interações droga-alimentação e droga-droga, e/ou da variabilidade no sistema enzimático responsável pela sua eliminação.^{16,33}

O ATV é altamente ligado às proteínas séricas humanas (até 86%), especialmente e em uma proporção semelhante à alfa-1-ácido-glicoproteína (AAG) e à albumina.^{29,32} O grau de absorção é altamente dependente do pH gástrico e aumenta quando ingerido juntamente com alimentos, reduzindo a variabilidade farmacocinética.^{29,31,32} Portanto, as drogas que alteram o pH gástrico podem afetar a solubilidade do ATV e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade.^{29,31} A solubilidade do atazanavir significativamente diminui à medida que aumenta o pH intragástrico. Portanto, a co-administração de atazanavir com agentes ácido-supressores, tais como os inibidores da bomba de prótons ou antagonistas dos receptores de H₂, resulta em uma redução nas concentrações plasmáticas do atazanavir, devendo ser evitada.^{29,30,32}

O ATV é amplamente metabolizado em humanos. As principais vias de biotransformação em humanos consistem de monooxigenação e deoxigenação. Vias de biotransformação secundárias para atazanavir ou seus metabólitos consistem de glicuronidação, N-dealquilação, hidrólise e oxigenação com dehidrogenação.³² Como o ATV é um substrato e inibidor da CYP3A, CYP2C8, UGT1A1, e P-gp, a sua administração e as drogas metabolizadas por estas isoenzimas e/ou substratos da P-gp podem causar um aumento das concentrações plasmáticas do fármaco utilizado concomitantemente, podendo melhorar ou prolongar potencialmente tanto seus efeitos terapêuticos, como os adversos.²⁹⁻³¹

Devido ao efeito inibitório do RTV na isoenzima CYP3A, a magnitude da interação da droga com a adição do ATV pode ser alterada.^{29,31} O nível plasmático do

ATV pode diminuir quando ele for administrado simultaneamente com outras drogas.^{30,31} Por isso, é frequentemente potenciado com RTV, para que seus níveis aumentem e, também, por melhorar a atividade virológica e aumentar a barreira genética à resistência.³⁰

Uma pequena dose de RTV inibe o metabolismo da CYP3A4 do ATV, diminuindo assim a sua metabolização hepática, com conseqüente elevação de suas concentrações plasmáticas e exposição, e aumentando sua meia-vida de eliminação. Esta dose aumenta as concentrações plasmáticas mínimas (Cmin) do ATV e área sob a curva concentração plasmática-tempo (AUC). A dose padrão de ATV uma vez ao dia é de 400 mg sem adição de RTV em pacientes virgens de tratamento e 300 mg de ATV adicionado à 100 mg de RTV em pacientes com experiência em tratamento.³⁴

O TDF, um ITRNt, e o ATV / RTV representam-se altamente eficazes quando administrados uma vez ao dia. Esquemas antirretrovirais, incluindo TDF e atazanavir potenciado com ritonavir, têm se mostrado eficazes em adultos infectados pelo HIV. Não existem dados farmacocinéticos sobre estes agentes em combinação em adolescentes ou adultos jovens infectados pelo HIV.¹⁶

Além disso, há uma interação droga-droga bidirecional entre TDF e ATV. Em adultos infectados pelo HIV, o TDF provoca uma diminuição de aproximadamente 25% na área de ATV sob a curva concentração-tempo (AUC) e 40% na concentração mínima quando a droga é administrada sem a adição do RTV, portanto o TDF não deve ser administrado com ATV não potenciado.^{16,30} Por outro lado, a AUC do TDF e a concentração máxima da droga no soro (Cmax) são aumentadas para 37% e 34%, respectivamente, na presença de atazanavir em voluntários

saudáveis.¹⁶ O mecanismo desta interação é desconhecido. Concentrações mais altas de TDF poderiam potencializar os eventos adversos associados ao TDF, incluindo alterações renais. Pacientes recebendo ATV / RTV e TDF devem ser monitorados quanto aos eventos adversos associados ao TDF, pois aproximadamente 70% dos casos publicados da indução de efeitos nefrotóxicos pelo TDF são observados no uso concomitante de uma dose baixa de RTV.^{32,35}

Clinicamente, a relação entre seus transportadores e o ATV desempenha um papel importante na eficácia e toxicidade de drogas, pois são determinantes da penetração do ATV em vários tecidos em que são expressos, como o fígado e os rins.³⁰

O ATV é extensivamente metabolizado pelo citocromo P450, principalmente pelas isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5. Seus metabólitos possuem uma excreção biliar e urinária de 79% e 13% da dose administrada, respectivamente. Nas fezes, é encontrada uma proporção de 20% da droga inalterada e na urina 7%.²⁹⁻³² A meia-vida de eliminação média do ATV em voluntários saudáveis (n = 214) e pacientes adultos infectados pelo HIV (n = 13) foi de, aproximadamente, 7 horas, no estado de equilíbrio após uma dose diária de 400 mg, com uma refeição leve.³² A fase estacionária é atingida após 4-8 dias de tratamento, com uma acumulação corporal de cerca de 2,3 vezes.²⁹⁻³²

Embora a segurança hepática de ATV ser comprovada, a farmacocinética em pacientes com insuficiência hepática continua sendo um problema importante, visto que o metabolismo principal da droga é hepático, podendo haver aumento das concentrações de ATV.^{29,30,32} O impacto de moderado a grave de insuficiência hepática na farmacocinética do ATV foi avaliada em 16 pacientes com doença hepática após

uma única dose de atazanavir de 400 mg. A AUC média foi 42% maior nos pacientes com insuficiência hepática em comparação com voluntários saudáveis, e a meia-vida média estendeu-se em 6,4-12,1 h.³⁰⁻³² Em outro estudo de 15 pacientes infectados pelo HIV em estágio final de doença hepática que recebiam ATV 400 mg, uma vez por dia, a AUC mediana e os valores da C_{min} foram semelhantes aos dos controles, embora a variabilidade na AUC ter sido alta e a maioria dos pacientes estar em uso concomitante com TDF e/ou em terapia de supressão ácida. Além disso, em 131 pacientes co-infectados com o vírus da hepatite C (HCV), 73 dos quais receberam atazanavir potenciado com ritonavir, o grau de fibrose hepática não impactaram os níveis plasmáticos de atazanavir em pacientes com ou sem cirrose. Embora a informação de prescrição adverte contra o uso de atazanavir em pacientes com insuficiência hepática grave ou o uso de atazanavir potenciado com ritonavir em pacientes com algum grau de insuficiência hepática, a sua segurança e eficácia nesta população de pacientes têm sido sugerida em vários estudos de pequeno porte.³⁰

O ATV está associado principalmente com a elevação reversível da bilirrubina devido à inibição competitiva da enzima UDP-glicuronil transferase (UGT1A1) pelo ATV, porém os pacientes não necessitam alterar seu regime de tratamento por causa desse resultado, pois a icterícia é um efeito leve e reversível, atribuído ao metabolismo hepático.^{31,32}

