



# Estudio del sistema musculoesquelético mediante resonancia magnética en la valoración del síndrome de lipodistrofia en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana

Ana Isabel García Díez

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# TESIS DOCTORAL

*Estudio del sistema musculoesquelético mediante resonancia magnética en la valoración del síndrome de lipodistrofia en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana*

**ANA ISABEL GARCÍA DÍEZ**



**UNIVERSITAT DE BARCELONA**

DEP. OBSTETRÍCIA-GINECOLOGIA, PEDIATRIA, RADIOLOGIA I ANATOMIA

Línea de investigación de enfermedades infecciosas y SIDA,  
y diagnóstico y tratamiento por técnicas de imagen

Tutora de la tesis: Dra. Laura Oleaga Zufiría

Directores de la tesis: Dr. Josep Mallolas Masferrer y Dr. Jaume Pomés Talló

**Barcelona, 2011**



La **Dra. Laura Oleaga Zufiría**, profesora asociada del Departamento de Obstetrícia-Ginecología, Pediatría, Radiología i Anatomia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona y jefe del Servicio de Radiología del Hospital Clínic de Barcelona; el **Dr. Josep Mallolas Masferrer**, profesor asociado del Departamento de Medicina de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona y consultor senior del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínic de Barcelona; y el **Dr. Jaume Pomés Talló**, consultor del Servicio de Radiología del Hospital Clínic de Barcelona,

**CERTIFICAN:**

Que la tesis titulada: **“Estudio del sistema musculoesquelético mediante resonancia magnética en la valoración del síndrome de lipodistrofia en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana”** ha sido realizada bajo su dirección por **Ana Isabel García Díez** para optar al grado de Doctor.

Tutora de la tesis:

Dra. Laura Oleaga Zufiría

Directores de la tesis:

Dr. Josep Mallolas Masferrer

Dr. Jaume Pomés Talló

Barcelona, Octubre del 2011



## ***Agradecimientos***

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral, en particular a todos los pacientes y compañeros que han participado como grupo control, por su confianza en el proyecto.

A la Dra. Laura Oleaga, el Dr. Josep Mallolas, y el Dr. Jaume Pomés por sus consejos, son un estímulo constante.

Mi especial agradecimiento a la Dra. Ana Milinkovic, por iniciarme en esta aventura, enseñarme todo sobre el VIH, y por su amistad.

A la Dra. Nuria Bargalló, a Carles Falcón, a Santiago Sotés, y a Iván Verdera por ayudarme en los aspectos técnicos.

A todos mis compañeros del Servicio de Radiología del Hospital Clinic, en especial a mi grupo de Radiología Musculoesquelética (Jaume Pomés, Xavier Tomás y Montserrat del Amo), por haber compartido todos estos años y con los que aprendo cada día, me siento afortunada.

A mis amigos, y en especial a mi familia, que siempre me han alentado.



***“Lo importante en la ciencia no es tanto el obtener nuevos hechos sino el descubrir nuevas formas de pensar acerca de ellos.”***

***William Bragg***









|  |           |
|--|-----------|
| <b>ABREVIATURAS</b>  | <b>15</b> |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>  | <b>19</b> |
| <b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b>   | <b>23</b> |
| <i>Compartimento graso</i>   | <b>25</b> |
| <i>Grasa en el músculo estriado</i>  | <b>27</b> |
| <i>Grasa en la médula ósea</i>   | <b>29</b> |
| <i>Valoración por imagen del compartimento graso</i>                       | <b>31</b> |
| <i>Grasa muscular y <sup>1</sup>H-MRS</i>                                  | <b>33</b> |
| <i>Introducción a la espectroscopia RM</i>                                 | <b>33</b> |
| <i><sup>1</sup>H-MRS en el músculo</i>                                     | <b>35</b> |
| <i>Procesado de los espectros de <sup>1</sup>H-MRS de músculo: LCModel</i> | <b>39</b> |
| <i>Médula ósea grasa y RM</i>  | <b>41</b> |
| <i>Señal y secuencias en médula ósea</i>                                   | <b>42</b> |
| <i>Valoración del componente medular en RM</i>                             | <b>43</b> |
| <i>VIH y lipodistrofia</i>   | <b>44</b> |
| <i>VIH y TARGA</i>   | <b>45</b> |
| <i>Patogénesis de la lipodistrofia</i>                                     | <b>46</b> |
| <i>Cambios morfológicos y metabólicos</i>                                  | <b>48</b> |
| <i>Diagnóstico y medición de la lipodistrofia</i>                          | <b>48</b> |
| <i>Músculo y VIH+ con lipodistrofia</i>                                    | <b>50</b> |
| <i>Médula ósea y VIH+ con lipodistrofia</i>                                | <b>52</b> |
| <i>Reversibilidad y control de la lipodistrofia en pacientes VIH+</i>      | <b>53</b> |
| <b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>   | <b>55</b> |
| <b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>  | <b>59</b> |
| <i>Diseño del estudio</i>  | <b>61</b> |
| <i>Sujetos</i>   | <b>61</b> |
| <i>Métodos</i>   | <b>61</b> |
| <i>Pruebas de laboratorio</i>  | <b>61</b> |
| <i>Medidas antropométricas</i>   | <b>62</b> |
| <i>Medidas de composición corporal mediante DEXA</i>                       | <b>62</b> |
| <i>Medidas de composición corporal mediante TC</i>                         | <b>63</b> |
| <i>Cuantificación de IMCL mediante <sup>1</sup>H-MRS</i>                   | <b>63</b> |
| <i>Valoración del patrón medular óseo</i>                                  | <b>64</b> |
| <i>Análisis estadístico</i>  | <b>66</b> |



|  |            |
|--|------------|
| <b>RESULTADOS</b>  | <b>67</b>  |
| <b>Sujetos</b>   | <b>69</b>  |
| <b>Composición corporal</b>  | <b>70</b>  |
| <b>Pruebas de laboratorio</b>  | <b>74</b>  |
| <b>Cambios en la composición corporal y las pruebas de laboratorio</b> | <b>76</b>  |
| <b>Valoración muscular en <sup>1</sup>H-MRS</b>                        | <b>77</b>  |
| <b>Composición corporal e IMCL</b>                                     | <b>83</b>  |
| <b>Pruebas de laboratorio e IMCL</b>                                   | <b>84</b>  |
| <b>Valoración de la médula ósea</b>                                    | <b>85</b>  |
| <i>Patrón medular en RM inicial</i>                                    | <b>85</b>  |
| <i>Parámetros clínicos y patrón medular en RM inicial</i>              | <b>87</b>  |
| <i>IMCL y patrón medular en RM inicial</i>                             | <b>88</b>  |
| <i>Cambios de los parámetros clínicos y del patrón medular en RM</i>   | <b>88</b>  |
| <b>DISCUSIÓN</b>   | <b>91</b>  |
| <b>CONCLUSIONES</b>  | <b>105</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>  | <b>109</b> |
| <b>RESUMEN/SUMMARY</b>   | <b>123</b> |
| <b>PRESENTACIONES Y PUBLICACIONES ORIGINALES</b>                       | <b>129</b> |









|                     |  |
|---------------------|--|
| <sup>1</sup> H-MRS  | Espectroscopia por resonancia magnética de protón                        |
| <sup>31</sup> P-MRS | Espectroscopia por resonancia magnética de fósforo 31                    |
| AZT                 | Zidoduvina   |
| CSI                 | Chemical shift imaging   |
| d4T                 | Estavudina   |
| DEXA                | Absorciometría de rayos X de energía dual                                |
| DMO                 | Densidad mineral ósea  |
| EMCL                | Triglicéridos extramiocelulares  |
| FOV                 | Campo de visión  |
| FSE                 | Fast spin-echo   |
| HOMA-IR             | Modelo de homeostásis para la valoración de la resistencia a la insulina |
| IMC                 | Índice de masa corporal  |
| IMCL                | Triglicéridos intramiocelulares  |
| IU                  | Institutional units  |
| mM                  | Milimoles  |
| mM/L                | Milimoles por litro  |
| MRS                 | Espectroscopia de resonancia magnética                                   |
| NNRTI               | Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos       |
| NRTI                | Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos          |
| PI                  | Inhibidores de la proteasa   |
| ppm                 | Partes por millón  |
| PRESS               | Point-resolved spectroscopy  |
| RM                  | Resonancia magnética   |
| SAT                 | Grasa abdominal subcutánea   |
| SD                  | Desviación estándar  |
| SE                  | Spin-echo  |
| SIDA                | Síndrome de inmunodeficiencia adquirida                                  |
| SPECT-TC            | Tomografía computarizada por emisión de fotón-tomografía computarizada   |
| STIR                | Short-tau inversion recovery   |
| TARGA               | Terapia antirretroviral de gran actividad                                |
| TC                  | Tomografía computerizada   |
| Tc-99m HMDP         | Hydroxymethylene difosfonato de Tecnecio 99m                             |
| TDF                 | Tenofovir disoproxial fumarato   |
| TE                  | Tiempo de eco  |
| TR                  | Tiempo de repetición   |
| UH                  | Unidades Hounsfield  |
| μU/mL               | Microunidades por mililitro  |
| VAT                 | Grasa abdominal visceral   |
| VHC                 | Virus de la hepatitis C  |
| VIH                 | Virus de inmunodeficiencia humana  |
| VIH-1               | Virus de la inmunodeficiencia humana tipo I                              |
| VOI                 | Volumen de interés   |







El inicio de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) hace más de una década en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), ha logrado un aumento de la supervivencia a largo plazo, por un descenso en la incidencia de infecciones oportunistas y de mortalidad en relación con el VIH y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Sin embargo, han surgido nuevas patologías asociadas y efectos secundarios al uso del tratamiento antirretroviral. Entre la variedad de síndromes clínicos que han acontecido paralelamente a la introducción y desarrollo de estos tratamientos se encuentra el síndrome de lipodistrofia, que se ha descrito que afecta aproximadamente a la mitad de pacientes con VIH y TARGA.

El síndrome de lipodistrofia es una complicación metabólica en la que hay cambios en la distribución de la grasa corporal, y muy frecuentemente dislipidemia y resistencia a la insulina. Si bien, inicialmente se atribuyó la lipodistrofia a un efecto adverso relacionado con los inhibidores de la proteasa, en la actualidad se considera que esta primera hipótesis no es cierta, y su relación etiopatogénica sería con fármacos potencialmente tóxicos frente al DNA mitocondrial, como los análogos de nucleósidos y en especial los análogos de timidina, zidovudina y estavudina. En pacientes con lipodistrofia, la sustitución de estos análogos de la timidina o incluso terapias libres de análogos han permitido una mejoría o reversión de la lipodistrofia. Los cambios de distribución de la grasa ocasionan una importante estigmatización social, pero principalmente provocan un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular por las alteraciones metabólicas que pueden asociarse. Sin embargo, no hay una escala establecida que mida el grado de lipodistrofia de forma objetiva, y los cambios de severidad en el tiempo en respuesta al tratamiento.

Hasta ahora los parámetros objetivos empleados para el estudio del síndrome de lipodistrofia son valores analíticos en sangre y variables de composición corporal. Los estudios de valoración de la composición corporal se han centrado en la cuantificación de tejido graso y no graso, en todo el cuerpo y por regiones, mediante determinación densitométrica (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA o DEXA), y cuantificación de la grasa abdominal subcutánea e intraabdominal-visceral y la grasa subcutánea periférica en extremidades mediante tomografía computarizada (TC), y de forma más restringida mediante resonancia magnética (RM). Se ha demostrado que hay otros compartimentos corporales con gran peso en el conjunto corporal total, que muestran variaciones en la composición grasa en este grupo de pacientes VIH con lipodistrofia, como son el músculo y el hueso. Estudios no invasivos de RM se muestran como nuevas vías para medir y mostrar el contenido graso de estos dos compartimentos, bien sea mediante imagen morfológica o mediante espectroscopia de protones.

Ha sido este aspecto el que ha guiado el desarrollo de esta tesis, el estudiar la grasa muscular y de médula ósea en este grupo de pacientes, y sus interrelaciones con otros parámetros clínicos, que nos abran nuevas perspectivas acerca de la patogenia y manejo de la enfermedad.







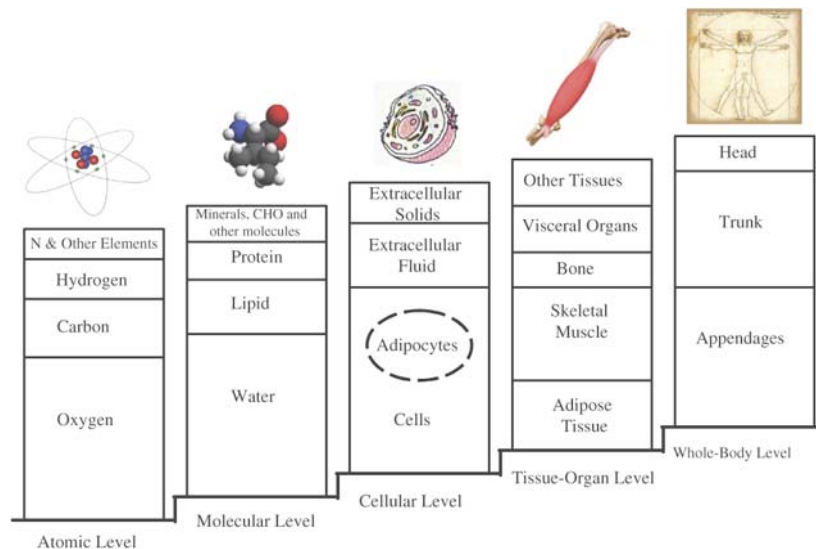


### Compartimento graso

Múltiples enfermedades y procesos de tipo endocrino-metabólico en los que está implicado el metabolismo graso han suscitado un gran interés y el desarrollo del estudio de la composición corporal, dado su impacto en la mortalidad global de la población contemporánea. Ya en el inicio del siglo diecisiete, Sanctorius fue el primero en cuantificar la pérdida de agua insensible a través de sus medidas de peso a lo largo del tiempo (1). Desde entonces, el estudio de la composición corporal es un área muy activa de la ciencia básica y de la investigación clínica.

Un comprensible modelo de organización corporal la clasifica en 5 niveles: nivel I o atómico (el 98% lo constituye el oxígeno, carbono, hidrógeno, nitrógeno, calcio y fósforo), nivel II o molecular (que contiene todo el componente atómico, y los principales elementos son el agua, los lípidos, las proteínas, el mineral y el glucógeno), nivel III o celular (que está compuesto de líquido extracelular, sólido extracelular con fibras de colágeno, reticulares, de elástica y matriz ósea, y por último las células conectivas, epiteliales, nerviosas y musculares), nivel IV o tejidos (muscular, conectivo, epitelial y nervioso, y dentro del conectivo se incluye el adiposo y óseo) que formarán órganos y sistemas, y nivel V o todo el volumen corporal (1,2). Cada nivel y sus compartimentos son distintos, pero con conexiones bioquímicas y fisiológicas.

Figura 1. Modelo de organización corporal propuesto por Wang ZM (2) y revisado por Heymsfield SB (1)



Se define como lípidos a uno de los cinco componentes básicos moleculares. Fisiológicamente se dividen en esenciales (10%) que intervienen en funciones importantes como el formar parte de las membranas celulares, y los no esenciales (90%) principalmente en forma de triglicéridos. Un concepto de medida muy utilizada en composición corporal es el que divide esta composición en masa corporal grasa, que es toda aquella que tiene componente molecular lipídico no esencial, y masa corporal libre de grasa, que corresponde al resto de componentes moleculares no lipídicos (agua, proteínas, mineral y glucógeno) y al grupo de lípidos esenciales.

Los triglicéridos, que es sinónimo de grasa, son la principal forma de almacenamiento de energía en las células. Son un tipo de lípidos formados por una molécula de glicerol esterificado con tres ácidos grasos (al tener tres grupos hidroxilo), que suelen ser distintos. El perfil de estos ácidos grasos varía según la localización anatómica, pero también varía con la dieta y otros factores. Los triglicéridos proceden de la dieta o de la síntesis en el retículo endoplásmico de casi todas las células del organismo, a partir de los ácidos grasos de la dieta, pero es en el hígado, en particular en sus células parenquimatosas (los hepatocitos), y en las células del tejido adiposo o graso (los adipocitos) donde este proceso es más activo y de mayor relevancia metabólica.

El tejido adiposo representa aproximadamente el 21% de la masa corporal, y tiene por principal función la acumulación de energía en forma de triglicéridos, que en menor cantidad se almacena en el músculo esquelético y cardíaco, aunque solamente para consumo local. Sus funciones conocidas son: almacén molecular de energía, fuente de calor, envoltura protectora de los órganos vitales con capacidad de amortiguar golpes y aislante térmico (3).

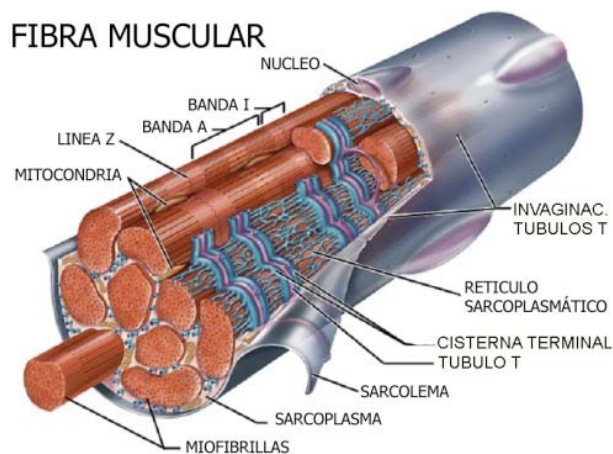
El tejido graso clásicamente se ha dividido por su distribución en subcutáneo, visceral (el que rodea órganos y vísceras), intersticial (entre las células de los órganos) y médula ósea grasa. Pero, en la actualidad, se considera que el tejido graso no es un compartimento homogéneo único, sino que tiene depósitos regionales específicos con importantes propiedades metabólicas, interviniendo en un amplio rango de funciones endocrinas y paracrinas (4). Según las funciones biológicas específicas, se divide en tejido graso blanco, el más abundante en el adulto humano, es reservorio de energía, aislante y fuente de ciertas hormonas; el tejido adiposo pardo con principal función en la termogénesis, que es encontrado en humanos en los fetos y primeros años de la vida, y de forma aislada en algunas localizaciones en el adulto (perirrenal, cervical posterior e intercostal) ; el tejido adiposo en la glándula mamaria, con papel en el crecimiento epitelial y producción de leche; y el tejido adiposo en la médula ósea que es también tejido graso blanco, con participación en la hematopoyesis y osteogénesis (3).

Además, se reconoce que los adipocitos en el tejido graso producen unas proteínas, como adipocitoquinas, leptina y adiponectina, con diferentes funciones metabólicas. En la investigación de la composición corporal tienen una especial importancia el tejido graso, así como el tejido muscular y el óseo.

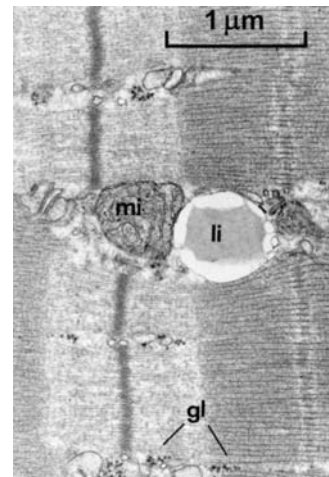
## Grasa en el músculo estriado

La grasa muscular comienza a considerarse como un "nuevo" compartimento graso, por su interrelación con procesos metabólicos en relación a la resistencia a la insulina. Comprende distintos depósitos de almacenamiento de triglicéridos: los que están dentro de los adipocitos localizados entre las fibras musculares, los llamados triglicéridos extramiocelulares o extramiocitarios (extramyocellular lipids, EMCL); por otro lado, los localizados dentro de las fibras musculares en forma de triacilgliceroles citosólicos, en el sarcoplasma, generalmente en contacto directo con las mitocondrias, también llamados triglicéridos intramiocelulares o intramiocitarios (intramyocellular lipids, IMCL), y que se han relacionado con la resistencia a la insulina (5). La grasa intermuscular, por su parte, se refiere a los depósitos localizados entre los distintos músculos. Aunque el contenido de triglicéridos es pequeño dentro de las células musculares, al contribuir todas las células musculares a un alto porcentaje de la masa corporal total, en conjunto tiene un peso importante en el metabolismo global. Así, el músculo esquelético es el tejido sensible a insulina más abundante del cuerpo humano, capaz de captar el 40% de la glucosa postprandial, a la vez que consume el 20% de la energía corporal.

**Figura 2.** Esquema de organización de la célula muscular: Las mitocondrias se sitúan en el sarcoplasma (citoplasma) entre los cilindros de miofibrillas de actina y miosina.



**Figura 3.** Imagen de microscopía electrónica de la célula muscular: la esférula de triglicérido (li) se sitúa adyacente a la mitocondria (mi) en la célula muscular. gl: glucógeno (6)



La localización de los IMCL adyacentes a la mitocondria, y la observación de que su nivel decrece durante el ejercicio prolongado, y aumenta durante el entrenamiento, indican que este grupo de triglicéridos son una fuente energética directa para el músculo. Cuando se elevan los valores de ácidos grasos en el plasma o aumenta el contenido de grasa en la dieta, también aumentan los IMCL, sugiriendo que las fibras del músculo esquelético sirven también de almacén de ácidos grasos si la disponibilidad es alta (7).

Pero hay también procesos que ocasionan un aumento de la grasa intramuscular por una disminución de la capacidad oxidativa de la mitocondria, con un incremento de la generación de especies reactivas a oxígeno, y una estimulación de las vías de inflamación lo que finalmente conlleva un riesgo metabólico aumentado (8). En cualquiera de los casos, un exceso de almacenaje de IMCL sin deberse a un aumento de su requerimiento (como sería en el caso de deportistas en los que hay un músculo entrenado) tiene efectos negativos sobre la sensibilidad a la insulina.

El contenido de triglicéridos intramiocitarios varía en función del tipo de músculo. El músculo esquelético en el humano está formado por una mezcla de tres diferentes tipos de fibras: Las fibras tipo I, de acción lenta, con capacidad oxidativa o aerobia, que utiliza grasas y carbohidratos como fuente de energía, y por tanto tendrán más contenido en triglicéridos; las fibras tipo IIa que son de acción rápida, con leve capacidad oxidativa y una predominante capacidad glicolítica o anaerobia; y las fibras IIb, de acción rápida, y con capacidad únicamente glicolítica o anaerobia. La sensibilidad para la insulina es mayor en fibras tipo I, siendo menos sensibles las tipo IIa y mucho menos sensibles las IIb. La cantidad y distribución de estas fibras en el músculo depende de características metabólicas, y por tanto de la actividad de cada músculo, con una predominancia del tipo I en músculos profundos con actividad tónica y del tipo IIb en los superficiales con actividad fásica. El vasto lateral presenta un contenido mixto, con un 40% de fibras de tipo I, un 50% del tipo IIa y un 10% del tipo IIb, pero es inestable y puede variar según su actividad. El contenido de fibras en la musculatura de las piernas es más estable, en donde se localiza el músculo con más contenido de fibras de tipo I y por tanto con el mayor contenido en triglicéridos, el sóleo, hasta con un 87,7% de fibras tipo I, proporción que se mantiene homogénea en todo su volumen (9,10).

El análisis bioquímico, el análisis histoquímico y la microscopía electrónica representan un grupo de métodos que valoran directamente el contenido graso del músculo, pero requieren realizar una biopsia, por lo que es limitante cuando son necesarias múltiples medidas de un área o cuando se aplica en niños. Aunque la biopsia muscular presenta la ventaja de poder realizar estudios específicos como de biología molecular, presenta problemas metodológicos que hacen difícil una cuantificación precisa de la grasa muscular, con una variabilidad en las medidas de hasta un 24% (11,12). Además, únicamente la valoración histológica y no la bioquímica permite diferenciar el componente graso intramiocelular del extramiocelular (13,14).

### ***Grasa en la médula ósea***

La médula ósea es uno de los órganos con más volumen del global corporal, después del esqueleto óseo, la piel y la grasa corporal (15). Es un sistema en el que cohabitan células grasas y no grasas, que forman la médula roja o hematopoyética y la médula amarilla y en el que el principal componente es la grasa. La médula ósea constituye aproximadamente el 85% del componente óseo no cortical, el resto está formado por las trabéculas óseas. La médula ósea amarilla está compuesta de derivados carotenoides disueltos en las gotas grasas de los adipocitos, constituyendo en un adulto el 50% del total de la médula ósea y localizándose en el esqueleto apendicular. El otro 50% lo constituye la médula ósea roja o hematopoyética, que está compuesta el 60% por células hematopoyéticas y el 40% por células grasas, localizándose en un adulto en el esqueleto axial y región proximal de extremidades. El balance entre el componente graso y no graso tiene variaciones fisiológicas en su distribución según la edad, con una conversión de médula roja a amarilla en el esqueleto periférico, y con aumento del componente graso en la médula hematopoyética en el esqueleto axial en su evolución al adulto. Por tanto, la médula ósea contiene un gran número de triglicéridos acumulados en adipocitos en la edad adulta (16,17).

No hay una clarificación del papel de la grasa en la médula. Inicialmente se consideró como un relleno de los espacios del hueso trabecular que aumenta con la edad y en situaciones posteriores a una irradiación. Sin embargo, se apunta el papel de estas células adiposas como recurso energético y como modulador de tejidos adyacentes, por la producción de factores que actúan sobre células medulares vecinas, sustentando o suprimiendo procesos hematopoyéticos y osteogénicos (3,18). La íntima relación entre adipocitos, osteoblastos y células madre hematopoyéticas sugiere que estos tipos celulares trabajan en equilibrio, y por el contrario en condiciones patológicas, el papel de la médula grasa puede cambiar y funcionar como antagonista para la osteogénesis (18).

Estudios recientes han demostrado que hay una importante relación fisiológica entre el hueso y la grasa. Ambos tejidos proceden del mismo precursor celular mesenquimal en la médula ósea, capaz de diferenciarse en osteoblastos o adipocitos bajo el control de determinados factores de transcripción. Se ha observado que las células óseas secretan factores que influyen en la sensibilidad de la insulina, y las células grasas sintetizan citoquinas que regulan la diferenciación de los osteoblastos, por lo que procesos en los que hay cambio en el metabolismo de la glucosa y el metabolismo graso, como la diabetes, el síndrome de Cushing y la anorexia nerviosa, tienen un impacto sobre la salud ósea (19). Salvo durante la pubertad, en la que hay un aumento de grasa y osteoblastos, probablemente por aumento del requerimiento de los osteoblastos, se ha observado una relación inversa entre el componente graso y la masa mineral ósea.

Se desconoce la causa de esta relación, un exceso de grasa podría desplazar las células osteogénicas y/o hematopoyéticas funcionales, o tal vez este exceso sea consecuencia de una masa mineral disminuida por una sobreactividad de los osteoblastos que necesitan adipocitos adyacentes para la obtención de energía (18,20).

El interés en la valoración del componente graso en la médula ósea se ha impulsado con la utilización de la RM al tratarse de un método no invasivo de alta sensibilidad y especificidad con el que se pueden valorar in vivo procesos de afectación en la médula ósea, atendiendo al balance de médula grasa/no grasa.

El contenido graso medular puede incrementarse con la edad, por cambios metabólicos o por disminución del componente hematopoyético; puede disminuir en procesos en los que hay una demanda energética aumentada o una deficiencia en su aportación, por reconversión medular con aumento del componente hematopoyético, o por isquemia con muerte celular del componente óseo y medular; puede desplazarse por procesos tumorales, inflamatorios, u otro tipo de proliferación o depósito; o manteniendo su proporción puede verse infiltrado por edema debido a una hiperemia, y por células neoplásicas o inflamatorias (21).

En estados de depleción extrema del componente graso medular se ha observado un depósito de sustancias gelatinosas extracelulares, que histoquímicamente corresponden a mucopolisacáridos, ricos en ácido hialurónico. Este hallazgo se ha denominado atrofia serosa de la grasa o transformación gelatinosa de la médula ósea, y fue reconocido por primera vez en los años 70 en especímenes de autopsia de sujetos en prolongada inanición y caquexia (22). A partir de entonces, se ha descrito en severos estados de malnutrición (anorexia y caquexia), infecciones, en pacientes con SIDA menores de 40 años, alcoholismo y linfomas en edad media, y linfomas, neoplasias terminales, y fallo cardíaco crónico en sujetos mayores de 60 años, pero también se han encontrado en algunos desórdenes metabólicos, de malabsorción, en el fallo renal, y en el lupus eritematoso sistémico, siendo indicador de enfermedad severa que puede ser reversible si se elimina la causa (23,24).

Posteriormente, en estudios de RM se han demostrado no sólo en estados de malnutrición severa (anorexia) y caquexia por cáncer avanzado, si no también de forma local en grandes injertos óseos tras una quimioterapia, o en áreas sometidas a quimioirradiación en sarcomas de partes blandas (25-29).

Este depósito es un material eosinofílico compuesto por ácido hialurónico con glicosaminoglicanos no sulfatados en la mayoría de cuadros, mientras en SIDA los glicosaminoglicanos son sulfatados y no sulfatados. Este material tiñe con azul alciano a un pH de 2.5, y pierde su positividad tras un pretratamiento con hialuronidasa testicular bovina o con Varidasa, siendo necesaria una decalcificación ósea media a un pH neutro y utilizando fijadores especiales, por lo que es fácilmente diferenciable histológicamente del edema, del amiloide y de la osteonecrosis (24,30).

Se desconoce el mecanismo fisiopatológico, pero tiene en común una atrofia de las células grasas acompañado de pérdida local de células hematopoyéticas en cuadros de enfermedad severa difusa. Se postula que el ácido hialurónico puede reemplazar las células grasas en la médula que se han movilizado en estados catabólicos de enfermedad. No en todos los pacientes con enfermedades debilitantes se detecta, y puede deberse a la distribución focal que se presenta en los estudios histológicos, o también puede deberse a otros factores (22,24).

En la médula ósea hay por tanto componentes intrínsecos y extrínsecos que influyen en el balance del microambiente, que es crítico para una normal osteogénesis y hematopoyesis, entre otros procesos. En este microambiente participan otros fenotipos celulares, la matriz extracelular, estructuras vasculares y nerviosas, y factores locales o sistémicos. Entre el componente celular del estroma medular, hay un amplio rango de señales resultantes de la actividad de los macrófagos, fibroblastos, osteoprogenitores, células madre hematopoyéticas y su progenie, de las células endoteliales y reticulares, pero también de los adipocitos, con procesos, funciones e interrelaciones que todavía no están definidas, pero que intervienen en la estructura del estroma y en la regulación de la hematopoyesis (18,21).

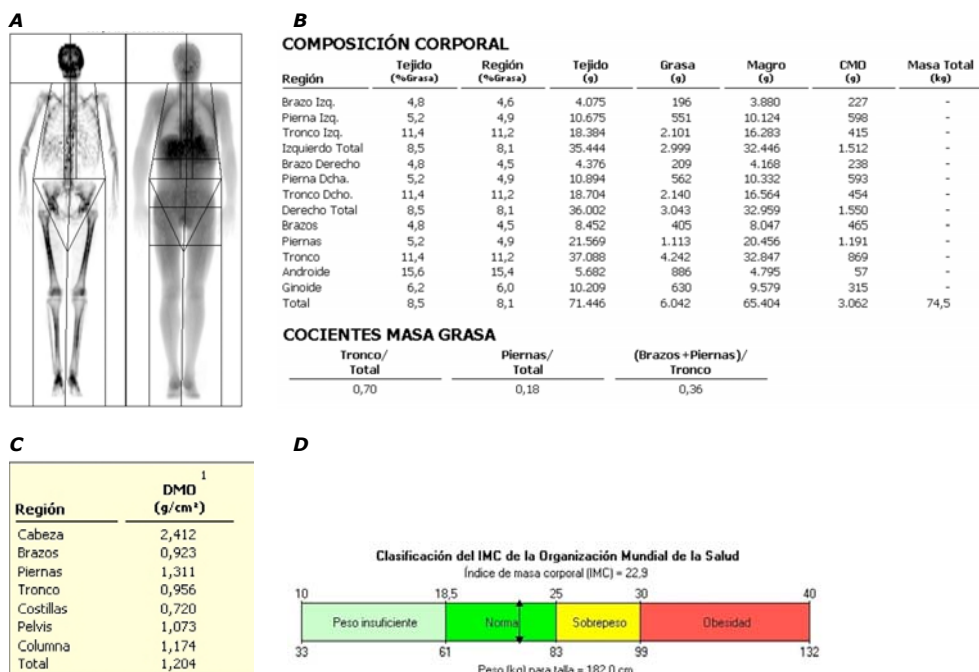
### ***Valoración por imagen del compartimento grasa***

En los años 70 la revolución de la imagen supuso un desarrollo decisivo en la cuantificación de la composición corporal. Hasta entonces, sólo técnicas antropométricas (peso, talla, perímetro de cintura y grosor del pliegue cutáneo), imágenes radiográficas que estimaban el grosor del tejido grasa y anchura del músculo, y la impedancia bioeléctrica, constituían las técnicas disponibles.

