

DIRECTORA

Purificación Ruiz Flaño

CONSEJO DE REDACCIÓN

Luis Español González

Rubén Esteban Pérez

Rafael Francia Verde

Juana Hernández Hernández

Luis Miguel Medrano Moreno

Patricia Pérez-Matute

Enrique Requeta Loza

Rafael Tomás Las Heras

CONSEJO CIENTÍFICO

José Antonio Arizaleta Urarte

(Instituto de Estudios Riojanos)

José Arnáez Vadillo

(Universidad de La Rioja)

Susana Caro Calatayud

(Instituto de Estudios Riojanos)

Eduardo Fernández Garbayo

(Universidad de La Rioja)

Rosario García Gómez

(Universidad de La Rioja)

José Ma García Ruiz

(Instituto Pirenaico de Ecología-CSIC)

Javier Guallar Otazua

(Universidad de La Rioja)

Teodoro Lasanta Martínez

(Instituto Pirenaico de Ecología-CSIC)

Joaquín Lasierra Cirujeda

(Hospital San Pedro, Logroño)

Luis Lopo Carramiñana

(Dirección General de Medio Natural del Gobierno de La Rioja)

Fernando Martínez de Toda

(Universidad de La Rioja)

Juan Pablo Martínez Rica

(Instituto Pirenaico de Ecología-CSIC)

José Luis Nieto Amado

(Universidad de Zaragoza)

José Luis Peña Monné

(Universidad de Zaragoza)

Félix Pérez-Lorente

(Universidad de La Rioja)

Eduardo Viladés Juan

(Hospital San Pedro, Logroño)

Carlos Zaldívar Ezquerro

(Dirección General de Medio Natural del Gobierno de La Rioja)

DIRECCIÓN Y ADMINISTRACIÓN

Instituto de Estudios Riojanos

C/ Portales. 2

26071 Logroño

publicaciones.ier@larioja.org

Suscripción anual España (1 número y monográfico): 15 € Suscripción anual extranjero (1 número y monográfico): 20 €

Número suelto: 9 €

Número monográfico: 9 €

INSTITUTO DE ESTUDIOS RIOJANOS



Monográfico Núm. 24

Panorama actual de la investigación biomédica en La Rioja

> Coordinadora Patricia Pérez-Matute



Gobierno de La Rioja Instituto de Estudios Riojanos LOGROÑO 2012 Panorama actual de la investigación biomédica en La Rioja / coordinadora, Patricia

Pérez-Matute. - Logroño: Instituto de Estudios Riojanos, 2012

171 p.: gráf.; 24 cm – (Zubía. Monográfico, ISSN 1131-5423; 24). – D.L. LR 413-2012 1. Ciencias biomédicas - Investigación - La Rioja. I. Pérez-Matute, Patricia. II. Instituto de Estudios Riojanos. III. Serie

61:001.891(460.21) 57:001.891(460.21)

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de esta publicación pueden reproducirse, registrarse ni transmitirse, por un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni por ningún medio, sea electrónico, mecánico, fotoquímico, magnético o electroóptico, por fotocopia, grabación o cualquier otro, sin permiso previo por escrito de los titulares del copyright.

- © Logroño, 2012 Instituto de Estudios Riojanos C/ Portales, 2 26001-Logroño, La Rioja (España)
- © Diseño de cubierta e interior: ICE Comunicación
- © Imagen de la cubierta y contracubierta: Detalle de los efectos del tratamiento de 24 horas de un fármaco antirretroviral sobre el adipocito humano (*Patricia Pérez-Matute*). Fotografías con luz ultravioleta del cerebro (a la izquierda) y del corazón (a la derecha) de un ratón transgénico (*Alfredo Martínez*)

Producción gráfica: Reproestudio, S.A. (Logroño)

ISSN 1131-5423

Depósito Legal: LR 413-2012

Impreso en España - Printed in Spain

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	
Patricia Pérez-Matute (Coordinadora)	7-8
PRIMEROS AÑOS DE ANDADURA DEL CIBIR	
José Ignacio Nieto (Consejero de Salud y Servicios Sociales del Gobierno de La Rioja) 9	-10
MARTA PÉREZ-FERNÁNDEZ, JAVIER PÉREZ, JULIO GÓMEZ	
Análisis mediante CG-MS de volátiles en el aliento de personas con cáncer en el tracto respiratorio	
Study of breath compounds in people that suffer lung cancer	-21
SARA VELILLA OSÉS, RUTH ABARZUZA CORTAIRE, EVA RODO ARNEDO, ANA IBÁÑEZ MUÑOZ, SARA MARTA GUALLAR LEZA	
Seguimiento de un año con Ranibizumab para el edema macular diabético refractario: estudio piloto	
One year follow-up of Ranibizumab for refractory diabetic macular edema:	
a pilot study	-32
ELENA DOMÍNGUEZ-GARRIDO	
Diagnóstico Molecular: Genética Humana y Salud en La Rioja Molecular: Diagnostica Humana Canatia and Health in La Rioja	40
Molecular Diagnostic: Human Genetic and Health in La Rioja	-40
SONIA MARTÍNEZ-HERRERO, IGNACIO M. LARRÁYOZ, LAURA OCHOA-CALLEJERO,	
JOSUNE GARCÍA-SANMARTÍN, ALFREDO MARTÍNEZ	
Producción de ratones modificados genéticamente como modelos de enfermedades humanas	
Production of genetically modified mice as models for human diseases	-52
GERMÁN CUESTO, NURIA DOMÍNGUEZ-ITURZA, LILIAN ENRÍQUEZ-BARRETO, PATRICIA FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, GADEA MATA, EMILIO SYRIANI, MIGUEL MORALES	
La activación de PI3K controla la formación de sinapsis en el sistema nervioso central	
PI3K activation controls synaptic formation in the central nervous system 53	-80
ROSETE S. PAIS, ICIAR P. LÓPEZ, JOSÉ G. PICHEL El sistema de IGFs en la homeostasis y patología del pulmón: implicación en su desarrollo, regeneración tras daño y cáncer no microcítico	
The IGF system in lung homeostasis and disease: involvement on pulmonary	
development, injury recovery, and non-small cell cancer	112

LAURA VINUÉ, ELENA RUIZ, INÉS OLARTE, SERGIO SOMALO,
BEATRIZ ROJO-BEZARES, FERNANDA RUIZ-LARREA, MYRIAM ZARAZAGA
YOLANDA SÁENZ, CARMEN TORRES

PATRICIA PÉREZ-MATUTE, JOSÉ RAMÓN BLANCO, LAURA PÉREZ-MARTÍNEZ, JAVIER AGUILERA-LIZARRAGA, EMMA RECIO, MERCEDES SANZ, CONCEPCIÓN GARCÍA-GARCÍA, JOSÉ ANTONIO OTEO

ARÁNZAZU PORTILLO, SONIA SANTIBÁÑEZ, PAULA SANTIBÁÑEZ, ANA M. PALOMAR, LARA GARCÍA-ÁLVAREZ, LOURDES ROMERO, LUIS METOLA, VALVANERA IBARRA, JOSÉ R. BLANCO, JOSÉ A. OTEO

INVESTIGACIÓN EN VIH Y LIPODISTROFIA EN EL HOSPITAL SAN PEDRO-CIBIR: MODELOS *IN VITRO* DE ADIPOCITOS PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS TÓXICOS DE FÁRMACOS ANTIRETROVIRALES