Um estudo clínico em 56 pessoas com HIV realizado para avaliar a eficácia do ATV demonstrou que a exposição medida pela área sob a curva concentração-tempo (AUC) foi um preditor de supressão viral e pessoas com uma maior AUC eram mais propensas a ter um aumento da concentração sérica da bilirrubina. Este estudo avaliou

a relação entre a resposta terapêutica e a segurança do ATV em três doses (200, 400 e 500 mg por dia) administrado como monoterapia em duas semanas antes de começar a estavudina e didanosina. Foi observado que a probabilidade de um aumento na concentração sérica de bilirrubina ($>43 \mu\text{mol l}^{-1}$) foi maior em indivíduos com maiores valores da AUC do ATV. Ao contrário de outros inibidores da protease do ATV não foi associada com perfis anormais de lipídios.³⁶

Apesar de sua rota de eliminação ser principalmente hepática, o uso do ATV deve ser evitado em doentes previamente tratados com estágio final de doença renal (EFDR) que necessitam de hemodiálise.^{30,32} Indivíduos com insuficiência renal, sem necessidade de hemodiálise tiveram um aumento de 19% em média da AUC do ATV, em comparação com a idade, sexo e peso dos controles pareados com função renal normal.^{30,31} Nos indivíduos submetidos à hemodiálise, embora apenas 2,1% da dose administrada ter sido removida durante uma sessão de diálise de 4 horas, a média da AUC do ATV foi reduzida em 42% nos dias de hemodiálise e 28% nos dias sem hemodiálise, em comparação com os controles. O mecanismo desta diminuição da exposição ao atazanavir é desconhecida, mas os investigadores apontam a secreção ácida gástrica reduzida em pacientes em hemodiálise como uma causa potencial.³⁰

2.3 Nefropatia associada ao HIV

O HIV pode causar lesão direta para os rins, manifestada pela nefropatia associada ao HIV (HIVAN). Esta entidade foi descrita antes da era da HAART, mas continua sendo um problema significativo, apesar do advento da HAART.³⁵

Desencadeada pela invasão do rim pelo HIV-1, geralmente começa com proteinúria subclínica e é muitas vezes acompanhada por uma elevação dos níveis séricos de creatinina e de acidose tubular renal.^{37,38} A terceira principal causa de doença renal terminal nos afro-descendentes é a HIVAN, estes indivíduos parecem estar mais predispostas para o desenvolvimento da doença (90% de todos os casos de HIVAN) e também têm 18 vezes mais chances de progredir para o estágio final de doença renal (EFDR) do que os brancos.^{9,35,39,40}

A nefropatia em pacientes com HIV pode ser causada por patologias relacionadas com o vírus, como também, por outros fatores que não estejam relacionados com o HIV.^{9,35}

Os fatores relacionados ao HIV que podem desenvolver doença renal incluem microangiopatia trombótica, assim como infecções oportunistas, tais como citomegalovírus, mycobacterium, cryptosporidium e doenças malignas como o linfoma e sarcoma de Kaposi. As hepatites B e C têm uma maior prevalência na população HIV-positiva e podem causar lesões glomerulares. Elas também merecem atenção especial devido à complexidade do diagnóstico e tratamento da doença renal no contexto da infecção combinada de HIV-HCV.³⁵

A lesão renal aguda (LRA) que se desenvolve no contexto da infecção pelo HIV ocorre tipicamente com graves infecções oportunistas. Além disso, os fármacos utilizados para tratar essas infecções oportunistas, assim como a terapia antirretroviral, podem causar doença renal. Antibióticos aminoglicosídeos, pentamidina, aciclovir, foscarnet, anfotericina, tenofovir, adefovir, cidofovir e têm sido associados com lesão renal em pacientes infectados pelo HIV.³⁵

Os fatores não relacionados ao HIV incluem a hipertensão, diabetes mellitus, aterosclerose, drogas, nefropatias primárias e secundárias, bem como outras infecções.^{9,35}

2.4 Nefropatia associada aos antirretrovirais

Muitos estudos têm sido realizados para avaliar os fatores de risco que podem contribuir para a insuficiência renal em pacientes infectados pelo HIV. Esses fatores são numerosos e dependem de características subjacentes do paciente, bem como do regime de drogas.³⁵

O rim tem um papel importante no metabolismo e excreção dos medicamentos antirretrovirais e isso torna-o vulnerável a vários tipos de lesões, incluindo distúrbios eletrolíticos e ácido-base, acidose láctica, LRA, tubulopatias, DRC, e EFDR, necessitando de transplante renal. Essas lesões ocorrem por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a toxicidade tubular direta, reações alérgicas, e precipitação de cristais insolúveis de drogas dentro do lúmen tubular renal.³⁵

Alguns estudos têm ligado certos medicamentos antirretrovirais, especialmente o TDF e os IPs LPV / RTV, ATV / RTV e IDV, com redução na taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) e anormalidades nos túbulos renais.⁹

Os IPs potenciados com RTV podem ter uma propensão maior de causar lesão renal. Aproximadamente 70% dos casos publicados da indução de efeitos nefrotóxicos pelo TDF são observados no uso concomitante de uma dose baixa de RTV. O TDF é ativamente absorvido nos túbulos proximais e secretado no lúmen através da proteína

associada à multirresistência a drogas (MRP4). A inibição da MRP4 por IP/RTV leva ao aumento dos níveis de tenofovir intracelulares que pode aumentar seus efeitos nefrotóxicos. Com o tempo, o TDF tem sido associado ao desenvolvimento de disfunção tubular proximal incluindo síndrome de Fanconi (SF), LRA, diabetes insipidus nefrogênico (DIN), e hipocalcemia severa. Lamivudina (3TC), estavudina (D4T), abacavir (ABC) e didanosina (ddI) também têm sido relacionadas em relatos de casos de SF e DIN.³⁵

Uma série de estudos observacionais têm documentado a associação do TDF com nefrotoxicidade após a sua utilização generalizada em pacientes com múltiplas comorbidades. A toxicidade renal do TDF é mais provável ocorrer em pacientes com doença renal pré-existente ou pelo mal controle da doença causada pelo HIV ou com maior duração do tratamento, com a idade do paciente mais avançada, a concentração de creatinina elevada na baseline, o sexo feminino, etnia afro-descendente, o CD4 <200 células / mm³, e a administração concomitante de outras drogas nefrotóxicas.³⁵

Nefrite intersticial aguda (NIA) tem sido descrita com uso de IDV, ABC, RTV e ATV. A desidratação, a urina alcalina, e uma história prévia de nefrolitíase parecem ser fatores de risco para litíase renal associados ao uso de ATV e IDV.³⁵

Os principais medicamentos associados à DRC são o IDV, o ATV e o TDF, e os fatores de risco tradicionais associados incluem o envelhecimento, diabetes mellitus e hipertensão.^{11,35} IDV, TDF e NVP estão entre os agentes antirretrovirais associados à IRA.²⁰

2.5 Avaliação da função renal

Avaliar com precisão a função renal é essencial para o manejo clínico de indivíduos infectados pelo HIV. Os métodos atuais de estimativas de função renal não são completamente validados na infecção pelo HIV, no entanto, existem estudos em andamento para validá-los.⁴¹