Los estudios densitométricos (dual energy X-ray absorptiometry, DXA o DEXA) de cuerpo entero emergieron como el método de elección en la evaluación de la adiposidad en la investigación clínica, en estudios epidemiológicos y en pacientes. Estos sistemas utilizan energías de dos fotones que al atravesar los tejidos se atenúan, siendo medido por un detector, que estima el contenido de cada pixel. De esta forma, se puede cuantificar el componente grasa, el tejido libre de grasa o componente magro, y el hueso, y han permitido dividir la masa corporal en cuatro compartimentos (grasa, agua corporal total, minerales y masa residual) usando medidas de densidad corporal, agua corporal total, y masa mineral ósea. Además, estos sistemas pueden estimar estos tres componentes en la masa corporal total o en regiones seleccionadas. Así, el tejido libre de grasa o masa magra perpendicular corresponde al músculo (31-33).



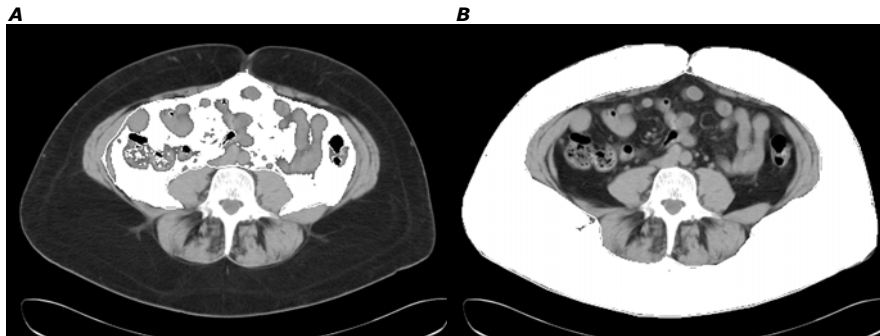
**Figura 4.** Estudio del componente corporal por DEXA: **A**, Imagen del componente mineral (izquierda) y del componente graso y magro (derecha) **B**, Valores en gramos de la composición corporal de partes blandas por regiones y total **C**, Valores de la densidad mineral ósea por regiones y total **D**, Índice de masa corporal



La determinación de la distribución regional de la grasa es cada vez más importante en la valoración de la composición corporal. En este aspecto la TC y la RM tienen cada vez más interés para estudios de la distribución regional de la grasa corporal.

La TC proporciona imágenes de cualquier región del cuerpo con una alta resolución, y por tanto una clara definición entre el tejido adiposo, el músculo, vísceras, cerebro y esqueleto. Se basa en la atenuación de rayos X al atravesar los distintos tejidos, se mide en densidad tomando como referencia el aire y el agua, con valores -1000 y 0 unidades Hounsfield (UH), respectivamente. Respecto a estas medidas la grasa mide aproximadamente -70 UH y el músculo 20 UH (1). Desde sus inicios ha sido una herramienta con la que se ha estimado la masa muscular, la densidad muscular, el volumen visceral, la grasa hepática, el tejido adiposo y su distribución, y se han realizado cuantificaciones mediante segmentación, bien en una sección de imagen o mediante modelos de TC multicompartimental de todo el volumen corporal (34-39). La aplicación clínica más extendida es la cuantificación del volumen de grasa mediante la segmentación para la obtención del índice de grasa abdominal visceral (visceral adipose tissue o VAT) respecto a la grasa abdominal subcutánea (subcutaneous adipose tissue o SAT), que es el que mejor refleja la distribución de la grasa corporal, y se relaciona con la presencia de alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina (40). Para su obtención sólo es necesario un corte axial a la altura de la cuarta vértebra lumbar que corresponde al área umbilical.

**Figura 5.** Distribución del tejido adiposo en abdomen a nivel de L4. Se calcula el área en  $\text{cm}^2$  de **A**, grasa abdominal visceral o VAT y **B**, el área de grasa abdominal subcutánea o SAT, mediante técnica de segmentación y considerando un valor densitométrico de grasa.



La RM al igual que la TC se ha utilizado para diferenciar y cuantificar tejido adiposo y muscular mediante secuencias de Spin-Echo (SE) potenciadas en T1, la mayoría de estos estudios se han aplicado sobre una imagen de sección axial. Como no hay un reconocido riesgo de salud con el uso de la RM, la hace idónea para la valoración del tejido adiposo o músculo esquelético del volumen corporal, mediante sistemas de MR corporal total que cuantifica la grasa y el agua corporal. Se trata de una herramienta de gran proyección, con importantes avances no sólo en la cuantificación de tejidos, sino también en su medición cualitativa, como el análisis de la señal dentro de un vóxel de la imagen, permitiendo determinar la concentración de agua-grasa con técnicas de desplazamiento químico (p.ej. técnicas DIXON, en fase y fuera de fase,...), y el análisis de composición del tejido mediante espectroscopia por RM de protón ( $^1\text{H-MRS}$ ) y espectroscopia por RM de fósforo 31 ( $^{31}\text{P-MRS}$ ) (1).

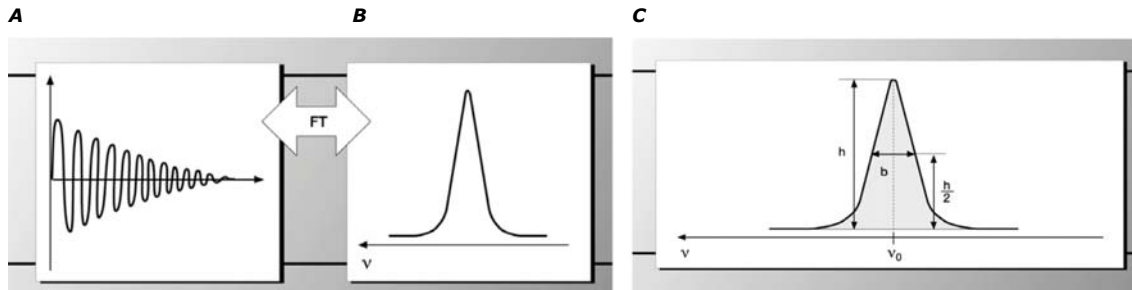
### **Grasa muscular y $^1\text{H-MRS}$**

#### *Introducción a la espectroscopia RM*

La espectroscopia de RM (MRS) es un método de imagen de detección y medición de la actividad celular, que proporciona información bioquímica de una amplia variedad de moléculas en cualquier sistema biológico. En función de las secuencias de pulsos aplicadas y los núcleos utilizados (hidrógeno 1, fósforo 31, carbono 13,...) se puede obtener información cuantitativa acerca de un gran número de metabolitos y su entorno.

Al igual que la formación de imagen RM, la MRS está basada en el magnetismo de los núcleos atómicos. En un campo magnético externo estático, denominado  $B_0$ , estos núcleos se alinean. Al aplicar un pulso de radiofrecuencia, la magnetización de estos núcleos se desplaza en un ángulo determinado según el pulso aplicado. Una vez la radiofrecuencia deja de actuar tienen lugar procesos de relajación, caracterizados por dos constantes de tiempo, T1 y T2, durante los cuales la magnetización perturbada vuelve a la situación inicial produciendo simultáneamente una señal electromagnética que es recogida y amplificada y que constituye la llamada FID (Free Induction Decay). La FID, mediante un artificio matemático, la transformada de Fourier, crea un gráfico de componentes de frecuencia, que corresponde al espectro.

**Figura 6.** **A**, Representación de la señal de RM en el tiempo **B**, Representación de la frecuencia del espectro **C**, Representación de la señal del metabolito en el gráfico. Un pico se caracteriza por la frecuencia de resonancia ( $\nu_0$ ), la altura del pico o amplitud ( $h$ ), el ancho completo del pico en el punto medio máximo ( $b$ ), y el área del pico (integral) de la frecuencia del espectro



Un mismo núcleo atómico al estar enlazado a distintos elementos o compuestos moleculares, mostrará señales distintas y por tanto frecuencias diferentes. Este efecto de desplazamiento de la frecuencia de resonancia se conoce como "desplazamiento químico" o "chemical shift", y es lo que permite detectar diferentes metabolitos y sustancias. Los datos de MRS se exponen en un gráfico: en el eje x se representa la frecuencia, que está medida en partes por millón (ppm) y en el que se encuentran los diferentes metabolitos representados según su desplazamiento químico respecto a una señal de referencia (como puede ser el agua, que se sitúa en una posición de 4.7 ppm), y en el eje y se representa la intensidad de señal del metabolito. La medida más utilizada es el área bajo la curva o integral del pico, que corresponde a la concentración del metabolito, y es proporcional al número de núcleos que contribuyen a la señal.

La calidad del espectro está determinada en gran medida por la relación señal/ruido. Esta relación aumenta al aumentar el número de adquisiciones y el tiempo de repetición (TR). El TR es crítico, ya que la señal se reducirá si la muestra no tiene tiempo de relajarse hasta la magnetización de equilibrio. Se estima que un TR de al menos 1500 milisegundos (ms) es óptimo.

Otro punto importante es la supresión del pico del agua, debido a su gran tamaño (la concentración del agua puede ser 10000 veces mayor que la de otro metabolito) puede dificultar la visualización de otros picos (41). Los metabolitos pueden medirse comparando un pico con otro de la misma muestra (cuantificación relativa) o comparándolo con un metabolito externo en cantidades conocidas (cuantificación absoluta) (42). Para la cuantificación relativa se puede utilizar en  $^1\text{H}$ -MRS la señal de agua como referencia relativamente estable. Hay diferentes software para cuantificar metabolitos en  $^1\text{H}$ -MRS, además del que proporcionan los equipos; los externos más utilizados son jMRUI y LCModel.

*<sup>1</sup>H-MRS en el músculo*

MRS del músculo esquelético ha precedido a otras aplicaciones de MRS en vivo en humano, focalizándose inicialmente en el metabolismo energético mediante <sup>31</sup>P-MRS. Pese a que el hidrógeno (<sup>1</sup>H) forma parte de prácticamente todas las moléculas de interés, y se puede realizar con equipos estándar, la aplicación de la <sup>1</sup>H-MRS en el músculo no tomó importancia hasta que se observó que los niveles de triglicéridos intramiocelulares se relacionaban con niveles de resistencia a la insulina.

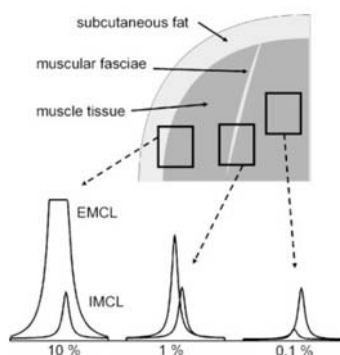
Las primeras observaciones de <sup>1</sup>H-MRS mostraban dos grandes picos de agua y lípidos que ocultaban las resonancias de otros metabolitos. El desarrollo de secuencias de atenuación de la señal del agua, mejora en los gradientes y técnicas de localización espacial mediante el uso de gradientes pulsantes y excitación selectiva, como PRESS (point-resolved spectroscopy) y STEAM (stimulated echo acquisition mode) con cuidadoso posicionamiento del volumen de interés (VOI) que evitara la grasa subcutánea, o secuencias chemical shift imaging (CSI) con un VOI en forma de multivoxel, supusieron un primer paso para el inicio de un gran número de estudios.

El pulso de secuencia más empleado es la PRESS, y con ella varios investigadores demostraron que los IMCL y EMCL presentaban una variación de frecuencia de resonancia de aproximadamente 0.2 ppm, atribuida a su localización en compartimentos diferentes que ocasiona lo que se define como efecto de susceptibilidad o desplazamiento químico. Así, el pico en la frecuencia de 1.5 ppm correspondía a triglicéridos en adipocitos fuera de la célula (EMCL) y en 1.3 ppm a triglicéridos en el citoplasma de células musculares (IMCL). Ambos triglicéridos musculares tienen una naturaleza química idéntica, aunque la estructura muscular con la distribución de EMCL en láminas y tubos entre las fibras musculares siguiendo sus orientaciones diferentes, y la de IMCL localizados en gotitas esféricas dentro de las células, determinan que presenten diferentes tiempos de relajación T2, y esa diferencia en la frecuencia de resonancia (43-45).

Los picos de triglicéridos que se corresponden con las resonancias de los protones de metilo (-CH<sub>3</sub>) y metileno (-CH<sub>2</sub>) de las cadenas acetyl de triglicéridos, que se ven entre frecuencias de 0.9 a 1.6 ppm son: picos de metilenos en la posición 1.3 ó 1.4 ppm y de metilos en 0.9 ó 1.0 ppm (los dos valores para cada grupo dependen de la posición del pico del agua, 4.7 ó 4.8 ppm, respectivamente) corresponden a triglicéridos dentro de la célula independiente del tejido (muscular, hepático y cardiaco), y los picos de metilenos en la posición 1.5 ó 1.6 ppm y de metilos en 1.1 ó 1.2 ppm corresponden a triglicéridos fuera de la célula (en músculo y en tejido celular subcutáneo) (46-48). Pero hay otros grupos de triglicéridos en la célula muscular, metilenos alílicos (-CH<sub>2</sub>) en la posición 2.0 ppm (IMCL) y 2.15 ppm (EMCL), metilenos dialílicos (-CH<sub>2</sub>) en la posición 2.7 ppm (MCL) y 2.85 ppm (EMCL), y metilenos olefinicos en la posición 5.3 (IMCL) y 5.45 (EMCL) (49).

Es importante adquirir la  $^1\text{H}$ -MRS en el músculo con un volumen de selección, cuidando la colocación del vóxel en regiones sin grasa visible, así como su tamaño, para evitar errores en la cuantificación de IMCL. Mientras la distribución de IMCL en el músculo es homogénea, la de EMCL es heterogénea, con un incremento desproporcionado cuando se aumenta el tamaño del vóxel en comparación con los IMCL (44), por lo que a diferencia de otros tejidos no siempre un vóxel grande nos va a beneficiar. Además, un exceso de EMCL, así como una angulación de las fibras musculares y por tanto de las bandas de EMCL con respecto al campo magnético principal  $B_0$ , puede determinar que las resonancias de los IMCL y EMCL se solapen, con errores de cuantificación (46,50).

**Figura 7.** Esquema de la superposición del pico de EMCL sobre el pico de IMCL según la posición del voxel, con limitación en la cuantificación de IMCL (6)



La cuantificación de IMCL por  $^1\text{H}$ -MRS se ha realizado en los diferentes trabajos publicados en los músculos sóleo y tibial anterior. Estos músculos tienen una actividad y composición de fibras diferente. Las fibras del tibial anterior son predominantemente paralelas al campo magnético (aproximadamente  $9^\circ$ ), mientras las del sóleo presentan un mayor ángulo (aproximadamente a  $45^\circ$  con respecto al  $B_0$ ) (51), esto determina que la separación entre los picos de IMCL y EMCL sea mayor en el tibial anterior, con menor error en la cuantificación. Además, la señal de EMCL en el músculo sóleo es mayor que en el tibial anterior, afectando potencialmente la exactitud en la cuantificación de IMCL (52).

**Figura 8.** Plano coronal de SE T1 de RM en piernas. Se muestra la dirección de las fibras musculares en el músculo sóleo (A) y tibial anterior (B) con ángulos con respecto a la dirección del campo magnético  $B_0$ . Las fibras del músculo sóleo muestra mayor ángulo que las del tibial anterior.



El músculo tibial anterior contiene un mayor porcentaje de fibras de acción rápidas glicolíticas o tipo II, que usan los hidratos de carbono como medio de energía para realizar movimientos rápidos, mientras el sóleo contiene predominantemente fibras acción lentas oxidativas o tipo I, utilizando la grasa para energía de una actividad sostenida. Por tanto, aunque en el tibial anterior la separación de picos de lípidos es óptima por la dirección de sus fibras, el soleo es más sensible a la dinámica de la insulina debido a su composición de fibras. Otros músculos, como el vasto lateral, se ha utilizado en el estudio de triglicéridos musculares mediante  $^1\text{H-MRS}$ , aunque se propone como el más indicado cuando es necesaria una biopsia (53-56)

Los exámenes de  $^1\text{H-MRS}$  han demostrado una adecuada correlación de los niveles de IMCL frente a los estudios bioquímicos y de microscopía electrónica tras la obtención de una biopsia muscular (11,46). Al no ser invasivos, pueden repetirse con una alta resolución temporal, aunque existe una variabilidad que depende de factores no sólo derivados de la técnica y del análisis, sino también de factores biológicos propios del músculo como son la actividad física, la dieta y medicaciones, que pueden afectar la sensibilidad en la detección de cambios en estudios longitudinales. El coeficiente de variación en las cuantificaciones de IMCL debidos a la técnica (en individuos a los que se realizó varias adquisiciones de MRS el mismo día, retirando el sujeto del imán y reposicionándolo de nuevo) en el músculo sóleo han oscilado entre el 7.9% y el 13,6%, con un 2.3% para medidas que se repitieron sin reposicionar al sujeto, y en el músculo tibial anterior se ha descrito una variabilidad del 6.7%, y entre un 13.2% hasta un 20.4% según el tipo de análisis realizado. Las variaciones observadas considerando todos los factores (técnicos, de análisis y biológicos) en medidas obtenidas en diferentes días, muestran variaciones para el tibial anterior de un 6.1%, y entre un 14,4% a un 20.6% según el tipo de análisis realizado, aunque eran cambios estadísticamente no significativos, observando que del global de variabilidad en las medidas de IMCL, un 50% es atribuible a factores no biológicos (44,46,53,57) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Variabilidad en la cuantificación de IMCL en  $^1\text{H-MRS}$  descrita en la literatura

| Autor               | Músculo         | Variabilidad técnica<br>(Mediciones en el mismo día) | Variabilidad técnica y biológica<br>(Mediciones en diferentes días) |
|---------------------|-----------------|--|---|
| Boesch 1997         | Tibial anterior | 6.7% *   | 6.1%  |
| Torriani 2005       | Tibial anterior | 13.4% * (IMCLa /jMRUI)                               | 14.4% (IMCLa /jMRUI)  |
|                     |                 | 20.4% * (IMCLcr /jMRUI)                              | 18.9% (IMCLcr /jMRUI)   |
|                     |                 | 13.2% * (IMCLa /LCModel)                             | 20.6% (IMCLa /LCModel)  |
|                     |                 | 15.5% * (IMCLcr /LCModel)                            | 18.1% (IMCLcr /LCModel)   |
| Rico-Sanz J 1998    | Sóleo           | 13.6% *  |   |
|                     |                 | 2.3% **  |   |
| Szczepaniak LS 1999 | Sóleo           | 11.8% * (delgados)                                   |   |
|                     |                 | 7.9% * (obesos)                                      |   |

\* Con reposición del individuo \*\* Sin reposición del individuo  
 IMCLa: IMCL referenciados respecto al agua, IMCLcr: IMCL referenciados respecto a la creatina  
 jMRUI: programa de procesado, LCModel: programa de procesado

La reproducibilidad de las medidas es más estable para los IMCL que para los EMCL. Los EMCL, por su distribución heterogénea entre las fibras musculares, muestran una variabilidad intradía en el músculo sóleo de 22.6% (en delgados) y 52.5% (en obesos), en tibial anterior intradía de entre 16.2% a 20.7% y del global entre 26.6% a 31.3%, según el método de análisis empleado, e incluso hay autores que han descrito variabilidades de un 50% y un 74% (46,53,58,59). Todos estos estudios fueron realizados en equipos de 1.5T y con un tiempo de eco (TE) bajo, y aunque se pueden obtener mejores resultados con valores  $B_0$  más altos (RM de mayor campo) y con aumento del TE al permitir una mejor separación de los picos, el artefacto de susceptibilidad que acontece en los equipos de mayor campo y una menor relación señal/ruido que tiene lugar cuando aumentamos el TE, determina que no siempre se mejore en la precisión de las medidas (60,61).

La distribución homogénea de los IMCL en el músculo determina que pequeños cambios en la posición del VOI no causan variación en su cuantificación, pero sí influye en la cuantificación de EMCL por su distribución heterogénea, y que a su vez puede afectar la cuantificación de IMCL. Por tanto, estos estudios deben de realizarse con estricto control de los parámetros de adquisición de la imagen, principalmente en estudios longitudinales.

Se ha analizado también la variabilidad en la cuantificación de triglicéridos musculares en  $^1\text{H}$ -MRS según el software utilizado para el procesado de las espectros, y el metabolito de referencia (agua o creatina) para una cuantificación relativa (53). Este estudio comparaba los software jMRUI y LCModel, y los resultados eran similares cuando se referencia con el agua para los dos sistemas en las valoraciones transversales intradía, y con menos variabilidad para jMRUI referenciado al agua, seguido de LCModel referenciado con la creatina para valoraciones longitudinales en diferentes días (Tabla 1). Estudios posteriores han mostrado el análisis de IMCL con LCModel como adecuado y robusto, con una adecuada diferenciación de picos (60-63).

Pero los IMCL es un grupo de grasas metabólicamente muy activo, utilizado por el músculo durante el ejercicio, y su concentración es dinámica, siendo cambiante en relación a un entrenamiento, dieta, pérdida de peso, y ejercicio. Aunque hay una variabilidad en las mediciones de IMCL mediante MRS, ésta es menor que el porcentaje de incremento de estos lípidos en algunas patologías. Comparando con las concentraciones de IMCL en sujetos normales, se ha descrito un aumento de IMCL de entre 57-84% en paciente con resistencia a la insulina, entre un 130-134% en pacientes infectados con VIH y lipodistrofia, e incluso incrementos de hasta un 210% en pacientes obesos (64-66). Las ventajas de este método sobre la forma de cuantificación de la grasa muscular mediante biopsia es el mayor volumen de muestra accesible que se puede estudiar, además de poder investigar la misma zona repetidas veces en los estudios longitudinales.

*Procesado de los espectros de <sup>1</sup>H-MRS de músculo: LCModel*

LCModel es un programa que permite la cuantificación automática de espectros por RM de protón en vivo. Este método fue desarrollado por Stephen W. Provencher y comercializado en el año 1992. Su aplicación no sólo es para el estudio de metabolitos cerebrales, si no también para otros múltiples tejidos que se han implementado a lo largo de los años, como el estudio de agua y lípidos en médula ósea, agua, lípidos y creatina en mama e hígado, y para estudio de lípidos, creatina, taurina y colina en músculo (67-69). Trabaja en un soporte Linux, y presenta aplicaciones automáticas adaptadas a cada área de estudio, tipo de RM (desde 1,5T a 9,4T, de todas las marcas,), tipo de secuencias (particularmente con TE corto) y tipo de adquisición (univoxel y multivoxel) (69).

En la valoración de los metabolitos musculares muestra una buena correlación con el programa jMRUI, con una exactitud comparable (70). Aunque LCModel realiza una cuantificación automática, permite modificar algunos parámetros. En frecuencia del espectro, denominado PPMST y PPMEND, se recomiendan valores entre 3.7 y -2.0. En la espectroscopia de músculo se recomienda realizar "eddy current correction" o "corrección de la corriente de Foucolt", que permite la corrección de la forma de las resonancias, de las distorsiones de fase y frecuencia en la señal. Para corregirlas se utiliza la FID sin presaturación del agua. Las modulaciones de fase y frecuencia están causadas por inhomogeneidades del campo magnético y por las "corrientes de Foucolt" que se generan al producirse variaciones en el campo magnético con la aplicación de los gradientes. A partir de la señal del agua se calcula un factor de corrección, que al aplicarse a la FID del metabolito, se obtiene una FID corregida, que afecta a la fase pero no a la amplitud original de las señales.

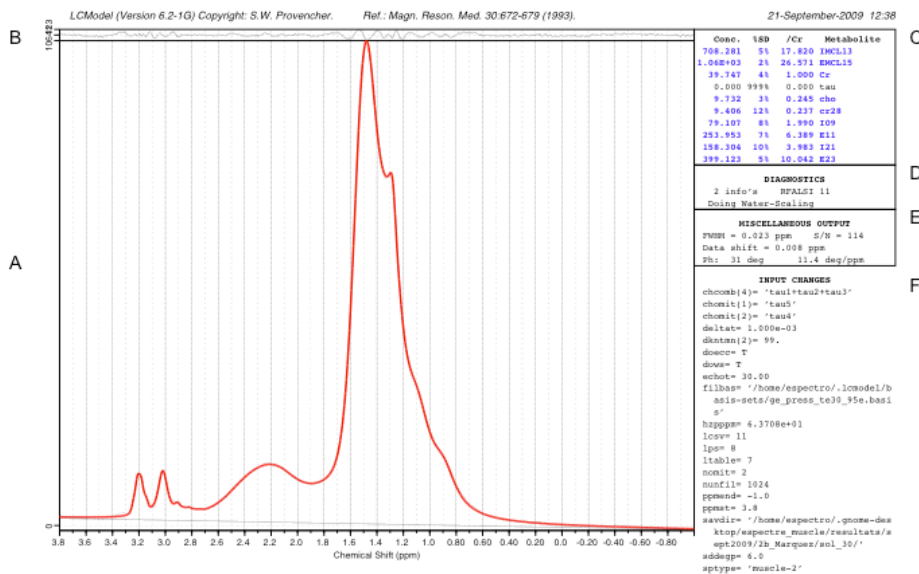
Al realizar cuantificaciones en tejido "en vivo" para obtener concentraciones absolutas de los metabolitos, se deben referenciar los resultados con una muestra externa con sustancias de concentración conocida, o con respecto al pico del agua sobre la frecuencia 4.65 ppm, desde la obtención de una FID sin presaturación del agua. Para esta última opción se selecciona "water scaling" en el software. Los resultados se obtienen en milimoles (mM) o en "institutional units" (IU). Además de una cuantificación absoluta con respecto al agua, se pueden obtener resultados relativos en forma de ratios con respecto a otros metabolitos, como la creatina, en la frecuencia 3.03 ppm. Los ratios de concentración con otros metabolitos no se afectan por la referencia al agua, y son menos sensibles a la relajación, a los efectos de volumen parcial y a los posibles cambios de concentración de agua, siendo en teoría resultados más robustos, y los resultados obtenidos no tienen medida. En el estudio de Torriani M, 2005 (53) se observó que los resultados de IMCL referenciados con la creatina muestran una variabilidad final similar que los referenciados con respecto al agua para LCModel. Otros autores han utilizado la señal de la grasa de la médula ósea como referente en la cuantificación de IMCL en estudios volumétricos (3D) de MRS, con una adecuada correlación con la cuantificación referenciada con un aceite vegetal externo (71).



Una vez realizados los ajustes de parámetros se aplica el procesado, seleccionando primero los datos del espectro con supresión del pico del agua, y posteriormente el espectro sin supresión del pico del agua, y se obtiene:

- Una representación de los picos de los metabolitos: El eje "x" corresponde a la frecuencia en ppm y se encuentran los diferentes metabolitos representados según su desplazamiento químico respecto a una señal de referencia, y en el eje "y" está representada la intensidad de señal del pico del metabolito (Figura 9, parte A).
- Una representación de las señales eliminadas que corresponde a ruido (Figura 9, parte B).
- Una tabla con la concentración del metabolito con respecto al pico del agua (Conc.), y que se corresponde con el área bajo la curva en mM o IU; el porcentaje de desviación estándar (%SD); y valor del ratio de cada metabolito con respecto a la creatina (/Cr) (Figura 9, parte C).
- Una tabla de información de errores e incidencias (DIAGNOSTICS) (Figura 9, parte D).
- Una tabla de datos sobre parámetros de salida de los resultados (MISCELLANEOUS OUTPUT) (Figura 9, parte E).
- Una tabla en la que se especifica los parámetros introducidos para realizar el análisis (INPUT CHANGES) (Figura 9, parte F).

**Figura 9.** Resultados de un espectro por  $^1\text{H}$ -MRS de músculo procesada con LCMoDel



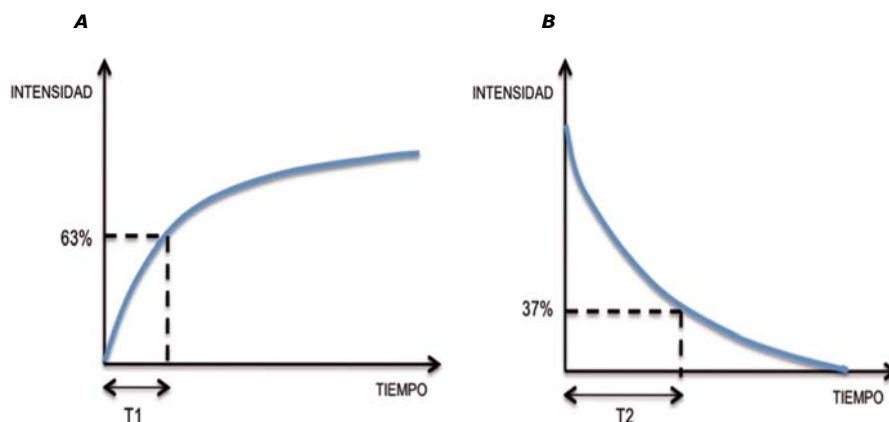
Los triglicéridos analizados incluyen cadenas de n-metileno (-CH<sub>2</sub>), metilo (-CH<sub>3</sub>) y alílico metileno dialílico (-CH<sub>2</sub>) para triglicéridos intramiocelulares en posiciones de la espectro 1.3 (correspondiendo a IMCL13), 0.9 (correspondiendo a I09), y 2.1 (correspondiendo a I21), respectivamente, y para lípidos extramiocelulares en las posiciones 1.5 (correspondiendo a EMCL15), 1.1 (correspondiendo a E11), y 2.3 (correspondiendo a E23), respectivamente. Además se obtiene cuantificaciones de creatina (grupos -CH<sub>3</sub>) en las posiciones 3.03, 2.08 y 3.2 ppm, taurina (grupos -CH<sub>3</sub>) en la región 3.34-3.6 ppm que puede influir en la señal de la creatina en el 3.03, y colina en la región 3.2 ppm.

### **Médula ósea grasa y RM**

La Rx constituye el método inicial para el estudio del hueso, aunque obtendremos más detalle de la estructura ósea con los estudios de TC. Los estudios gammagráficos permiten valorar aspectos fisiológicos y metabólicos de los elementos medulares o de la estructura ósea adyacente, incluyéndose técnicas híbridas como la tomografía computarizada por emisión de fotón / tomografía computarizada (SPECT-TC) y la tomografía por emisión de positrones-tomografía (PET-TC). Pero es la RM el método más adecuado para valorar directamente los componentes de la médula ósea.