PATRICIA PÉREZ-MATUTE^{1*}, JOSÉ RAMÓN BLANCO^{1,2}, LAURA PÉREZ-MARTÍNEZ¹, JAVIER AGUILERA-LIZARRAGA¹, EMMA RECIO¹, MERCEDES SANZ², CONCEPCIÓN GARCÍA-GARCÍA². JOSÉ ANTONIO OTEO^{1,2}

RESUMEN

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un importante problema de Salud Pública que afecta a unos 34 millones de individuos en el mundo. En el ámbito de la Unión Europea, España es el país con mayor tasa de incidencia y número de casos diagnosticados. La lipodistrofia asociada al VIH es un síndrome que aparece con frecuencia en los pacientes VIH sometidos a tratamiento antirretroviral y que consiste en una redistribución de grasa corporal así como varias alteraciones metabólicas, que puede afectar a la calidad de vida del paciente, disminuir la adherencia a los tratamientos y en el caso de la lipoatrofia facial puede erosionar la autoestima, causar trastornos psicológicos y depresión. Desde el área de Enfermedades Infecciosas del Hospital San Pedro-CIBIR se quiere conocer en mayor profundidad algunos aspectos de esta alteración para así contribuir a una mayor supervivencia de estos pacientes y mejorar su calidad de vida. Para acometer este objetivo, se están abordando tanto estudios *in vitro* con líneas celulares de adipocitos, así como estudios empleando las últimas tecnologías -omicas en el recién creado laboratorio de VIH y alteraciones metabólicas asociadas del CIBIR.

Palabras clave: VIH, Antiretrovirales, Lipodistrofia, Adipocitos.

HIV infection is a major Public Health problem that affects up to 34 million people worldwide. Spain is the country with the highest incidence rate

 ^{*} E-mail: cpperez@riojasalud.es.

Unidad de VIH y Alteraciones Metábolicas Asociadas, Área de Enfermedades Infecciosas. Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), C/ Piqueras, 98, 26006 Logroño, La Rioja, España.

Área de Enfermedades Infecciosas. Hospital San Pedro-CIBIR, C/ Piqueras, 98, 26006 Logroño, La Rioja, España.

and number of diagnosed cases. HIV-associated lipodystrophy is a syndrome very common in HIV patients under antiretroviral therapy that consists of a redistribution of body fat and several metabolic disorders that can affect the quality of life of these patients and also can induce a lower adherence to the treatments. Furthermore, facial lipoatrophy can erode self-esteem, cause psychological distress and depression. The Area of Infectious Diseases at Hospital San Pedro-CIBIR wants to investigate in more detail some aspects of this alteration, thus, contributing to increased survival of these patients and improving their quality of life. In order to achieve this objective, both in vitro studies with different adipocyte cell lines but also studies using the latest technologies-omics approaches are addressed in the newly established laboratory of HIV and associated metabolic disturbances of CIBIR.

Key words: HIV, Antiretrovirals, Lipodystrophy, Adipocyte.

1. INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) Y TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un grave problema de Salud Pública que afecta a más de 34 millones de personas en todo el mundo. Desde su descubrimiento en los años 80, esta pandemia ha infectado al menos a 60 millones de personas y ha causado más de 25 millones de muertes (Merson *et al.*, 2008). En el ámbito de la Unión Europea, España es uno de los países con mayor incidencia de esta enfermedad. Desde el año 2003 se han notificado un total de 17.183 diagnósticos de infección por VIH y las tasas anuales de los nuevos diagnósticos por millón de habitantes varían de 96.4 en 2003 a 88.5 en 2010.

En lo que a la transmisión de la infección se refiere, en nuestro medio, si bien al principio de la epidemia la mayoría de los pacientes se infectaban a través del uso de drogas por vía parenteral, en el momento actual se produce a través de la vía sexual (79%). Así, la principal vía de infección son los hombres que mantienen relaciones sexuales con hombres (46,1%), seguida de la transmisión heterosexual (33,1%), y el uso de drogas intravenosas (5,9%). En lo que al sexo de los pacientes se refiere, la mayoría son hombres (82%). Estos datos son superponibles, en parte, a los de nuestra Comunidad en donde desde 2003 se han notificado 229 casos.

La introducción de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha traído consigo una mejoría considerable en el pronóstico de los pacientes infectados por VIH con una reducción significativa de la morbilidad y mortalidad (Lohse y Obel, 2007). Por este motivo, la infección por VIH ha pasado de ser una enfermedad fatal para convertirse en una infección crónica. Hasta la fecha disponemos de más de 20 medicamentos antirretrovirales aprobados. Estas terapias se clasifican en seis grupos de acuerdo a los mecanismos por los que interrumpen el ciclo de vida del VIH (tabla 1). Las actuales guías de práctica clínica recomiendan como tratamiento de primera línea el uso de dos in-

hibidores nucleósidos/nucleótidos de la transcriptasa inversa (NRTI) en combinación con un inhibidor de la proteasa (IP) o un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa (NNRTI) (Thompson *et al.*, 2010) o un inhibidor de la integrasa (Guías de GESIDA y DHHS). Sin embargo, el TARGA no elimina por completo la infección por el VIH y el tratamiento debe mantenerse de por vida. Además, y a pesar de los claros efectos beneficiosos del mismo, y de que cada vez los fármacos son más seguros, el uso prolongado de algunos de los tratamientos antirretrovirales se ha relacionado a largo plazo con efectos adversos que pueden comprometer la salud del paciente. Estos efectos nocivos se han descrito para la mayoría de los medicamentos antirretrovirales y constituyen la causa más frecuente de interrupción del TARGA. Algunas de estas complicaciones se relacionan con eventos cardiovasculares, neurocognitivos, óseos o renales (Fedele *et al.*, 2011; Mothobi y Brew 2012; Stebbing *et al.*, 2009). En este sentido, uno de los eventos secundarios más frecuentes causado principalmente por el TARGA se conoce como "Síndrome de Lipodistrofia Asociada al VIH".

Tabla 1. Familias de fármacos antirretrovirales y mecanismos de acción

Familia de antiretrovirales	Mecanismo de acción
Análogos nucleotidos/sidos (Abacavir, Didanosina, Emtricitabina, Lamivudina, Estavudina, Tenofovir, Zidovudina)	Inhiben la trasnscriptasa inversa, una enzima necesaria para que en su multiplicación el VIH pueda hacer copias de sí mismo.
Análogos no nucleósidos (Efavirenz, Etravirina, Nevirapina)	
Inhibidores de la proteasa (Atazanavir. Darunavir, Fosamprenavir, Lopinavir, Ritonavir, Saquinavir)	Inhiben el funcionamiento de una proteína funcional del VIH, la proteasa, lo que impide la maduración de los nuevos virus del VIH.
Inhibidores de la fusión (Enfuvirtida)	Inhiben la fusión del VIH a las células del sistema inmune
Antagonista del correceptor CCR5 (Maraviroc)	
Inhibidor de la integrasa (Raltegravir)	Interfieren con la integrasa, una enzima necesaria para la inserción del material genético del virus en las células infectadas.