A taxa de filtração glomerular é considerada como a melhor medida geral da função renal e pode ser calculada a partir dos resultados do teste de creatinina no sangue, idade, raça, sexo e outros fatores.⁴¹⁻⁴³ A medição do padrão-ouro da TFG é o clearance urinário de inulina. Apesar de outras substâncias exógenas fornecerem resultados semelhantes, o custo e os encargos do uso de inulina ou de outras substâncias exógenas para os pacientes e para a equipe médica podem limitar a sua praticidade clínica. Portanto, as equações da TFG estimada usando substâncias endógenas são mais comumente usadas. As diretrizes de prática clínica fornecidas pela National Kidney Foundation (NKF) recomendam o uso da creatinina sérica para estimar a TFG.^{41,43}

Atualmente, as fórmulas para estimar a TFG mais comuns são a Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), a Cockcroft-Galt (CG) e a Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI).^{11,44}

A equação do MDRD para estimativa da TFG foi originalmente desenvolvida com base nos dados do estudo **Modification of Diet in Renal Disease** em pacientes com DRC e não incluiu indivíduos saudáveis. O padrão-ouro usado no desenvolvimento da equação MDRD foi o *clearance* de iotalamato-I¹²⁵ e, portanto, ela estima a TFG (em

mL/min/1,73m²) e não a depuração de creatinina.⁴⁵ Atualmente, uma fórmula do MDRD abreviada, que utiliza somente idade, sexo, creatinina e raça, tem sido recomendada, porque seu desempenho é tão bom quanto a equação inicial, que utiliza também uréia e albumina.⁴⁶

O grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) recentemente desenvolveu, a partir de um estudo de coorte que incluiu indivíduos com e sem DRC, uma nova equação que é uma variação da fórmula do MDRD.⁴² A equação, denominada de CKD-EPI usa as mesmas quatro variáveis que a equação do MDRD abreviada, mas, comparativamente, apresenta melhor desempenho e previsão de risco, mesmo em indivíduos hígidos.⁴⁵

A função renal foi classificada em cinco estágios, dependendo do nível da TFG estimada, propostos pela “**Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI)**”: afecções renais com TFG normal, TFG ≥ 90 mL/min/1,73 m²; afecções renais com leve redução na TFG, entre 60-89 mL/min/1,73 m²; redução moderada da TFG, entre 30-59 mL/min/1,73 m²; redução grave na TFG, entre 15-29 mL/min/1,73 m²; falência renal, TFG inferior a 15 mL/min/1,73 m².⁴³

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. http://www.who.int/hiv/data/2009_global_summary.png. Acesso em Novembro, 2011.
2. <http://www.aids.gov.br/pagina/aids-no-brasil>. Acesso em Novembro, 2011.
3. Palella FJ, Baker RK, Moorman AC, *et al.* Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;**43**: 27-34.
4. Hogg RS, Heath KV, Yip B, *et al.* Improved survival among HIV infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 1998;**279**: 450–454.
5. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adult and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. (Adaptado em 14 de Outubro de 2011. Acesso em Janeiro, 2012). Disponível em: <http://AIDSinfo.nih.gov>
6. Lima VD, Johnston K, Hogg RS, *et al.* Expanded access to highly active antiretroviral therapy: A potentially powerful strategy to curb the growth of the HIV epidemic. *The Journal of Infectious Diseases* 2008; **198**: 59–67.
7. Nettles RE, Kieffer TL, Parsons T, *et al.* Marked intraindividual variability in antiretroviral concentrations may limit the utility of therapeutic drug monitoring. *Clin Infect Dis* 2006; **42(8)**: 1189-96.

8. Neto I, Oliveira G, Pestana M. Nefrotoxicidade dos antivíricos. *Acta Méd, Portugal*, 2007; **20**: 59-63.
9. Rawlings MK, Klein J, Klingler EPT, *et al.* Impact of comorbidities and drug therapy on development of renal impairment in a predominantly African American and Hispanic HIV clinic population. *HIV/AIDS – Research and Palliative Care* 2011; **2011(3)**: 1–8.
10. Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat* 2011; **2011**: 562790.
11. Menezes AM, Torelly JJ, Real L, Bay M, Poeta J, Sprinz E. Prevalence and risk factors associated to chronic kidney disease in HIV-infected patients on HAART and undetectable viral load in Brazil. *PLoS One* 2011; **6(10)**: e26042.
12. Barrios A, Garcia-Benayas T, Gonzalez-Lahoz J, Sorianon V. Tenofovir- related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS* 2004; **18**: 960–963.
13. Mocroft A, Kirk O, Reiss P, *et al.* Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS* 2010; **24**: 1667–1678.
14. Buchacz K, Young B, Baker RK, *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**: 626-628.

15. Kearney BP, Mathias A, Mittan A, Sayre J, Ebrahimi R, Cheng AK. Pharmacokinetics and safety of tenofovir disoproxil fumarate on coadministration with lopinavir/ritonavir. *Journal Acquiride Immune Deficiencie Syndrom* 2006; **43(3)** : 278-83.
16. Kiser JJ, Fletcher CV, Flynn PM, *et al.* Pharmacokinetics of antiretroviral regimens containing tenofovir disoproxil fumarate and atazanavir-ritonavir in adolescents and young adults with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52(2)**: 631-7.
17. Viread (tenofovir disoproxil fumarate). *Package insert* 2005. Gilead Sciences, Foster City, CA, USA.
18. Brewster UC, Perazella MA. Acute interstitial nephritis associated with atazanavir, a new protease inhibitor. *American Journal of Kidney Diseases* 2004; **44(5)**: e81-e84.
19. Gupta SK, Eustace JA, Winston JA, *et al.* 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* 2005; **40**: 1559–85.
20. Bruggeman LA, Bark C, Kalayjian RC. HIV and the kidney. *Curr Infect Dis Rep.* 2009; **11(6)**: 479–485.

21. Monforte A, Lepri AC, Rezza G, *et al.* Insights into the reasons for discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen in a cohort of antiretroviral naïve patients. *AIDS* 2000; **14**: 499–507.
22. Poeta J, Linden R, Antunes MV, *et al.* Plasma concentrations of efavirenz are associated with body weight in HIV-positive individuals. *J. Antimicrob. Chemother* 2011; doi:10.1093/jac/dkr360.
23. Carr A, Cooper DA. Adverse effects of antiretroviral therapy. *Lancet* 2000; **356**: 1423–30.
24. Rayner CR, Dooley MJ, Nation RL. Antivirals for HIV. In: Burton ME, Shaw LM, Schentag JJ & Evans WE. *Applied Pharmacokinetics & Pharmacodynamics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring*. 4th ed. Baltimore, 2006. p. 354-409.
25. Back DJ, Khoo SH, Gibbons SE, Merry C. The role of therapeutic drug monitoring in treatment of HIV infection. *Br J Clin Pharmacol* 2001; **51**: 301–08.
26. Thompson MA, Aberg JA, Cahn P, *et al.* Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2010 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2010; **304(3)**: 321-33.

27. Gazzard B, Bernard AJ, Boffito M, *et al.* British HIV Association (BHIVA) guidelines for the treatment of HIV-infected adults with antiretroviral therapy (2006). *HIV Med* 2006; **7(8)**: 487-503.
28. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Halser SL, Jameson JL. *Medicina Interna*. 16rd ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill 2006.
29. Artacho MA, Barreiro P, Fernández-Montero JV. Long-term treatment of patients with HIV-1: the role of atazanavir. *HIV/AIDS – Research and Palliative Care* 2010; **2**: 157–166.
30. Achenbach CJ, Darin KM, Murphy RL, Katlama C. Atazanavir/ritonavir-based combination antiretroviral therapy for treatment of HIV-1 infection in adults. *Future Virol* 2011; **6(2)**: 157–177.
31. Rivas P, Morello J, Garrido C, Rodríguez-Nóvoa S, Soriano V. Role of atazanavir in the treatment of HIV infection. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2009; **5**: 99–116.
32. Reyataz (Sulfato de Atazanavir). Bula Rev1011. Bristol-Myers Squibb Farmacêutica S.A., São Paulo, SP, Brasil.