Al igual que la MRS, la formación de imagen de RM está basada en el magnetismo de los núcleos atómicos. Pero a diferencia de la MRS, la señal electromagnética o FID en los procesos de relajación, y mediante la transformada de Fourier, se crea una imagen, con señales diferentes en dependencia del entorno del núcleo. Las diferencias de contraste en las imágenes de RM están dictadas por la densidad de los núcleos de hidrógeno o protones y por los tiempos de relajación T1 y T2 de los tejidos. Según el pulso de secuencia seleccionado realizaremos o suprimiremos uno o varios de estos parámetros, para enfatizar la señal de algún componente determinado de los tejidos (21). El tiempo T1 es el tiempo que tarda en recuperar un tejido el 63% de su magnetización longitudinal después de la excitación y también el tiempo que tardan los protones en alinearse cuando se introducen en un campo magnético. En un sólido o en la grasa estos intercambios de energía son muy rápidos, por lo que su T1 es corto y su señal elevada, mientras que en el líquido la pérdida de energía es más lenta y por tanto su T1 es largo. La relajación T2 es el tiempo que tarda en desfasarse el 63% de los espines cuando acaba el impulso de radiofrecuencia, quedando un 37% con la magnetización inicial, y dependerá del tejido donde se encuentren, en el líquido los espines están en fase más tiempo y por eso su T2 es más largo, mientras en sólidos se desfasan antes y presentan un T2 más corto.

**Figura 10.** Representación gráfica de los tiempos de relajación T1 (A) y T2 (B) de los tejidos



### *Señal y secuencias en médula ósea*

El componente mineral de la médula ósea no produce señal debido a la pérdida de movilidad de los protones. Los otros dos componentes principales, el agua y la grasa, contribuyen a la mayor parte de la señal medular vista en RM. Ambos componentes tienen una densidad de protones similar, sin embargo muestran una diferencia significativa en sus tiempos de relajación T1 y T2, siendo crucial para su diferenciación.

Los protones de grasa que comprenden grupos CH<sub>2</sub> hidrofóbicos tienen un tiempo de relajación T1 corto y T2 relativamente largo. Las moléculas de agua, con un mayor tamaño, tienen un tiempo de relajación T1 y T2 más largo que los protones de grasa. Pero el agua de los tejidos se presenta en dos compartimentos, agua libre o extracelular con tiempos T1 y T2 largos, mientras el intracelular presenta valores T1 y T2 más cortos, por lo que la señal resultante en los tejidos no grasos resulta menor que el agua. Este factor, junto con el componente proteico y entre un 25% a un 50% de componente graso que tiene la médula roja, determina que la intensidad de señal resultante presentará un tiempo de relajación T1 más largo que la médula amarilla pero un tiempo T2 que variará según el equilibrio entre sus componentes. De esta forma, una variación en el balance entre el componente graso y no graso medular, por un contenido anormal celular, de matriz ósea o de sustancia intersticial, es fácilmente detectable por RM (15,21).

La secuencia clásicamente utilizada y con alta sensibilidad para la valoración del componente graso/no graso medular es la de SE potenciada en T1. Con esta secuencia la señal de la grasa es óptima, ya que utiliza tiempos de repetición (TR) y tiempos de eco (TE) cortos, el contraste es predominantemente una función del tiempo de relajación T1, y por tanto realza la diferencia de señal entre la grasa, la médula roja y el resto de procesos patológicos. Con esta secuencia la médula ósea amarilla muestra una señal alta, el agua una señal baja, y la médula roja una señal intermedia por su contenido de agua y grasa.

El contraste en la secuencia de SE potenciada en T2 estándar o rápida, refleja diferencias en los tiempos de relajación T2, siendo poco útil para diferenciar médula amarilla de roja ya que ambas presentan tiempos de relajación T2 próximos. Para realzar esta diferencia la secuencias que suprimen la señal de la grasa, como la potenciada en T2 rápida con saturación de grasa, y tiempo de inversión corto (T1) con recuperación de la inversión (short-tau inversion recovery o STIR), así como las potenciadas en T1 tras la administración de componentes de gadolinio por vía intravenosa y aplicando saturación espectral de la grasa, permiten realzar la señal del componente no graso, y la última además, permite diferenciar un componente sólido de uno líquido.

La secuencia en eco de gradiente obtenida con un tiempo de eco en el que los protones de grasa y agua están opuestos o fuera de fase, permite la detección de cambios en el balance de grasa/no grasa. En esta secuencia las áreas con predominio de componente graso o de agua muestran una intensidad de señal alta, mientras las zonas con un contenido mixto de grasa y

agua (como la médula hematopoyética, y en estados de infiltración leve sin desplazamiento del componente graso) muestran una intensidad de señal baja, ya que los píxeles de imagen con el mismo porcentaje de grasa y agua resultará en una anulación de la señal, debido a que cada uno de estos componentes tendrá señales opuestas (15,16,21).

*Valoración del componente medular en RM*

Se han clasificado los cambios de la médula ósea según la señal que presentan en las imágenes de RM de SE potenciada en T1. La señal aumentará en los procesos con depleción de médula roja en la que el componente graso aumenta, y cuando hay disminución de un proceso de infiltración, de reemplazamiento o de vacío de señal. En un proceso infiltrativo la señal disminuirá levemente ya que no hay una ausencia total de la grasa. En un reemplazamiento, la señal es menor y más homogénea, por desaparición de la grasa. En un vacío de señal, la intensidad es muy baja, similar al hueso cortical, con también desaparición completa de la grasa. El análisis del patrón del cambio de señal, y su distribución en focal, regional o difusa, nos acercará hacia la etiología del cambio (16) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Causas más frecuentes según el patrón de afectación en las imágenes en T1 propuesto por Vande Berg BC, 1998 (16)

| Depleción de médula roja (aumento de señal en T1)  | Infiltración de médula (disminución leve de señal en T1)   |
|--|--|
| <p><b>Focal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Variante normal</li> <li>Regeneración de una lesión</li> <li>Hemangioma</li> <li>Enfermedad articular crónica adyacente</li> <li>Lipoma</li> </ul> <p><b>Regional</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Radioterapia</li> </ul> <p><b>Difuso</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Aplasia medular</li> <li>Aumento de glucocorticoides</li> <li>Cambios tóxicos en médula</li> </ul> | <p><b>Focal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Alteraciones cartilaginosas o sinovial articular</li> <li>Fractura ósea y contusión ósea</li> <li>Osteoporosis transitoria y alteraciones relacionadas</li> <li>Necrosis avascular</li> <li>Infección</li> </ul> <p><b>Un hueso</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Enfermedad de Paget</li> </ul> <p><b>Difuso</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Reconversión a médula hematopoyética</li> <li>Alteraciones metabólicas y de almacenamiento</li> <li>Neoplasias</li> </ul> |
| Reemplazamiento medular (disminución severa de la señal)   | Vacío de señal (señal similar al córtex óseo)  |
| <p><b>Focal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Neoplasia</li> <li>Infección</li> <li>Fractura</li> <li>Osteonecrosis</li> <li>Quiste subcondral</li> </ul> <p><b>Difuso</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Neoplasia</li> <li>Desordenes metabólicos y de almacenamiento</li> </ul>  | <p><b>Focal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Islote óseo</li> <li>Gas o vacío intraóseo</li> <li>Cuerpo extraño</li> </ul> <p><b>Difuso</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Hemosiderosis</li> </ul>  |

Éste es un sistema de clasificación descriptivo, y el componente que ocupa la cavidad medular y altera el balance grasa/no grasa puede ser edematoso, fibroso, líquido, necrótico, gaseoso, hueso o celular, incluyendo componente graso, neoplásico e inflamatorio. El estudio con otras secuencias, junto con la consideración de la localización topográfica, y la relación con la cortical y partes blandas adyacentes, acotarán el diagnóstico. En áreas de médula grasa o con predominio de ella, las imágenes potenciadas en T1 pueden ser suficientes para la detección de lesión (72).

Además de una valoración cualitativa de los componentes en médula, se puede realizar una cuantificación del componente graso/no graso, mediante la determinación del tiempo de relajación T1, del ratio y/o proporción agua/grasa (cambios de la intensidad de señal en imágenes en fase y fuera de fase) y mediante estudios de MRS, que son más sensibles a pequeños cambios en el balance (15,16). Hay otras herramientas cuantitativas, pero valoran componentes no grasos de la médula ósea, como la difusión, estudios dinámicos y la perfusión.

Los estudios cuantitativos y la mayoría de los cualitativos se realizan sobre una zona específica. Los estudios cualitativos de RM se pueden también realizar del cuerpo entero para valoración de todo el patrón medular. El desarrollo de sistemas multicanal, técnicas de imagen en paralelo, movimiento automático de mesa, y la introducción de equipos de alto campo, han reducido sustancialmente el tiempo de adquisición de las imágenes de RM de cuerpo entero, sin compromiso de su resolución espacial. Se suelen obtener las imágenes en un plano coronal y en varias estaciones, con secuencias potenciadas en T1 y STIR, y recientemente se están introduciendo secuencias en difusión. La RM de cuerpo entero para estudio de la médula ósea se inició en la detección y seguimiento de procesos neoplásicos (metástasis y enfermedades hematológicas), se propone en la valoración de enfermedades benignas óseas con predisposición a malignizar, la osteonecrosis, malformaciones vasculares difusas, y se proyecta como un método en traumatismos no accidentales, autopsia virtual, así como en la obtención de mapas de grasa corporal (73,74).

### ***VIH y lipodistrofia***

La lipodistrofia representa un efecto adverso muy en relación con la terapia antirretroviral en los pacientes infectados con el VIH. En los años previos al uso del TARGA, la progresión de la infección se acompañaba de una pérdida de peso, que en la forma más severa se reconocía como un síndrome de desgaste, que era una condición que definía el SIDA. En este síndrome había una pérdida de la masa grasa y no grasa, siendo diferenciador de la lipodistrofia en la que únicamente se afecta el tejido graso. Desde la introducción del TARGA en 1996, el síndrome de lipodistrofia ha llegado a ser uno de los principales efectos adversos, que afecta a la mitad o incluso más de los pacientes infectados en tratamiento (75-77).

Se estima una prevalencia mundial de población infectada por el VIH de unos 33.3 millones (Diciembre 2009), de los que aproximadamente la mitad están en tratamiento. En España la prevalencia de infección es de unos 130.000 (120.000-150.000), unos 3/1000 habitantes, de los cuales 79.500 están recibiendo tratamiento antirretroviral (78), considerando que más de 40.000 infectados por el VIH en tratamiento con TARGA pueden presentar potencialmente este síndrome metabólico.

#### VIH y TARGA

Hay dos tipos de virus VIH, el VIH tipo I (VIH-1) que es el más frecuente y cuando no se especifica el tipo de virus se refiere a este, y el VIH tipo II (VIH-2) que es poco frecuente y se concentran los casos en una zona de África occidental.

El principal indicador de la infección por el virus es la disminución de la inmunidad celular, con la pérdida de células  $CD4^+$ , que son linfocitos T expresando el receptor CD4. Un individuo normal tiene un rango celular entre 500 y 1300 células/ $mm^3$ , su disminución por debajo de 200 células/ $mm^3$  supone un riesgo para las infecciones oportunistas y neoplasias malignas, siendo categorizado como SIDA (79). El virus infecta estas células T  $CD4^+$ , así como macrófagos y células dendríticas, y la transcriptasa inversa del virus convierte su RNA en DNA de doble cadena que pasa al núcleo celular, en donde por mediación de la encima viral integrasa lo incorpora al DNA de la célula huésped. A partir de ahí el DNA del núcleo sintetiza RNA y proteínas virales, que en la membrana plasmática de la célula huésped y mediante la encima viral proteasa, se forman nuevos virus (80).

La introducción de la combinación de una terapia antirretroviral triple o TARGA, que bloquea la entrada del virus en la célula, e inhibe las encimas transcriptasa reversa y proteasa, permitió controlar la replicación del virus, y parar y regenerar las células  $CD4^+$  (81). En la última revisión de las guías de tratamiento de la organización mundial de la salud, se recomienda iniciar la terapia antirretroviral en un nivel de  $CD4^+$  menor de 350 células/ $mm^3$ . Con este criterio se ha aumentado el número de sujetos en terapia antirretroviral entre la población mundial infectada, que alcanza los 15 millones en la revisión del 2010 (78).

Los agentes antirretrovirales se agrupan en inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, NRTI), inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, NNRTI), inhibidores de la proteasa (protease inhibitors, PI), e inhibidores de la entrada, que como su nombre indica, bloquean la entrada del virus en la célula. La toxicidad relacionada con este tratamiento antirretroviral se ha convertido en un importante punto de atención y estudio en el manejo del VIH. Los efectos secundarios de estos fármacos son principalmente atribuidos a la toxicidad mitocondrial de los NRTI, al que se suma el efecto negativo sobre la mitocondria del propio VIH (82,83).

**Tabla 3 . Fármacos antirretrovirales**

| Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (NRTI) | Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (NNRTI) | Inhibidores de la Proteasa (PI) | Inhibidores de Fusión | Inhibidores de la Integrasa | Inhibidores correceptor CCR5 |
|--|--|---------------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Zidovudina AZT/ZDV   | Nevirapina NVP   | Saquinavir SQV                  | Enfuvirtide T-20      | Raltegravir MK-0518         | Maraviroc                    |
| Lamivudina 3TC   | Efavirenz EFV  | Ritonavir RTV                   |                       |                             |                              |
| Didanosina ddl   | Etravirina TMC125  | Indinavir IDV                   |                       |                             |                              |
| Estavudina d4T   |  | Nelfinavir NFV                  |                       |                             |                              |
| Zalcitabina ddC  |  | Amprenavir APV                  |                       |                             |                              |
| Abacavir ABC   |  | Lopinavir LPV                   |                       |                             |                              |
| Tenofovir TDF  |  | Fosamprenavir fAPV              |                       |                             |                              |
|  |  | Atazanavir ATZ                  |                       |                             |                              |
|  |  | Darunavir TMC114                |                       |                             |                              |
|  |  | Tipranavir TPV                  |                       |                             |                              |

### Patogénesis de la lipodistrofia

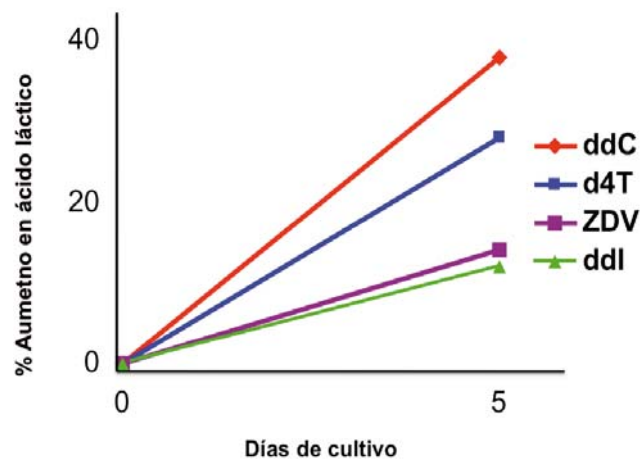
La lipodistrofia en pacientes infectados por el VIH-1 representa uno de los efectos adversos de la terapia antirretroviral, no limitada a un fármaco específico o grupo de fármacos. Aunque se considera que es un fenómeno multifactorial, en el que interviene como factor de riesgo principal el TARGA y su tiempo de administración (en especial por los inhibidores de la proteasa y los inhibidores de la transcriptasa reversa de los nucleósidos o NRTI, principalmente la estavudina y la zidovudina), así como la propia infección por el VIH (84), y factores intrínsecos del huésped (edad, sexo, raza, índice de masa corporal, nivel de CD4, y la carga viral, entre otros) (85,86), se ha demostrado que los cambios mitocondriales son un hallazgo relevante en la fisiopatología de este síndrome (84,87,88).

El síndrome de lipodistrofia inicialmente se atribuyó al uso de inhibidores de proteasas, si bien posteriormente se comprobó que este protagonismo recaía en los análogos de nucleósidos y muy particularmente en los análogos de timidina como son estavudina (d4T) y zidovudina (AZT/ZDV), siendo los inhibidores de la proteasa potenciadores de sus efectos (89).

Los fármacos NRTI constituyen el pilar del tratamiento antirretroviral, con distintas acciones sobre la replicación viral, pero pueden interaccionar con múltiples elementos a nivel molecular, entre ellos con la ADN polimerasa  $\beta$  y  $\gamma$ , enzimas que intervienen en la reparación del ADN y en la replicación del ADN mitocondrial, respectivamente. La interacción sobre la ADN polimerasa  $\gamma$  sería causante de una disfunción mitocondrial con alteración en su capacidad oxidativa (90,91). Una alteración previa subclínica de la función oxidativa mitocondrial en relación a la edad, por deficiencias metabólicas, por interacción de otros fármacos o por mutaciones congénitas, serían factores que predisponen a una mayor toxicidad de estos fármacos, y debido a este factor, no se puede predecir el riesgo a la alteración en cada individuo. Por otro lado, cada fármaco tiene afinidades específicas a distintos tejidos con grados de toxicidad diferente en dependencia de su acción sobre la ADN polimerasa  $\gamma$ , el mayor o menor papel mitocondrial en los tejidos, y la cinética de cada NRTI en cada tejido. En este aspecto, aunque se reconoce que fármacos como el ddC tiene una mayor potencia de inhibición de la enzima polimerasa  $\gamma$ , seguidos del ddl y d4T,

clínicamente se ha observado que fármacos como el ddC y el d4T tienen mayor toxicidad mitocondrial que el AZT y el ddl (Figura 11) (92,93). Además, se reconoce de forma específica que el AZT tienen afinidad especial sobre el músculo y puede ocasionar miopatía, y el d4T es más afín a ocasionar alteraciones metabólicas y lipoatrofia periférica (89,92).

**Figura 11.** Disfunción mitocondrial de fármacos NRTI medido según niveles de ácido láctico, indicador clínico de la alteración de la fosforilación oxidativa mitocondrial. Su aumento está ocasionado por la obtención de la energía celular vía glicolítica en el citoplasma, junto con una deficiencia de su aclaramiento por asociación con una alteración hepática. La estavudina (d4T) muestra mayor toxicidad mitocondrial que la zidovudina (ZDV) (93).



Específicamente sobre el tejido graso los NRTI muestran múltiples y diferentes interacciones interconectadas a nivel molecular, que ocasionan una disfunción en el adipocito periférico. Se ha observado alteración de la función mitocondrial por la disminución del DNA mitocondrial y una disminución en la expresión del RNA mitocondrial en adipocitos, con interferencia en genes que intervienen en el metabolismo lipídico; se describe también una alteración sobre la diferenciación, maduración y tamaño del adipocito, así como un aumento de la apoptosis o muerte celular programada (94,95). La disminución de la capacidad de acúmulo de grasas en los adipocitos periféricos, ocasionaría un aumento en la circulación de los triglicéridos desplazados, y un acúmulo secundario en depósitos como son los miocitos y el tejido graso visceral intraabdominal. Por otro lado, se sugiere que la interferencia en la capacidad oxidativa de la mitocondria, ocasiona un acúmulo secundario de triglicéridos no utilizados en el músculo y el hígado, que son las principales localizaciones con capacidad oxidativa y de depósito de grasas, y de forma secundaria una resistencia a la insulina. También se postula la existencia de una interacción directa sobre la acción de la insulina (65,96).



### *Cambios morfológicos y metabólicos*

El síndrome de lipodistrofia es una complicación metabólica en la que la dislipemia, la resistencia a la insulina y las alteraciones en la distribución de la grasa corporal con disminución general de la grasa subcutánea (lipoatrofia en brazos, glúteos y principalmente cara y piernas, posiblemente por pérdida de células grasas) con o sin aumento de la grasa intraabdominal, dorsocervical o "cuello de búfalo", y de mamas, son los cambios con más frecuencia descritos (97-101), aunque la intensidad y las asociaciones entre ellos es variable, y hasta el momento se desconoce si es un único síndrome o varios distintos síndromes superpuestos interrelacionados. Los cambios morfológicos pueden ocasionar síntomas clínicos secundarios y tiene efectos negativos en los pacientes de tipo psicológico y social, que pueden llevar a un pobre cumplimiento e incluso abandono del tratamiento antirretroviral (102). Pero los cambios metabólicos conllevan a un aumento del riesgo cardiovascular, debido al aumento del colesterol total, disminución del colesterol-HDL, aumento de triglicéridos con aumento de la movilización de lípidos, aumento de la resistencia a la insulina con hiperglicemia, y aumento de los niveles de lactato (103,104).

### *Diagnóstico y medición de la lipodistrofia*

Inicialmente, el interés de introducir métodos para medir la grasa corporal regional y compartimental en este grupo de pacientes es con fines de investigación, pero la importancia de incorporarlos a la práctica diaria radica en la potencialidad de llevar posibles acciones oportunas para una mejora clínica. Al emerger como un problema inesperado, este hecho junto con la falta de estandarización del contenido graso de la población general, la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas, y la ausencia de una herramienta de medición exacta, determinan que no estén establecidos los criterios para el diagnóstico, y que todavía las descripciones subjetivas de cambios de grasa corporal sean la forma más popular de diagnosticar la lipodistrofia.

Varios estudios multicéntricos han cuantificado distintos parámetros en este grupo de pacientes con el objetivo de definir este síndrome. El estudio de redistribución de la grasa y cambios metabólicos en la infección por VIH ( The Fat Redistribution and Metabolic Changes in HIV Infection o FRAM study) en el que comparaban datos de laboratorio, antropométricos, y radiológicos (con imágenes de TC y DEXA) en sujetos infectados por el VIH y no infectados, mostraba que el único cambio de grasa corporal distintivo asociado con la infección VIH era la lipoatrofia generalizada y no la lipohipertrofia central que presentan (105). En recientes estudios publicados, la lipoatrofia ha sido definida de una forma más simple como una pérdida de grasa en piernas medida por DEXA de más de un 20% con respecto al estado inicial (106). Aunque estos estudios han representado un gran avance, todavía no hay una definición de lipodistrofia simple, sencilla, sensible y específica. Y esta ausencia de definición exacta se debe a la ausencia de un método fiable, reproducible y preciso de medición de los compartimentos grasos corporales.

Múltiples métodos han sido utilizados: antropometría, análisis de bioimpedancia, y técnicas de imagen como la DEXA, la TC, la RM y la ecografía. Pero una de las premisas fundamentales que ocurre en los paciente VIH+ con lipodistrofia es que no muestran diferencias significativas del total de peso ni del índice de grasa corporal total con respecto a grupos control. Este hecho determina que métodos como la antropometría y el análisis de la bioimpedancia no sean precisos, al no poder medir grasa corporal regional, por lo que no pueden valorar los patrones de distribución alterada de estos pacientes.

La ecografía permite valorar el tejido graso subcutáneo en múltiples localizaciones de forma rápida, inocua, y barata, pero requiere un examinador con experiencia, y aunque es fiable en la evaluación de la grasa intraabdominal y en el grosor de la grasa subcutánea en distintas localizaciones, en los estudios de control de cambios no se correlaciona la grasa subcutánea abdominal y la de brazos con las medidas obtenidas en TC y DEXA, respectivamente (107,108).

La TC y con un uso más restringido la RM, se han utilizado en este grupo de pacientes para el cálculo del tejido graso subcutáneo en extremidades, pero principalmente del tejido graso subcutáneo y visceral en un corte a la altura de L4. Varios estudios muestran que esta última valoración tiene un considerable valor predictivo sobre el tejido graso total, con una buena correlación entre los datos obtenidos en un único plano de imagen con los obtenidos en múltiples planos (86).

Sin embargo, la DEXA es el método más extendido y fiable hasta el momento en este tipo de pacientes, al permitir separar el tejido graso del no graso corporal total y por regiones. Pero este método de medición presenta varias limitaciones, hay un error de medición que es progresivo al aumentar la corpulencia del sujeto, no puede evaluar adecuadamente cambios leves en la composición corporal, y no hay una correlación entre la pérdida de un 20% de la grasa de la pierna (como diagnóstico de lipoatrofia) con la percepción de lipoatrofia por el paciente, que sin embargo es evidente cuando la pérdida es a partir del 35% (86). Además, no es adecuado para valorar variaciones en la distribución de la grasa subcutánea y visceral, ni para medir el contenido de grasa en tejidos como el hepático, el intramuscular o el medular.

No hay muchos estudios que comparen estas técnicas para medir la grasa corporal regional; además, aunque parece que hay una alta correlación de las medidas de valores absolutos de la grasa regional, no la hay para detectar cambios de la grasa en cada compartimento, y cualquier evaluación de la redistribución de la grasa requiere varios métodos complementarios (86,109). Por otro lado, los estudios se centran en la valoración del compartimento graso en partes blandas corporal total o por regiones, y no hay referencias sobre el contenido de triglicéridos en otros compartimentos, como el que hay en el músculo o en la médula ósea, considerando que ambas contribuyen en su conjunto a un gran porcentaje del peso corporal total.

## **Músculo y VIH+ con lipodistrofia**

Generalmente, los estudios realizados desde la introducción del TARGA se han centrado en la valoración del compartimento graso por DEXA, y no hay referencias sobre el compartimento no graso o magro, ya que se asumía que la masa magra era estable. La DEXA tiene la limitación de no poder valorar el contenido graso visceral, como el que contiene los músculos. Este componente empezó a cobrar más importancia a partir de los estudios en pacientes con diabetes tipo II y obesos, en los que se relacionaba el componente de triglicéridos intramiocelular, o IMCL, con los ácidos grasos libres, con la glucemia y la resistencia a la insulina (46,56,110).

Estudios previos han mostrado un aumento de la adiposidad en el músculo en pacientes VIH con lipodistrofia, caracterizado por una disminución de la atenuación medida en TC, con asociación a hiperinsulinemia (111,112), a la distribución de la grasa (respecto al nivel de VAT aunque no de SAT) y al nivel de ácidos grasos libres, y con una relación inversa a la resistencia de la insulina (112). El inconveniente de este método, al igual que una cuantificación bioquímica, es que no se puede diferenciar si el contenido graso muscular es intracelular o extracelular.

Estudios de  $^1\text{H}$ -MRS han demostrado un aumento del contenido de IMCL en este grupo de pacientes con una fuerte correlación con la sensibilidad a la insulina y con algunos índices de composición corporal. En estos estudios se ha observado un aumento significativo de IMCL en los músculos sóleo y tibial anterior, con respecto a la población sana en un grupo mixto de varones y mujeres en hasta un 130-134 % para ambos músculos (65) y en un grupo de mujeres en aproximadamente el 60% para el tibial anterior y el 45% para el sóleo (113), y con respecto a un grupo de varones VIH+ sin TARGA del 50% (96). El aumento se correlacionaba significativamente con un aumento de triglicéridos para ambos músculos en hombres (96) y para el tibial anterior en mujeres (113), con la grasa visceral (65,96), con el índice de resistencia a la insulina (65,96) y con una menor grasa de extremidades en un grupo de mujeres, tanto en la medida que se hizo de porcentaje de grasa con respecto a la corporal total por DEXA, así como en el estudio de regresión multivariante (113).

Se desconoce el mecanismo fisiopatológico de conexión entre estas asociaciones, habiéndose postulado si la pérdida de grasa en relación a un aumento de la lipólisis puede contribuir a una reesterificación en el hígado con el aumento de los triglicéridos y su depósito, o si el exceso del acúmulo de grasa ocurre por una disminución de la oxidación mitocondrial de la grasa en el músculo, o en relación a la lipoproteína lipasa (113,114). También se postula la participación de una alteración mitocondrial. En este aspecto, se ha descrito una disminución de DNA mitocondrial en un grupo de sujetos normales a los que se administró zidoduvina durante un mes, demostrándose una disfunción mitocondrial en la fosforilación oxidativa en el estudio de  $^{31}\text{P}$ -MRS en asociación con la sensibilidad a la insulina, aunque no se demostró aumento de IMCL en el estudio de  $^1\text{H}$ -MRS, que tal vez se necesite más tiempo para su acúmulo (115). Pero

la zidoduvina es un análogo de la timidina con una afinidad específica por el músculo, causante de una miopatía, similar clínicamente a la miopatía asociada al propio VIH, en la que se ha demostrado una disminución del DNA mitocondrial, que puede acompañarse de anomalías en la morfología mitocondrial y de "ragged-red fibres" o "fibras rojo-rotas" (116). Para otros fármacos el mecanismo puede ser diferente, en este aspecto recientemente se ha publicado que mientras el contenido de DNA mitocondrial puede estar disminuido en el tejido graso, este contenido no muestra cambios en el músculo entre infectados en TARGA con lipodistrofia y sin lipodistrofia, y además no presentan diferencias en la perfusión muscular ni el consumo de oxígeno como indicador de una disfunción muscular (117).

En los pacientes infectados por el VIH en TARGA con lipodistrofia se ha observado también una resistencia a la insulina, y se ha relacionado significativamente con un aumento de IMCL. Esta asociación se demostró en el estudio de un grupo de hombres en el músculo sóleo (96), y en el estudio mixto de hombres y mujeres para ambos músculos, sóleo y tibial anterior (65); sin embargo, no se encontró que fuera significativa en otro trabajo sobre un grupo mujeres (113), aunque hay que considerar que las medidas de sensibilidad a la insulina que se aplicaron reflejan mejor la sensibilidad de la insulina hepática, más que la captación de la insulina en el músculo (113).

Recientemente se ha demostrado que una de las intervenciones más efectivas en la regresión y mejora del síndrome de lipodistrofia en pacientes infectados en TARGA, es la de sustituir análogos de la timidina por otro antirretroviral como el tenofovir disoproxil fumarato (TDF) (118). Pero, sorprendentemente se ha observado que este cambio ocasiona una disminución de la masa magra mientras el volumen corporal total se mantiene, y esta disminución no muestra una correlación con los cambios del compartimento graso, medidos con DEXA. No había signos clínicos ni de laboratorio de destrucción muscular. La referencia sobre los cambios de la masa magra en estos pacientes es anecdótica, únicamente se apunta la observación de una mayor masa magra en DEXA en los pacientes infectados por el VIH en TARGA y lipodistrofia en comparación con los que no tienen lipodistrofia (119). La DEXA no puede medir el contenido graso intramiocelular, que se ha demostrado que está aumentado en los estudios de  $^1\text{H}$ -MRS. Hasta el momento no hay estudios longitudinales en los que se hayan valorado los IMCL en pacientes VIH+ en TARGA ni los cambios en la masa magra antes y después de desarrollar el síndrome de lipodistrofia, pero todas estas observaciones nos inducirían a pensar en la relación entre el aumento de IMCL con una mayor masa magra, con una probable recuperación de esta masa a un nivel basal con la respuesta al cambio de tratamiento, por movimiento de IMCL.

### ***Médula ósea y VIH+ con lipodistrofia***

Los pacientes infectados por el VIH y con SIDA están sujetos a una variedad de complicaciones en el hueso, que pueden ser infecciosas, inflamatorias, neoplásicas y misceláneas entre las que se encuentra la osteonecrosis, la osteoporosis, la anemia y la osteoartropatía hipertrófica (120-122). Estos procesos han sido ampliamente descritos y estudiados por imagen. No hay estudios que se hayan focalizado en observar que ocurre con el contenido graso en la médula ósea en el grupo de pacientes VIH con lipodistrofia en TARGA, considerando que la médula ósea es uno de los órganos más grandes del cuerpo, y que en un adulto es un compartimento con gran contenido en grasa (el 50% es médula amarilla compuesta casi totalmente de grasa, y del otro 50% que es médula hematopoyética, un 40% es grasa) (16).

Investigaciones con  $^1\text{H-MRS}$  han mostrado una disminución del contenido graso en la médula ósea en pacientes infectados por el VIH, y la disminución era mayor en pacientes con lipodistrofia en TARGA (123-125).

En estudios histológicos de médula ósea de pacientes con el VIH y con SIDA, se han observado cambios como la fibrosis y la atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula ósea, en relación con una disminución del componente graso (24,126).

La fibrosis que es uno de los hallazgos encontrados en las biopsias de piel de pacientes infectados con lipoatrofia periférica, en donde hay una severo adelgazamiento del tejido celular subcutáneo (127), y se ha observado también en las biopsias de médula ósea en pacientes con el VIH o con SIDA (126).

La atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula ósea es otro de los hallazgos extensamente descritos en los estudios histológicos de pacientes infectados por el VIH y en diferentes estadios de SIDA, en los que hay una atrofia de las células grasas que puede acompañarse de pérdida local de células hematopoyéticas en cuadros de enfermedad severa difusa, con un depósito de sustancias gelatinosas extracelulares que corresponden a mucopolisacáridos, ricos en ácido hialurónico (24). Aunque clásicamente se describía en estados de malnutrición o caquexia extrema por distintas causas, se han observado también en grandes injertos óseos tras una quimioterapia o en áreas sometidas a quimiorradiación en sarcomas de partes blandas, en los que de forma local el componente graso de la médula ósea se ve afectado (25,27).