1.1. Lipodistrofia asociada al VIH

En 1998, Carr y colaboradores describieron un nuevo síndrome en pacientes infectados por el VIH que recibían TARGA y que se denominó "Lipodistrofia Asociada a la Infección por VIH (LD)" (Carr *et al.*, 1998). El signo clínico más prominente en este síndrome es la pérdida de grasa subcutánea (lipoatrofia) en la cara (periorbital y temporal), las extremidades y los glúteos. Por el contrario, en ocasiones lo que se observa es una acumulación de grasa (fundamentalmente de tipo visceral) en la región abdominal y pecto-

ral así como dentro del músculo y del hígado (Mallon *et al., 2001*). En algunos casos se observa la aparición de lipomas, especialmente característicos los de la región dorsocervical (jiba de búfalo). Estas alteraciones no ocurren necesariamente en el mismo paciente o con la misma frecuencia. La pérdida de tejido adiposo subcutáneo se repite con frecuencia, aunque más de la mitad de los pacientes presentan una forma mixta: pérdida de la grasa subcutánea, junto con un aumento notable en el tejido adiposo visceral (Miller *et al., 2003*). De forma paralela, este síndrome se acompaña de varias alteraciones metabólicas como la hiperlipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares que disminuyen la calidad de vida del paciente y suponen, de alguna manera, una fuente de morbilidad aditiva a la del propio virus (Mallon *et al., 2001*).

La prevalencia del síndrome de lipodistrofia asociada al VIH es de aproximadamente un 50%, aunque los porcentajes descritos varían en función del estudio (20-80%) (Bernasconi et al., 2002; Chen et al., 2002; Lichtenstein et al. 2006: Miller et al., 2003). Esta diferencia se debe, entre otras causas, a que no existe una única definición de caso, es decir, a la falta de estandarización y técnica de referencia para definir este síndrome. En este sentido, el DXA (Dual Energy Xray Absorptiometry) parece ser la técnica gold-standard para su diagnóstico y, de hecho, se está trabajando en la preparación de tablas con puntos de corte para el diagnóstico de este síndrome en pacientes VIH (Freitas et al., 2010), aunque actualmente estos datos no están disponibles. Por otro lado, también es importante tener en cuenta que la incidencia de LD varía en función del tipo de TARGA empleado. En cualquier caso, su incidencia es alta y aumenta a medida que lo hace la exposición al TARGA. Según Martínez y colaboradores, con las antiguas pautas de TARGA, la incidencia acumulada de lipodistrofia en pacientes con TARGA durante 1 año era del 23%, y por cada 6 meses más bajo dicho tratamiento el riesgo se incrementaba en un 45% (Martinez et al., 2001). Es importante también destacar que aunque la probabilidad de desarrollar lipoatrofia se ha reducido en los países occidentales de forma paralela al cambio significativo que se ha observado en el patrón de prescripción del TARGA, la lipodistrofia es todavía un problema hoy en día (Nguyen et al., 2008) y el riesgo de desarrollo con los nuevos fármacos no ha desaparecido. Por tanto, se debe realizar un esfuerzo para conocer en mayor profundidad estas alteraciones y tratarlas. Además, y en particular la lipoatrofia facial, puede erosionar la autoestima, causar trastornos psicológicos, afectar a la calidad de vida del paciente y llevar a la depresión. También afecta a la adherencia a los tratamientos. Por ello, la LD tiene un gran impacto social con un gran número de asociaciones que tratan de proporcionar la información necesaria a los pacientes: apoyo psicológico, asesoramiento jurídico etc. Un ejemplo es el programa "Cara o Cruz, Elige Siempre Cara" (http://www.eligesiemprecara.com/), una web creada por CESIDA para resolver todas las dudas en lo referente al VIH en relación con la lipodistrofia.

Hasta la fecha, no existe ningún tratamiento eficaz contra la lipodistrofia. El efecto que supone el cambio en el TARGA es limitado dado que con ello se puede evitar que las lesiones progresen y el incremento de grasa es muchas veces muy lento o afecta por igual al depósito graso subcutáneo y visceral. Por ahora, sólo la cirugía estética parece ser clínicamente recomendada. Debido a la alta incidencia de este síndrome en los pacientes infectados por el VIH y a su gran importancia psicológica y social, el Ministerio español de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad financia el tratamiento quirúrgico de la lipoatrofia facial desde hace unos años.

Por todo lo expuesto hasta aquí, la mejor forma de tratar la lipodistrofia es conocer en profundidad los mecanismos que subyacen a su desarrollo con el objeto de prevenir su aparición y/o modular sus efectos adversos. Así, estamos convencidos de que el tratamiento y/o prevención de la lipodistrofia y de sus alteraciones metabólicas asociadas conducirá a mejorar la calidad de vida del paciente y que favorecerá su adhesión a los distintos tratamientos antirretrovirales. De hecho, la investigación de esta patología ha despertado un gran interés en la sociedad científica y farmaceútica en los últimos años donde se está trabajando en el desarrollo de fármacos con menos efectos secundarios.

Varios estudios sugieren que el origen de la lipodistrofia se encuentra en el mal funcionamiento del tejido adiposo. De hecho, es la segunda alteración del tejido adiposo más prevalente después de la obesidad. Estos hechos parecen sugerir que estrategias que consigan revertir el daño ocasionado a nivel adipocitario podrían revertir, o al menos minimizar, los efectos negativos de este síndrome. El tejido adiposo blanco es el principal órgano de reserva energética del organismo. Tradicionalmente, este tejido se consideraba un depósito pasivo destinado al almacenamiento de lípidos (lipogénesis) o a su movilización cuando el organismo requiere su energía (lipólisis). Sin embargo, lejos de ser un mero almacén de energía, también interviene en procesos como el aislamiento térmico, la protección mecánica y la termorregulación (Ramsay 1996; Spiegelman y Flier 1996). Numerosos estudios de la última década han demostrado que el tejido adiposo es, además, un importante órgano secretor endocrino y paracrino que secreta moléculas implicadas en la regulación del peso corporal (leptina), en el metabolismo vascular (inhibidor del activador de plasminógeno (PAI-1) y angiotensina), en la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina (adiponectina y resistina) y en numerosos procesos inflamatorios (factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleuquina-1 y 6 (IL-1 e IL-6)) (Kershaw y Flier 2004; Moreno y Martinez 2002; Pérez-Matute y Moreno-Aliaga 2010), lo que parece sugerir que alteraciones en su patrón secretor o de almacenamiento energético pudiera contribuir a las alteraciones metabólicas asociadas a la LD. Además, los diferentes depósitos grasos del organismo, especialmente la grasa subcutánea y la visceral no son sólo fisiológicamente diferentes sino también metabólicamente diferentes siendo la grasa visceral la más estrechamente relacionada con los eventos cardiovasculares y otros efectos metabólicos negativos. De hecho, en el síndrome de lipodistrofia asociado a VIH se observa una pérdida de grasa subcutánea y por el contrario un incremento de los depósitos viscerales (los perjudiciales metabólicamente hablando).

En cuanto al papel de los diferentes fármacos antirretrovirales en el desarrollo de LD, en general se ha descrito que los inhibidores de la proteasa favorecen el desarrollo de la resistencia a la insulina, las hiperlipidemias y la obesidad visceral fundamentalmente. Sin embargo, los inhibidores de la transcriptasa inversa parecen favorecer la lipoatrofia al inducir toxicidad mitocondrial y apoptosis. Más concretamente, se ha demostrado que esta familia de fármacos antirretrovirales inhiben la ADN polimerasa-y y que conduce a una disminución de la replicación del ADN mitocondrial, a la disminución de la proteína desacoplante UCP2 y en resumidas cuentas convierte a las mitocondrias en orgánulos no funcionales. Además, algunos de los fármacos incluidos en esta familia incrementan la producción de especies reactivas de oxígeno en tejido adiposo y este incremento del estrés oxidativo parece estar asociado con la disminución de la lipogénesis así como con el incremento de un estado inflamatorio tanto a nivel del tejido adiposo como sistémico y, en definitiva, al desarrollo de diversas alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina (Lagathu et al., 2007). Además, ambas familias de fármacos parecen actuar inhibiendo la diferenciación adipocitaria (conversión de preadipocitos a adipocitos), que, a largo plazo, conduce a una disminución significativa de grasa subcutánea (Giralt et al., 2011). Es importante señalar además que estudios realizados en los últimos años parecen sugerir que los fármacos antirretrovirales ejercen efectos diferenciales según afecten a la grasa subcutánea o a la visceral (Jones et al., 2008).