33. Wempe MF, Anderson PL. Atazanavir metabolism according to CYP3A5 status: An in vitro – in vivo assessment. *DMD* 2010; **dmd.110.036178**.
34. Smith KY, Weinberg WG, DeJesus E. 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 Research and Therapy* 2008; **5**: 5.
35. Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat* 2011; **2011**: 562790.
36. Ray JE, Marriott D, Bloch MT, McLachlan AJ. Therapeutic drug monitoring of atazanavir: surveillance of pharmacotherapy in the clinic. *Br J Clin Pharmacol* 2005; **60(3)**: 291–299.
37. Phillips AN, Neaton J, Lundgren JD. The role of HIV in serious diseases other than AIDS. *AIDS*. 2008; **22(18)**: 2409–2418.
38. Andiman WA, Chernoff MC, Mitchell C. Incidence of persistent renal dysfunction in human immunodeficiency virus-infected children: Associations with the use of antiretrovirals, and other nephrotoxic medications and risk factors. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; **28(7)**: 619–625.

39. Lucas GM, Lau B, Atta MG, Fine DM, Keruly J, Moore RD. Chronic kidney disease incidence, and progression to end-stage renal disease, in HIV-infected individuals: A tale of two races. *J Infect Dis*. 2008; **197(11)**: 1548–1557.
40. Crews DC, Jaar BG. Racial differences in chronic kidney disease incidence and progression among individuals with HIV. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008; **4(12)**: 652–653.
41. Estrella MM, Fine DM. Screening for chronic kidney disease in HIV-infected patients. *Adv Chronic Kidney Dis* 2010; **17(1)**: 26. doi:10.1053/j.ackd.2009.07.014.
42. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009; **150(9)**: 604–612.
43. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; **39(2)**: S1–266.
44. Soares AA, Eyff TF, Campani RB, *et al*. Performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Equations in Healthy South Brazilians. *Am J Kidney Dis* 2010; **55**: 1162–1163.
45. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Ann Intern Med* 1999; **130**: 461-70.

46. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2000; **11**: A0828.

3 OBJETIVOS

3.1 Principal

Associar os níveis plasmáticos de Atazanavir e a função renal.

3.2 Secundários

Diferenciar a influência das dosagens de 300mg e 400mg nas concentrações plasmáticas do Atazanavir e na função renal.

Diferenciar a nefrotoxicidade associada ao Tenofovir da nefrotoxicidade associada ao Atazanavir, caso exista, através da divisão dos pacientes em grupos de tratamento.

ARTIGO

Este artigo será submetido à **Antiviral Therapy**.

ASSOCIATION BETWEEN PLASMA LEVELS OF ATAZANAVIR AND RENAL FUNCTION

Ana Júlia Luz¹, Júlia Poeta¹, Rafael Linden², Marina Venzon Antunes², Luiza Isola Caminha³ and Eduardo Sprinz^{1,4*}.

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil.

² Instituto de Ciências da Saúde, Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo-RS, Brasil.

³ Centro Universitário Metodista IPA, Porto Alegre-RS, Brasil.

⁴ Infectology Divisions, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre-RS, Brasil.

*Address Correspondence:

Eduardo Sprinz

Serviço de Infectologia

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcellos, 2350

90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil

Phone: 55 51 3359 8000

E-mail: eduardo.sprinz@gmail.com

Abstract

Introduction: The introduction of highly potent antiretroviral therapy (HAART) has dramatically decreased mortality rates of the subjects infected with HIV. However, the use of antiretrovirals (ARVs) can be linked to the development of kidney disease. The purpose of this study is to assess the association between plasma levels of atazanavir (ATV) and renal function in a cohort of subjects infected with HIV whose disease is under control.

Methods: One hundred and four subjects were consecutively enrolled between April and November 2011. In order to be included in the study, patients had to be on ATV for at least six months, with undetectable viral load for a period equal to or longer than 12 months, with T CD4+ lymphocyte counts higher than 200 cells/mm³ and older than 18 years. Subjects were divided into four treatment groups according to ATV regimen. ATV plasma concentrations were compared with renal function using the Simple Linear Regression Model.

Results: In treatment group with ATV unboosted, the plasma concentrations were statistically smaller ($p=0.001$) than the concentrations found in the other groups. No statistical difference was found in renal function among the groups. Finally, no association was found between ATV plasma levels and renal function (CKD-EPI, $p=0.079$; MDRD, $p=0.059$).

Conclusion: In summary, ATV plasma levels were not associated with changes in renal function in this study. Prospective studies are required in order to more

accurately observe if changes in renal function attributed to the use of ATV actually exist or if they are related to other factors.

Keywords: Atazanavir, Renal Function, Plasma Concentration.

Introduction

The introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) as the standard of care in HIV infection dramatically decreased mortality rates in subjects infected with the virus.[1,2] However, the use of antiretrovirals (ARVs) can be linked to the development of toxicity.[3-7] Among the main toxicities resulting from the antiretroviral therapy (ART) in medium and long term are the following: development of insulin-resistance, type-2 diabetes mellitus (DM), high blood pressure (HBP), dyslipidemia, central obesity, metabolic syndrome and nephrotoxicity.[4,9-11]

Renal dysfunction can be linked to the virus itself, traditional risk factors such as aging, HBP and DM, and/or to the ARVs, such as indinavir (IDV) and tenofovir (TDF).[4,8,12-16] The latter, when co-administered in regimens that concomitantly use ritonavir (RTV) is associated to increased nephrotoxicity.[17-19]

One of the factors that can contribute to the development of toxicity caused by ARVs is high plasma concentration of the drug.[20,21] Pharmacokinetic studies have shown that exposure to TDF is increased when it is co-administered with ritonavir/lopinavir (RTV/LPV) or atazanavir (ATV), thus increasing the concern with the potential development of renal toxicity.[22,23] Therapeutic drug monitoring can be a useful weapon for dose adjustment in order to avoid concentrations that are out of the therapeutic range, thus preventing toxicity.[5,24-26]

The purpose of this study is to assess the association between ATV plasma levels and renal function in a cohort of subjects infected with HIV whose disease is under control (undetectable viral load and CD4 > 200/mm³).

Population and method

Study Population

One hundred fifteen patients seen at the HIV/AIDS Outpatient Clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brazil, were consecutively selected between April and November 2011. In order to be included in the study, patients had to be on ATV for at least six months, with undetectable viral load (< 50 copies/mL) for a period equal to or longer than 12 months, with T CD4+ lymphocyte counts higher than 200 cells/mm³ and older than 18 years. Subjects with neurological conditions who were not able to understand the study, with active opportunistic disease, with any type of neoplasm and pregnant women were excluded from the study. All patients signed the informed consent (Attachment 1). The study was approved by the HCPA Ethics Review Board (ERB).