Pero de todas estas lesiones, sólo hay en la literatura imágenes de RM de algún caso aislado con fibrosis (121) y de únicamente un caso de transformación gelatinosa en un paciente con SIDA, sobre una lesión de necrosis de la médula ósea (128). No hay estudios histológicos ni de RM específicos que valoren estas lesiones y su significado en los pacientes con VIH y lipodistrofia.

### ***Reversibilidad y control de la lipodistrofia en pacientes VIH+***

Las nuevas líneas de investigación de control de la infección por el VIH van dirigidas hacia el desarrollo de vacunas, con resultados alentadores aunque hasta el momento no sustitutivos del tratamiento antirretroviral, por lo que seguiremos encontrando efectos secundarios por toxicidad (129-131).

No hay un tratamiento adecuado ni específico para resolver la lipodistrofia. La dieta y el ejercicio no son efectivos, aunque sean parcialmente beneficiosos. El ejercicio parece mostrarse beneficioso sobre los lípidos en sangre y la lipohipertrofia abdominal, pero no sobre la lipoatrofia periférica (132,133). Avances en el campo de la cirugía plástica y reparadora, constituyen una opción segura e inmediata, con buenos resultados a corto plazo, aunque únicamente resuelven el aspecto estético en áreas periféricas, sin resolver el acumulo de grasa visceral, ni el problema metabólico. Interrupciones estructuradas del tratamiento (134), o el uso de fármacos que intervienen sobre el metabolismo de la grasa, como los tiazolidinediones y leptina, metformina y gemfibrozil, hormona liberadora de la hormona de crecimiento y tesamorelina, y suplementación con uridina (135-138) son algunos de los tratamientos propuestos, aunque no han mostrado unos resultados totalmente satisfactorios.

El impacto de sustituir o disminuir las drogas antirretrovirales relacionadas con la toxicidad mitocondrial y la lipodistrofia ha sido objeto de varios estudios, entre los cuales la sustitución de los análogos de la timidina (principalmente la estavudina o d4T) por otros NRTI, como el tenofovir o el abacavir, ha sido la única intervención que mejora la lipoatrofia. Los NRTI como la estavudina o el d4T han demostrado una eficacia exquisita en el control de la replicación del VIH y su cambio por otros fármacos deben de mantener la eficacia virológica y asegurar un alto nivel de adherencia al tratamiento.

En el estudio RAVE del 2006 (139), y posteriormente en el estudio SWEET del 2009 (140), se confirmó a las 48 semanas del cambio en la estrategia de tratamiento un adecuado control virológico y un significativo aumento de la grasa periférica, especialmente con el tenofovir. En la extensión de un estudio a 3 años, se demostró que el uso de tenofovir se asocia claramente con una ganancia de grasa en extremidades y una mejora en los parámetros lipídicos séricos (141). En algunos estudios como el D40-30, los resultados mostraron claramente que los pacientes que bajan la dosis de d4T mejoran sus parámetros lipídicos plasmáticos (triglicéridos y colesterol) así como los signos de lipoatrofia aunque la mejoría en todo ello siempre era mucho mayor en los que cambiaban a tenofovir (118).

En los últimos años todos los estudios han sido concordantes en que el cambio de zidovudina o estavudina a abacavir o tenofovir tiene indudables beneficios tanto en la esfera de lípidos plasmáticos como de lipoatrofia periférica. No obstante, esta mejoría en la lipoatrofia es subclínica a corto-medio plazo, puesto que normalmente se controla mediante estudios

comparativos de DEXA basal y sobre las 48 semanas del cambio. Los datos a mayor largo plazo de estos estudios parecen indicar que si bien hay una gran variedad de respuesta según el paciente, la lipoatrofia puede continuar mejorando en el tiempo.







## **Hipótesis**

Los pacientes infectados por el VIH en TARGA que han desarrollado como complicación un síndrome de lipodistrofia, presentan cambios en la grasa intramiocelular y de médula ósea en relación con su lipodistrofia. La evaluación del componente graso en el sistema musculoesquelético mediante técnicas de RM, que incluyen espectroscopia por RM de protones en el músculo y valoración del patrón de señal en la médula ósea en imágenes de RM, clarificará aspectos sobre esta enfermedad.

## **Objetivos principales**

- I. Determinar si con la sustitución de análogos de la timidina por TDF en pacientes infectados por el VIH con síndrome de lipodistrofia en TARGA, la disminución de la masa magra que acontece se debe a una disminución de IMCL cuantificados mediante espectroscopia por RM de protones.
- II. Determinar la prevalencia y la semiología por imagen de los cambios en la médula ósea de los pacientes infectados por el VIH con síndrome de lipodistrofia, y si estos cambios se relacionan con el síndrome.

## **Objetivos secundarios**

- I. Determinar si hay un aumento de IMCL cuantificados mediante espectroscopia por RM de protones con respecto a sujetos sanos.
- II. Determinar la relación entre el contenido de IMCL con la alteración de distribución de la grasa y las alteraciones metabólicas, así como entre sus cambios con la sustitución de análogos de la timidina por TDF.
- III. Determinar si la alteración del patrón de médula ósea por RM se recupera con la sustitución de análogos de la timidina por TDF, y si la presencia de este patrón medular es un marcador pronóstico de respuesta a la recuperación de la distribución de la grasa con la sustitución del tratamiento.







## **Diseño del estudio**

Estudio abierto, prospectivo y de observación en el que se estudió la grasa intramiocelular mediante  $^1\text{H}$ -MRS y el patrón graso de la médula ósea periférica mediante imágenes de RM, en todos los sujetos siguiendo el mismo protocolo. En el grupo de pacientes se obtuvieron además parámetros antropométricos, de laboratorio y medidas de composición corporal. Todos los datos y mediciones fueron recogidos en el inicio del estudio y a los 6 meses en todos los sujetos, en el caso de los pacientes con la intervención de sustituir el fármaco antirretroviral TA, estavudina (d4T) o zidovudina (AZT), por tenofovir disoproxial fumarato (TDF), sin modificar el resto del tratamiento. Esta estrategia de tratamiento se aprobó como segura y efectiva desde un punto de vista virológico e inmunológico.

## **Sujetos**

Se incluyeron en el estudio un total de 30 pacientes infectados por el VIH, de ambos sexos, con lipodistrofia moderada o severa, que se definió según criterios establecidos, siguiendo la observación de los pacientes y con confirmación por dos expertos en VIH y lipodistrofia del departamento de enfermedades infecciosas del hospital Clinic de Barcelona, con más de 10 años de experiencia. El nivel de RNA del VIH en sangre era  $<200$  copias/mL. Estaban recibiendo TARGA durante más de 6 meses, que incluía entre los fármacos TA, d4T o AZT, con o sin inhibidores de la proteasa.

Se incluyó posteriormente en el estudio un grupo control con 10 sujetos sanos, hombres y mujeres, con el mismo rango de edad e índice de masa corporal (IMC). No estaban infectados por el VIH y eran sanos según la historia y el examen físico, sin presentar alteraciones metabólicas, y sin usar medicación regular.

Criterios de exclusión para ambos grupos incluían que no tuvieran signos de infección concomitante, salvo infección por el virus de la hepatitis C (VHC) en los pacientes, ni tuvieran tumores, desordenes hematológicos (de tipo deficitario, proliferativo o tumoral), dolor óseo ni enfermedad ósea.

Se informó a todos los sujetos del objetivo, naturaleza y riesgos potenciales del estudio, antes de obtener un consentimiento firmado. El protocolo y los formularios tipo de consentimiento del estudio fueron aprobados por el comité ético del Hospital Clinic de Barcelona.

## **Métodos**

### *Pruebas de laboratorio*

Se determinaron en sangre en todos los pacientes niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol lipoproteína de alta densidad (High density lipoprotein, HDL) y de baja densidad (Low density lipoproteína, LDL), lactato venoso, insulina, hemoglobina glicosilada, índice de resistencia a la insulina mediante el modelo homeostático de resistencia a la insulina

(Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance, HOMA-IR), péptido C, leptina, adiponectina, grelina, niveles de células en sangre (hematíes, leucocitos, neutrófilos, plaquetas y células CD4<sup>+</sup>) y las enzimas lactato deshidrogenasa (LDH) y fosfatasa alcalina (FA), en el inicio del estudio, a los 3 y a los 6 meses.

El nivel de glucosa en sangre se midió con el método de la glucosa hexoquinasa. El nivel de colesterol total y triglicéridos se determinaron con reactivos enzimáticos (Trinder; Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) adaptado al analizador automático Cobas Mira (Hoffmann-LaRoche, Basel, Switzerland). El nivel de colesterol-HDL se determinó con precipitación con ácido fosfotúngstico y cloruro de magnesio; el nivel de colesterol-LDL se determinó con medidas directas. La insulina se midió mediante ensayo inmunoradiométrico monoclonales (IRMA, Med-Genix Diagnostics, Fleunes, Belgium). Se cuantificaron las células T CD4<sup>+</sup> con citometría de flujo, y el nivel de RNA del VIH en sangre mediante restricción cuantitativa Amplicor PCR-transcriptasa (Roche Diagnostic System, Branchburg, NJ, USA) con un límite inferior de detección de 200 copias/ml. El índice HOMA-IR se calculó como el producto de las concentraciones de insulina en ayunas ( $\mu\text{U/mL}$ ) y la glucosa plasmática en ayunas ( $\text{mM/L}$ ), dividido por 22.5.

#### *Medidas antropométricas*

Se midieron en todos los sujetos (pacientes y controles) el peso corporal más cercano a 0.1 Kg, y el IMC (peso en kg / estatura<sup>2</sup> en metros) en el inicio del estudio y a los 6 meses.

#### *Medidas de composición corporal mediante DEXA*

Se utilizó un escáner DEXA (Lunar DPXL, Madison, Wisconsin, USA) con programa para antena de cuerpo entero (versión 8.22a: 3) y con programa para antena regional (versión 8.26f: 3) para cuantificación del componente graso y no graso o magro corporal, y la densidad de mineralización ósea en todos los pacientes en el inicio del estudio y a los 6 meses.

Se midió la composición de partes blandas corporal total y de subregiones principales (brazos, piernas, brazos+piernas, tronco y total), que comprendían datos en gramos de tejido graso y tejido no graso o magro.

El componente mineral óseo se midió como densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar (de L1 a L4) y en la región proximal del fémur en  $\text{gr/cm}^2$ . Se definió osteopenia y osteoporosis acorde con el criterio de la organización mundial de la salud (OMS) mediante una DMO t-score (comparación de la densidad mineral ósea de una persona con la máxima densidad ósea teóricamente alcanzada por la población sana del entorno, a los 30 años, que es de unos 1000-900 miligramos por centímetro cuadrado de hueso), considerando osteopenia una DMO t-score entre 1.0-2.5 desviación estándar (SD) por debajo de la media normal, y osteoporosis con una DMO t-score  $>-2.5$  SD por debajo de lo normal.

#### *Medidas de composición corporal mediante TC*

En todos los pacientes se adquirió en el momento inicial y a los 6 meses, una imagen axial del abdomen en un scanner (Somaton Plus 4, Siemens), con grosor de 10 mm, a la altura de la región media del cuerpo vertebral L4, que se localizó previa obtención de una imagen de localizador sagital de columna. La imagen se obtuvo con parámetros constantes (200 mA, 120 KV) y con un campo de visión que incluyó todas las partes blandas. Los sujetos se colocaron en el scanner en decúbito supino, entrando primero la cabeza y los brazos situados detrás de la misma. Las áreas de grasa intraabdominal (VAT) y subcutánea (SAT) se trazaron manualmente, y la cuantificación se hizo en base a las unidades Hounsfield de los píxeles con valores entre -50 y -150, con resultado de las medidas en  $\text{cm}^2$ .

#### *Cuantificación de IMCL mediante $^1\text{H-MRS}$*

##### *Adquisición de los espectros de $^1\text{H-MRS}$ en el músculo*

En todos los sujetos (pacientes y controles) se realizó un estudio de RM en un equipo de 1.5T (Symphony, versión SW VA 25, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany), al inicio del estudio y a los 6 meses.

Se posicionó al sujeto en decúbito supino sobre la mesa del equipo, y se colocó una antena de rodilla (transmisora y receptora) en la pierna derecha, orientándose paralela al campo magnético, con el límite superior de la antena situado en el límite inferior de la patela, y con inmovilización de la extremidad. Se obtuvieron localizadores en los tres planos del espacio, sobre los que se adquirieron posteriormente imágenes axiales en secuencia de SE en T1 (TR 450 ms, TE 18 ms, grosor de corte 5 mm, distancia entre cortes 0 mm, tamaño de la matriz 256x166, FOV 220 mm, 2 adquisiciones) desde el límite superior del peroné hasta la unión del tercio medio con el tercio inferior de la diáfisis tibial.

Para la obtención de la espectroscopia se utilizó un pulso de secuencia PRESS. Se colocó un vóxel sin oblicuar, de 12 x 15x 20 mm (volumen total de 3.6 mL), sobre el músculo sóleo y otro sobre el músculo tibial anterior en las imágenes axiales en SE T1 obtenidas, con cuidado de no incluir la grasa perimuscular ni vasos, a una distancia de 8 cm de la cabeza de la punta de la cabeza del peroné. Se grabaron las imágenes de localización de cada vóxel que se utilizaron como referencia en la segunda adquisición que se hicieron en todos los sujetos a los 6 meses. De cada vóxel se aplicaron dos secuencias PRESS, con un shimming automático, una con supresión del pico del agua (TR 3000 ms, TE 30 ms, 128 adquisiciones, 1024 puntos de datos, amplitud de banda de recepción de 1200 kHz, y amplitud de banda del agua de 60 kHz), y otra sin supresión del pico del agua (adquisiciones 60, con resto de parámetros iguales al previo) que sirvió como referencia interna para el procesamiento. Los datos originales se grabaron en CDs como archivos con extensión numérica para el análisis de la espectroscopia.



### *Procesado de los espectros de <sup>1</sup>H-MRS de músculo*

Los datos originales obtenidos de los estudios de MRS se procesaron en el programa LCModel (versión 6.2-1L; S. Provencher, PhD, Oakville, Ontario, Canada), en una estación de trabajo con sistema Linux (Red Hat Enterprise Linux 4). Se utilizó una aplicación automática adaptada para la valoración de lípidos musculares obtenidos en RM de 1.5 T Siemens, para ello en control de parámetros se seleccionó el tipo de RM y posteriormente la entrada SPTYPE="muscle-1", PPMST=3.7 y PPMEND=-2.0. En el menú "Advanced Settings" y posteriormente en "control de parámetros" se seleccionó "eddy current correction" y "water scaling". Se obtuvo la concentración absoluta de metabolitos en mM o IU en referencia con respecto al agua.

Una vez realizados los ajustes de parámetros se aplicó el procesado, seleccionando primero los datos de la espectroscopia obtenida con supresión del pico del agua, y posteriormente la obtenida sin supresión del pico del agua. De todos los valores obtenidos se consideró únicamente en el análisis la concentración de IMCL13 (mM de grupos -CH<sub>2</sub> en la posición 1.3 ppm). No se consideraron los valores de EMCL15 en el análisis de los cambios a los 6 meses, por la heterogeneidad de distribución en el músculo, únicamente en el inicio del estudio para valorar las diferencias con respecto a los IMCL y entre músculos. Aunque no es necesario considerar el porcentaje (%) de desviación estándar (standard deviation, SD) por ser modelos empíricos restringidos, al observar en los casos con un alto %SD valores muy bajos del metabolito correspondiente, se desestimó los valores con un %SD>20, criterio que se aplica en las espectroscopias de tejido cerebral.

### *Valoración del patrón medular óseo*

En todos los sujetos (pacientes y controles) se evaluó el patrón medular óseo en un equipo de RM de 1.5T (Symphony, versión SW VA 25, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany). En los casos con patrón medular alterado se estudió específicamente este patrón en este equipo de 1.5T o en un equipo de 3T (Trio Tim, version VP15, Siemens Medical Systems), en una cámara híbrida de SPECT/CT (Infinia Hawkeye 4, GE, Milwaukee, USA) y se realizó una seriada ósea esquelética en un aparato de Rx digital (Axiom Multix, Siemens Medical Systems).

### *Estudios de RM para valoración del patrón medular*

En todos los sujetos (pacientes y controles) se evaluó el patrón medular óseo en las imágenes axiales de SE potenciadas en T1 de los 2/3 superiores de la pierna derecha obtenidas del estudio de <sup>1</sup>H-MRS del músculo en el equipo de 1.5T (TR 450 ms, TE 18 ms, grosor de corte 5 mm, distancia entre cortes 0 mm, tamaño de la matriz 256x166, FOV 220 mm, 2 adquisiciones).

El patrón óseo se estudió por dos radiólogos especialistas en musculoesquelético, y se consensuaron los resultados. Este patrón se clasificó acorde a 3 patrones de RM en imágenes de SE T1 propuestos previamente (16): 1) focos de baja señal (similar a la señal de los músculos o

del líquido), 2) patrón de señal intermedia focal o difusa (similar a la señal de la médula ósea hematopoyética) y 3) señal de alta intensidad, característica de la médula grasa normal. Esta valoración se obtuvo en todos los sujetos en el momento basal y a los 6 meses.

#### *Estudios de RM en sujetos con alteración del patrón medular.*

Los sujetos con alteración del patrón medular tipo 1 (focos de baja señal en las imágenes de SE potenciadas en T1), se estudiaron en el equipo de 1.5T (Symphony, versión SW VA 25, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany) o en un imán de 3T (Trio Tim, versión VP15, Siemens Medical Systems) en el momento basal.

- Para estudiar el tipo de patrón por RM de las lesiones, se obtuvieron imágenes axiales y coronales FSE potenciadas en T2 con saturación de la grasa (TR 3500-4300 ms, TE 84-100 ms, grosor de corte 3.5-6 mm, distancia entre cortes 1 mm, 2 adquisiciones) y de SE potenciadas en T1 con saturación de la grasa (TR 380-420 ms, TE 10-16 ms, grosor de corte 3.5-6 mm, distancia entre cortes 1 mm, 1 adquisición) antes y después de la administración intravenosa de 0.1 mmol/kg de gadopentetato de dimeglumina.
- Para valorar la distribución de las lesiones se realizó un estudio de RM corporal total, y se obtuvieron imágenes coronales de SE potenciadas en T1 (TR 500 ms, TE 10 ms, grosor de corte 5 mm, distancia entre cortes 0 mm, 1 adquisición) y STIR (TR 5500-8000 ms, TE 70-104 ms, tiempo de inversión 10-200, grosor de corte 5 mm, distancia entre cortes 0 mm, 1 adquisición).

#### *Estudios de SPECT-CT en sujetos con alteración del patrón medular*

En los sujetos con alteración del patrón medular tipo 1 (focos de baja señal), se realizó un estudio corporal total de SPECT (matriz 128 x 128, 120 frames, 15 s/frame) y baja dosis de TC (matriz 512 x 512, 140 kV and 2.5 mAs) en una cámara híbrida de SPECT/TC (Infinia Hawkeye 4, GE, Milwaukee, USA) después de la inyección intravenosa de 925 MBq de hydroxymethylene difosfonato de Tecnecio 99m (Tc-99m HMDP), en el momento basal para descartar procesos infecciosos, inflamatorios o tumorales, y valorar la estructura ósea. Las imágenes que se obtuvieron se procesaron y corrigieron para la atenuación y dispersión, y las correspondientes imágenes de SPECT y los cortes de 4.5 mm de TC se generaron en una estación de trabajo Xeleris (General Electric). Las imágenes se fusionaron con el software de la estación de trabajo y se analizaron usando una nueva segmentación de dos dimensiones en planos axial, coronal y sagital.

#### *Seriada esquelética en sujetos con alteración del patrón medular*

En los sujetos con patrón medular tipo 1 (focos de baja señal), se realizó un estudio radiológico de todo el esqueleto, en un aparato de Rx digital (Axiom Multix, modalidad AXD, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany), en el momento basal. Se valoraron las imágenes por dos radiólogos especialistas en musculoesquelético y se analizó la estructura ósea:

- Evidencia de lesiones líticas, esclerosas o mixtas
- Evidencia de reacción perióstica
- Evidencia de rarefacción o lisis cortical
- Evidencia de anomalía de la morfología ósea.

**Tabla 4.** Esquema de los métodos de valoración realizados en pacientes y controles basalmente y a los 6 meses.

| PRUEBAS                    | PACIENTES VIH+ CON LIPODISTROFIA |                              | CONTROLES                    |                              |
|----------------------------|----------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                            | Basal                            | 6 meses                      | Basal                        | 6 meses                      |
| Laboratorio                | Celular y metabólico             | Celular y metabólico *       |                              |                              |
| Antropométricas            | Peso, IMC                        | Peso, IMC                    | Peso, IMC                    | Peso, IMC                    |
| DEXA                       | masa grasa/masa magra<br>DMO     | masa grasa/masa magra<br>DMO |                              |                              |
| TC                         | VAT y SAT                        | VAT y SAT                    |                              |                              |
| <sup>1</sup> H-MRS músculo | IMCL sóleo y tibial anterior     | IMCL sóleo y tibial anterior | IMCL sóleo y tibial anterior | IMCL sóleo y tibial anterior |
| RM imágenes en T1          | patrón medular                   | patrón medular               | patrón medular               | patrón medular               |
| RM estudio lesiones        | casos con lesión focal           |                              | casos con lesión focal       |                              |
| RM corporal total          | casos con lesión focal           |                              | casos con lesión focal       |                              |
| SPECT-TC                   | casos con lesión focal           |                              | casos con lesión focal       |                              |
| Seriada esquelética        | casos con lesión focal           |                              | casos con lesión focal       |                              |

\* Valoración a los 3 y 6 meses

#### Análisis estadístico

##### Análisis descriptivo

- Las características cuantitativas son descritas con medias y rangos intercuartiles, y las cualitativas con frecuencias y porcentajes.
- Los porcentajes de cambio en el tiempo en las variables continuas son definidas como la diferencia entre el valor a los 6 meses y el valor basal, ajustado con respecto al último.
- En la valoración de los patrones medulares, se muestran los cambios absolutos y en porcentaje, con medianas y rangos intercuartiles.

##### Análisis estadístico

- Los cambios desde el momento inicial en los pacientes (para todos los pacientes y subgrupos de pacientes) y controles se valoraron con el test de Willcoxon.
- Las correlaciones numéricas entre diferentes variables continuas se valoraron mediante el coeficiente de correlación de Spearman.
- La concordancia de cambios dicotómicos se valoraron con Kappa.
- Las relaciones entre patrón medular óseo y resto de variables, se analizaron con todos los datos de cada variable y en el caso de las variables contiguas también con sus valores agrupados en terciles, mediante el test de Mann-Whitney y el test exacto de Fisher.
- Las comparaciones de los resultados de <sup>1</sup>H-MRS entre pacientes, grupos de pacientes y controles se valoraron con el test de U-Mann Whitney.

Se consideraron los valores de P bilateral, con nivel de significación de 0.05.





## Sujetos

De los 30 pacientes iniciales incluidos en el proyecto, uno en tratamiento con d4T e infectado por el VHC dejó el estudio al inicio. Los 29 pacientes finalmente incluidos, 22 hombres y 7 mujeres, tenían una media de edad de 46 años, una desviación típica de  $\pm 8$  años, y un rango entre 36 y 64 años. Entre los fármacos TA incluidos en el TARGA, 13 de los pacientes estaban con d4T y 16 con AZT, y en 11 pacientes estaba incluido un inhibidor de la proteasa. Doce de los pacientes estaban infectados por el VHC. Uno de los pacientes no aceptó realizarse las exploraciones de RM, y otro empeoró clínicamente a lo largo del estudio y no pudo completarse la recogida de datos a los 6 meses (Tabla 5).

El grupo control de 10 sujetos sanos, 6 hombres y 4 mujeres, presentaban una media de edad de 41.4 años, una desviación típica de  $\pm 7.4$  años, y un rango de edad entre los 35 y 58 años.

**Tabla 5.** Características de los 29 pacientes del estudio considerando el tipo de análogo de la timidina incluido en el tratamiento al inicio.

| DATOS DEMOGRÁFICOS         |                     | PACIENTES VIH    |                 |                 |
|----------------------------|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                            |                     | d4T              | AZT             | TODOS           |
| SEXO                       | HOMBRES             | 10<br>76,9%      | 12<br>75,0%     | 22<br>75,9%     |
|                            | MUJERES             | 3<br>23,1%       | 4<br>25,0%      | 7<br>24,1%      |
| EDAD                       | Media años $\pm$ SD | 47 $\pm$ 8       | 46 $\pm$ 8      | 46 $\pm$ 8      |
| MODELO                     | HOMOSEXUAL          | 6<br>46,2%       | 11<br>68,8%     | 17<br>58,6%     |
|                            | DROGADICTO          | 4<br>30,8%       | 2<br>12,5%      | 6<br>20,7%      |
|                            | HETEROSEXUAL        | 3<br>23,1%       | 3<br>18,8%      | 6<br>20,7%      |
| VHC                        | NO                  | 6<br>46,2%       | 12<br>75,0%     | 18<br>62,1%     |
|                            | SI                  | 7<br>53,8%       | 4<br>25,0%      | 11<br>37,9%     |
| TIEMPO VIH                 | Media años $\pm$ SD | 11,35 $\pm$ 2,76 | 8,89 $\pm$ 3,52 | 9,99 $\pm$ 3,38 |
| TIEMPO TTO                 | Media años $\pm$ SD | 10,5 $\pm$ 2,27  | 8,18 $\pm$ 3,08 | 9,17 $\pm$ 2,95 |
| TIEMPO TARGA               | Media años $\pm$ SD | 9,53 $\pm$ 1,36  | 7,24 $\pm$ 2,7  | 8,27 $\pm$ 2,45 |
| INHIBIDORES DE LA PROTEASA | NO                  | 3<br>23,1%       | 15<br>93,8%     | 18<br>62,1%     |
|                            | SI                  | 10<br>76,9%      | 1<br>6,3%       | 11<br>37,9%     |

La edad no difirió significativamente entre los grupos de pacientes según tratamiento y sexo, ni entre pacientes y controles ( $P > 0.05$ ). Tampoco hubo diferencias significativas entre los grupos de pacientes según el modelo de infección del VIH ni si había infección por el VHC ( $P > 0.05$ ).

El grupo en tratamiento inicial con d4T presentaba de forma significativa más tiempo de infección con el VIH ( $P = 0.016$ ), más tiempo de tratamiento ( $P = 0.023$ ), más tiempo con TARGA ( $P = 0.004$ ), y más individuos en tratamiento con un inhibidor de la proteasa ( $P = 0.000$ ) que el grupo en tratamiento con AZT. No hubo diferencias significativas en estas variables entre hombres y mujeres ( $P > 0.05$ ).

## Composición corporal

### En el inicio

Entre pacientes y controles, y agrupados por sexos, no hubo diferencias significativas en el peso ni en el IMC basalmente ( $P > 0.05$ ) (Tabla 6).

**Tabla 6.** IMC basalmente en todos los pacientes y controles y agrupados según sexo

| IMC Pacientes | N  | Mediana [25;75]  | IMC Controles | N  | Mediana [25;75]    | Valor P |
|---------------|----|------------------|---------------|----|--------------------|---------|
| Todos         | 28 | 23 [21.95;26.37] | Todos         | 10 | 21.85 [19.9;23.42] | 0.069   |
| Hombres       | 21 | 23 [22.25;25.6]  | Hombres       | 6  | 22.9 [21.65;24.47] | 0.50    |
| Mujeres       | 7  | 23 [20;27.4]     | Mujeres       | 4  | 20 [17.05;21.52]   | 0.11    |

Entre los grupos de pacientes según el tipo de tratamiento inicial no se observaron diferencias significativas de la composición corporal ( $P > 0.05$ ).

Entre los grupos de pacientes según sexo, las mujeres presentaban un significativo mayor componente de grasa en brazo ( $P=0.037$ ), pierna ( $P=0.024$ ), brazo+pierna ( $P=0.001$ ) y total ( $P=0.037$ ), y de SAT ( $P=0.008$ ), y menos masa magra en brazo ( $P=0.000$ ), pierna ( $P=0.000$ ), brazo+pierna ( $P=0.000$ ), tronco ( $P=0.000$ ) y total ( $P=0.000$ ) que los hombres.

### A los 6 meses

La masa grasa aumentó y la masa magra disminuyó significativamente en los pacientes en el estudio con DEXA. El aumento de la grasa fue significativa en brazos+piernas, tronco y total, y la disminución de la masa magra fue significativa en piernas. Estos cambios fueron especialmente intensos para el grupo en tratamiento con AZT, que presentó cambios significativos en más áreas (grasa en brazos, brazos+piernas, tronco y total, y masa magra en piernas, brazos+piernas y total) que el grupo en d4T que sólo mostró significación en la disminución de la masa magra en piernas y total (Figuras 12 y 13, Tabla 7).

La densidad mineral ósea en columna y fémur disminuyó significativamente en el grupo en tratamiento con d4T y para el global de los pacientes, y la densidad mineral global disminuyó significativamente en el grupo en tratamiento con AZT (Figuras 12 y 14, Tabla 7). En el inicio del estudio 14 de los 29 pacientes (48.27%) presentaban criterios de osteoporosis según la escala t-score. A los 6 meses, 13 de un total de 27 pacientes (48.14%) mostraban osteoporosis, sólo uno de ellos no osteoporótico al inicio mostró criterios de osteoporosis con el cambio de tratamiento.

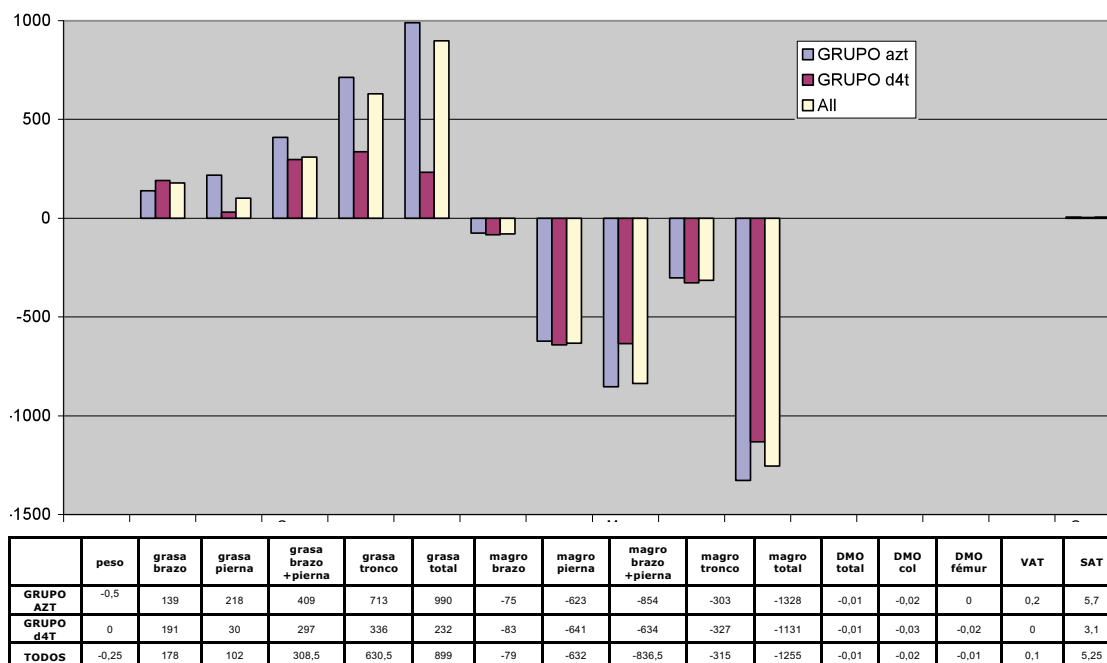
El resto de variables (resto de compartimentos grasos y magros, peso, SAT y VAT), no mostraron cambios significativos a los 6 meses del cambio de estrategia de tratamiento ( $P > 0.05$ ).