Es importante puntualizar que además del TARGA, existen otros factores que también podrían estar relacionados con la aparición de lipodistrofia como la edad de los pacientes, el sexo femenino, el mayor grado de inmunodepresión a la hora de iniciar el tratamiento o el propio VIH que parece también contribuir de una manera independiente en el desarrollo de este síndrome. De hecho, en pacientes infectados por el VIH pero sin tratamiento antirretroviral se han observado alteraciones mitocondriales en tejido adiposo (Garrabou *et al.*, 2011) y metabólicas como hipertrigliceridemia, pérdida de masa proteica, así como alteraciones vasculares y aterosclerosis independientemente de otros factores metabólicos (Oliviero *et al.*, 2009). Por último, otro factor de riesgo para desarrollar este síndrome es la genética del individuo (polimorfismos en el gen del receptor beta-3 adrenérgico, en del transporte de glucosa etc...). En este sentido, la genética juega un papel muy importante aunque es un campo todavía por explorar en mayor profundidad.

2. EN LA RIOJA SE INVESTIGA EN VIH Y LIPODISTROFIA: ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL HOSPITAL SAN PEDRO-CIBIR

El área de Enfermedades Infecciosas del Hospital San Pedro tiene una experiencia considerable en el estudio y tratamiento del SIDA en los últimos 20 años. Este grupo trata aproximadamente al 99% de los pacientes infectados por el VIH de nuestra comunidad, lo que representa unos 600 pacientes. Sin em-

bargo, es importante destacar que además del papel asistencial llevado a cabo por estos profesionales de la salud (médicos, enfermeras, psicóloga, etc.), el área de Enfermedades Infecciosas siempre se ha caracterizado por haber querido conocer en mayor profundidad los mecanismos implicados en esta patología, así como el papel, y sobre todo la seguridad, de los diferentes fármacos que se utilizan para el tratamiento de la infección por VIH. En los últimos años, nuestra área ha participado de forma activa en numerosos ensayos clínicos nacionales e internacionales (fase III- fase IV), que han contribuido a demostrar la eficacia y seguridad de los nuevos tratamientos antirretrovirales. Del mismo modo, y dado que la epidemiología de esta infección es cambiante, el grupo colabora en Estudios Multicéntricos relacionados con algunas de sus comorbilidades (infección por el virus del papiloma humano) y con el estudio del envejecimiento de esta población. El grupo es parte activa de la red temática de Investigación en Salud Social (FIS) del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad de España (G03/173) con el título "Red de Investigación en SIDA" (RIS). En esta Red se investiga la tendencia de la epidemia y en general la Infección por VIH y sus complicaciones, como infecciones, coinfecciones y neoplasias asociadas. El Grupo de Infecciosas del Hospital San Pedro-CIBIR también forma parte de la "Red Española de Investigación en Patología Infecciosa" (REIPI) (2009) (RD06/0008/0000). Además, este grupo proporciona regularmente datos epidemiológicos (nuevas infecciones, etc) y muestras (sangre y fluidos biológicos) para el biobanco nacional creado a través de las redes antes mencionadas.

En abril de 2009, fue creado en el CIBIR un nuevo laboratorio y una nueva línea de investigación con el fin de profundizar en los mecanismos moleculares subyacentes a la infección por VIH y a las alteraciones metabólicas asociadas, especialmente la lipodistrofia. Esta unidad de investigación se constituyó gracias a la incorporación de investigadores básicos con años de experiencia en el manejo de técnicas de biología molecular, genética, transcriptómica, etc. aplicadas al metabolismo, que se unieron sinérgicamente a la experiencia clínica del personal del área de Enfermedades Infecciosas del Hospital San Pedro. De esta forma, y con la puesta en marcha de este nuevo laboratorio, el área de Enfermedades Infecciosas se complementa y se hace lo suficientemente fuerte para hacer frente a las demandas del siglo XXI: Investigación traslacional (del laboratorio al paciente) al estar en condiciones desde este momento de analizar la infección por VIH desde diferentes puntos de vista: el aspecto asistencial y epidemiológico desde el Hospital y desde un punto de vista de investigación básica/molecular en el laboratorio del CIBIR.

Aunque esta unidad es de reciente formación, ya en estos pocos años de andadura ha conseguido varias publicaciones y proyectos que avalan su buen hacer. En este sentido, y aunque no existen en la actualidad estudios a largo plazo ni se conocen sus efectos directos sobre el adipocito, las nuevas familias de fármacos antirretrovirales (inhibidores de la integrasa, de la proteasa, inhibidores del CCR5, etc.) parecen tener menores efectos negativos en la grasa corporal así como en el metabolismo lipídico y glucídico. Por

ello, es especialmente interesante la línea de investigación de este laboratorio del CIBIR en la que se está analizando el papel de estos nuevos antirretrovirales sobre el metabolismo y función de los adipocitos, para, de esta manera, dar respuesta molecular al perfil neutro o incluso beneficioso que se ha descrito para ellos en estudios clínicos. Otro objetivo inmediato que se plantea este grupo de investigación es la búsqueda de moléculas (nutrientes con carácter antioxidante) que sean capaces de revertir los efectos negativos observados con algunos fármacos clásicos que, sin embargo, siguen empleándose en la práctica clínica. En este sentido, cabe resaltar el proyecto, financiado por el Instituto de Estudios Riojanos y para el cual se ha incorporado un becario financiado mediante una de las Becas ADER 2012 (becas para la integración de Tecnólogos e Investigadores en Centros Productivos y de Investigación de La Rioja), en el que se están analizando los efectos de diferentes hongos cultivados en nuestra Comunidad sobre el adipocito, como primer paso para posteriormente poder emplearlos para contrarrestar los efectos negativos descritos para zidovudina, abacavir, tenofovir o efavirenz. Los resultados que se deriven de este segundo proyecto conducirán a mejorar la calidad de vida del paciente infectado por el VIH así como a mejorar su adherencia a dichos tratamientos.

Otra línea de trabajo es la búsqueda de una herramienta eficaz y económicamente rentable para el diagnóstico precoz y eficaz de la lipodistrofia, estudio para lo cual se ha contado con el asesoramiento estadístico de personal de la Consejería de Salud y Servicios Sociales del Gobierno de La Rioja.

Por último, y tal y como se ha comentado anteriormente, pacientes con similares características inmunológicas y virológicas sometidos al mismo tratamiento antirretroviral presentan diferentes formas de presentación o de intensidad en su lipodistrofia. Incluso pacientes bajo el mismo TARGA no desarrollan el síndrome y, por tanto, no presentan las alteraciones características del tejido adiposo como los niveles disminuidos del ARN de los genes implicados en la diferenciación adipocitaria, el incremento de citoquinas inflamatorias etc (Kannisto et al., 2003). Estos hechos ponen de relieve la importancia de estudiar el perfil transcriptómico que predispone a unos individuos y a otros no a desarrollar LD y sus alteraciones metabólicas asociadas. Desde el laboratorio del CIBIR se pretende determinar la expresión diferencial de genes y lípidos que puedan caracterizar el perfil del paciente lipodistrófico en comparación con una población infectada por el VIH pero sin signos de lipodistrofia. Este estudio serviría de molde para el desarrollo de futuras terapias de control de la infección o incluso para la ansiada vacuna. Para llevar a cabo estos estudios, el laboratorio del CIBIR emplea plataformas ómicas como la secuenciación masiva (de la que se dispone en el CI-BIR) y una plataforma lipidómica. Para llevar a cabo este último proyecto, se cuenta con una colaboración con la Universidad de La Rioja financiada por el antiguo Ministerio de Ciencia a Innovación de España.