Data Collection

A questionnaire was administered to get additional information such as comorbidities, concurrent medications, time on ART, time on ATV, blood collection time, time when the last dose of ATV was taken, ARV regimen used, adverse effects reported by the patient and compliance with the treatment (Attachment 2). Body weight and height were obtained at the time the patient was included in the study.

Subjects were divided into four groups in an attempt to differentiate the influence of doses of ATV plasma concentrations and TDF-related nephrotoxicity: group 1 – subjects who were taken ATV (300mg/day)/RTV+TDF+lamivudine (3TC) + zidovudine (AZT) or stavudine (d4T); group 2 – subjects on ATV(300mg/day)/RTV in combination with 3TC+ AZT or abacavir (ABC), or ddl, or d4T; group 3 – subjects on ATV(400mg/day), also in combination with 3TC+ AZT or ABC, or ddl, or d4T; and, group

4 – subjects on efavirenz (EFV) or nevirapine (NVP) in the regimen in combination with ATV (300mg/day)/RTV ± others ARVs. ATV plasma concentrations were also analyzed to assess drug-related toxicity and its association with kidney damage.

Renal function was assessed by the estimated glomerular filtration rate using the simplified “Modification of Diet in Renal Disease” (MDRD) and the “Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration” (CKD-EPI) equations.

Sample Preparation

The blood samples collected by venipuncture used to analyze ATV plasma concentrations were stored in EDTA-containing tubes. The tubes were centrifuged at 2,500 rpm at four degrees Celsius for ten minutes and the resulting plasma was placed in a properly numbered Eppendorf tube and immediately stored at – 80°C until the ATV plasma concentration tests were performed. The researchers who measured the plasma concentrations of the drug were blind to the study subjects.

Determination of ATV plasma concentrations

Ultra performance liquid chromatography (UPLC) with diode array detection was the method used to determine ATV plasma concentrations.[21] After the liquid-liquid extraction of 0.5 mL of plasma with methyl-*tert*-butyl ether, the analytes were separated on a ACQUITY UPLC BEH[®] C18 column (2.1 x 150 mm, p.d. 1.7 µm) eluted with a gradient of triethylammonium phosphate buffer pH 3.0 and acetonitrile. Total run time was 9.5 min. Calibration curves were linear in the range of 0.1 to 10.0 µg/mL. The lower limit of quantitation was 0.1 µg/mL for ATV. Accuracy ranged from 94.9 to 103.5%. Both

interday and intraday coefficients of variation were less than 7.7% for all analytes. Extraction yields were greater than 88.2%.

Statistical Analysis

The statistical analysis was performed at the SPSS program, version 19.0. Treatment groups were compared with factors related to renal function using the ANOVA test. Logarithmic and reverse transformations were used for the variables that presented non-parametric data. Additionally, groups were compared based on the ATV concentration according to the ANOVA test. Spearman correlation coefficient was used to compare ATV concentrations with the time of the last dose of this drug. As there was no association between these variables, all subjects were included in the analyses. ATV concentrations were compared with the variables involved in renal function, controlling for time on ARVs and time on ATV. Variables that showed an association with renal function in the univariate model, were then analyzed by the Simple Linear Regression Model (multivariate analysis). Concentrations were also compared with body weight, age and gender using the Generalized Linear Model (GLM).

Results

One hundred fifteen patients were screened following the inclusion and exclusion criteria of this study. Out of these, 11 (9.6%) were excluded later: five because they did not come at the time of blood collection; and six for not presenting concomitant tests. Table 1 shows the demographics of the remaining 104 patients (51 females; 10 Afro-descendants) included in the analyses. Average age for both genders was 47.7 ± 11.6 years.

Figure 1 shows the distribution of the subjects according to the treatment groups and Table 2 shows background demographics for each treatment group, showing that groups share similar features.

Specifically regarding ATV plasma concentrations (with an overall average among subjects of $1.251.0 \pm 1238.8$ ng/mL), treatment group 3 showed the statistically smallest concentrations ($p=0.001$) when compared to the concentrations of the other groups (Figure 2). No difference was found between ATV plasma concentrations and the following variables: body weight ($p= 0.326$), age ($p= 0.476$) and gender ($p= 0.899$).

Regarding renal function, the estimated GFR calculated by the CKD-EPI equation was 94.1 ± 24.9 mL/min/1.73m² and by the MDRD equation was 89.6 ± 27.8 mL/min/1.73m². However, when comparing the groups, although a difference of up to 10 mL/min1.73m² has been noticed, this was a not statistically significant for neither equations ($p= 0.528$ and 0.731 , respectively). The average creatinine level was 0.9 ± 0.3 mg/dL and no significant difference was found among the different groups ($p= 0.170$).

Finally, no association was found between ATV plasma levels and renal function (CKD-EPI, $p= 0.079$; MDRD, $p= 0.059$; creatinine, $p= 0.165$).

Discussion

This is the first study to assess the association between ATV plasma levels and renal function. In this study, no association was found between plasma concentrations and renal function. As expected, patients treated with ATV without the addition of RTV to the regimen presented lower concentrations of ATV ($p=0.001$). Although other ARVs have been administered to group 4, such as EFZ or NVP (which are known to be

substrates for CYP3A4 and can act as inducers or both as system inducers and inhibitors), ATV plasma concentrations were similar for groups 1, 2 and 4, thus highlighting the role of RTV as an ATV pharmacokinetic enhancer.[27]

Unlike other ARVs, which have their plasma concentrations linked to body weight, such as EFZ, this association was not found in this study.[5] Likewise, the variables gender and age have had no influence on ATV plasma concentrations.

On the other hand, since HAART does not always use the same drugs, subjects were grouped according to the ATV dose, use or non-use of RTV, use or non-use of TDF and use or non-use of non-nucleoside analogs (NVP or EFZ). This division was made with the purpose of identifying specific toxicities linked to the ARVs (such as in the combination of TDF and ATV) and linked to ATV doses, since the group that was not concomitantly on RTV had lower concentrations, as mentioned above. However, renal function was not different among the groups in the population study, disagree with other studies which described the cumulative association of TDF, ATV, and RTV to the development of kidney disease.[16,28,29] Therefore, if there is an association between ATV and loss of renal function, this association should not be related to ATV plasma concentrations.

This study has some limitations. Since it is a cross-sectional study, only the association, and not the cause and effect between ATV plasma levels and renal function could be measured. Additionally, collection time was not standardized considering the time when the last dose of the drug was taken. However, in order to try to correct this fact, the time after the last ATV dose and its plasma concentration were compared

among study subjects and since there was no association between these factors, it can be inferred that collection time did not influence ATV measurement. This can reflect the state of equilibrium of the ATV in the body of the study subjects, i.e., the drug plasma concentration variability whose sample was collected close to the nadir (trough), does not significantly differ from that collected close to the peak or the average point of the administration interval. Lastly, 11 patients (10.6%) did not present detectable ATV levels, which may reflect a technical failure in measurement by the ultra performance liquid chromatography.

In summary, the findings of this study show that ATV plasma levels were not associated with changes in renal function. Prospective studies with larger samples are required in order to more accurately observe if changes in renal function attributed to the use of ATV actually exist or if they are related to the use of RTV, TDF or other factors yet to be identified.