Entre los grupos según el tratamiento al inicio, no hubo diferencias significativas de los cambios corporales ( $P > 0.05$ ). Entre los grupos de pacientes por sexo, únicamente hubo diferencias significativas en los cambios de la SAT, que en hombres la mediana aumentó y en mujeres no se modificó (mediana de las diferencias en hombres 9.2, mujeres 0.0,  $P = 0.036$ ) (Figura 15).

**Tabla 7.** Valores de significación de las variables que mostraron cambios significativos ( $P < 0.05$ ) a los 6 meses en el grupo global de pacientes y según grupo de tratamiento inicial.

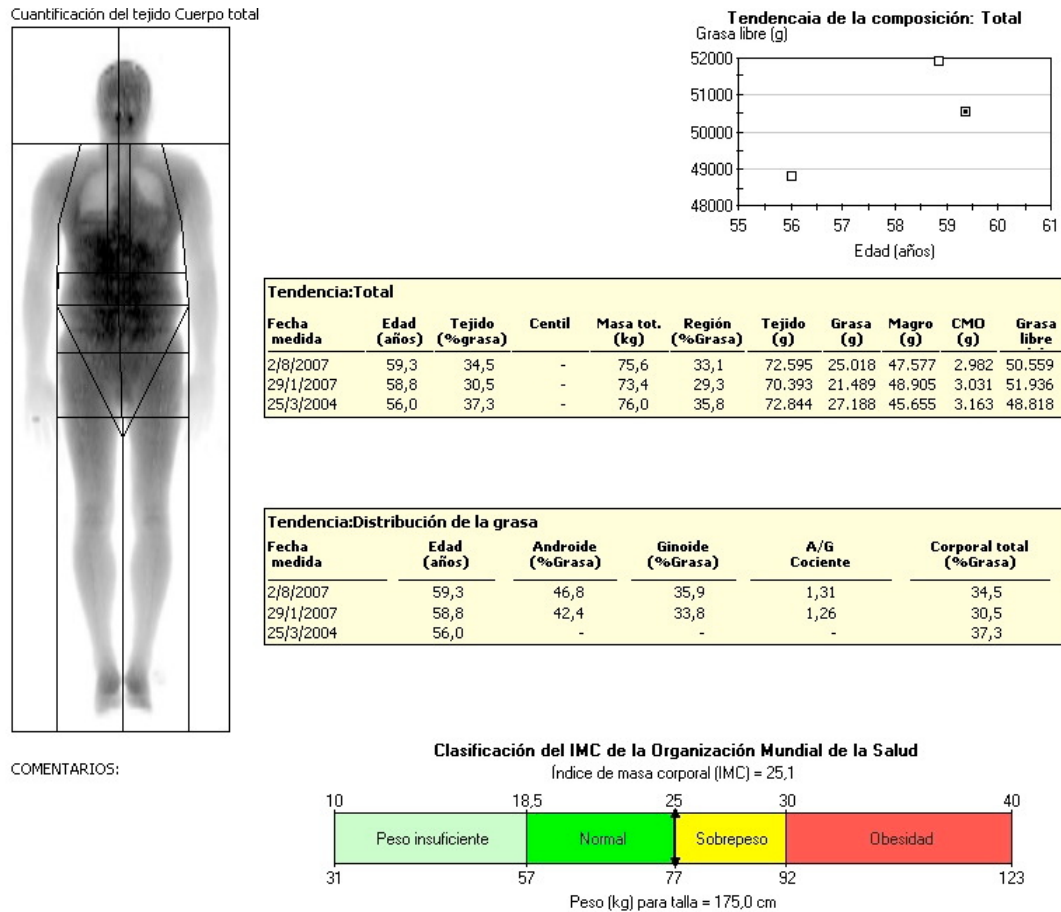
| Text de Wilcoxon Variable | AZT Valor P | d4T Valor P | Global Valor P |
|---------------------------|-------------|-------------|----------------|
| Grasa brazos              | 0.00061     |             |                |
| Grasa tronco              | 0.04187     |             | 0.01041        |
| Grasa total               | 0.02454     |             | 0.00744        |
| Magro piernas             | 0.001221    | 0.047852    | 0.000070       |
| Magro tronco              |             |             | 0.04380        |
| Magro total               | 0.047852    | 0.008545    | 0.000497       |
| DMO                       | 0.04358     |             |                |
| DMO Columna               |             | 0.02783     | 0.01116        |
| DMO Fémur                 |             | 0.02539     | 0.01225        |
| Grasa brazos y piernas    | 0.01343     |             | 0.00846        |
| Magro brazos y piernas    | 0.010742    |             | 0.000718       |

**Figura 12.** Medianas de los cambios del peso y de los valores de composición corporal (medidos en DEXA y TC), a los 6 meses de la sustitución del tratamiento, en todos los pacientes y en los grupos de pacientes según el tratamiento al inicio.

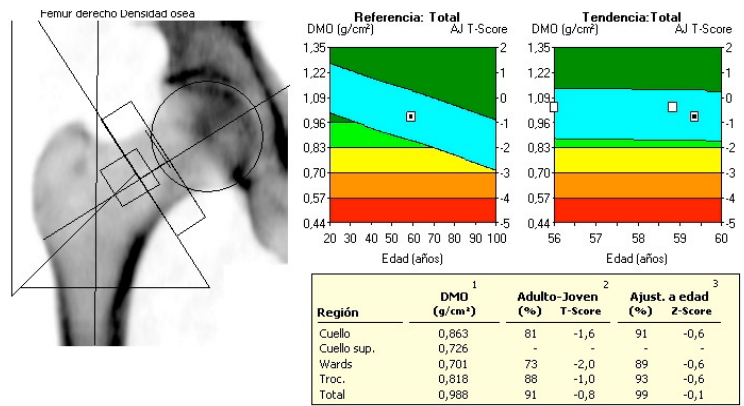




**Figura 13.** Resultados de la cuantificación del componente corporal por DEXA en un paciente varón de 58 años, 3 años en TARGA que incluía AZT. Al inicio de nuestro estudio (29/1/2007) se observa una disminución del componente graso y aumento del magro con respecto al momento en que se inició el tratamiento (25/3/2004). A los 6 meses del cambio de tratamiento (2/8/2007), hay una recuperación de ambos compartimentos. El peso y el IMC no se modificó en estos periodos.



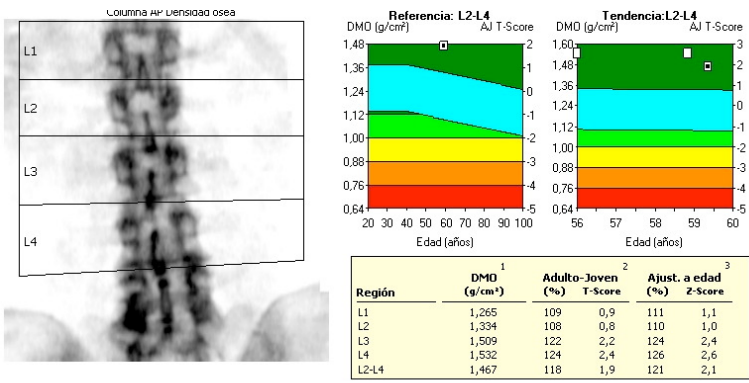
**Figura 14.** Resultados de la cuantificación de la densidad mineral ósea por DEXA en el mismo paciente varón de 58 años de la figura 13, 3 años en TARGA que incluía AZT. Al inicio de nuestro estudio (29/1/2007) se observa una disminución de la densidad mineral ósea en fémur y columna con respecto a cuando se inició el tratamiento (25/3/2004). A los 6 meses de cambiar el AZT por TDF (2/8/2007), se observa una nueva disminución de la densidad mineral ósea.



Resultados de gráfico HAL no disponibles

DS:

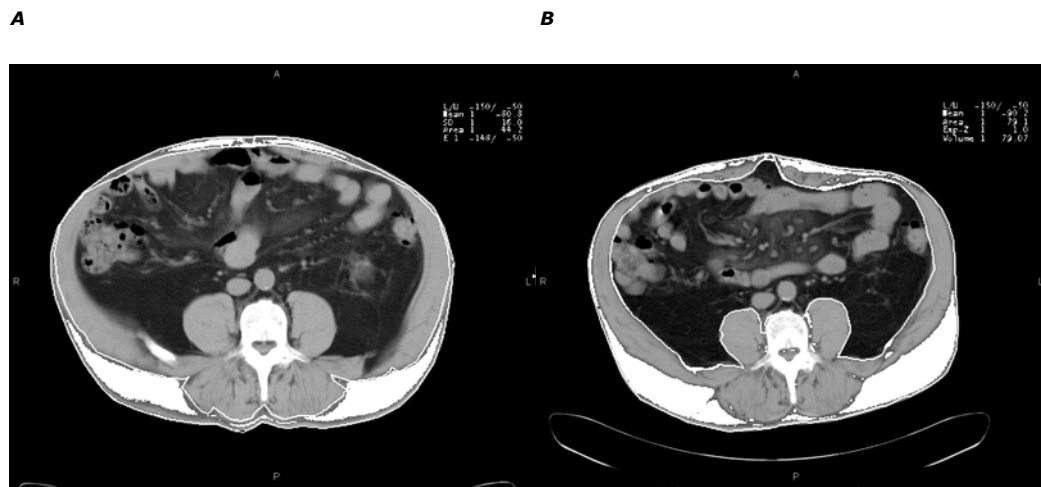
| Medido Fecha | Edad (años) | Tendencia:Total  |                   |                                 |
|--------------|-------------|------------------|-------------------|---------------------------------|
|              |             | 1<br>DMO (g/cm³) | 2<br>Anterior (%) | 3<br>Cambiar a Anterior (g/cm³) |
| 2/8/2007     | 59,3        | 0,988            | -4,9              | -0,051                          |
| 29/1/2007    | 58,8        | 1,040            | -0,2              | -0,002                          |
| 25/3/2004    | 56,0        | 1,042            | -                 | -                               |



COMENTARIOS:

| Medido Fecha | Edad (años) | Tendencia:L2-L4  |                   |                                 |
|--------------|-------------|------------------|-------------------|---------------------------------|
|              |             | 1<br>DMO (g/cm³) | 2<br>Anterior (%) | 3<br>Cambiar a Anterior (g/cm³) |
| 2/8/2007     | 59,3        | 1,467            | -5,1              | -0,078                          |
| 29/1/2007    | 58,8        | 1,545            | -0,1              | -0,001                          |
| 25/3/2004    | 56,0        | 1,546            | -                 | -                               |

**Figura 15.** Resultados de los cambios en el SAT en la imagen de TC obtenida a nivel de L4, en un paciente varón de 57 años en TARGA durante 6 años, que incluía d4T. **A**, medición en basal con un área del SAT de 44.2 cm<sup>2</sup> y **B**, medición a los 6 meses del cambio a TDF, hay un aumento del valor del área del SAT a 79.1 cm<sup>2</sup>.



## Pruebas de laboratorio

### En el inicio

La hemoglobina glicosilada fue significativamente diferente entre los grupos de tratamiento, con una media mayor en el grupo d4T ( $P=0.036$ ).

Los hombres en el inicio tenían niveles significativamente menores de media de colesterol-HDL ( $P=0.035$ ), adiponectina ( $P=0.05$ ), leptina ( $P=0.000$ ) y grelina ( $P=0.020$ ) que las mujeres.

### A los 6 meses

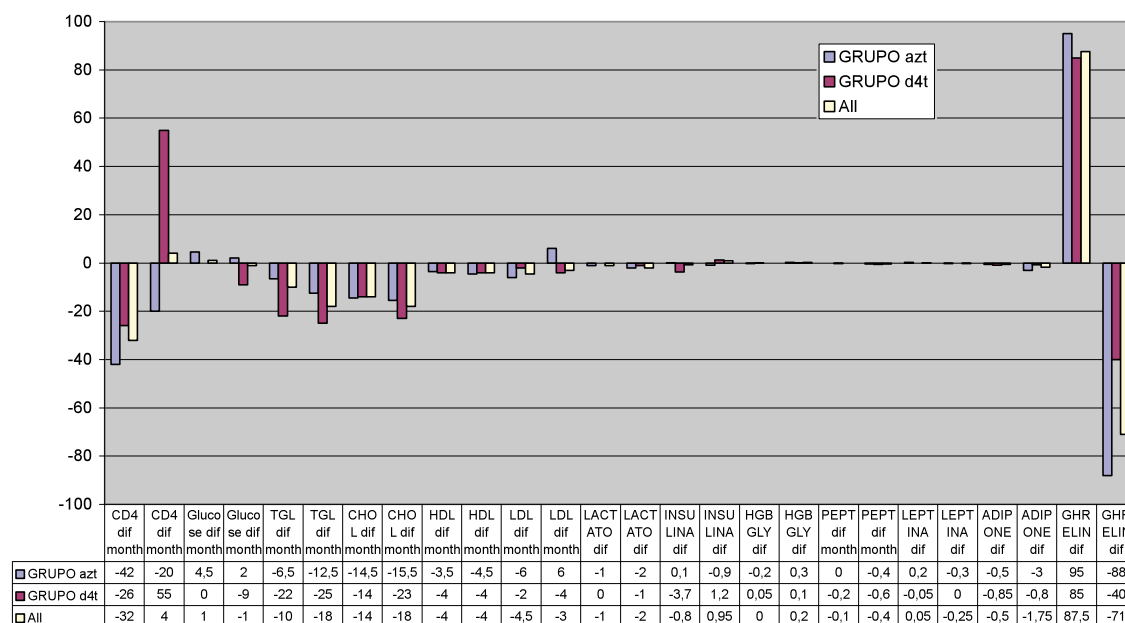
El nivel triglicéridos, colesterol total y colesterol-HDL en sangre disminuyeron significativamente en todo el grupo de pacientes a los 3 y 6 meses. En el grupo en tratamiento inicial con d4T la disminución fue significativa a los 3 meses para los triglicéridos y colesterol total, y para el grupo AZT fue significativa a los 3 y 6 meses para el colesterol total, y a los 6 meses para el colesterol-HDL (Figura 16, Tabla 8).

El nivel de adiponectina disminuyó significativamente a los 6 meses en todo el grupo de pacientes y para el grupo en tratamiento con AZT (Figura 16, Tabla 8).

No hubo cambios significativos en los niveles de CD4, colesterol-LDL, glucosa, insulina, hemoglobina glicosilada, HOMA-IR, lactato, péptido C, leptina ni grelina ( $P>0.05$ ).

Entre hombres y mujeres y entre los grupos según el tratamiento al inicio, no hubo diferencias significativas en los cambios de los parámetros de laboratorio a los 6 meses ( $P>0.05$ ).

**Figura 16.** Medianas de las diferencias en las pruebas de laboratorio en los pacientes, a los 3 y 6 meses del cambio de tratamiento con respecto al inicio.



Datos de las diferencias para cada variable: primera columna diferencia a los 3 meses respecto al basal, segunda columna diferencia a los 6 meses respecto al basal.

**Tabla 8.** Variables de laboratorio que mostraron cambios significativos (P<0.05) a los 3 y 6 meses en el grupo global de pacientes y según grupos de tratamiento al inicio.

| Text de Wilcoxon Variables | GRUPO | valor P |
|----------------------------|-------|---------|
| Triglicérido 3m            | azt   |         |
| Triglicérido 3m            | d4t   | 0.03125 |
| Triglicérido 3m            | total | 0.04955 |
| Triglicérido 6m            | azt   |         |
| Triglicérido 6m            | d4t   |         |
| Triglicérido 6m            | total | 0.02537 |
| Colesterol T 3m            | azt   | 0.00797 |
| Colesterol T 3m            | d4t   | 0.03442 |
| Colesterol T 3m            | total | 0.00043 |
| Colesterol T 6m            | azt   | 0.03848 |
| Colesterol T 6m            | d4t   |         |
| Colesterol T 6m            | total | 0.00308 |
| C-HDL 3m                   | azt   |         |
| C-HDL 3m                   | d4t   |         |
| C-HDL 3m                   | total | 0.01312 |
| C-HDL 6m                   | azt   | 0.01520 |
| C-HDL 6m                   | d4t   |         |
| C-HDL 6m                   | total | 0.00223 |
| Adiponectina 6m            | azt   | 0.01892 |
| Adiponectina 6m            | d4t   |         |
| Adiponectina 6m            | total | 0.00216 |

### **Cambios en la composición corporal y las pruebas de laboratorio**

A los 6 meses del cambio de la estrategia de tratamiento, los cambios en la SAT se relacionaron inversamente con los de los triglicéridos y positivamente con los del colesterol-HDL y colesterol-LDL.

Los cambios de la grasa del brazo y del tronco se relacionaron positivamente con los del colesterol-HDL y el colesterol-LDL, respectivamente.

Los cambios en la VAT se relacionaron positivamente con los del colesterol-HDL, la insulina, la hemoglobina glicosilada y el HOMA-IR.

**Tabla 9.** Relación significativa ( $P < 0.05$ ) de cambios a los 6 meses entre medidas de composición corporal y pruebas de laboratorio en todos los pacientes.

| Coef. correlacion Spearman<br>Prob >  r  con H0: Rho=0<br>Número de Observaciones | Triglicéridos            | Colesterol-HDL          | Colesterol-LDL          | Insulina                | Hemoglobina Glicosilada | HOMA-IR                 |
|---|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Grasa Subcutánea (SAT)  | -0.45417<br>0.0198<br>26 | 0.39116<br>0.0482<br>26 | 0.46893<br>0.0277<br>22 |                         |                         |                         |
| Grasa Tronco (DEXA)   |                          |                         | 0.40940<br>0.0470<br>24 |                         |                         |                         |
| Grasa Brazo (DEXA)  |                          | 0.45951<br>0.0139<br>28 |                         |                         |                         |                         |
| Grasa Visceral (VAT)  |                          | 0.53925<br>0.0045<br>26 |                         | 0.43631<br>0.0259<br>26 | 0.41363<br>0.0357<br>26 | 0.40930<br>0.0379<br>26 |

## Valoración muscular en <sup>1</sup>H-MRS

### Triglicéridos en músculo

El músculo sóleo presentó niveles significativamente mayores de IMCL y de EMCL que el músculo tibial anterior, y el nivel de EMCL fue significativamente mayor que el de IMCL para ambos músculos en todos los individuos ( $P < 0.001$ ) (Tabla 10).

**Tabla 10.** Concentración de IMCL y EMCL en ambos músculos en pacientes y controles al inicio del estudio, con niveles de significación de diferencias entre músculos y entre triglicéridos.

| Pacientes al inicio | N  | Mediana [25;75]       | Valor P | Controles al inicio | N  | Mediana [25;75]       | Valor P |
|---------------------|----|-----------------------|---------|---------------------|----|-----------------------|---------|
| Sóleo IMCL          | 28 | 532,8 [332,46;786,98] | 0.000   | Sóleo IMCL          | 10 | 344,4 [279,60;703,90] | 0.000   |
| Sóleo EMCL          | 28 | 1215 [731,57;2105]    |         | Sóleo EMCL          | 10 | 1450 [1070;2160]      |         |
| Tibial a IMCL       | 25 | 108 [80,60;169,27]    | 0.000   | Tibial a IMCL       | 10 | 70,9 [49,59;136,63]   | 0.000   |
| Tibial a EMCL       | 28 | 447 [265,06;796,23]   |         | Tibial a EMCL       | 10 | 404,7 [270,50;650,46] |         |
| Sóleo/Tibial a IMCL |    |                       | 0.000   | Sóleo/Tibial a IMCL |    |                       | 0.000   |
| Sóleo/Tibial a EMCL |    |                       | 0.000   | Sóleo/Tibial a EMCL |    |                       | 0.000   |

Datos presentados como medianas y percentiles [P25;P75]

### IMCL en el inicio

Los pacientes en el inicio del estudio presentaron niveles más elevados de IMCL que los controles, para ambos músculos, en todos los pacientes y en cada grupo por tratamiento y sexo, aunque la diferencia no fue significativa ( $P > 0.05$ ) (Tabla 11, Figuras 17 y 18). El porcentaje de incremento de la mediana de IMCL en los pacientes con respecto a los controles en el músculo sóleo era de un 54,7% y para el músculo tibial anterior de un 52,32%.

Se encontraron diferencias significativas de los niveles de IMCL en el tibial anterior entre los hombres tratados con d4T y los controles ( $P = 0.042$ ), así como entre los hombres tratados con d4T y los tratados con AZT ( $P = 0.043$ ), con porcentaje de incremento respecto a los controles del 107,88% para el grupo d4T y del 42,44% para el grupo AZT (Tabla 11, Figura 17). No hubo diferencias significativas entre hombres y mujeres ( $P > 0.05$ ).

### IMCL a los 6 meses

El global de pacientes y los grupos según tratamiento al inicio mostraron una disminución de los valores de la mediana de IMCL con el cambio de estrategia de tratamiento, para ambos músculos, aunque sin significación estadística ( $P > 0.05$ ) (Tabla 11, Figura 19A).

Según sexo, los hombres en tratamiento inicial con AZT mostraron una disminución significativa de IMCL en el músculo sóleo (mediana de las diferencias a los 6 meses -166.19,  $P = 0.037$ ) y en el músculo tibial anterior (mediana de las diferencias a los 6 meses -37.09,  $P = 0.023$ ), con un porcentaje de diferencia de las medianas en cada músculo del -29.59% y del -36.72%, respectivamente. Hubo diferencias significativas de los cambios en el músculo sóleo a los 6

meses entre el grupo de hombres tratados con AZT y el tratado con d4T (mediana de las diferencias a los 6 meses AZT -166.19, d4T 16.9, P=0.043) (Tabla 11, Figuras 19B y 20).

El grupo de hombres en tratamiento previo con d4T, mujeres y los controles mostraron cambios en los IMCL en el sóleo y en el tibial anterior a los 6 meses con respecto al basal, aunque no fueron significativos (P>0.05) (Tabla 11, Figura 19B).

Entre pacientes y controles, se encontró una diferencia significativa de los cambios de IMCL a los 6 meses en el músculo tibial anterior para todos los pacientes (mediana de las diferencias pacientes -27.2, controles 21.3, P=0.034) y para el grupo en tratamiento inicial con AZT (mediana de las diferencias AZT -24.6, controles 21.3, P=0.025), sin diferencias entre el resto de grupos (P>0.05) (Figura 19A, Tabla 11).

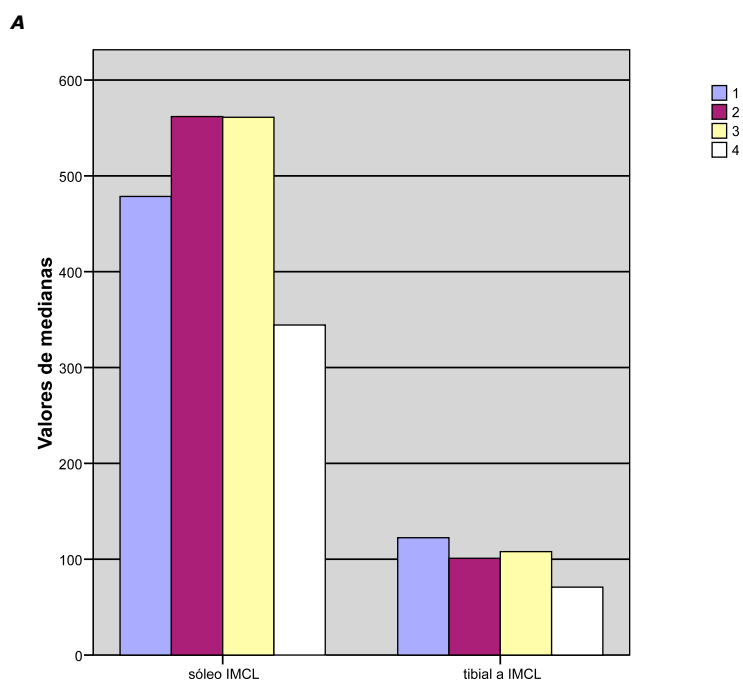
No hubo diferencias significativas de cambios agrupando a los pacientes según la inclusión o no en el tratamiento un inhibidor de la proteasa, si había infección por el VHC, ni según el modelo de infección del VIH (P>0.05). No se encontró una relación significativa del cambio de IMCL en dependencia del tiempo de infección con el VIH, tiempo de tratamiento, ni tiempo en TARGA (P>0.05).

**Tabla 11.** Valores de medianas de la concentración de IMCL basalmente y a los 6 meses, diferencias de las medianas a los 6 meses respecto al inicio y niveles de significación, de todos los controles y pacientes, y subgrupos de pacientes por tratamiento y sexo.

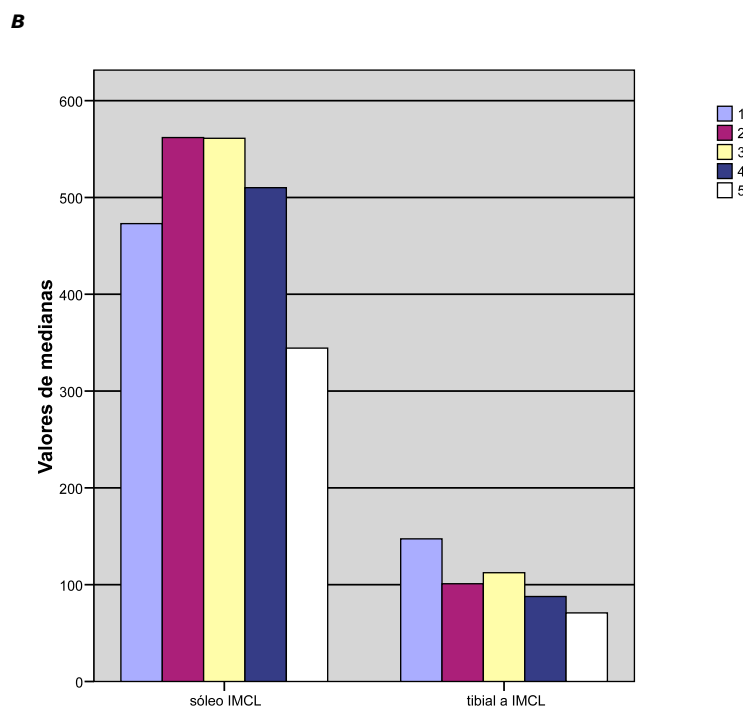
| Músculos y grupos de sujetos |                         | N mes 0 | N mes 6 | mediana mes 0 | mediana mes 6 | mediana diferencia mes 6 - mes 0 | P diferencia 0-6 |
|------------------------------|-------------------------|---------|---------|---------------|---------------|----------------------------------|------------------|
| Sóleo IMCL                   | Controles               | 10      | 9       | 344,4         | 389,8         | -11,6                            | 0,594            |
|                              | Todos pacientes         | 28      | 26      | 532,8         | 460,8         | -70,9                            | 0,141            |
|                              | Grupo d4T               | 12      | 12      | 478,5         | 557,1         | -47,8                            | 0,969            |
|                              | Grupo AZT               | 16      | 14      | 561,5         | 436,8         | -136,5                           | 0,064            |
|                              | P AZT y d4T             |         |         | 0,816         | 0,504         | 0,165                            |                  |
|                              | P pacientes y controles |         |         | 0,317         | 0,239         | 0,97                             |                  |
|                              | P d4T y controles       |         |         | 0,533         | 0,227         | 0,522                            |                  |
|                              | P AZT y controles       |         |         | 0,246         | 0,345         | 0,614                            |                  |
|                              | Hombres                 | 22      | 20      | 532,8         | 480,9         | -113,7                           | 0,168            |
|                              | Hombres en d4T          | 10      | 10      | 473,0         | 557,1         | 16,9                             | 0,789            |
|                              | Hombres en AZT          | 12      | 10      | 561,5         | 460,8         | -166,2                           | 0,037            |
|                              | Mujeres                 | 6       | 6       | 510,1         | 428,9         | -2,6                             | 0,688            |
|                              | P hombres y mujeres     |         |         | 1,000         | 0,929         | 0,457                            |                  |
| P hombres AZT y d4T          |                         |         | 0,539   | 0,529         | 0,043         |                                  |                  |
| Tibial a IMCL                | Controles               | 10      | 10      | 70,9          | 124,6         | 21,3                             | 0,074            |
|                              | Todos pacientes         | 25      | 26      | 108           | 94,2          | -27,2                            | 0,407            |
|                              | Grupo d4T               | 12      | 12      | 122,5         | 111,5         | -27,7                            | 0,937            |
|                              | Grupo AZT               | 13      | 14      | 101           | 84            | -24,6                            | 0,182            |
|                              | P AZT y d4T             |         |         | 0,211         | 0,328         | 0,908                            |                  |
|                              | P pacientes y controles |         |         | 0,255         | 0,52          | 0,034                            |                  |
|                              | P d4T y controles       |         |         | 0,166         | 0,947         | 0,147                            |                  |
|                              | P AZT y controles       |         |         | 0,495         | 0,292         | 0,025                            |                  |
|                              | Hombres                 | 19      | 20      | 112,4         | 83,1          | -37,6                            | 0,067            |
|                              | Hombres en d4T          | 10      | 10      | 147,4         | 111,5         | -43,9                            | 0,492            |
|                              | Hombres en AZT          | 9       | 10      | 101,0         | 68,8          | -37,1                            | 0,023            |
|                              | Mujeres                 | 6       | 6       | 87,8          | 105,0         | 48,6                             | 0,313            |
|                              | P hombres y mujeres     |         |         | 0,366         | 0,268         | 0,077                            |                  |
| P hombres AZT y d4T          |                         |         | 0,043   | 0,165         | 0,897         |                                  |                  |

Nivel de significación P<0.05 en gris

**Figura 17.** Valores de las medianas de IMCL para ambos músculos de: **A**, grupos de tratamiento, todos los pacientes y controles en el inicio del estudio **B**, grupos hombres según tratamiento, todos los hombres, mujeres y controles.



grupo 1: Pacientes en d4T, grupo 2: Pacientes en AZT, grupo 3: Todos los pacientes, grupo 4: Controles

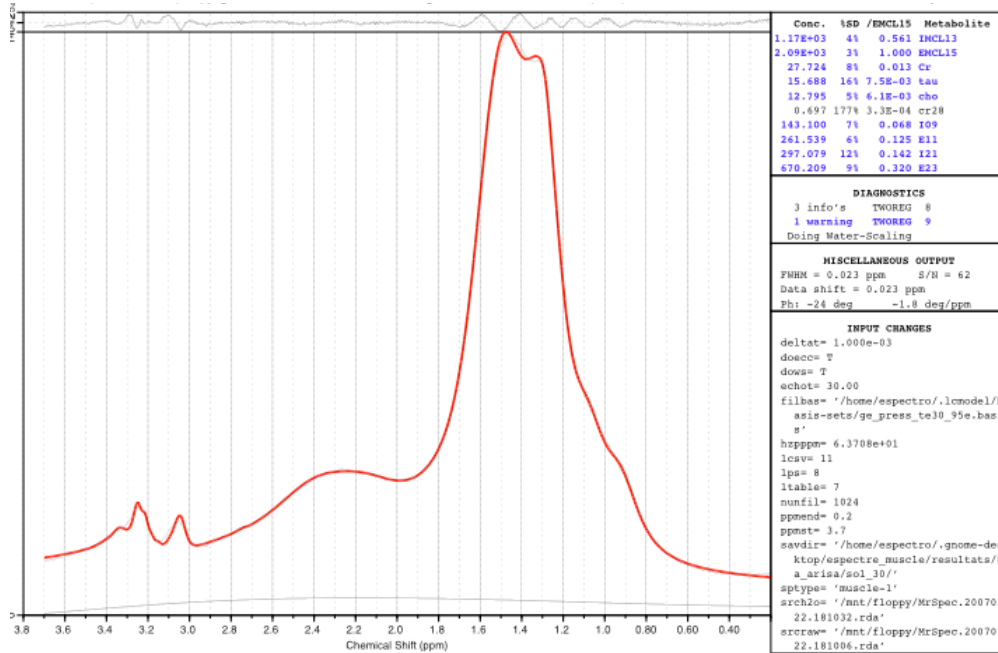


grupo 1: Hombres en d4T, grupo 2: Hombres en AZT, grupo 3: Hombres, grupo 4: Mujeres, grupo 5: Controles

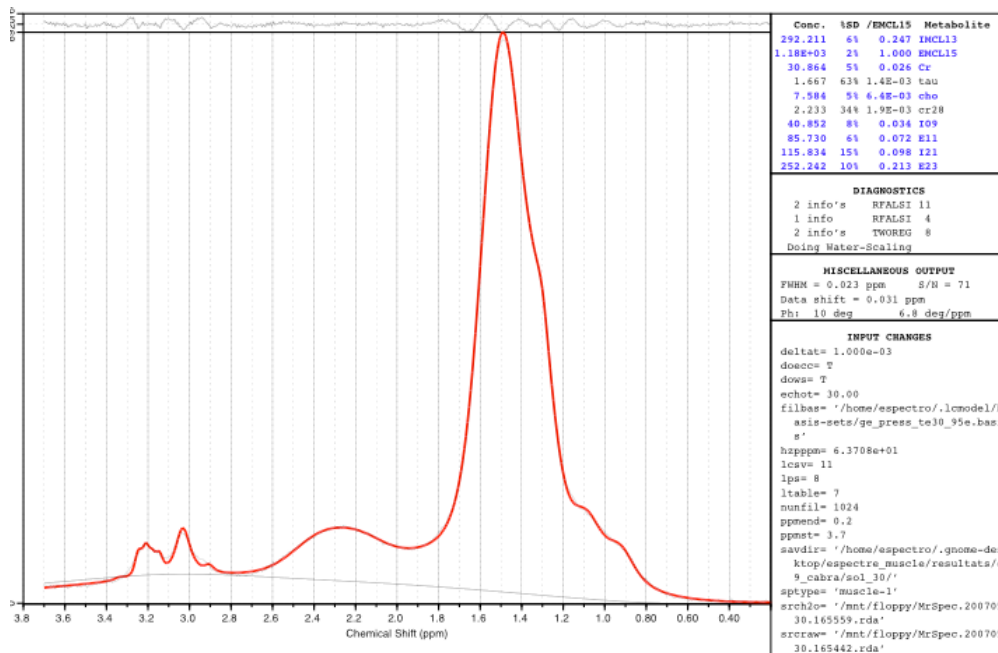


**Figura 18.** Resultados en LCModel de los metabolitos en el músculo sóleo de **A**, Paciente varón de 49 años en TARGA durante 2 años, incluyendo d4T y **B**, Control varón de 47 años. Los niveles de IMCL13 (IMCL en la frecuencia de resonancia 1.3 ppm) son más altos en el paciente que en el control.