3. EMPLEO DE UN MODELO *IN VITRO* DE ADIPOCITOS DE RATÓN PARA ESTUDIAR LOS EFECTOS DE DOS FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES: PRIMER OBJETIVO DEL LABORATORIO DE VIH DEL CIBIR

3.1. Modelos *in vitro* para el estudio de la adipogénesis y función del adipocito: línea celular 3T3-L1

Como se ha comentado anteriormente, la lipodistrofia parece tener su origen en un mal funcionamiento del tejido adiposo. Por ello, es necesario conocer con exactitud los mecanismos concretos a nivel adipocitario por los que algunos fármacos provocan este síndrome. Por ello, se han puesto a punto en nuestro laboratorio dos modelos *in vitro* de adipocitos (de ratón y humanos) para analizar los efectos de algunos fármacos de reciente comercialización.

Los procesos implicados en la diferenciación de los precursores adipocitarios hasta adipocitos maduros han sido ampliamente estudiados utilizando diferentes modelos celulares *in vitro*. Éstos han permitido la caracterización de los eventos moleculares y celulares que tienen lugar durante la transición de preadipocitos indiferenciados tipo fibroblastos hasta células grasas redondeadas maduras. Las líneas celulares utilizadas se pueden dividir en tres categorías: 1) células embrionarias totipotentes capaces de generar todas las líneas celulares; 2) células multipotentes que pueden dar lugar a miocitos, adipocitos y condrocitos; 3) células ya comprometidas hacia la línea adiposa, que son las denominadas líneas celulares de preadipocitos (Moreno y Martínez 2002; Poulos *et al.*, 2010).

Los procesos de diferenciación de adipocitos se han estudiado principalmente en líneas celulares de preadipocitos tales como 3T3-L1 y 3T3-F442A, las cuales fueron aisladas por clonaje desde células derivadas de embriones de ratones Swiss 3T3. Se ha logrado también el cultivo de preadipocitos primarios así como la inducción de su transformación en adipocitos maduros en diversas especies animales incluido el hombre. Las células primarias son diploides y reflejan mejor, por tanto, la situación *in vivo* en comparación con las líneas celulares aneuploides. Además, presentan la ventaja de que pueden ser obtenidas desde varias especies a diferentes etapas del desarrollo postnatal y de diferentes depósitos grasos. Esto último es muy importante, ya que se han observado importantes diferencias moleculares y bioquímicas entre los distintos depósitos grasos (Gregoire *et al.*, 1998).

La línea murina 3T3-L1 pertenece al grupo de líneas celulares muy bien establecidas y clásicas que se desarrollaron a través de la expansión clonal de células derivadas de roedores. Aunque a menudo se piensa que es una línea inmortalizada, se sabe que la capacidad de las células 3T3-L1 de diferenciarse en adipocitos disminuye con el aumento de número de pases, por eso es recomendable usar pases jóvenes. Esta línea celular ha sido muy útil para identificar marcadores moleculares clave, factores de transcripción y otras interacciones requeridas para la diferenciación adipocitaria y de hecho son

las más empleadas para llevar a cabo un screening rápido y exacto del potencial adipogénico de diferentes agentes y, por ello, ha sido la línea celular escogida en nuestro laboratorio para testar los efectos de varios fármacos (Darunavir y Raltegravir). Las células se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC, Rockville). Las células se cultivaron en medio DMEM alto en glucosa (4,5 g/L) y suplementado con L-glutamina y piruyato. Al medio se le añadió suero bovino de ternero (CSB) al 10% y estreptomicina/penicilina al 1%. Cuando las células alcanzan la confluencia, los predipocitos 3T3-L1 sufren inhibición por contacto y cesan su crecimiento y comienzan a exhibir algunos de los marcadores tempranos de la diferenciación. El tratamiento de estas células en las que ha cesado el crecimiento con un medio de diferenciación especial las induce a reentrar en el ciclo celular, y se producen varias rondas de replicación de DNA y duplicación celular. Esta expansión mitótica clonal de células comprometidas es esencial para completar la diferenciación terminal en adipocitos maduros. El medio de diferenciación o cóctel adipogénico que se emplea consiste en DMEM alto en glucosa suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10%, penicilina/streptomicina al 1%, insulina, IBMX (isobutilmetilxantina) y dexametasona durante 48 horas tras las cuales las células se cambian de medio (sin el cóctel adipogénico) hasta el día 8 de postdiferenciación en el cual aproximadamente el 100% de las células ya alcanza tanto la morfología como la funcionalidad típica de adipocitos maduros. De hecho, conforme la expansión clonal cesa, se inicia la activación transcripcional coordinada de genes específicos del adipocito. La expresión de estos genes se acompaña de cambios bioquímicos y morfológicos dramáticos que conducen a la adquisición del fenotipo del adipocito (revisado por Moreno y Martínez, 2002) (figura 1).

3.2. Raltegravir (RAL) y Darunavir (DRV): dos fármacos antirretrovirales de reciente comercialización elegidos para probar sus efectos en los adipocitos

RAL es el primer inhibidor de la integrasa comercializado. Este fármaco ha demostrado ser eficaz virológicamente hablando tanto en pacientes *naive* (no tratados) como en pacientes multi-resistentes (Lennox *et al.*, 2009; Steigbigel *et al.*, 2010). El uso de este inhibidor de la integrasa se ha asociado con un perfil metabólico más favorable en comparación con otros fármacos así como con efectos neutros sobre la composición de la grasa corporal (De Jesus *et al.*, 2009; Markowitz *et al.*, 2009). De hecho, se ha observado que el cambio de un inhibidor de la proteasa potenciado con Ritonavir (RTV) por RAL presenta un mejor perfil lipídico (Eron *et al.*, 2010; Lennox *et al.*, 2010; Lennox *et al.*, 2009). Un estudio reciente de Cao *et al.* (2010) ha demostrado que RAL tiene además menos toxicidad hepática y puede prevenir las alteraciones lipídicas ocasionadas por algunos inhibidores de la proteasa al inhibir el estrés oxidativo del retículo endoplásmico (Cao *et al.*, 2010). Por otra parte, Minami y sus colegas (2010) también observaron que mientras que la mayoría de los antirretrovirales afectan a la acumulación de lípidos en la

METODOLOGÍA EMPLEADA

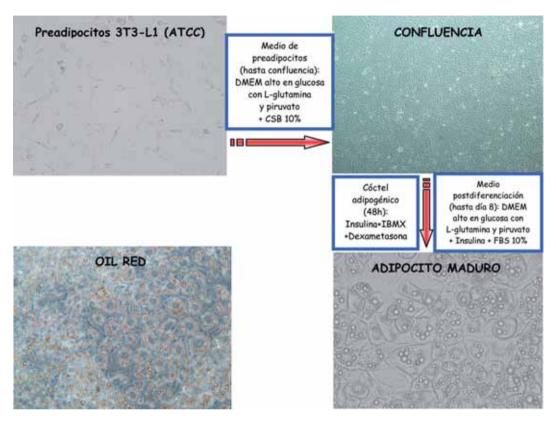


Figura 1. Cultivo y proceso de diferenciación de la línea celular adipocitaria 3T3-L1.

línea celular 3T3-L1, RAL no tenía ninguna influencia sobre el metabolismo lipídico (Minami *et al.*, 2010). Respecto a DRV, este inhibidor de la proteasa también ha resultado ser eficaz, bien tolerado, y una buena opción para pacientes no tratados previamente (*naive*) así como para aquellos previamente tratados (Katlama *et al.*, 2007). También muestra un perfil lipídico favorable en comparación con otros antirretrovirales (ARV), como se ha demostrado en varios estudios como el Artemis, Metabolik y TMC114-C159 (Aberg *et al.*, 2010; Mills *et al.*, 2009). Por otra parte, la administración conjunta de DRV con dosis bajas de ritonavir (DRV/r) dio lugar a pequeños cambios en los parámetros de glucosa y lípidos en voluntarios sanos sin infección con el VIH (Tomaka *et al.*, 2009). Sin embargo, los efectos directos de DRV o RAL en la diferenciación de los adipocitos y sobre su metabolismo no se habían probado hasta nuestro estudio.