References

1. Palella FJ, Baker RK, Moorman AC, *et al.* Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; **43**: 27-34.
2. Hogg RS, Heath KV, Yip B, *et al.* Improved survival among HIV infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 1998; **279**: 450–454.
3. Monforte A, Lepri AC, Rezza G, *et al.* Insights into the reasons for discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen in a cohort of antiretroviral naïve patients. *AIDS* 2000; **14**: 499–507.
4. Estrella MM, Fine DM. Screening for chronic kidney disease in HIV-infected patients. *Adv Chronic Kidney Dis* 2010; **17(1)**: 26. doi:10.1053/j.ackd.2009.07.014.
5. Poeta J, Linden R, Antunes MV, *et al.* Plasma concentrations of efavirenz are associated with body weight in HIV-positive individuals. *J. Antimicrob. Chemother* 2011; doi:10.1093/jac/dkr360.
6. Taburet AM, Piketty C, Chazallon C, *et al.* Interactions between atazanavir-ritonavir and tenofovir in heavily pretreated human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48(6)**: 2091–2096.

7. Carr A, Cooper DA. Adverse effects of antiretroviral therapy.

Lancet 2000; **356**: 1423–30.

8. Crum-Cianflone N, Ganesan A, Teneza-Mora N, *et al.* Prevalence and factors associated with renal dysfunction among HIV-infected patients. *AIDS Patient Care STDS* 2010; **24(6)**: 353-360.

9. Nettles RE, Kieffer TL, Parsons T, *et al.* Marked intraindividual variability in antiretroviral concentrations may limit the utility of therapeutic drug monitoring. *Clin Infect Dis* 2006; **42(8)**: 1189-96.

10. Hugen PWH, Langebeek N, Burger DM, Zomer B, van Leusen R, Schuurman R, *et al.* Assessment of adherence to HIV protease inhibitors: comparison and combination of various methods, including MEMS, patient and nurse report, and therapeutic drug monitoring. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; **30**: 324-34.

11. Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat* 2011; **2011**: 562790.

12. Bruggeman LA, Bark C, Kalayjian RC. HIV and the kidney. *Curr Infect Dis Rep.* 2009; **11(6)**: 479–485.

13. Mocroft A, Kirk O, Gatell J, *et al.* Chronic renal failure among HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007; **21**: 1119–1127.
14. Menezes AM, Torelly JJ, Real L, Bay M, Poeta J, Sprinz E. Prevalence and risk factors associated to chronic kidney disease in HIV-infected patients on HAART and undetectable viral load in Brazil. *PLoS One* 2011; **6(10)**: e26042.
15. Barrios A, Garcia-Benayas T, Gonzalez-Lahoz J, Sorianon V. Tenofovir- related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS* 2004; **18**: 960–963.
16. Mocroft A, Kirk O, Reiss P, *et al.* Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS* 2010; **24**: 1667–1678.
17. Uglietti A, Gervasoni C, Gabrielli E, *et al.* Smoking, female gender and PI use are associated with decreasing renal function in TDF-containing HAART. *Journal of the International AIDS Society* 2010; **13(4)**: P84.
18. Gallant JE, Moore RD. Renal function with use of a tenofovir-containing initial antiretroviral regimen. *AIDS* 2009; **23**: 1971–1975.
19. Fernandez-Fernandez B, Montoya-Ferrer A, Sanz AB, *et al.* Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. *AIDS Res Treat* 2011; **2011**: 354908.

20. Moltó J, Blanco A, Miranda C, *et al.* Variability in non-nucleoside reverse transcriptase and protease inhibitor concentrations among HIV-infected adults in routine clinical practice. *Br J Clin Pharmacol* 2006; **62(5)**: 560–566.
21. Antunes MV, Poeta J, Ribeiro JP, Sprinz E, Linden R. Ultra-performance liquid chromatographic method for simultaneous quantification of HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors and protease inhibitors in human plasma. *J Braz Chem Soc* 2011; **22(1)**: 134-141.
22. Kiser JJ, Fletcher CV, Flynn PM, *et al.* Pharmacokinetics of antiretroviral regimens containing tenofovir disoproxil fumarate and atazanavir-ritonavir in adolescents and young adults with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52(2)**: 631-7.
23. Viread (tenofovir disoproxil fumarate). *Package insert* 2005. Gilead Sciences, Foster City, CA, USA.
24. Nos AP, Larru B, Bellón JM, *et al.* Comparison of levels of antiretroviral drugs with efficacy in children with HIV infection. *Indian Journal of Pediatrics* 2010; **77(4)**: 397-402.
25. LaPorte CJL, Back BJ, Blaschke T, *et al.* Updated guidelines to perform therapeutic drug monitoring for antiretroviral agents. *Rev Antivir Ther* 2006; **3**: 4-14.

26. Rendón A, Núñez M, Jiménez-Nácher I, González de Requena D, González-Lahoz J, Soriano V. Clinical benefit of interventions driven by therapeutic drug monitoring. *HIV Med* 2005; **6(5)**: 360-5.

27. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adult and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. (Update 14 October 2011. Accessed 6 January 2012). Available from: <http://AIDSinfo.nih.gov>

28. James, C.W.; Steinhaus, M.C.; Szabo, S.; Dressier, R.M. Tenofovir-related nephrotoxicity: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 2004; **24**: 415–418.

29. Gaspar, G.; Monereo, A.; Garcia-Reyne, A.; de Guzman, M. Fanconi syndrome and acute renal failure in a patient treated with tenofovir: a call for caution. *AIDS* 2004; **18**: 351–352.

TABLE1: Baseline and Demographic Data.

	mean \pm SD or as indicated (n= 104)
Sex (%)	
- Female	49 (n= 51)
European-descendants (%)	90.4
Age (years)	47.7 \pm 11.6
Body weight (kg)	68.3 \pm 11.3
BMI (kg/m ²)	25.1 \pm 3.7
Time on ART (months)	109 \pm 56
Time on ATV (months)	55 \pm 27
CD4 count (cells/ μ l)	615 \pm 303
Creatinine (mg/dL)	0.9 \pm 0.3
CKD-EPI (mL/min/1.73 m ²)	94.1 \pm 24.9
MDRD (mL/min/1.73 m ²)	89.6 \pm 27.8
Plasma concentration of ATV (ng/mL)	1.251.0 \pm 1238.8

Abbreviations: BMI, body mass index; ART, antiretroviral therapy; ATV, atazanavir; SD, standard deviation; CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; MDRD, Modification of Diet in Renal Disease.

TABLE 2: Baseline and Demographic Data for each Group of Treatment (mean \pm SD or as indicated).