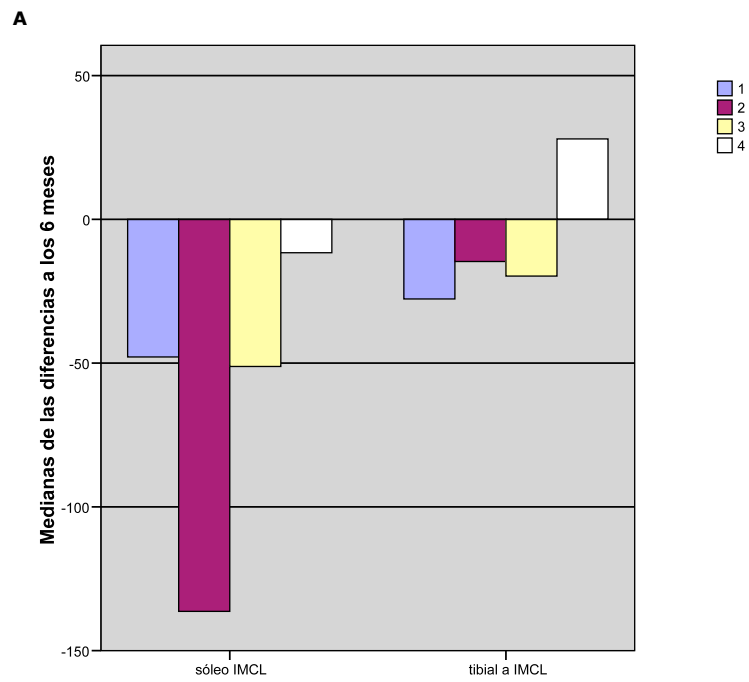
**A**



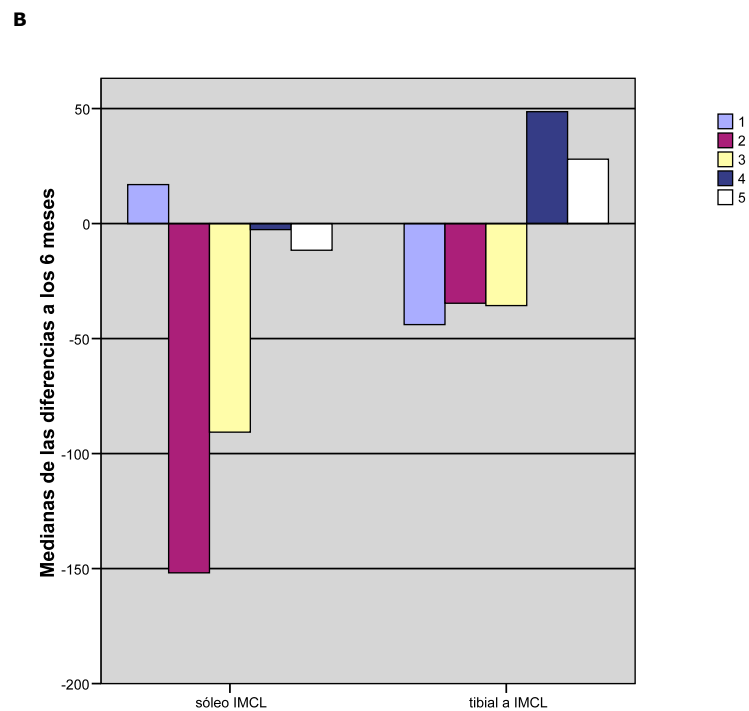
**B**



**Figura 19.** Medianas de las diferencias de IMCL a los 6 meses con respecto al inicio para ambos músculos en **A**, grupos de tratamiento, todos los pacientes y controles en el inicio del estudio **B**, grupos hombres según tratamiento, todos los hombres, mujeres y controles.



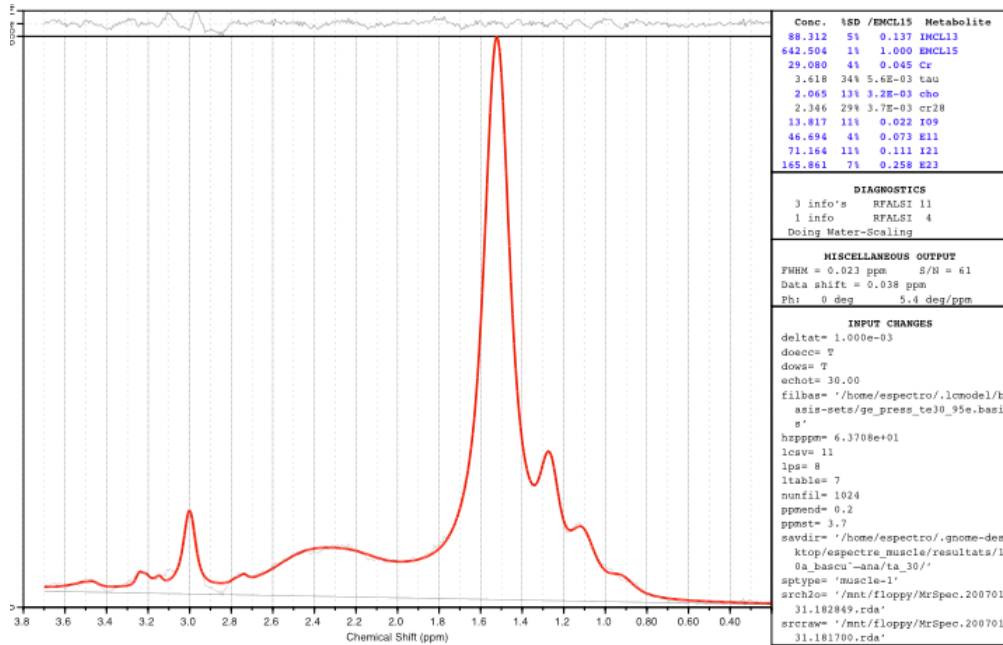
grupo 1: Pacientes en d4T, grupo 2: Pacientes en AZT, grupo 3: Todos los pacientes, grupo 4: Controles



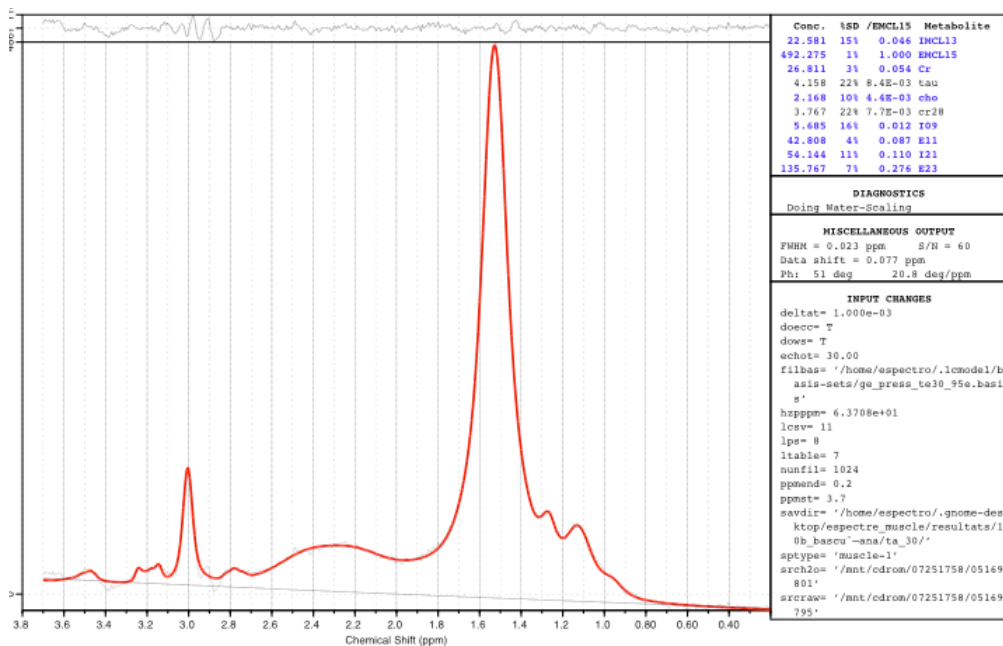
grupo 1: Hombres en d4T, grupo 2: Hombres en AZT, grupo 3: Hombres, grupo 4: Mujeres, grupo 5: Controles

**Figura 20.** Resultados en LCMoel de los cambios de los metabolitos en el músculo tibial anterior de un paciente varón de 40 años con VHC, en TARGA durante 3 años y medio, incluyendo AZT. **A,** Resultados en el basal. **B,** Resultados a los 6 meses, observando una disminución de IMCL13 (IMCL en la frecuencia de resonancia 1.3 ppm).

**A**



**B**



## Composición corporal e IMCL

### En el inicio

En el inicio del estudio el nivel de IMCL en el músculo tibial anterior mostró una relación inversa con la grasa en pierna ( $r -0.468$ ,  $P= 0.018$ ) y positiva con la masa magra en tronco ( $r 0.403$ ,  $P= 0.046$ ).

### A los 6 meses

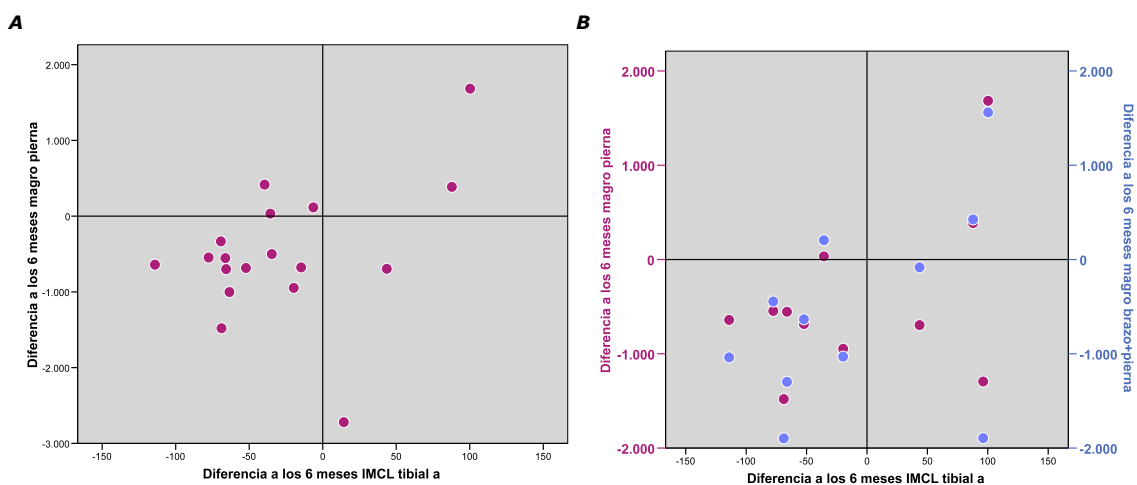
Encontramos una concordancia entre la disminución de la masa magra de la pierna y brazo+pierna con la disminución de los IMCL en el 50% y el 54,2% de los todos los pacientes en el músculo sóleo y tibial anterior, respectivamente, aunque no fue significativa ( $P>0.05$ ).

Sin embargo, en el grupo de hombres la relación entre disminución de la masa magra en pierna y la de IMCL en el músculo tibial anterior fue significativa, con una concordancia del 61.1%; y en el grupo de hombres en tratamiento inicial con d4T la relación fue significativa con la masa magra en pierna y en brazo+pierna, con una concordancia del 60% (Tabla 12, Figura 21).

**Tabla 12.** Relaciones significativas entre la disminución de la masa magra periférica y de IMCL en el músculo tibial anterior.

|   | HOMBRES                | HOMBRES d4T            |                              |
|---|------------------------|------------------------|------------------------------|
|   | IMCL ta / magra pierna | IMCL ta / magro pierna | IMCL ta / magro brazo-pierna |
| Coef. correlacion Spearman                | 0.490                  | 0.646                  | 0.745                        |
| Prob >  r  con H0: Rho=0                  | 0.039                  | 0.044                  | 0.013                        |
| % casos disminución IMCLta y magra pierna | 61.1%                  | 60%                    | 60%                          |
| Significación de kappa                    | 0.533                  | 0.183                  | 0.183                        |

**Figura 21.** Diagrama de dispersión de la disminución de IMCL en el músculo tibial anterior a los 6 meses del cambio de estrategia del tratamiento con: **A**, la disminución de la masa magra en pierna en el grupo de pacientes hombres, y **B**, la disminución de la masa magra en pierna y brazo+pierna en el grupo de pacientes hombres tratados con d4T.



## Pruebas de laboratorio e IMCL

### En el inicio

El nivel de IMCL en el músculo sóleo mostró una relación positiva significativa en todo el grupo de pacientes con el nivel de triglicéridos (Tabla 13).

El nivel de IMCL en el músculo tibial anterior mostró una relación positiva significativa en todo el grupo de pacientes con el nivel de triglicéridos, insulina, HOMA-IR, y péptido C, y una relación inversa significativa con el nivel de colesterol-HDL, adiponectina y grelina (Tabla 13).

**Tabla 13.** Relación significativa en el inicio del estudio entre los IMCL y las pruebas de laboratorio.

| Coef. correlación Spearman<br>Prob >  r  con H0: Rho=0<br>Número de Observaciones | Triglicéridos        | Colesterol-HDL        | Insulina             | HOMA-IR              | Péptido C            | Adiponectina          | Grelina               |
|---|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Sóleo IMCL  | 0,425<br>0,024<br>28 |                       |                      |                      | 0,378<br>0,048<br>28 |                       |                       |
| Tibial a IMCL   | 0,412<br>0,041<br>25 | -0,492<br>0,012<br>25 | 0,497<br>0,011<br>25 | 0,457<br>0,022<br>25 | 0,465<br>0,019<br>25 | -0,464<br>0,020<br>25 | -0,429<br>0,037<br>24 |

### A los 6 meses

Los cambios de IMCL en el músculo tibial anterior en los pacientes en tratamiento inicial con d4T mostraron una relación positiva significativa con los cambios de triglicéridos, péptido C y HOMA-IR, y una relación inversa significativa con los del colesterol-HDL (Tabla 14).

Los cambios de IMCL en el músculo tibial anterior en el grupo de hombres mostraron una relación positiva significativa con los cambios de triglicéridos, y una relación inversa significativa con los del colesterol-HDL y la adiponectina (Tabla 14).

**Tabla 14.** Relación significativa de cambios a los 6 meses entre los IMCL en el tibial anterior y las pruebas de laboratorio.

| Coef. correlación Spearman<br>Prob >  r  con H0: Rho=0<br>Número de Observaciones | Triglicéridos        | Colesterol-HDL        | Adiponectina          | Glucosa | Péptido C            | HOMA-IR              |
|---|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------|----------------------|----------------------|
| Tibial a IMCL Grupo d4T   | 0,629<br>0,028<br>12 | -0,629<br>0,028<br>12 |                       |         | 0,643<br>0,024<br>12 | 0,608<br>0,036<br>12 |
| Tibial a IMCL Hombres   | 0,517<br>0,028<br>18 | -0,673<br>0,002<br>18 | -0,523<br>0,026<br>18 |         |                      |                      |

### ***Valoración de la médula ósea***

Los parámetros de laboratorio del perfil óseo (niveles de LDH y FA) y del componente medular hematopoyético (eritrocitos, leucocitos y plaquetas), fueron normales en todos los pacientes.

#### *Patrón medular en RM inicial*

#### *Prevalencia de las alteraciones en RM*

En las imágenes de RM de SE potenciadas en T1 de la pierna derecha en el inicio del estudio, se observaron en 4 de los 28 pacientes (14,3%) (3 en tratamiento con AZT y 1 con d4T) focos de baja intensidad de señal similar al agua o músculo o patrón tipo 1, en 4 de los 28 pacientes (14,3%) una señal focal o difusa de intensidad intermedia similar a la señal de la médula hematopoyética o patrón tipo 2, y en el resto de pacientes (71.4%) y en todos los controles (100%) una médula ósea de patrón normal con señal grasa o patrón tipo 3 (Figura 22).

#### *Aspecto y distribución de las lesiones*

Los 4 casos con focos de intensidad de señal baja en las imágenes de SE potenciadas en T1 o patrón tipo 1, presentaron una señal alta en las secuencias potenciadas en T2 con saturación de la grasa y no realizaban en las imágenes de SE potenciadas en T1 con supresión de la grasa tras la administración de contraste intravenoso, con un aspecto de tipo seroso (Figura 23).

Las imágenes de SPECT mostraron en estos casos con lesiones focales de baja señal o patrón tipo 1, una captación inespecífica, sin aspecto de proceso inflamatorio, infiltrativo o maligno. Las imágenes de correlación de TC y las imágenes radiográficas de las seriadas óseas fueron normales (Figura 24).

Las imágenes de RM corporal total demostraron que los casos con lesiones focales con patrón tipo 1 o de aspecto seroso se localizaban en tibias, peronés, zona distal de fémures en los 4 casos, y de forma aislada se localizaban pequeños focos en 1 caso en calcáneo y astrágalo, y en 2 casos en región proximal de húmeros. En ninguno de los pacientes se encontraron lesiones focales en el esqueleto axial ni en pelvis (Figura 25).

**Figura 22.** Imágenes axiales de SE potenciadas en T1 de la pierna derecha con representación de los tres patrones de RM observados en la médula ósea. **A**, Tipo 1, patrón medular con focos de baja señal. **B**, Tipo 2, patrón medular con intensidad de señal intermedia. **C**, Tipo 3, patrón medular normal con señal grasa.

**Figura 23.** Imágenes coronales de RM mostrando el patrón de aspecto seroso de las lesiones con patrón focal o tipo 1. **A**, Imagen coronal de SE potenciada en T1, se observa la hipointensidad de señal de las lesiones endomedulares. **B**, Imagen coronal potenciada en T2 con saturación de la grasa muestra la alta intensidad de señal de las lesiones. **C**, Imagen coronal de SE potenciada en T1 con saturación de la grasa con gadolinio intravenoso, en la que no se observa realce de las lesiones.

**Figura 24.** Imágenes coronales de RM corporal total mostrando la distribución de las lesiones en tibias, peronés y zona distal de fémures (flechas).

**Figura 25.** Imágenes de RM y SPECT-TC de piernas. **A**, Imagen coronal de RM potenciada en T2 con saturación de la grasa muestra las lesiones con patrón de aspecto seroso en las tibias. **B**, En el estudio de SPECT muestran una captación inespecífica. **C**, Imagen axial de TC con patrón óseo normal.

NOTA: Las imágenes han sido retiradas por formar parte de la publicación sobre un aspecto de esta tesis:  
AI Garcia, A Milinkovic, X Tomás, S Vidal-Sicart, J Pomés, M del Amo, J Mallolas. MRI signal changes of the bone marrow in HIV-infected patients with lipodystrophy: correlation with clinical parameters. *Skeletal Radiol* 2011, 40(10): 1295-301.

### Parámetros clínicos y patrón medular en RM inicial

Los pacientes con un patrón de aspecto seroso o tipo 1, mostraron en el inicio del estudio un significativo menor contenido de grasa en brazos, piernas, brazos+piernas y total, y un mayor contenido de masa magra en piernas y tronco. Agrupando los valores de las variables numéricas en terciles, se observó que el grupo con lesiones focales con patrón de aspecto seroso, mostraban un significativo menor contenido de grasa en piernas y brazos+piernas (Tabla 15).

**Tabla 15.** Diferencias en las medidas de composición corporal en el inicio del estudio entre los pacientes infectados por el VIH con y sin patrón medular de tipo seroso en RM.

| COMPOSICIÓN CORPORAL    |        | Pacientes VIH sin patrón medular seroso (N=24) | Pacientes VIH con patrón medular seroso (N=4) | Valor P | Terciles Valor P |
|-------------------------|--------|--|---|---------|------------------|
| Grasa brazo (gr)        | (DEXA) | 1351.5 [728; 2023]                             | 529 [370; 807.5]                              | 0.03    | 0.09             |
| Grasa pierna (gr)       | (DEXA) | 2595.5 [1343; 4707]                            | 1170.5 [1073; 1230]                           | 0.02    | 0.01             |
| Grasa brazo+pierna (gr) | (DEXA) | 3783.5 [2390; 6926.5]                          | 1626.5 [1530.25; 2064]                        | 0.007   | 0.01             |
| Grasa tronco (gr)       | (DEXA) | 7443 [5214.5; 11320]                           | 4886.5 [4364; 6177.5]                         | 0.09    | 0.09             |
| Grasa total (gr)        | (DEXA) | 11108 [8665; 18711]                            | 7215 [6569.5; 8139.5]                         | 0.01    | 0.09             |
| Magro brazo (gr)        | (DEXA) | 6771.5 [5042; 8116]                            | 7509.5 [6750; 9537.5]                         | 0.26    | 0.32             |
| Magro pierna (gr)       | (DEXA) | 17139 [13690; 19669]                           | 18509 [17997; 19527.5]                        | 0.32    | 0.74             |
| Magro tronco (gr)       | (DEXA) | 24878 [20774.5; 27116.5]                       | 31921 [28294; 32781]                          | 0.01    | 0.09             |
| Magro total (gr)        | (DEXA) | 53687 [42544; 58330]                           | 63410 [57795.5; 65651]                        | 0.07    | 0.09             |
| VAT (cm <sup>2</sup> )  | (TC)   | 110.55 [62.6; 140.7]                           | 107.95 [78.2; 164.8]                          | 0.75    | 0.93             |
| SAT (cm <sup>2</sup> )  | (TC)   | 90.8 [60.4; 161.4]                             | 52.05 [24.4; 89.35]                           | 0.17    | 0.16             |

Datos presentados como medianas y percentiles [P25;P75]

Valor P significativo en gris

VAT: tejido adiposo visceral, SAT: tejido adiposo subcutáneo  
gr: gramos

El conjunto de sujetos con alteración del patrón de médula ósea en RM (patrón seroso o tipo 1 y patrón intermedio o tipo 2) mostraron en el inicio del estudio con respecto al grupo con un patrón graso normal, un significativo menor contenido de grasa en piernas, brazos+piernas y total, para todos los valores de las variables (P=0.025, 0.021 y 0.049, respectivamente) y en la agrupación de los valores de las variables en terciles (P=0.026, 0.017 y 0.026, respectivamente) (Tabla 16).

**Tabla 16.** Diferencias en las medidas de composición corporal en el inicio del estudio entre los pacientes infectados por VIH con patrón medular graso normal y con patrón medular alterado (seroso e intermedio) en RM.

| COMPOSICIÓN CORPORAL    |        | Pacientes VIH con patrón medular normal (N=20) | Pacientes VIH con patrón medular alterado (N=8) | Valor P | Terciles Valor P |
|-------------------------|--------|--|---|---------|------------------|
| Grasa pierna (gr)       | (DEXA) | 3142 [1431,5;5083]                             | 1230 [1053; 1395,75]                            | 0.025   | 0.026            |
| Grasa brazo+pierna (gr) | (DEXA) | 3915 [2583,5; 6926,5]                          | 1836,5 [1588,5; 2569,5]                         | 0.021   | 0.017            |
| Grasa total (gr)        | (DEXA) | 11622,5 [9597,5; 20004,5]                      | 7377,5 [7132,25; 9462]                          | 0.049   | 0.026            |

Datos presentados como medianas y percentiles [P25;P75]

Valor P significativo en gris

VAT: tejido adiposo visceral, SAT: tejido adiposo subcutáneo  
gr: gramos



El grupo de sujetos con alteración de la señal de la médula ósea (seroso e intermedio) presentaba un significativo mayor nivel de insulina ( $P=0.016$ ) y de HOMA-IR ( $P=0.018$ ) y menor de grelina ( $P=0.036$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre el grupo con lesiones focales de tipo seroso en la médula ósea con el grupo que presentaba cambios de señal intermedia, ni entre el grupo con señal intermedia y el grupo de señal normal ( $P>0.05$ ).

No se encontraron otras diferencias significativas entre el grupo con patrón de aspecto seroso, ni en el conjunto de pacientes con alteración de señal en la médula ósea (patrón seroso e intermedio) con el resto de parámetros clínicos ( $P>0.05$ ).

#### *IMCL y patrón medular en RM inicial*

El nivel de IMCL basalmente era mayor, para ambos músculos, en el grupo con patrón seroso con respecto al de alteración intermedia, y en el grupo de alteración intermedia con respecto al de patrón de señal normal. En el músculo tibial anterior estas diferencias fueron significativas entre el grupo con patrón seroso e intermedio ( $P=0.031$ ), y entre todos los sujetos con alteración del patrón medular en RM (seroso e intermedio) y los que tenían un patrón medular graso normal ( $P=0.031$ ). En el músculo sóleo las diferencias entre grupos no fueron significativas ( $P>0.05$ ) (Tabla 17).

**Tabla 17.** Niveles de IMCL para ambos músculos en los pacientes según los tres patrones de médula ósea en RM en el inicio del estudio.

| Músculos   | Patrón Seroso (tipo 1)<br>(N=4) | Patrón Intermedio (tipo 2)<br>(N=4) | Patrón Normal (tipo 3)<br>(N=20) |
|--|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Sóleo IMCL                                       | 661,40 [373,03; 977,05]         | 577,64 [563,35; 602,17]             | 446,88 [300,84; 786,98]          |
| Tibial a IMCL                                    | 174,69 [116,29; 257,04]         | 153,26 [49,53; 181,64]              | 92,33 [72,23; 128,84]            |
| Seroso respecto al Intermedio $P= 0.031$         |                                 |                                     |                                  |
| Seroso + Intermedio respecto al normal $P=0.031$ |                                 |                                     |                                  |

*Datos presentados como medianas y percentiles [P25;P75]*

#### *Cambios de los parámetros clínicos y del patrón medular en RM*

A los 6 meses no se observaron cambios en los patrones de médula ósea en las imágenes de SE potenciadas en T1 de RM de las piernas, en pacientes ni en controles.

A los 6 meses de cambiar la estrategia de tratamiento, el grupo con lesiones focales de aspecto seroso en la médula ósea mostró más recuperación de la grasa periférica que los otros grupos (Tabla 18).

**Tabla 18.** Cambios en la composición corporal a los 6 meses respecto al inicio, entre los pacientes infectados por el VIH con y sin patrón medular de tipo seroso en RM.

| COMPOSICIÓN CORPORAL        | Pacientes VIH sin patrón medular seroso (N=23) |                       | Pacientes VIH con patrón medular seroso (N=4) |                       |
|-----------------------------|--|-----------------------|---|-----------------------|
|                             | Cambios absolutos                              | Porcentaje de cambios | Cambios absolutos                             | Porcentaje de cambios |
| Grasa brazo (gr) (DEXA)     | 139 [-11; 345 ]                                | 13,71 [-2,36 ;29,61]  | 265.5 [239.5; 556.5 ]                         | 71,95 [52,63 ;80,15]  |
| Grasa pierna (gr) (DEXA)    | 71 [-300; 353 ]                                | 2,33 [-7,92 ;16,2]    | 146 [63.5; 233 ]                              | 13,22 [5,16 ;21,54]   |
| Grasa tronco (gr) (DEXA)    | 713 [-103; 1482 ]                              | 8,03 [-0,84 ;18,96]   | 1403 [405; 1936.5 ]                           | 29,1 [8,8 ;44,68]     |
| Grasa total (gr) (DEXA)     | 837 [-842; 2283 ]                              | 8,51 [-2,72 ;15,13]   | 2127 [827; 2780.5 ]                           | 29,59 [11,33 ;42,87]  |
| Magro brazo (gr) (DEXA)     | -10 [-397; 101 ]                               | -0,16 [-6,71 ;1,52]   | -193.5 [-341; -102.5 ]                        | -2,83 [-3,79 ;-1,45]  |
| Magro pierna (gr) (DEXA)    | -641 [-789; -452 ]                             | -3,71 [-5,58 ;-2,78]  | -415.5 [-1213.5; 899.5 ]                      | -1,98 [-6,29 ;4,9]    |
| Magro tronco (gr) (DEXA)    | -303 [-1364; 395 ]                             | -1,4 [-5,07 ;1,49]    | -1375 [-2698.5; -971 ]                        | -4,31 [-8,36 ;-3,23]  |
| Magro total (gr) (DEXA)     | -1279 [-2211; -180 ]                           | -2,63 [-4,14 ;-0,43]  | -2049.5 [-2264; -1381 ]                       | -3,21 [-3,45 ;-2,35]  |
| VAT (cm <sup>2</sup> ) (TC) | 0.2 [-10.5; 16.7 ]                             | 0,12 [-16,77 ;19,58]  | 10.1 [-37.85; 22.15 ]                         | 8,16 [-18,38 ;21,23]  |
| SAT (cm <sup>2</sup> ) (TC) | 5.7 [-11.1; 24.8 ]                             | 7,05 [-4,57 ;38,81]   | 12.35 [-0.9; 28.8 ]                           | 55,38 [-1,16;117,46]  |

Datos presentados como medianas y percentiles [P25;P75]  
 VAT: tejido adiposo visceral, SAT: tejido adiposo subcutáneo  
 gr: gramos







Los resultados de este estudio mostraron que el contenido graso del sistema musculoesquelético participa activamente en el síndrome de lipodistrofia en los pacientes infectados por el VIH en TARGA, ofreciendo una nueva perspectiva en la patofisiología de la enfermedad. Los cambios observados en la célula muscular y en la médula ósea se interrelacionan entre sí, junto a otras manifestaciones y cambios en el síndrome de lipodistrofia, y con implicación sobre los hallazgos desconcertantes e inesperados que se han observado en este grupo de pacientes.