3.3. Efectos de RAL y DRV sobre la diferenciación y función adipocitaria: resumen de los resultados obtenidos en nuestro laboratorio

Ninguno de los dos fármacos testados a concentraciones próximas a su concentración máxima (Cmax) (0.5-25 μM para DRV y 0.5-50 μM para Ral) provocó ningún efecto significativo sobre la diferenciación adipocitaria (conversión de preadipocito a adipocito) cuantificada mediante Oil Red (figura 2). El análisis de los niveles de mRNA (analizado por PCR a tiempo real) de los principales factores de transcripción/genes implicados en este proceso tampoco se vieron afectados por el tratamiento con estos fármacos.

RAL resultó ser un fármaco totalmente neutro en el metabolismo de la glucosa al no afectar ni a la captación de glucosa, ni a la producción de lactato ni al porcentaje de glucosa que se metaboliza anaeróbicamente a lactato (tabla 2). En el caso de DRV, sólo se observó una inhibición significativa en la captación de glucosa y en la producción de lactato a la concentración más alta ensayada (25 μ M), dosis ligeramente superior a la Cmax de este fármaco en plasma que está cerca de 10 μ M (tabla 3). El co-tratamiento de DRV y RTV (que es como hasta el momento se administra este fármaco a los pacientes) no afectó a ninguno de estos parámetros, lo cual corrobora la seguridad del mismo.

La lipólisis es el proceso metabólico mediante el cual los triglicéridos almacenados en el interior de la gota lipídica del adipocito son hidrolizados en ácidos grasos y glicerol para cubrir las necesidades energéticas del organismo. Es un proceso complejo que está altamente regulado y en el que participan varias lipasas y proteínas de la gota lipídica (Ahmadian *et al.,* 2009). Un incremento desmesurado de lipólisis y, por consiguiente de ácidos grasos al torrente sanguíneo, parece estar relacionado con el desarrollo de resistencia insulínica. En el síndrome de lipodistrofia se observa una disminución de tejido adiposo subcutáneo que podría deberse, además de a una disminución de la diferenciación adipocitaria, a un incremento en la lipólisis que hace disminuir el tamaño de la gota lipídica y por tanto, el tamaño del adipocito.

Nuestros resultados demostraron que RAL no tiene efectos significativos sobre la lipólisis (tabla 2) mientras que DRV inhibió la liberación de glicerol al medio de cultivo a la concentración más alta ensayada (25 μ M) (tabla 3). De nuevo el co-tratamiento con RTV no modificó los efectos previamente observados con el tratamiento de sólo DRV (datos no mostrados).

Estos resultados han sido previamente publicados (Perez-Matute *et al.,* 2011, 2012) y están siendo validados en un cultivo de adipocitos primarios humanos.

3.4. Limitaciones de los estudios in Vitro

Los estudios llevado a cabo en líneas celulares (estudios *in vitro*) tienen lógicamente sus limitaciones a la hora de extrapolar estos resultados con lo que pueda observarse *in vivo*, ya que en este caso se expone al adipocito di-

TABIA 2. Efectos de 24 horas de exposición a RAL (0,5-50 μM) sobre el metabolismo de la glucosa y la lipólisis

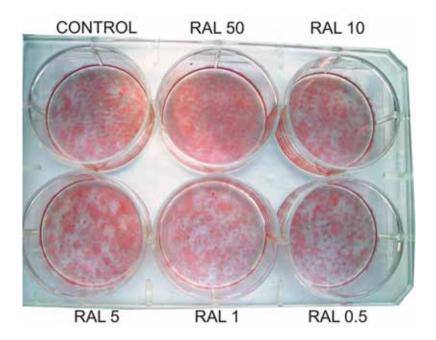
RALTEGRAVIR (uM)	0	0.5	1	3	10	20	ANOVA
		- , -					
Captación de glucosa (%)	100 ± 0	$101,4 \pm 6,31$	$100,9 \pm 5,61$	$98,52 \pm 9,18$	$98,29 \pm 4,10$	103.6 ± 7.55	ns
Producción de Lactato (%)	100 ± 0	$101,6 \pm 4,68$	$98,85 \pm 4,69$	96.88 ± 8.23	$99,11 \pm 4,49$	$99,53 \pm 6,16$	SU
Glucosa a Lactato (%)	$38,35 \pm 0,95$	$38,50 \pm 2,28$	$37,62 \pm 1,46$	$37,75 \pm 1,45$	$38,67 \pm 1,21$	36.91 ± 1.53	Su
Liberación de glicerol (%)	100 ± 0	$105,7 \pm 12,02$	$90,02 \pm 13,30$	99,89 ± 11,29	$102,0 \pm 15,92$	$90,11 \pm 9,33$	su

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (SD) de al menos 6 experimentos independientes.

Tabla 3. Efectos de 24 horas de exposición a DRV en el metabolismo de la glucosa y lipólisis

	0	0,5	1	īΟ	10	25	ANOVA
Captación de Giucosa (%)	100 ± 0	$97,85 \pm 10,55$		$104,6 \pm 9,17$ $104,3 \pm 10,34$	$91,17 \pm 4,62$	$84,22 \pm 7,36$	P= 0.0068
						*	
Producción de Lactato (%)	100 ± 0	$99,49 \pm 6,51$	99,47 ± 4,59	$102,9 \pm 6,48$	$98,89 \pm 9,45$	$86,09 \pm 8,63$	P= 0.0053
						*	
Glucosa a Lactato (%) 3	34.65 ± 1.79	$35,33 \pm 1,80$	$32,99 \pm 1,39$	$34,29 \pm 1,42$	35,78 ± 3,22	$35,40 \pm 2,26$	ns
Liberación de glicerol (%)	100 ± 0	$99,10 \pm 14,31$	$99,10 \pm 14,31$ $93,36 \pm 17,91$ $90,97 \pm 15,65$	$90,97 \pm 15,65$	88,18 ± 11,80 66,05 ± 5,24	$66,05 \pm 5,24$	P=0.0026
						*	

Los datos se expresan como media ± desviación estándar (SD) de al menos 5 experimentos independientes. **p<0,01 versus control (células tratadas con el vehículo en el que se disolvió el fármaco) A)



B)

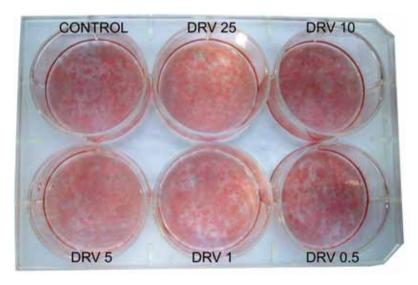


Figura 2. Efectos del tratamiento de 24 horas de RAL $(0.5-50~\mu\text{M})$ (A) y DRV $(0.5-25~\mu\text{M})$ (B) sobre la diferenciación adipocitaria cuantificada mediante Oil Red tras 8 días de la inducción de la diferenciación. La cuantificación de la tinción no demostró ningún efecto estadísticamente significativo.