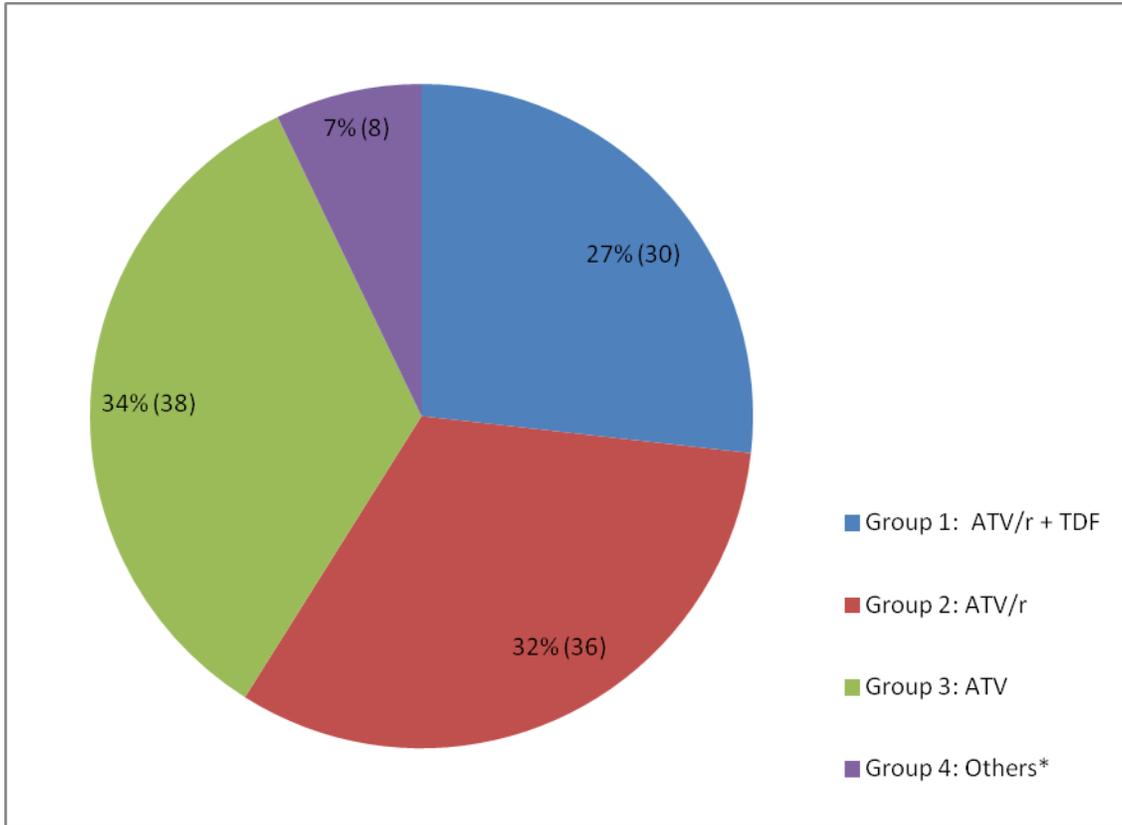
	Group 1 (n= 29)	Group 2 (n= 34)	Group 3 (n= 33)	Group 4 (n= 8)
Sex (%)				
Female	37.9 (n= 11)	44.1 (n= 15)	63.6 (n= 21)	50 (n= 4)
European-descendents (%)	82.8 (n= 24)	100 (n= 34)	87.9 (n= 29)	87.5 (n= 7)
Age (years)	47.6 \pm 11.3	47.2 \pm 12.9	48.6 \pm 11.5	46.9 \pm 8.0
Body weight (kg)	68.7 \pm 9.2	70.4 \pm 14.0	65.9 \pm 9.4	68.3 \pm 13.3
BMI (kg/m²)	25.3 \pm 3.1	25.7 \pm 4.5	24.7 \pm 2.5	24.0 \pm 5.5
Time on ART (months)	110.7 \pm 58.4	109.8 \pm 62.9	103.9 \pm 49.0	128.0 \pm 48.7
Time on ATV (months)	50.5 \pm 25.9	53.0 \pm 29.9	63.4 \pm 21.4	44.6 \pm 29.5
CD4 count (cells/μl)	605 \pm 270	640 \pm 341	605 \pm 266	598 \pm 432
Creatinine (mg/dL)	1.0 \pm 0.2	1.0 \pm 0.2	0.9 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2
CKD-EPI (mL/min)	92.8 \pm 26.9	88.5 \pm 29.8	98.0 \pm 18.4	92.3 \pm 25.4
Concentration of ATV (ng/mL)*	1722.3 \pm 1594.7	1348.9 \pm 1097.6	628.5 \pm 677.2	1694.4 \pm 1271.2

1= AZT, 3TC and/or d4T + (ATV/r+TDF); 2= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV/r); 3= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV); 4= Others: AZT+3TC+ATV/r+EFZ (n= 1), AZT+3TC+ATV/r+TDF+EFZ (n= 2), ATV/r+NVP (n= 1), ATV/r+EFZ (n= 2), ABC+ATV/r+EFZ (n= 1), or 3TC+ATV/r+EFZ (n=1).

Abbreviations: BMI, body mass index; ART, antiretroviral therapy; SD, standard deviation; AZT, zidovudine; 3TC, lamivudine; d4T, stavudine; ATV, atazanavir; r or RTV, ritonavir; TDF, tenofovir; ABC, abacavir; ddl, didanosine; EFZ, efavirenz; NVP, nevirapine.

*The mean difference is significant at the p-value = 0.001.

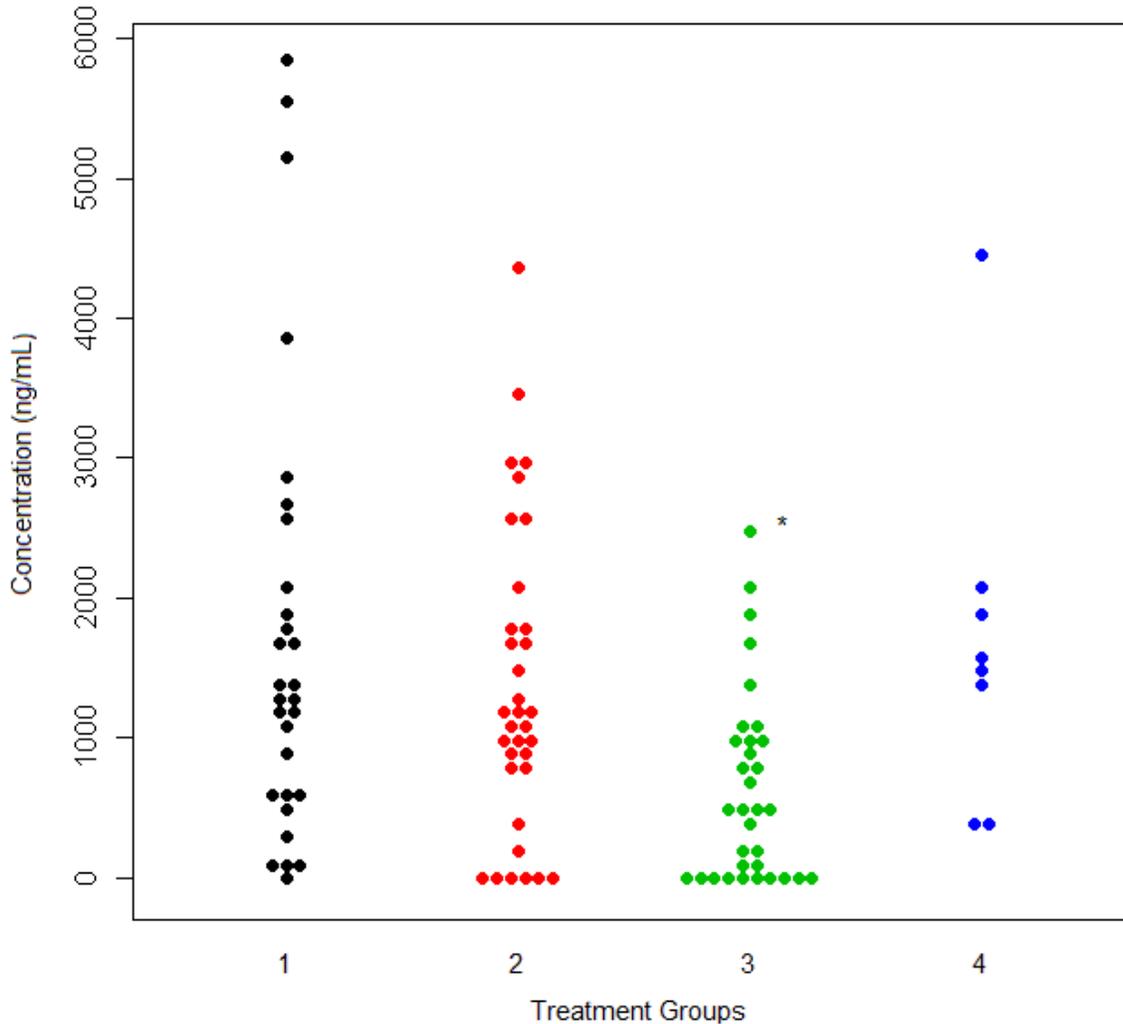
FIGURE 1: Treatment Groups (% / n).