### ***Lipodistrofia y músculo***

Uno de los principales objetivos de esta disertación académica es determinar la etiopatogenia de la disminución de la masa magra que presentan los pacientes en tratamiento con TA cuando se sustituye por TDF, con la hipótesis de una probable migración de los IMCL a la periferia. Esta hipótesis se ha formulado en base a observaciones previas en estudios de valoración de triglicéridos musculares mediante <sup>1</sup>H-MRS en pacientes VIH+ con lipodistrofia, en las que se demuestra un mayor contenido de IMCL con respecto a la población normal (65,96,113), y a la observación de una mayor masa magra en la medición con DEXA (119), que nos indujeron a pensar en la relación entre ambos, con una posible recuperación de esta masa a un nivel basal con el cambio de tratamiento, secundaria a un movimiento de IMCL.

Nuestro grupo de pacientes presentaban al inicio del estudio entre un 54,7% y un 52,32% más de IMCL para el músculo sóleo y tibial anterior, respectivamente, que el grupo de población normal, y el nivel de IMCL en el músculo tibial anterior se relacionaba con el grado de lipoatrofia periférica, específicamente con la grasa en pierna. Este incremento era especialmente alto en el músculo tibial anterior en los pacientes varones tratados con d4T, de hasta un 107,88% con respecto al grupo de hombres sanos. En la literatura se muestra incrementos similares, del 60% en el músculo tibial anterior y del 45% en el músculo sóleo en un grupo de mujeres respecto a un grupo sano (113), del 50% en el músculo sóleo en un grupo de varones con lipodistrofia moderada o severa con respecto a un grupo control VIH+ sin TARGA y sin lipodistrofia (96), y de hasta un 130-134% para un grupo mixto con mayor grado de lipodistrofia (65).

Con la sustitución de los análogos de la timidina (d4T o AZT) por TDF, a los 6 meses del cambio los pacientes mostraron una respuesta adecuada en la redistribución de la grasa, con recuperación de la grasa periférica, y como se esperaba se acompañó de una disminución de la masa magra, acorde con lo observado previamente (118). Encontramos una asociación entre la disminución de la masa magra con la disminución de IMCL, que aconteció en el 50% y el 54,2% de los individuos en el músculo sóleo y tibial anterior, respectivamente. Esta relación fue especialmente significativa en el grupo de hombres en el músculo tibial anterior con respecto a la masa magra en pierna y periférica (brazo+pierna).

Aspectos a destacar en nuestros resultados son las diferencias entre los tratamientos iniciales, y la significación de las valoraciones en hombres y en el músculo tibial anterior.

Los resultados de este estudio mostraron diferencias entre los pacientes en tratamiento con estavudina o d4T y los tratados con zidoduvina o AZT. Aunque ambos grupos no mostraron diferencias en los parámetros de valoración del síndrome en el inicio del estudio ni de respuesta con el cambio de tratamiento, el grupo en d4T mostró menos áreas de recuperación significativa de la lipoatrofia. Respecto a los IMCL encontramos en hombres tratados con d4T niveles especialmente mayores en el músculo tibial anterior, y con el cambio de tratamiento fue el grupo AZT el que mostró una mejor respuesta a la recuperación con una disminución más intensa de los IMCL para ambos músculos.

Se reconoce en diferentes ensayos clínicos, que el tratamiento con d4T se asocia con un aumento del riesgo de lipoatrofia aproximadamente del doble en comparación con el AZT (142), y que cuando ambos se sustituyen por otro NRTI con menos toxicidad asociada a la lipodistrofia, la respuesta es óptima, pero hasta el momento no se han estudiado las diferencias de respuesta entre ambos tratamientos con el cambio a nuevas estrategias. La diferente toxicidad mitocondrial y de tejido diana para ambos fármacos puede determinar diferentes patrones de afectación y respuesta. Así, la especial afinidad del d4T sobre el adipocito con mayor implicación en el síndrome, justificaría manifestaciones más intensas y una menor recuperación. Por otro lado, la reconocida afinidad específica del AZT con el músculo, causante de una miopatía ampliamente reconocida que es reversible, podría influir en la dinámica de IMCL cuando se retira este fármaco del grupo de TARGA.

Pero estas diferencias entre d4T y AZT pueden estar también influenciadas por el tiempo de infección con el VIH, el tiempo en tratamiento o por la inclusión en el TARGA de un inhibidor de la proteasa, que eran significativamente mayores en nuestro grupo d4T. Se ha descrito que hay una relación entre el grado de lipodistrofia con el tiempo de tratamiento con TARGA (143), y su recuperación también se ve enlentecida a más tiempo con el síndrome y con el tratamiento (118,140). En la población estudiada no encontramos que estos parámetros influyeran en el nivel de IMCL basalmente ni en sus cambios a los 6 meses, pero el tamaño de la muestra era pequeño y con una potencia no suficiente para afirmarlo.

Otro de los puntos de atención fue el protagonismo de los resultados en el grupo de hombres, no sólo en la relación entre los cambios de IMCL y la masa magra, sino también en la mayor recuperación de IMCL en el grupo en AZT, y en las relaciones de los cambios de IMCL con los de parámetros metabólicos como triglicéridos, colesterol-HDL y adiponectina.

En el inicio del estudio había diferencias entre hombres y mujeres, las mujeres mostraban más contenido de grasa total y por regiones, y de SAT, y menos contenido de masa magra. Es reconocida en la población normal la influencia de las hormonas estrógenos y testosterona en la distribución de la grasa en mujeres y hombres, la influencia de un suplemento de estrógenos en la mujer postmenopáusica para mantener la distribución de grasa ginoide, y cómo en hombres

transexuales que han sido tratados con estradiol, aumenta el tejido graso subcutáneo. La literatura muestra manifestaciones diferentes de lipodistrofia entre hombres y mujeres, indicando en algunos estudios una mayor predisposición en las mujeres, que presentan un patrón particular y complejo (144). En este aspecto podría intervenir la diferente farmacocinética observada de distintos antirretrovirales entre sexos, aunque no se ha encontrado una clara repercusión clínica (145).

Por otro lado, hay estudios que indican la influencia de los estrógenos en las distintas manifestaciones del síndrome. Se ha descrito que juegan un papel en la alteración de distribución de la grasa y en la sensibilidad de la insulina en hombres con VIH y lipodistrofia (119,146), y aunque se han observado en algunos estudios incrementos de estas hormonas en los pacientes en TARGA, se postula que su acción se debe a la influencia sobre los receptores en los adipocitos, con expresiones diferentes según su localización (146). Se desconoce si hay una influencia hormonal en el contenido de triglicéridos en otros compartimentos diferente al adipocito, que pudiera afectar el comportamiento de IMCL.

En la literatura se indica que en sujetos sanos no hay una diferencia significativa en los IMCL entre hombres y mujeres (147,148), y únicamente se describen diferencias en la utilización de las reservas de los IMCL durante el ejercicio (149). En nuestra muestra de pacientes no había diferencias en la concentración de IMCL entre sexos para ambos músculos, pero sin embargo, con la sustitución de los TA, el grupo de mujeres mostró unos cambios en los IMCL similar al grupo control, que difería a lo observado en los hombres. La literatura sólo muestra hasta el momento estudios transversales sobre IMCL en pacientes VIH+ con lipodistrofia, en los que se incluyen grupos mixtos de hombres y mujeres, o sólo uno de los dos sexos, pero no hay estudios en los que se haga una valoración longitudinal de cambios, ni estudios que se hayan focalizado en valorar diferencias entre sexos o entre tratamientos. Una limitación importante en nuestra observación es el pequeño tamaño de la muestra de mujeres, ya que no se consideró en el diseño inicial que pudiera haber diferencias en el comportamiento de IMCL entre sexos, por lo que no se pueden extraer resultados concluyentes, siendo un punto de partida para futuros estudios.

El tercer punto a destacar derivado de nuestros resultados, es el protagonismo que presentan los cambios de los IMCL en el músculo tibial anterior y sus relaciones con parámetros clínicos. Basalmente este músculo mostraba más asociaciones entre sus niveles de IMCL con parámetros de composición corporal como la asociación inversa con la grasa de la pierna y la positiva con la masa del tronco, y con parámetros de laboratorio, como la asociación positiva con los triglicéridos, la insulina, el índice de resistencia a la insulina, y el péptido C, e inversa con el colesterol-HDL, la adiponectina y la grelina, a diferencia del músculo sóleo que únicamente encontramos una asociación positiva con los triglicéridos. A los 6 meses, como ya se ha indicado, se demostró una relación entre los cambios de sus IMCL con la pérdida de la masa magra periférica, pero también se relacionó con cambios en algunos parámetros metabólicos que no se encontraron en el músculo sóleo, como los triglicéridos y el colesterol-HDL (en



pacientes con d4T, en hombres y hombres con d4T), el índice de resistencia a la insulina (en pacientes con d4T), el péptido C (en pacientes con d4T, y hombres con d4T) y la adiponectina (en hombres). Además, se observó en nuestros pacientes una relación entre su nivel de IMCL con las alteraciones del patrón graso normal en la médula ósea.

El músculo tibial anterior se ha propuesto como más estable para la valoración longitudinal de cambios en IMCL, por su estructura de fibras paralelas al campo  $B_0$  y por su menor contenido de EMCL que puedan interferir en la cuantificación de IMCL. Aunque por sus características metabólicas puede ser menos idóneo en la valoración de las grasas, su mayor estabilidad lo apoya como el más adecuado. En nuestros resultados la mayoría de significaciones se obtuvieron en este músculo. Acorde con estudios previos, el músculo sóleo presentó niveles mayores de IMCL en todos los sujetos, en relación por su mayor contenido de fibras de tipo I o de capacidad oxidativa que utilizan la grasa como sustrato de fuente de energía. Sin embargo, también presentó mayor cantidad de EMCL, afectando potencialmente la exactitud en la cuantificación de IMCL, como ya se ha descrito previamente (52), y puede determinar la ausencia de significación en nuestros resultados de cambios a los 6 meses y de relaciones con los parámetros clínicos en este músculo.

En consideración a los métodos de evaluación, la DEXA realiza la cuantificación del compartimento graso y magro periférico de toda la extremidad, superior y/o inferior, definidas como brazo y pierna, mientras la cuantificación de IMCL se obtuvo de un área en un músculo concreto. Se reconoce que hay una distribución homogénea de IMCL en el mismo músculo, pero es diferente para cada músculo en dependencia de su contenido de fibras, que a su vez depende de su función (51), como el que observamos en los dos músculos que incluimos en el estudio, y la extrapolación de nuestra valoración al conjunto de músculos de las extremidades puede diferir. Igualmente, se desconoce si las alteraciones de la masa magra en el volumen que valora la DEXA es diferente en cada músculo incluido, al igual que ocurre con los IMCL, un dato que la DEXA no puede diferenciar.

Por otro lado, la valoración de las concentraciones de IMCL se hicieron en referencia al agua interna. Ya se ha apuntado previamente en la literatura que se desconoce si puede haber variaciones en el contenido hídrico del músculo derivados de la propia infección, del tratamiento, o de factores hormonales que pueden variar la cuantificación de IMCL (113), y por tanto que puedan variar nuestra valoración longitudinal. No obstante, múltiples estudios han indicado el agua interna como un referente adecuado en las espectros de un volumen de interés por su alta intensidad espectral (150,151).

Respecto a la valoración de triglicéridos musculares hay que considerar que mientras el pool de EMCL es inerte o con cambios más lentos, el de IMCL es dinámico, y puede verse modificado por el ejercicio y la dieta (149,152,153). Aunque todos los sujetos incluidos se les realizaron los estudios de  $^1\text{H}$ -MRS basalmente y a los 6 meses en las mismas condiciones, puede haber

cambios biológicos que influyan en la significación de nuestros resultados. En este aspecto no se realizó un control estricto de dieta ni del ejercicio, que puede añadir variabilidad a nuestros datos. Además, únicamente se incluyó en el estudio los resultados obtenidos de IMCL correspondientes a cadenas de n-metileno (-CH<sub>2</sub>) en la posición 1.3 ppm de la espectroscopia, por ser el grupo más abundante y con menor error de cuantificación, desestimándose otros grupos de IMCL por su menor cuantía y con más dificultad de detección.

De nuestros resultados se demuestra la activa participación del contenido graso en la célula muscular, aconteciendo cambios en estrecha relación con la compleja red del síndrome, y demostrando como la DEXA, considerada hasta ahora la mejor prueba en la medición del compartimento graso, no puede valorar con detalle tejidos no adiposos pero que también contienen grasa. El músculo configura un compartimento con gran peso sobre el volumen corporal total, del que sólo se ha explorado una pequeña zona. Quedan múltiples aspectos abiertos a estudiar, en referencia al propio tejido muscular, como el contenido graso intracelular y también extracelular e intermuscular de más áreas musculares y corporal total, seguimientos más prolongados en el tiempo, muestras más amplias, y explorar nuevas técnicas de RM y de procesado que mejore la exactitud de las cuantificaciones y amplie la valoración a todos los metabolitos lipídicos intracelulares.

### ***Lipodistrofia y médula ósea***

Otro de los puntos importantes de investigación en esta disertación académica es valorar la prevalencia de los cambios de señal en la médula ósea periférica que habíamos observado en los estudios de RM en los pacientes VIH+ con lipodistrofia en TARGA, y si había una relación con el síndrome de lipodistrofia. Encontramos una alteración del patrón normal periférico graso en médula ósea en un 28,6% de los pacientes, del cual la mitad (14,3%) era en forma de lesiones focales. Todos los casos con alteración del patrón medular, bien con un aspecto focal o el conjunto de ellos, presentaban una mayor lipoatrofia periférica, especialmente en las piernas, y un mayor nivel de IMCL en el músculo tibial anterior. Esta observación pone de manifiesto la afectación de la médula ósea y su relación con el grado de lipodistrofia en estos pacientes, hallazgo no descrito previamente.

El siguiente objetivo a estudio era hacer una aproximación diagnóstica y determinar la distribución de las lesiones en la médula ósea mediante imagen. La ampliación del estudio de RM en los casos con cambios focales hipointensos tipo 1 en las imágenes de SE T1, reveló que estas lesiones mostraban un patrón de aspecto seroso o líquido, y que únicamente se localizaban en extremidades inferiores, principalmente tibias y peronés, superponible a hallazgos previos encontrados en RM de pacientes con anorexia, y que en esos casos correspondían a atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula ósea (28,29). Nuestros pacientes no presentaban anemia o pancitopenia, a diferencia de otros cuadros de enfermedad

severa como en la anorexia y en el cáncer avanzado, ni se localizaban en el esqueleto axial y pelvis donde predomina el componente hematopoyético, lo que nos apoya en la idea de la implicación específica del componente medular graso. La ausencia de lesión en las imágenes de TC obtenidas en el SPECT/TC y en las imágenes radiográficas de las series esqueléticas, nos reafirma en que la afectación se localizaba en el contenido medular manteniéndose preservada la estructura ósea. Nuestras observaciones sugieren que el contenido de adipocitos en la médula ósea puede verse afectado al igual que los adipocitos periféricos, y aunque en ambos compartimentos los adipocitos tienen interrelaciones diferentes con el entorno, forman parte del tipo de grasa denominada como blanca, con una función principal en relación con los requerimientos energéticos, a diferencia de la que contiene la grasa visceral y algunas localizaciones periféricas (dorsocervical e intercostal), que contienen grasa parda con una función específica en termorregulación y generación de calor. Se ha descrito que los antirretrovirales podrían tener una acción diferente sobre ambos tipos de adipocitos, que explicaría la distribución paradójica de la grasa, con atrofia a nivel periférico o subcutáneo mientras se mantiene o se acumula a nivel visceral (95).

Hay múltiples estudios histológicos de pacientes infectados por el VIH y en diferentes estadios de SIDA que indican la presencia de focos de atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula, y únicamente hay un caso aislado de un paciente con SIDA en el que se muestra la imagen por RM de una atrofia serosa aunque en el contexto de una osteonecrosis (128), pero no hay ningún estudio específico histológico ni de imagen hasta el momento, realizado sobre pacientes infectados por el VIH con lipodistrofia.

Con el cambio de estrategia de tratamiento no hubo cambios en los patrones medulares, aun con buena respuesta de recuperación de la grasa periférica. Considerando que las lesiones focales en médula ósea encontradas tienen un patrón de tipo seroso, que sugieren una atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula ósea, estas lesiones corresponderían a un depósito de mucopolisacáridos que ocuparían los espacios vacíos de las células adiposas atroficas o disminuidas, con probable dificultad en su recuperación en un corto espacio de tiempo. Por el tamaño de los casos resultantes con alteración del patrón medular no se estudió estadísticamente su valor como factor predictivo de recuperación de la lipodistrofia con el cambio de estrategia de tratamiento. Sin embargo, observamos que los pacientes con lesiones de aspecto seroso, tenían una mediana de recuperación mayor que el resto del grupo de pacientes, datos que nos sugieren que no hay una asociación con una insuficiente respuesta de recuperación de la lipodistrofia.

Una observación a destacar de nuestros resultados es la leve captación del Tc-99m HMDP en el estudio de SPECT/CT, que mostraron estas lesiones focales con patrón seroso en RM localizadas principalmente en tibias y peronés. Con la inclusión de esta prueba en el protocolo de estudio de la médula ósea, se descartaron patologías que frecuentemente afectan a pacientes con VIH en tratamiento, como la osteonecrosis, la osteomielitis y procesos neoplásicos. Sin embargo,

observamos esa leve captación del isótopo, hallazgo no descrito previamente en pacientes VIH+ con lipodistrofia, y tampoco en casos con atrofia serosa o transformación gelatinosa de la médula ósea de otra etiología. Una alteración en el microambiente medular secundario al depósito de estos mucopolisacáridos, o la influencia de la adipogénesis en la osteoblastogénesis, pueden ser algunas explicaciones para esta observación (124).

Los hallazgos de este estudio sugieren la participación del componente graso medular en relación con la lipodistrofia, observación novel, no estudiada previamente. Hay múltiples preguntas todavía por resolver, que precisará de nuevos estudios que incluyan la valoración histológica de las lesiones, el estudio con técnicas de RM de cuerpo completo en todos los individuos, estudios de RM específicos para valoración de la médula ósea en los casos con un patrón de afectación intermedio, y la inclusión de pacientes infectados con el VIH sin lipodistrofia, entre otros.

### ***Metabolismo, composición corporal y sistema musculoesquelético***

Los cambios e interrelaciones en los parámetros metabólicos no fueron el eje principal de estudio en esta tesis, aunque se consideraron en la valoración de respuesta al cambio de tratamiento, así como sus relaciones con el sistema musculoesquelético. Los IMCL y los cambios en la médula ósea se relacionaron con varios elementos implicados en el metabolismo lipídico y de la glucosa. Algunas asociaciones en referencia a los IMCL ya se han descrito en la literatura, aunque corresponden a estudios transversales. Hasta el momento, no hay estudios publicados en los que se hayan valorado las relaciones entre parámetros de laboratorio y alteraciones en la médula ósea, ni estudios longitudinales que hayan determinado la relación entre IMCL y cambios metabólicos.

Encontramos que el nivel de IMCL se relacionaba positivamente con los triglicéridos para ambos músculos, y negativamente con el colesterol-HDL en el tibial anterior en el inicio del estudio, un nivel alto de IMCL implicaba elevados triglicéridos y niveles bajos de colesterol-HDL. Con el cambio en los IMCL a los 6 meses seguimos encontrando una relación entre estos parámetros, en el músculo tibial anterior en pacientes en tratamiento con d4T y en el grupo de hombres, la disminución de IMCL se asociaba con la disminución del nivel de triglicéridos y un aumento del colesterol-HDL, reforzando la evidencia de una estrecha interrelación.

La dislipemia es una alteración ya descrita en pacientes VIH+ en la era pre-TARGA, pero su incidencia aumentó dramáticamente con la introducción del TARGA. Los principales cambios metabólicos asociados son el aumento de triglicéridos y colesterol total, con disminución del colesterol-HDL, y con aumento del recambio de lípidos (103). En nuestros pacientes con el cambio de tratamiento hubo una buena respuesta con disminución de triglicéridos y colesterol total.

Varios estudios previos ya han indicado la asociación de IMCL con los triglicéridos en pacientes VIH+ con lipodistrofia (96,113). Se desconoce el mecanismo fisiopatológico, postulándose que puede estar en relación a que un aumento de ácidos grasos libres circulantes, secundario a la lipólisis con reconversión en hígado a triglicéridos, o en relación a una disfunción de la enzima lipoproteína lipasa que interviene en la hidrólisis de triglicéridos en lipoproteínas, se acumularían en el músculo. Este hecho se ha observado en sujetos normales cuando hay un aumento circulante de ácidos grasos libres (154), aunque en los pacientes VIH+ puede haber implicación de una disfunción mitocondrial. La recuperación de los metabolitos lipídicos en nuestros pacientes fue paralelo a la recuperación de la grasa periférica, como la SAT y sobretodo la grasa del brazo y tronco, cambio ya descrito previamente, al que se suma la relación con la disminución de IMCL, observación no referenciada hasta ahora en la literatura.

Respecto a la asociación encontrada en nuestra muestra entre IMCL y el colesterol-HDL es también un hallazgo novel, no descrito previamente. El colesterol-HDL es una lipoproteína de alta densidad con efecto protector cardiovascular, que puede disminuir en este síndrome metabólico. En nuestros resultados se encontró una relación inversa con el nivel de IMCL, y por tanto en conexión ambos con el grado de manifestación del síndrome. Sin embargo, aún así observamos de forma paradójica una disminución de la media de colesterol-HDL en el global de pacientes con el cambio de tratamiento.

Al igual que con el colesterol-HDL, también encontramos cambios paradójicos en el nivel de adiponectina. La adiponectina es una hormona sintetizada exclusivamente por el tejido adiposo que participa en el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos, aumentando la sensibilidad a la insulina en diversos tejidos como hígado, músculo esquelético y tejido adiposo, favoreciendo la oxidación de ácidos grasos y la entrada de glucosa en los tejidos. En condiciones normales los niveles circulantes de adiponectina son inversamente proporcionales al porcentaje de grasa corporal. Sin embargo, encontramos que el grupo de hombres presentaban menor nivel de adiponectina que las mujeres, aún con menor grasa corporal, y con el cambio en la estrategia de tratamiento aunque se recuperó la grasa periférica el nivel de adiponectina disminuyó. En pacientes VIH+ con lipodistrofia se ha descrito una disminución de adiponectina en relación con la resistencia a la insulina, y en pacientes VIH+ en TARGA se ha descrito una relación inversa con el VAT, triglicéridos y resistencia a la insulina, y una relación positiva con el colesterol-HDL y la grasa en extremidades (155,156). La menor cantidad de adiponectina en hombres aún con menor cantidad de grasa y la paradójica disminución observada en todo el grupo de pacientes con el cambio de tratamiento, nos induce a pensar en una disfunción en su síntesis por los adipocitos, o en una disregulación por los cambios en órganos diana. Hay que considerar que la acción de la adiponectina no depende únicamente de sus niveles si no también de los receptores en estos órganos diana.

Respecto a su interacción con los IMCL, se observó una relación inversa, el acúmulo de IMCL en el tibial anterior en el inicio se relacionaba con un nivel menor de adiponectina, y con la

disminución de IMCL con el cambio de tratamiento se relacionaba con un nivel mayor, especialmente en hombres que era el grupo que mostró más intensamente los cambios de IMCL. Con estas observaciones, de nuevo se demuestra la conexión entre la afectación muscular con las alteraciones metabólicas.

Otras relaciones que observamos en torno al metabolismo lipídico, aunque inexplicables, fue la relación positiva de los cambios del SAT y de la grasa del tronco con la del colesterol-LDL, y la del VAT con la del colesterol-HDL. Hay que considerar que de todos estos parámetros, únicamente la grasa en el tronco y el colesterol-HDL mostraron cambios significativos a los 6 meses, y el resto mostró pequeños incrementos aunque no significativos.

No hay todavía una explicación para todos los cambios metabólicos que acontecen, y aunque con el cambio de estrategia de tratamiento se recuperan las manifestaciones del síndrome de lipodistrofia, hay compartimentos y metabolitos que muestran patrones y ritmos de cambios diferentes, como el que observamos con el colesterol-HDL, el colesterol-LDL y la adiponectina. Hay que considerar que hay asociaciones complejas e interrelaciones entre la infección crónica, los fármacos, una predisposición genética y factores ambientales, que participan en el síndrome metabólico y que todavía se desconocen (156).

Las alteraciones en el metabolismo de la glucosa con aumento de la insulina y de resistencia a la insulina es otro de los cambios ampliamente descritos en los pacientes VIH+ en TARGA sin y con lipodistrofia. Al igual que en observaciones previas, encontramos en el inicio del estudio una relación entre el nivel de IMCL en el músculo tibial anterior con el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR) (65,96), pero también encontramos significativa la relación con el nivel de insulina y de péptido-C, niveles altos de IMCL se asociaban a niveles altos de estos parámetros en torno al metabolismo de la glucosa. El péptido-C forma parte de la proinsulina, proteína que al ser procesada forma la insulina tras la escisión del péptido-C, y su medición en sangre nos indica la funcionalidad de las células beta del páncreas al producir insulina. No se encontraron variaciones significativas de estos parámetros metabólicos tras el cambio de tratamiento, pero seguimos encontrando asociaciones entre los cambios de IMCL con los de resistencia a la insulina (HOMA-IR) y el péptido-C en el grupo en tratamiento con d4T. Además, observamos que los sujetos con alteración del patrón medular mostraban también mayores niveles de insulina y HOMA-IR.

Hasta ahora el VAT se ha descrito como un fuerte predictor de resistencia a la insulina en múltiples estudios de VIH, pero también en la diabetes y obesidad. El VAT en nuestro grupo de pacientes al igual que otros estudios no se modificó con el cambio de TA por TDF, pero mostró una relación positiva con los cambios en la insulina y el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR), así como con la hemoglobina glicosilada. Aunque no encontramos una relación entre IMCL y afectación del patrón medular con el VAT, los IMCL se muestran también como un factor influyente en el metabolismo de la glucosa, y la alteración del patrón medular como un indicador de grado de alteración metabólica.

Otro parámetro metabólico relacionado con los IMCL y las alteraciones en la médula ósea es la grelina. La grelina, es una hormona que estimula la secreción de la hormona del crecimiento en la hipófisis y favorece la regulación del metabolismo energético, con estimulación del apetito y aumento peso corporal y la adiposidad. Se ha encontrado un nivel disminuido en pacientes VIH con lipodistrofia (157). En nuestros pacientes encontramos una relación inversa entre IMCL en el tibial anterior con los niveles de grelina, así como una grelina significativamente menor en los pacientes con lesiones en médula ósea, hallazgos no descritos previamente, indicándonos una conexión en la afectación de otros compartimentos como el músculo y la médula ósea con el nivel de grelina.

Al igual que los hallazgos encontrados entre IMCL y la composición corporal, observamos un protagonismo especial en nuestros resultados en el músculo tibial anterior, en el grupo de hombres y en el tratamiento d4T.

El protagonismo del músculo tibial anterior, como ya se ha indicado, puede estar derivado de una mayor exactitud en la cuantificación de IMCL, aunque este músculo tenga menos actividad metabólica oxidativa.

Considerando grupos por sexo, encontramos unos niveles significativamente menores de colesterol-HDL, adiponectina, grelina y leptina en hombres con respecto a mujeres, sugiriendo una mayor afectación metabólica, y por tanto justificando un mayor protagonismo en las asociaciones y cambios.

Respecto a grupos de pacientes según tratamiento al inicio, no encontramos diferencias significativas, salvo un mayor nivel de hemoglobina glicosilada en el grupo d4T. Sin embargo los pacientes en d4T mostraron más protagonismo en las asociaciones entre IMCL y metabolitos. Al igual que su protagonismo en los cambios corporales, la reconocida mayor toxicidad mitocondrial del d4T con respecto a la del AZT, determina una mayor afinidad en ocasionar alteraciones metabólicas (89,92,93). A este factor hay que sumar que nuestro grupo en tratamiento inicial con d4T incluía más individuos en tratamiento con inhibidores de la proteasa que son potenciadores de sus efectos (89), y también presentaban significativamente más tiempo en tratamiento, elemento con influencia en una progresiva toxicidad y posiblemente en una recuperación más limitada.

Hay que considerar que aunque la sustitución de TA por TDF mejora el síndrome de lipodistrofia, el propio TDF no está exento de toxicidad. En este aspecto, se observó una disminución de la densidad mineral ósea, sin relación con los cambios en médula ósea, considerando además que las lesiones en médula ósea se localizaban en extremidades inferiores, mientras la disminución de la densidad mineral ósea era difusa en todas las áreas examinadas. Esta alteración sugiere deberse al propio TDF, así ya se ha descrito previamente la asociación del TDF con una reducción de la densidad mineral ósea en pacientes VIH+, y recientemente en sujetos sin infección entre los que se administró el fármaco frente a un placebo (158,159). Se ha indicado como mecanismo su acción sobre la expresión genética en los osteoblastos (160). No obstante,

en estudios con seguimiento prolongado se ha observado que la disminución de la densidad mineral ósea acontece en las primeras 48 semanas, sin progresión posterior durante un seguimiento de 288 semanas (161), por lo que todavía hay que determinar su repercusión clínica y su implicación en el desarrollo de osteoporosis. En nuestro grupo de pacientes, aunque disminuyó la densidad mineral ósea con el cambio de tratamiento, no se encontraron cambios en el porcentaje de sujetos con osteoporosis.

Los resultados derivados de nuestro estudio indican la gran complejidad del síndrome y de los cambios que acontecen, con diferente protagonismo de los distintos compartimentos y metabolitos, y con múltiples interrelaciones e interacciones entre ellos, que determinan el éxito en la recuperación del síndrome en algunos aspectos con un cambio de estrategia de tratamiento, pero con parámetros que no muestran cambios significativos o con relaciones inexplicables. Hay todavía múltiples preguntas a formular, como la influencia específica de los IMCL sobre el síndrome metabólico, los cambios en los parámetros clínicos en un mayor tiempo de seguimiento, la interacción del propio TDF sobre el tejido graso, muscular y de la médula ósea, entre otros, que abren nuevas líneas a investigar en futuros estudios.









### **Conclusión general**

Los resultados de esta disertación académica demuestran que la RM es una técnica no invasiva que permite la valoración cualitativa y cuantitativa del componente graso en el sistema musculoesquelético, confirmando la participación de estos tejidos en el síndrome de lipodistrofia en los pacientes infectados por el VIH en TARGA.

### **Conclusiones específicas**

- I. Los pacientes infectados por el VIH en TARGA, con inclusión de análogos de la timidina, y síndrome de lipodistrofia, presentan un aumento de IMCL.
- II. La sustitución de los análogos de la timidina por TDF en el tratamiento antiretroviral, mejora la lipoatrofia periférica y los metabolitos lipídicos séricos, y la disminución de la masa magra que acontece se justifica por una disminución de los IMCL.
- III. El nivel de IMCL, la lipoatrofia periférica y las alteraciones metabólicas se relacionan entre sí, así como en sus cambios con la sustitución de análogos de la timidina por TDF.
- IV. Los cambios de señal en la médula ósea en los pacientes infectados por el VIH con lipodistrofia moderada o severa, muestran un patrón focal seroso o una leve disminución difusa de la señal grasa por RM, con una prevalencia no mayor del 30%, y se relacionan con el grado de lipoatrofia periférica, el aumento de IMCL y con alteraciones metabólicas.
- V. Con la sustitución de los análogos de la timidina por TDF en el tratamiento antiretroviral, los cambios de señal en la médula ósea no se recuperan en un corto espacio de tiempo, pero no hay indicios que sea un factor que condicione una inadecuada recuperación de la lipoatrofia periférica con el cambio de estrategia de tratamiento.