rectamente con el fármaco mientras que en la práctica asistencial, el paciente lo toma diariamente, y no siempre la cantidad ingerida es la absorbida y por tanto la que llega por la sangre al adipocito. Para lograr la máxima similitud posible, las concentraciones que se han empleado en estos estudios aquí resumidos son lo más próximas a la Cmax de cada fármaco y los tiempos de tratamiento son próximos a la vida media de cada fármaco. Aún así, estos estudios deben ser siempre validados en modelos *in vivo*, por ejemplo en animales de experimentación. No obstante, es importante resaltar que estos estudios desarrollados en este tipo de líneas celulares son interesantes y necesarios para poder conocer los mecanismos moleculares alterados por los fármacos, lo cual puede ayudar a la industria para mejorar sus fármacos o para buscar otros tratamientos que contrarresten los efectos negativos.

En el caso de la línea celular 3T3-L1 es una línea celular murina por lo que también es interesante validar estos resultados en adipocitos humanos, aunque un estudio reciente parece indicar que hay bastante paralelismo entre adipocitos murinos y humanos (Capel *et al.*, 2012).

AGRADECIMIENTOS

Al Gobierno de La Rioja por haber confiado en la capacidad del equipo y por haber facilitado la puesta en marcha de este nuevo laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

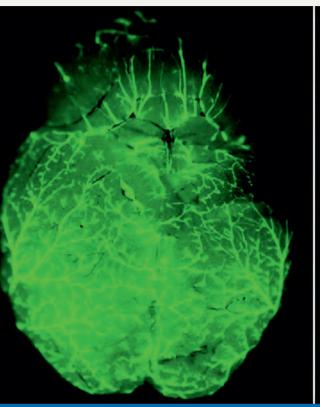
- http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio_2011.pdf
- http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio_2011.pdf
- http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaids-publication/2011/JC2216_WorldAIDSday_report_2011_en.pdf
- http://www.aidsinfo.nih.gov/Guidelines/GuidelineDetail.aspx?GuidelineID=7
- Aberg, J., Overton, T., Gupta, S., Falcon, R., Ryan, R. De La Rosa, G. (2010) Metabolik (metabolic evaluation in treatment-naives assessing the impact of two boosted protease inhibitors on lipids and other markers): comparison of the metabolic effects of darunavir/ritonavir versus atazanavir/ritonavir over 12 weeks. In XVIII International AIDS Conference, Vienna
- Ahmadian, M., Wang, Y., Sul, H.S. (2009). Lipolysis in adipocytes. *Int J Biochem Cell Biol*, 42, 555-559.
- Bernasconi, E., Boubaker, K., Junghans, C., Flepp, M., Furrer, H. J., Haensel, A., Hirschel, B., Boggian, K., Chave, J. P., Opravil, M., Weber, R., Rickenbach, M., Telenti, A. (2002). Abnormalities of body fat distribution in HIV-infected persons treated with antiretroviral drugs: The Swiss HIV Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 31, 50-55.

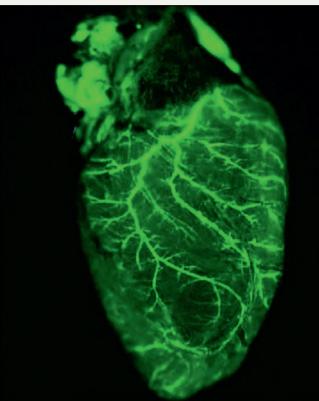
- Cao, R., Hu, Y., Wang, Y., Gurley, E. C., Studer, E. J., Wang, X., Hylemon, P. B., Pandak, W. M., Sanyal, A. J., Zhang, L., Zhou, H. (2010). Prevention of HIV protease inhibitor-induced dysregulation of hepatic lipid metabolism by raltegravir via endoplasmic reticulum stress signaling pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 334, 530-539.
- Capel, E., Auclair, M., Caron-Debarle, M., Capeau, J. (2012). Effects of ritonavir-boosted darunavir, atazanavir and lopinavir on adipose functions and insulin sensitivity in murine and human adipocytes. *Antivir Ther*, 17, 549-556.
- Carr, A., Samaras, K., Burton, S., Law, M., Freund, J., Chisholm, D. J., Cooper, D. A. (1998). A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *Aids*, 12, F51-58.
- Chen, D., Misra, A., Garg, A. (2002). Clinical review 153: Lipodystrophy in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 4845-4856.
- Dejesus, E., Lazzarin, A., Lennox, J. L., Berger, D. S., Pollard, R. B., Madruga, J. V., Zhao, J., Rodgers, A. J., Nguyen, B. Y., Leavitt, R., Sklar, P., Investigators, F.T.S.P. (2009) Metabolic profiles and body composition changes in treatment-naive HIV-infected patients treated with raltegravir (RAL)-based vs. efavirenz (EFV)-based combination therapy: 48-week data. In ICAAC. San Francisco, CA
- Eron, J. J., Young, B., Cooper, D. A., Youle, M., De Jesus, E., Andrade-Villanueva, J., Workman, C., Zajdenverg, R., Fatkenheuer, G., Berger, D. S., Kumar, P. N., Rodgers, A. J., Shaughnessy, M. A., Walker, M. L., Barnard, R. J., Miller, M. D., Dinubile, M. J., Nguyen, B. Y., Leavitt, R., Xu, X., Sklar, P. (2010). Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. *Lancet*, 375, 396-407.
- Fedele, F., Bruno, N., Mancone, M. (2011). Cardiovascular risk factors and HIV disease. *AIDS Rev*, 13, 119-129.
- Freitas, P., Santos, A. C., Carvalho, D., Pereira, J., Marques, R., Martínez, E., Sarmento, A., Medina, J. L. (2010). Fat mass ratio: an objective tool to define lipodystrophy in hiv-infected patients under antiretroviral therapy. *J Clin Densitom*, 13, 197-203.
- Garrabou, G., López, S., Moren, C., Martínez, E., Fontdevila, J., Cardellach, F., Gatell, J. M., Miro, O. (2011). Mitochondrial damage in adipose tissue of untreated HIV-infected patients. *Aids*, 25, 165-170.
- Giralt, M., Domingo, P., Villarroya, F. (2011). Adipose tissue biology and HIV-infection. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 25, 487-499.
- Gregoire, F. M., Smas, C. M., Sul, H. S. (1998). Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev*, 78, 783-809.