1= AZT, 3TC and/or d4T + (ATV/r+TDF); 2= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV/r); 3= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV); 4= Others: AZT+3TC+ATV/r+EFZ (n= 1), AZT+3TC+ATV/r+TDF+EFZ (n= 2), ATV/r+NVP (n= 1), ATV/r+EFZ (n= 2), ABC+ATV/r+EFZ (n= 1), or 3TC+ATV/r+EFZ (n=1).

Abbreviations: AZT, zidovudine; 3TC, lamivudine; d4T, stavudine; ATV, atazanavir; r or RTV, ritonavir; TDF, tenofovir; ABC, abacavir; ddl, didanosine; EFZ, efavirenz; NVP, nevirapine.

FIGURE 2: Plasma Concentration of ATV versus Treatment Groups.



1= AZT, 3TC and/or d4T + (ATV/r+TDF); 2= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV/r); 3= AZT, 3TC, ABC, ddl and/or d4T + (ATV); 4= Others: AZT+3TC+ATV/r+EFZ (n= 1), AZT+3TC+ATV/r+TDF+EFZ (n= 2), ATV/r+NVP (n= 1), ATV/r+EFZ (n= 2), ABC+ATV/r+EFZ (n= 1), or 3TC+ATV/r+EFZ (n=1).

Abbreviations: AZT, zidovudine; 3TC, lamivudine; d4T, stavudine; ATV, atazanavir; r or RTV, ritonavir; TDF, tenofovir; ABC, abacavir; ddl, didanosine; EFZ, efavirenz; NVP, nevirapine.

* Group 3 is significant at the p-value = 0.001.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que, embora a introdução da TARV tenha melhorado a qualidade de vida dos pacientes infectados pelo HIV, com redução na morbidade e mortalidade destes pacientes, a incidência de efeitos adversos continua sendo um fator preocupante. Entre as diversas toxicidades dos fármacos ARVs está a doença renal.

Ao final deste trabalho podemos constatar se houver uma associação entre ATV e perda de função renal, esta associação não deve ser relacionada com as concentrações plasmáticas de ATV. Estudos prospectivos têm de serem realizados para verificar com maior exatidão se a função renal alterada atribuída ao uso de ATV realmente existe ou se está relacionada com o uso de RTV, TDF ou a outros fatores ainda não identificados.

Devemos considerar que o MTF é de suma importância para evitar concentrações dos ARVs fora dos limites terapêuticos, prevenindo os diversos tipos de toxicidade atribuídos aos esquemas atualmente utilizados.

ANEXOS

Anexo 1 : Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Recentemente, a atenção tem se focado na importância da concentração plasmática de antirretrovirais (ARVs) e, também, no fato de que as concentrações inadequadas dos fármacos podem colaborar significativamente para o fracasso do tratamento. Concentrações acima do nível esperado podem causar toxicidade renal, como síndrome nefrótica e glomerulopatias. Assim, concentrações de Atazanavir (ATV) dentro do nível terapêutico esperado podem prevenir danos renais.

Esta pesquisa tem como objetivo relatar a importância de controlar as concentrações plasmáticas de cada paciente em terapia com ARV, buscando comprovar a variabilidade do caminho percorrido pelo medicamento no organismo (farmacocinética), a toxicidade dos ARVs e a administração de diversos fármacos na terapêutica de pacientes soropositivos justificando a necessidade desse controle individual através do monitoramento terapêutico, e relacionar as concentrações plasmáticas do ATV com o desenvolvimento de toxicidade renal e com a adesão ao tratamento verificando se a disfunção renal, caso exista, está relacionada ou não ao uso de Tenofovir (TDF) e Ritonavir (RTV).

Concordando em participar do estudo, você será submetido a uma coleta de amostra de sangue que lhe causará o desconforto da picada com agulha e, às vezes, poderá deixar o local um pouco roxo. Além disso, serão realizadas medidas de peso e altura.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação neste projeto de pesquisa, pois fui informado de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e/ou coerção, a respeito dos objetivos, da justificativa e dos procedimentos aos quais serei submetido. Também fui informado dos riscos, desconfortos e benefícios da minha participação, todos acima listados.

Fui igualmente informado:

- da garantia de receber respostas ou esclarecimento sobre qualquer dúvida a respeito dos procedimentos;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação do meu tratamento;
- de que as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos vinculados ao presente projeto de pesquisa;
- de ser informado sobre os resultados e de suas implicações clínicas após o término do estudo;

- de que o material biológico que será coletado será armazenado pelo período de cinco anos, podendo ser utilizado para posteriores estudos dentro desta mesma proposta com a devida concordância do paciente;
- da utilização do material armazenado, que só ocorrerá mediante aprovação do novo projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa;

Os pesquisadores responsáveis por este Projeto de Pesquisa são: o Prof. Dr. Eduardo Sprinz (Fone: 2101 8152) e a mestranda Ana Júlia Luz (Fone: 93167877), tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Data ___/___/___

Nome

Assinatura do paciente

Nome

Concordo em deixar a minha amostra
armazenada por 5 anos

Nome

Assinatura do responsável pela obtenção
do presente consentimento

Anexo 2: Ficha de registro/Questionário

Dados de identificação

Data: / / Hora: : Pront.: _____ Nº _____

Nome: _____

Data nasc: / / Idade: _____ Profissão: _____

Estado civil : _____ Escolaridade: _____

Endereço: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ Fone: _____

Grupo étnico

() euro-descendente () afro-descendente () misto

Dados antropométricos

Peso Atual: _____

Altura: _____ IMC: _____

Desde quando HIV: _____ Tempo de Tratamento: _____

Esquema ARV atual:

Última dose ingerida:

Faz uso de algum medicamento? () Sim () Não

Já realizou algum transplante? () Sim () Não

Possui algum tipo de neoplasia? () Sim () Não

Efeitos adversos

Tonturas, dores de cabeça: () sim () não

Outros efeitos adversos relatados: _____

Utilização do tratamento corretamente, respeitando doses e horários (Adesão > 90%):

() sim, sempre () às vezes, sempre que posso () não