- Jones, S. P., Waitt, C., Sutton, R., Back, D. J., Pirmohamed, M. (2008). Effect of atazanavir and ritonavir on the differentiation and adipokine secretion of human subcutaneous and omental preadipocytes. *Aids*, 22, 1293-1298.
- Kannisto, K., Sutinen, J., Korsheninnikova, E., Fisher, R. M., Ehrenborg, E., Gertow, K., Virkamaki, A., Nyman, T., Vidal, H., Hamsten, A., Yki-Jarvinen, H. (2003). Expression of adipogenic transcription factors, peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1, IL-6 and CD45 in subcutaneous adipose tissue in lipodystrophy associated with highly active antiretroviral therapy. Aids, 17, 1753-1762.
- Katlama, C., Esposito, R., Gatell, J. M., Goffard, J. C., Grinsztejn, B., Pozniak, A., Rockstroh, J., Stoehr, A., Vetter, N., Yeni, P., Parys, W., Vangeneugden, T. (2007). Efficacy and safety of TMC114/ritonavir in treatment-experienced HIV patients: 24-week results of POWER 1. Aids, 21, 395-402.
- Kershaw, E.E., Flier, J.S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 2548-2556.
- Lagathu, C., Eustace, B., Prot, M., Frantz, D., Gu, Y., Bastard, J. P., Maachi, M., Azoulay, S., Briggs, M., Caron, M., Capeau, J. (2007). Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir Ther*, 12, 489-500.
- Lennox, J. L., De Jesus, E., Berger, D. S., Lazzarin, A., Pollard, R. B., Ramalho Madruga, J. V., Zhao, J., Wan, H., Gilbert, C. L., Teppler, H., Rodgers, A. J., Barnard, R. J., Miller, M. D., Dinubile, M. J., Nguyen, B. Y., Leavitt, R., Sklar, P. (2010). Raltegravir versus Efavirenz regimens in treatment-naive HIV-1-infected patients: 96-week efficacy, durability, subgroup, safety, and metabolic analyses. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 55, 39-48.
- Lennox, J. L., Dejesus, E., Lazzarin, A., Pollard, R. B., Madruga, J. V., Berger, D. S., Zhao, J., Xu, X., Williams-Díaz, A., Rodgers, A. J., Barnard, R. J., Miller, M. D., Dinubile, M. J., Nguyen, B. Y., Leavitt, R., Sklar, P. (2009).
 Safety and efficacy of raltegravir-based versus efavirenz-based combination therapy in treatment-naive patients with HIV-1 infection: a multicentre, double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 374, 796-806.
- Lichtenstein, K., Al., E. (2006) Abstract 769. In CROI.
- Lohse, N., Obel, N. (2007). [Stable long-term effect of HIV therapy. The Danish Society for Infectious Diseases]. *Ugeskr Laeger*, 169, 1109.
- Mallon, P. W., Cooper, D. A., Carr, A. (2001). HIV-associated lipodystrophy. HIV Med, 2, 166-173.
- Markowitz, M., Nguyen, B. Y., Gotuzzo, E., Mendo, F., Ratanasuwan, W., Kovacs, C., Prada, G., Morales-Ramírez, J. O., Crumpacker, C. S., Isaacs, R. D., Campbell, H., Strohmaier, K. M., Wan, H., Danovich, R. M., Teppler, H. (2009). Sustained antiretroviral effect of raltegravir after 96 weeks of combination therapy in treatment-naive patients with HIV-1 infection. J Acquir Immune Defic Syndr, 52, 350-356.

- Martínez, E., Mocroft, A., García-Viejo, M. A., Pérez-Cuevas, J. B., Blanco, J. L., Mallolas, J., Bianchi, L., Conget, I., Blanch, J., Phillips, A., Gatell, J. M. (2001). Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet*, 357, 592-598.
- Merson, M. H., O'Malley, J., Serwadda, D., Apisuk, C. (2008). The history and challenge of HIV prevention. *Lancet*, 372, 475-488.
- Miller, J., Carr, A., Emery, S., Law, M., Mallal, S., Baker, D., Smith, D., Kaldor, J., Cooper, D. A. (2003). HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med*, 4, 293-301.
- Mills, A. M., Nelson, M., Jayaweera, D., Ruxrungtham, K., Cassetti, I., Girard, P. M., Workman, C., Dierynck, I., Sekar, V., Abeele, C. V., Lavreys, L. (2009). Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir/ritonavir in treatment-naive, HIV-1-infected patients: 96-week analysis. *Aids*, 23, 1679-1688.
- Minami, R., Yamamoto, M., Takahama, S., Ando, H., Miyamura, T., Suematsu, E. (2010). Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. *J Infect Chemother*,
- Moreno, M. J., Martínez, J. A. (2002). [Adipose tissue: a storage and secretory organ]. *An Sist Sanit Navar*, 25 Suppl 1, 29-39.
- Mothobi, N. Z., Brew, B. J. (2012). Neurocognitive dysfunction in the highly active antiretroviral therapy era. *Curr Opin Infect Dis*, 25, 4-9.
- Nguyen, A., Calmy, A., Schiffer, V., Bernasconi, E., Battegay, M., Opravil, M., Evison, J. M., Tarr, P. E., Schmid, P., Perneger, T., Hirschel, B. (2008). Lipodystrophy and weight changes: data from the Swiss HIV Cohort Study, 2000-2006. *HIV Med*, 9, 142-150.
- Oliviero, U., Bonadies, G., Apuzzi, V., Foggia, M., Bosso, G., Nappa, S., Valvano, A., Leonardi, E., Borgia, G., Castello, G., Napoli, R., Sacca, L. (2009). Human immunodeficiency virus per se exerts atherogenic effects. *Atherosclerosis*, 204, 586-589.
- Pérez-Matute, P., Moreno-Aliaga, M. (2010). Tejido Adiposo. *Aula de La Farmacia*, 6, 7-20.
- Pérez-Matute, P., Pérez-Martínez, L., Blanco, J. R., Oteo, J. A. (2011). Neutral actions of Raltegravir on adipogenesis, glucose metabolism and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Curr HIV Res*, 9, 174-179.
- Pérez-Matute, P., Pérez-Martínez, L., Blanco, J. R., Oteo, J. A. (2012). Minimal effects of Darunavir on adipocyte differentiation and metabolism in 3T3-L1 cells. *J Infect Chemother*,
- Poulos, S. P., Dodson, M. V., Hausman, G. J. (2010). Cell line models for differentiation: preadipocytes and adipocytes. *Exp Biol Med (Maywood)*, 235, 1185-1193.
- Ramsay, T. G. (1996). Fat cells. Endocrinol Metab Clin North Am, 25, 847-870.
- Spiegelman, B. M., Flier, J. S. (1996). Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell*, 87, 377-389.

- Stebbing, J., Duru, O., Bower, M. (2009). Non-AIDS-defining cancers. *Curr Opin Infect Dis*, 22, 7-10.
- Steigbigel, R. T., Cooper, D. A., Teppler, H., Eron, J. J., Gatell, J. M., Kumar, P. N., Rockstroh, J. K., Schechter, M., Katlama, C., Markowitz, M., Yeni, P., Loutfy, M. R., Lazzarin, A., Lennox, J. L., Clotet, B., Zhao, J., Wan, H., Rhodes, R. R., Strohmaier, K. M., Barnard, R. J., Isaacs, R. D., Nguyen, B. Y. (2010). Long-term efficacy and safety of Raltegravir combined with optimized background therapy in treatment-experienced patients with drug-resistant HIV infection: week 96 results of the BENCHMRK 1 and 2 Phase III trials. *Clin Infect Dis*, 50, 605-612.
- Thompson, M. A., Aberg, J. A., Cahn, P., Montaner, J. S., Rizzardini, G., Telenti, A., Gatell, J. M., Gunthard, H. F., Hammer, S. M., Hirsch, M. S., Jacobsen, D. M., Reiss, P., Richman, D. D., Volverding, P. A., Yeni, P., Sschooley, R. T. (2010). Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2010 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *Jama*, 304, 321-333.
- Tomaka, F., Lefebvre, E., Sekar, V., Van Baelen, B., Vangeneugden, T., Vandevoorde, A., Diego Miralles, G. (2009). Effects of ritonavir-boosted darunavir vs. ritonavir-boosted atazanavir on lipid and glucose parameters in HIV-negative, healthy volunteers. *HIV Med*, 10, 318-327.





ZUBÍA

24



Gobierno de La Rioja www.larioja.org