- (1) Heymsfield SB. Development of imaging methods to assess adiposity and metabolism. *Int J Obes (Lond)* 2008;32 Suppl 7:S76-82.
- (2) Wang ZM, Pierson RN, Jr, Heymsfield SB. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr* 1992;56(1):19-28.
- (3) Shen W, Wang Z, Punyanita M, Lei J, Sinav A, Kral JG, et al. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. *Obes Res* 2003;11(1):5-16.
- (4) Koutnikova H, Auwerx J. Regulation of adipocyte differentiation. *Ann Med* 2001;33(8):556-561.
- (5) Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, et al. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 1999;48(5):1113-1119.
- (6) Boesch C, Machann J, Vermathen P, Schick F. Role of proton MR for the study of muscle lipid metabolism. *NMR Biomed* 2006;19(7):968-988.
- (7) Schrauwen-Hinderling VB, Hesselink MK, Schrauwen P, Kooi ME. Intramyocellular lipid content in human skeletal muscle. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14(3):357-367.
- (8) Nistala R, Stump CS. Skeletal muscle insulin resistance is fundamental to the cardiometabolic syndrome. *J Cardiometab Syndr* 2006;1(1):47-52.
- (9) He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes* 2001;50(4):817-823.
- (10) Jaworowski Å, Porter MM, Holmbäck AM, Downham D, Lexell J. Enzyme activities in the tibialis anterior muscle of young moderately active men and women: relationship with body composition, muscle cross-sectional area and fibre type composition. *Acta Physiologica Scandinavica* 2002;176(3):215-225.
- (11) Howald H, Boesch C, Kreis R, Matter S, Billeter R, Essen-Gustavsson B, et al. Content of intramyocellular lipids derived by electron microscopy, biochemical assays, and (1)H-MR spectroscopy. *J Appl Physiol* 2002;92(6):2264-2272.
- (12) Wendling PS, Peters SJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Variability of triacylglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples. *J Appl Physiol* 1996;81(3):1150-1155.
- (13) Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 1997;46(6):983-988.
- (14) Phillips DI, Caddy S, Ilic V, Fielding BA, Frayn KN, Borthwick AC, et al. Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Metabolism* 1996;45(8):947-950.
- (15) Hwang S, Panicek DM. Magnetic resonance imaging of bone marrow in oncology, Part 1. *Skeletal Radiol* 2007;36(10):913-920.
- (16) Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Classification and detection of bone marrow lesions with magnetic resonance imaging. *Skeletal Radiol* 1998;27(10):529-545.
- (17) Ricci C, Cova M, Kang YS, Yang A, Rahmouni A, Scott WW, Jr, et al. Normal age-related patterns of cellular and fatty bone marrow distribution in the axial skeleton: MR imaging study. *Radiology* 1990;177(1):83-88.



- (18) Rosen CJ, Ackert-Bicknell C, Rodriguez JP, Pino AM. Marrow fat and the bone microenvironment: developmental, functional, and pathological implications. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2009;19(2):109-124.
- (19) Kawai M, Devlin MJ, Rosen CJ. Fat targets for skeletal health. *Nat Rev Rheumatol* 2009;5(7):365-372.
- (20) Schellinger D, Lin CS, Lim J, Hatipoglu HG, Pezzullo JC, Singer AJ. Bone marrow fat and bone mineral density on proton MR spectroscopy and dual-energy X-ray absorptiometry: their ratio as a new indicator of bone weakening. *AJR Am J Roentgenol* 2004;183(6):1761-1765.
- (21) Vogler JB, 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology* 1988;168(3):679-693.
- (22) Seaman JP, Kjeldsberg CR, Linker A. Gelatinous transformation of the bone marrow. *Hum Pathol* 1978;9(6):685-692.
- (23) Sen R, Singh S, Singh H, Gupta A, Sen J. Clinical profile in gelatinous bone marrow transformation. *J Assoc Physicians India* 2003;51:585-588.
- (24) Bohm J. Gelatinous transformation of the bone marrow: the spectrum of underlying diseases. *Am J Surg Pathol* 2000;24(1):56-65.
- (25) Hwang S, Lefkowitz R, Landa J, Akin O, Schwartz LH, Cassie C, et al. Local changes in bone marrow at MRI after treatment of extremity soft tissue sarcoma. *Skeletal Radiol* 2009;38(1):11-19.
- (26) Amano Y, Kumazaki T. Case report: serous atrophy of bone marrow and subcutaneous tissue enhancement associated with recurrent rectal carcinoma: MR appearances. *Comput Med Imaging Graph* 1996;20(3):183-185.
- (27) Hoeffner EG, Ryan JR, Qureshi F, Soulen RL. Magnetic resonance imaging of massive bone allografts with histologic correlation. *Skeletal Radiol* 1996;25(2):165-170.
- (28) Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Lambert M, Maldague BE. Distribution of serouslike bone marrow changes in the lower limbs of patients with anorexia nervosa: predominant involvement of the distal extremities. *AJR Am J Roentgenol* 1996;166(3):621-625.
- (29) Vande Berg BC, Malghem J, Devuyst O, Maldague BE, Lambert MJ. Anorexia nervosa: correlation between MR appearance of bone marrow and severity of disease. *Radiology* 1994;193(3):859-864.
- (30) Mehta K, Gascon P, Robboy S. The gelatinous bone marrow (serous atrophy) in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Evidence of excess sulfated glycosaminoglycan. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116(5):504-508.
- (31) Heymsfield SB, Lichtman S, Baumgartner RN, Wang J, Kamen Y, Aliprantis A, et al. Body composition of humans: comparison of two improved four-compartment models that differ in expense, technical complexity, and radiation exposure. *Am J Clin Nutr* 1990;52(1):52-58.
- (32) Heymsfield SB, Smith R, Aulet M, Bensen B, Lichtman S, Wang J, et al. Appendicular skeletal muscle mass: measurement by dual-photon absorptiometry. *Am J Clin Nutr* 1990;52(2):214-218.
- (33) Pietrobelli A, Formica C, Wang Z, Heymsfield SB. Dual-energy X-ray absorptiometry body composition model: review of physical concepts. *Am J Physiol* 1996;271(6 Pt 1):E941-51.

- (34) Sjostrom L, Kvist H, Cederblad A, Tylén U. Determination of total adipose tissue and body fat in women by computed tomography, <sup>40</sup>K, and tritium. *Am J Physiol* 1986;250(6 Pt 1):E736-45.
- (35) Torriani M, Hadigan C, Jensen ME, Grinspoon S. Psoas muscle attenuation measurement with computed tomography indicates intramuscular fat accumulation in patients with the HIV-lipodystrophy syndrome. *J Appl Physiol* 2003;95(3):1005-1010.
- (36) Tokunaga K, Matsuzawa Y, Ishikawa K, Tarui S. A novel technique for the determination of body fat by computed tomography. *Int J Obes* 1983;7(5):437-445.
- (37) Borkan GA, Gerzof SG, Robbins AH, Hulth DE, Silbert CK, Silbert JE. Assessment of abdominal fat content by computed tomography. *Am J Clin Nutr* 1982;36(1):172-177.
- (38) Heymsfield SB, Fulenwider T, Nordlinger B, Barlow R, Sones P, Kutner M. Accurate measurement of liver, kidney, and spleen volume and mass by computerized axial tomography. *Ann Intern Med* 1979;90(2):185-187.
- (39) Heymsfield SB, Olafson RP, Kutner MH, Nixon DW. A radiographic method of quantifying protein-calorie undernutrition. *Am J Clin Nutr* 1979;32(3):693-702.
- (40) Perez Miguelsanz MJ, Cabrera Parra W, Varela Moreiras G, Garaulet M. Regional distribution of the body fat: use of image techniques as tools for nutritional diagnosis. *Nutr Hosp* 2010;25(2):207-223.
- (41) Castillo M, Kwok L, Mukherji SK. Clinical applications of proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17(1):1-15.
- (42) Torriani M. Measuring muscle lipids with <sup>1</sup>H-MR spectroscopy. *Skeletal Radiol* 2007;36(7):607-608.
- (43) Schick F, Eismann B, Jung WI, Bongers H, Bunse M, Lutz O. Comparison of localized proton NMR signals of skeletal muscle and fat tissue in vivo: two lipid compartments in muscle tissue. *Magn Reson Med* 1993;29(2):158-167.
- (44) Boesch C, Slotboom J, Hoppeler H, Kreis R. In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized <sup>1</sup>H-MR-spectroscopy. *Magn Reson Med* 1997;37(4):484-493.
- (45) Szczepaniak LS, Dobbins RL, Stein DT, McGarry JD. Bulk magnetic susceptibility effects on the assessment of intra- and extramyocellular lipids in vivo. *Magn Reson Med* 2002;47(3):607-610.
- (46) Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F, Dobbins RL, Garg A, Burns DK, et al. Measurement of intracellular triglyceride stores by <sup>1</sup>H spectroscopy: validation in vivo. *Am J Physiol* 1999;276(5 Pt 1):E977-89.
- (47) Boesch C, Slotboom J, Hoppeler H, Kreis R. In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized <sup>1</sup>H-MR-spectroscopy. *Magn Reson Med* 1997;37(4):484-493.
- (48) Balschi JA, Hai JO, Wolkowicz PE, Straeter-Knowlen I, Evanochko WT, Caulfield JB, et al. <sup>1</sup>H NMR measurement of triacylglycerol accumulation in the post-ischemic canine heart after transient increase of plasma lipids. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29(2):471-480.
- (49) Velan SS, Durst C, Lemieux SK, Raylman RR, Sridhar R, Spencer RG, et al. Investigation of muscle lipid metabolism by localized one- and two-dimensional MRS techniques using a clinical 3T MRI/MRS scanner. *J Magn Reson Imaging* 2007;25(1):192-199.

- (50) Khuu A, Ren J, Dimitrov I, Woessner D, Murdoch J, Sherry AD, et al. Orientation of lipid strands in the extracellular compartment of muscle: effect on quantitation of intramyocellular lipids. *Magn Reson Med* 2009;61(1):16-21.
- (51) Vermathen P, Kreis R, Boesch C. Distribution of intramyocellular lipids in human calf muscles as determined by MR spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 2004;51(2):253-262.
- (52) Weis J, Courivaud F, Hansen MS, Johansson L, Ribe LR, Ahlstrom H. Lipid content in the musculature of the lower leg: evaluation with high-resolution spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 2005;54(1):152-158.
- (53) Torriani M, Thomas BJ, Halpern EF, Jensen ME, Rosenthal DI, Palmer WE. Intramyocellular lipid quantification: repeatability with <sup>1</sup>H MR spectroscopy. *Radiology* 2005;236(2):609-614.
- (54) Gan SK, Kriketos AD, Poynten AM, Furler SM, Thompson CH, Kraegen EW, et al. Insulin action, regional fat, and myocyte lipid: altered relationships with increased adiposity. *Obes Res* 2003;11(11):1295-1305.
- (55) Dyck DJ, Peters SJ, Glatz J, Gorski J, Keizer H, Kiens B, et al. Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscle of various fiber types. *Am J Physiol* 1997;272(3 Pt 1):E340-51.
- (56) Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, et al. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 1999;48(8):1600-1606.
- (57) Rico-Sanz J, Hajnal JV, Thomas EL, Mierisova S, Ala-Korpela M, Bell JD. Intracellular and extracellular skeletal muscle triglyceride metabolism during alternating intensity exercise in humans. *J Physiol* 1998;510 ( Pt 2)(Pt 2):615-622.
- (58) Decombaz J, Schmitt B, Ith M, Decarli B, Diem P, Kreis R, et al. Postexercise fat intake repletes intramyocellular lipids but no faster in trained than in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;281(3):R760-9.
- (59) Boesch C, Decombaz J, Slotboom J, Kreis R. Observation of intramyocellular lipids by means of <sup>1</sup>H magnetic resonance spectroscopy. *Proc Nutr Soc* 1999;58(4):841-850.
- (60) Torriani M, Thomas BJ, Bredella MA, Ouellette H. Intramyocellular lipid quantification: comparison between 3.0- and 1.5-T (<sup>1</sup>H)-MRS. *Magn Reson Imaging* 2007;25(7):1105-1111.
- (61) Skoch A, Jiru F, Dezortova M, Krusinova E, Kratochvilova S, Pelikanova T, et al. Intramyocellular lipid quantification from <sup>1</sup>H long echo time spectra at 1.5 and 3 T by means of the LCModel technique. *J Magn Reson Imaging* 2006;23(5):728-735.
- (62) Torriani M, Thomas BJ, Barlow RB, Librizzi J, Dolan S, Grinspoon S. Increased intramyocellular lipid accumulation in HIV-infected women with fat redistribution. *J Appl Physiol* 2006;100(2):609-614.
- (63) Weis J, Johansson L, Ortiz-Nieto F, Ahlström H. Assessment of lipids in skeletal muscle by LCModel and AMARES. - *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2009;30(5):1124-1129.
- (64) Sinha R, Dufour S, Petersen KF, LeBon V, Enoksson S, Ma YZ, et al. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by (<sup>1</sup>H) nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes* 2002;51(4):1022-1027.

- (65) Luzi L, Perseghin G, Tambussi G, Meneghini E, Scifo P, Pagliato E, et al. Intramyocellular lipid accumulation and reduced whole body lipid oxidation in HIV lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284(2):E274-80.
- (66) Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, et al. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 1999;48(5):1113-1119.
- (67) LCModel's first page Available at: <http://s-provencher.com/pages/lcmodel.shtml>. Accessed 3/6/2011, 2011.
- (68) Provencher SW. Automatic quantitation of localized in vivo <sup>1</sup>H spectra with LCModel. *NMR Biomed* 2001;14(4):260-264.
- (69) Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 1993;30(6):672-679.
- (70) Weis J, Johansson L, Ortiz-Nieto F, Ahlstrom H. Assessment of lipids in skeletal muscle by LCModel and AMARES. *J Magn Reson Imaging* 2009;30(5):1124-1129.
- (71) Weis J, Johansson L, Ortiz-Nieto F, Ahlstrom H. Assessment of lipids in skeletal muscle by high-resolution spectroscopic imaging using fat as the internal standard: comparison with water referenced spectroscopy. *Magn Reson Med* 2008;59(6):1259-1265.
- (72) Jones KM, Unger EC, Granstrom P, Seeger JF, Carmody RF, Yoshino M. Bone marrow imaging using STIR at 0.5 and 1.5 T. *Magn Reson Imaging* 1992;10(2):169-176.
- (73) Schmidt GP, Reiser MF, Baur-Melnyk A. Whole-body imaging of bone marrow. *Semin Musculoskelet Radiol* 2009;13(2):120-133.
- (74) Darge K, Jaramillo D, Siegel MJ. Whole-body MRI in children: current status and future applications. *Eur J Radiol* 2008;68(2):289-298.
- (75) Mulligan K, Tai VW, Schambelan M. Cross-sectional and longitudinal evaluation of body composition in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997;15(1):43-48.
- (76) Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998;12(7):F51-8.
- (77) Kotler DP, Rosenbaum K, Wang J, Pierson RN. Studies of body composition and fat distribution in HIV-infected and control subjects. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;20(3):228-237.
- (78) UNAIDS Global report 2010 | UNAIDS Report on the global AIDS epidemic 2010 Available at: [http://www.unaids.org/globalreport/Global\\_report.htm](http://www.unaids.org/globalreport/Global_report.htm). Accessed 1/23/2011, 2011.
- (79) From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA* 1993;269(6):729-730.
- (80) Brennan C, Porche DJ. HIV immunopathogenesis. *J Assoc Nurses AIDS Care* 1997;8(4):7-22.
- (81) Powderly WG. Prophylaxis for opportunistic infections in an era of effective antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2000;31(2):597-601.

- (82) Miro O, Lopez S, Martinez E, Pedrol E, Milinkovic A, Deig E, et al. Mitochondrial effects of HIV infection on the peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients who were never treated with antiretrovirals. *Clin Infect Dis* 2004;39(5):710-716.
- (83) Lopez S, Miro O, Martinez E, Pedrol E, Rodriguez-Santiago B, Milinkovic A, et al. Mitochondrial effects of antiretroviral therapies in asymptomatic patients. *Antivir Ther* 2004;9(1):47-55.
- (84) Garrabou G, Lopez S, Moren C, Martinez E, Fontdevila J, Cardellach F, et al. Mitochondrial damage in adipose tissue of untreated HIV-infected patients. *AIDS* 2011;25(2):165-170.
- (85) Martinez E, Mocroft A, Garcia-Viejo MA, Perez-Cuevas JB, Blanco JL, Mallolas J, et al. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet* 2001;357(9256):592-598.
- (86) Moreno S, Miralles C, Negrodo E, Domingo P, Estrada V, Gutierrez F, et al. Disorders of body fat distribution in HIV-1-infected patients. *AIDS Rev* 2009;11(3):126-134.
- (87) Brinkman K, Smeitink JA, Romijn JA, Reiss P. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. *Lancet* 1999;354(9184):1112-1115.
- (88) Miro O, Lopez S, Pedrol E, Rodriguez-Santiago B, Martinez E, Soler A, et al. Mitochondrial DNA depletion and respiratory chain enzyme deficiencies are present in peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients with HAART-related lipodystrophy. *Antivir Ther* 2003;8(4):333-338.
- (89) Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000;14(10):1309-1316.
- (90) Miro O, Lopez S, Cardellach F, Casademont J. Mitochondrial studies in HAART-related lipodystrophy: from experimental hypothesis to clinical findings. *Antivir Ther* 2005;10 Suppl 2:M73-81.
- (91) Lewis W, Kohler JJ, Hosseini SH, Haase CP, Copeland WC, Bienstock RJ, et al. Antiretroviral nucleosides, deoxynucleotide carrier and mitochondrial DNA: evidence supporting the DNA pol gamma hypothesis. *AIDS* 2006;20(5):675-684.
- (92) White AJ. Mitochondrial toxicity and HIV therapy. *Sex Transm Infect* 2001;77(3):158-173.
- (93) Chen CH, Vazquez-Padua M, Cheng YC. Effect of anti-human immunodeficiency virus nucleoside analogs on mitochondrial DNA and its implication for delayed toxicity. *Mol Pharmacol* 1991;39(5):625-628.
- (94) Mallon PW, Unemori P, Sedwell R, Morey A, Rafferty M, Williams K, et al. In vivo, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors alter expression of both mitochondrial and lipid metabolism genes in the absence of depletion of mitochondrial DNA. *J Infect Dis* 2005;191(10):1686-1696.
- (95) Mallon PW. Pathogenesis of lipodystrophy and lipid abnormalities in patients taking antiretroviral therapy. *AIDS Rev* 2007;9(1):3-15.
- (96) Gan SK, Samaras K, Thompson CH, Kraegen EW, Carr A, Cooper DA, et al. Altered myocellular and abdominal fat partitioning predict disturbance in insulin action in HIV protease inhibitor-related lipodystrophy. *Diabetes* 2002;51(11):3163-3169.
- (97) Lo JC, Mulligan K, Tai VW, Algren H, Schambelan M. "Buffalo hump" in men with HIV-1 infection. *Lancet* 1998;351(9106):867-870.

- (98) Palella FJ, Jr, Cole SR, Chmiel JS, Riddler SA, Visscher B, Dobs A, et al. Anthropometrics and examiner-reported body habitus abnormalities in the multicenter AIDS cohort study. *Clin Infect Dis* 2004;38(6):903-907.
- (99) Herry I, Bernard L, de Truchis P, Perronne C. Hypertrophy of the breasts in a patient treated with indinavir. *Clin Infect Dis* 1997;25(4):937-938.
- (100) Saint-Marc T, Partisani M, Poizot-Martin I, Bruno F, Rouviere O, Lang JM, et al. A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy. *AIDS* 1999;13(13):1659-1667.
- (101) Behrens GM, Stoll M, Schmidt RE. Lipodystrophy syndrome in HIV infection: what is it, what causes it and how can it be managed? *Drug Saf* 2000;23(1):57-76.
- (102) Martinez E, Garcia-Viejo MA, Blanch L, Gatell JM. Lipodystrophy syndrome in patients with HIV infection: quality of life issues. *Drug Saf* 2001;24(3):157-166.
- (103) Martinez E, Mocroft A, Garcia-Viejo MA, Perez-Cuevas JB, Blanco JL, Mallolas J, et al. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. *Lancet* 2001;357(9256):592-598.
- (104) Behrens G, Schmidt H, Meyer D, Stoll M, Schmidt RE. Vascular complications associated with use of HIV protease inhibitors. *Lancet* 1998;351(9120):1958.
- (105) Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, Heymsfield S, McCreath H, Osmond D, et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(2):121-131.
- (106) Haubrich RH, Riddler SA, DiRienzo AG, Komarow L, Powderly WG, Klingman K, et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009;23(9):1109-1118.
- (107) Martinez E, Bianchi L, Garcia-Viejo MA, Bru C, Gatell JM. Sonographic assessment of regional fat in HIV-1-infected people. *Lancet* 2000;356(9239):1412-1413.
- (108) Martinez E, Milinkovic A, Bianchi L, Gatell JM. Considerations about the value of sonography for the measurement of regional body fat. *AIDS* 2006;20(3):465-466.
- (109) Milinkovic A, Martinez E. Current perspectives on HIV-associated lipodystrophy syndrome. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(1):6-9.
- (110) Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a <sup>1</sup>H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 1999;42(1):113-116.
- (111) Driscoll SD, Meininger GE, Ljungquist K, Hadigan C, Torriani M, Klibanski A, et al. Differential effects of metformin and exercise on muscle adiposity and metabolic indices in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(5):2171-2178.
- (112) Torriani M, Hadigan C, Jensen ME, Grinspoon S. Psoas muscle attenuation measurement with computed tomography indicates intramuscular fat accumulation in patients with the HIV-lipodystrophy syndrome. *J Appl Physiol* 2003;95(3):1005-1010.
- (113) Torriani M, Thomas BJ, Barlow RB, Librizzi J, Dolan S, Grinspoon S. Increased intramyocellular lipid accumulation in HIV-infected women with fat redistribution. *J Appl Physiol* 2006;100(2):609-614.
- (114) Sekhar RV, Jahoor F, White AC, Pownall HJ, Visnegarwala F, Rodriguez-Barradas MC, et al. Metabolic basis of HIV-lipodystrophy syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;283(2):E332-7.

- (115) Fleischman A, Johnsen S, Systrom DM, Hrovat M, Farrar CT, Frontera W, et al. Effects of a nucleoside reverse transcriptase inhibitor, stavudine, on glucose disposal and mitochondrial function in muscle of healthy adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292(6):E1666-73.
- (116) Casademont J, Barrientos A, Grau JM, Pedrol E, Estivill X, Urbano-Marquez A, et al. The effect of zidovudine on skeletal muscle mtDNA in HIV-1 infected patients with mild or no muscle dysfunction. *Brain* 1996;119 ( Pt 4)(Pt 4):1357-1364.
- (117) Sutinen J, Laaksonen MS, Walker UA, Setzer B, Kempainen J, Nuutila P, et al. Skeletal muscle mitochondrial DNA content and aerobic metabolism in patients with antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(7):1497-1504.
- (118) Milinkovic A, Martinez E, Lopez S, de Lazzari E, Miro O, Vidal S, et al. The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2007;12(3):407-415.
- (119) Andersen O, Pedersen SB, Svenstrup B, Hansen BR, Paulsen SK, Rathje GS, et al. Circulating sex hormones and gene expression of subcutaneous adipose tissue oestrogen and alpha-adrenergic receptors in HIV-lipodystrophy: implications for fat distribution. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67(2):250-258.
- (120) Restrepo CS, Lemos DF, Gordillo H, Odero R, Varghese T, Tiemann W, et al. Imaging findings in musculoskeletal complications of AIDS. *Radiographics* 2004;24(4):1029-1049.
- (121) Tehranzadeh J, Ter-Oganesyan RR, Steinbach LS. Musculoskeletal disorders associated with HIV infection and AIDS. Part II: non-infectious musculoskeletal conditions. *Skeletal Radiol* 2004;33(6):311-320.
- (122) Tehranzadeh J, Ter-Oganesyan RR, Steinbach LS. Musculoskeletal disorders associated with HIV infection and AIDS. Part I: infectious musculoskeletal conditions. *Skeletal Radiol* 2004;33(5):249-259.
- (123) Mulkern RV, Huang J, Vajapeyam S, Packard AB, Oshio K, Grinspoon S. Fat fractions and spectral T2 values in vertebral bone marrow in HIV- and non-HIV-infected men: a 1H spectroscopic imaging study. *Magn Reson Med* 2004;52(3):552-558.
- (124) Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Tarasow E, Siergiejszyk L, Prokopowicz D. The possible association between serum cholesterol concentration and decreased bone mineral density as well as intravertebral marrow fat in HIV-1 infected patients. *Infection* 2007;35(1):46-48.
- (125) Huang JS, Mulkern RV, Grinspoon S. Reduced intravertebral bone marrow fat in HIV-infected men. *AIDS* 2002;16(9):1265-1269.
- (126) O'Malley DP, Sen J, Juliar BE, Orazi A. Evaluation of stroma in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome-affected bone marrows and correlation with CD4 counts. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129(9):1137-1140.
- (127) Lassalle S, Cervera P, Hofman V, Mari M, Dellamonica P, Hofman P. Antiretroviral treatments-related lipodystrophy syndrome: clinico-pathological findings. *Ann Pathol* 2005;25(4):309-317.
- (128) Stroup JS, Stephens JR, Baker DL. Gelatinous bone marrow in an HIV-positive patient. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2007;20(3):254-256.
- (129) Castro P, Plana M, Gonzalez R, Lopez A, Vilella A, Argelich R, et al. Influence of a vaccination schedule on viral load rebound and immune responses in successfully treated HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(12):1249-1259.

- (130) Gonzalez R, Castro P, Garcia F, Plana M, Bayas JM, Lafuente S, et al. Effects of highly active antiretroviral therapy on vaccine-induced humoral immunity in HIV-infected adults. *HIV Med* 2010;11(8):535-539.
- (131) Garcia F, Climent N, Assoumou L, Gil C, Gonzalez N, Alcamí J, et al. A therapeutic dendritic cell-based vaccine for HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2011;203(4):473-478.
- (132) Yarasheski KE, Tebas P, Stanerson B, Claxton S, Marin D, Bae K, et al. Resistance exercise training reduces hypertriglyceridemia in HIV-infected men treated with antiviral therapy. *J Appl Physiol* 2001;90(1):133-138.
- (133) Jones SP, Doran DA, Leatt PB, Maher B, Pirmohamed M. Short-term exercise training improves body composition and hyperlipidaemia in HIV-positive individuals with lipodystrophy. *AIDS* 2001;15(15):2049-2051.
- (134) Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med* 2006;355(22):2283-2296.
- (135) Carr A, Workman C, Carey D, Rogers G, Martin A, Baker D, et al. No effect of rosiglitazone for treatment of HIV-1 lipodystrophy: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;363(9407):429-438.
- (136) Martinez E, Domingo P, Ribera E, Milinkovic A, Arroyo JA, Conget I, et al. Effects of metformin or gemfibrozil on the lipodystrophy of HIV-infected patients receiving protease inhibitors. *Antivir Ther* 2003;8(5):403-410.
- (137) Falutz J, Potvin D, Mamputu JC, Assaad H, Zoltowska M, Michaud SE, et al. Effects of tesamorelin, a growth hormone-releasing factor, in HIV-infected patients with abdominal fat accumulation: a randomized placebo-controlled trial with a safety extension. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;53(3):311-322.
- (138) McComsey GA, Walker UA, Budhathoki CB, Su Z, Currier JS, Kosmiski L, et al. Uridine supplementation in the treatment of HIV lipodystrophy: results of ACTG 5229. *AIDS* 2010;24(16):2507-2515.
- (139) Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, Johnson M, Wilkins E, Churchill D, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipodystrophy. *AIDS* 2006;20(16):2043-2050.
- (140) Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M, Orkin C, Kingston M, Wilkins E, et al. A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51(5):562-568.
- (141) Arribas JR, Pozniak AL, Gallant JE, Dejesus E, Gazzard B, Campo RE, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naive patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47(1):74-78.
- (142) Joly V, Flandre P, Meiffredy V, Leturque N, Harel M, Aboulker JP, et al. Increased risk of lipodystrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *AIDS* 2002;16(18):2447-2454.
- (143) Seminari E, Tinelli C, Minoli L, Sacchi P, Filice G, Zocchetti C, et al. Evaluation of the risk factors associated with lipodystrophy development in a cohort of HIV-positive patients. *Antivir Ther* 2002;7(3):175-180.



- (144) Galli M, Veglia F, Angarano G, Santambrogio S, Meneghini E, Gritti F, et al. Gender differences in antiretroviral drug-related adipose tissue alterations. Women are at higher risk than men and develop particular lipodystrophy patterns. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;34(1):58-61.
- (145) Prins M, Meyer L, Hessol NA. Sex and the course of HIV infection in the pre- and highly active antiretroviral therapy eras. *AIDS* 2005;19(4):357-370.
- (146) Barzon L, Zamboni M, Pacenti M, Milan G, Bosello O, Federspil G, et al. Do oestrogen receptors play a role in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy? *AIDS* 2005;19(5):531-533.
- (147) Machann J, Thamer C, Schnoedt B, Stefan N, Stumvoll M, Haring HU, et al. Age and gender related effects on adipose tissue compartments of subjects with increased risk for type 2 diabetes: a whole body MRI/MRS study. *MAGMA* 2005;18(3):128-137.
- (148) Ortiz-Nieto F, Johansson L, Ahlstrom H, Weis J. Quantification of lipids in human lower limbs using yellow bone marrow as the internal reference: gender-related effects. *Magn Reson Imaging* 2010;28(5):676-682.
- (149) Zehnder M, Ith M, Kreis R, Saris W, Boutellier U, Boesch C. Gender-specific usage of intramyocellular lipids and glycogen during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37(9):1517-1524.
- (150) Webb P, Spielman D, Macovski A. Inhomogeneity correction for in vivo spectroscopy by high-resolution water referencing. *Magn Reson Med* 1992;23(1):1-11.
- (151) Spielman D, Webb P, Macovski A. Water referencing for spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 1989;12(1):38-49.
- (152) Decombaz J, Fleith M, Hoppeler H, Kreis R, Boesch C. Effect of diet on the replenishment of intramyocellular lipids after exercise. *Eur J Nutr* 2000;39(6):244-247.
- (153) Zehnder M, Christ ER, Ith M, Acheson KJ, Pouteau E, Kreis R, et al. Intramyocellular lipid stores increase markedly in athletes after 1.5 days lipid supplementation and are utilized during exercise in proportion to their content. *Eur J Appl Physiol* 2006;98(4):341-354.
- (154) Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes* 2001;50(7):1612-1617.
- (155) Addy CL, Gavrilu A, Tsiodras S, Brodovicz K, Karchmer AW, Mantzoros CS. Hypoadiponectinemia is associated with insulin resistance, hypertriglyceridemia, and fat redistribution in human immunodeficiency virus-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):627-636.
- (156) Tsiodras S, Mantzoros C. Leptin and Adiponectin in the HIV Associated Metabolic Syndrome: Physiologic and Therapeutic Implications. *Am J Infect Dis* 2006;2(3):141-152.
- (157) Koutkia P, Meininger G, Canavan B, Brey J, Grinspoon S. Metabolic regulation of growth hormone by free fatty acids, somatostatin, and ghrelin in HIV-lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(2):E296-303.
- (158) Grigsby IF, Pham L, Mansky LM, Gopalakrishnan R, Mansky KC. Tenofovir-associated bone density loss. *Ther Clin Risk Manag* 2010;6:41-47.
- (159) CROI 2011 Paper #94LB. Available at: <http://www.retroconference.org/2011/Abstracts/42550.htm>. Accessed 5/25/2011, 2011.

- (160) Grigsby IF, Pham L, Mansky LM, Gopalakrishnan R, Carlson AE, Mansky KC. Tenofovir treatment of primary osteoblasts alters gene expression profiles: implications for bone mineral density loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;394(1):48-53.
- (161) Cassetti I, Madruga JV, Suleiman JM, Etzel A, Zhong L, Cheng AK, et al. The safety and efficacy of tenofovir DF in combination with lamivudine and efavirenz through 6 years in antiretroviral-naive HIV-1-infected patients. *HIV Clin Trials* 2007;8(3):164-172.







### ***Estudio del sistema musculoesquelético mediante resonancia magnética en la valoración del síndrome de lipodistrofia en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana***

**Introducción y objetivos:** El síndrome de lipodistrofia es una complicación importante en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) en tratamiento antirretroviral de alta actividad (TARGA), atribuyéndose a una toxicidad mitocondrial por acción de los fármacos, en especial los análogos de la timidina. Un cambio en la estrategia de tratamiento mejora el cuadro con adecuado control viral, aunque se acompaña de una disminución de la masa muscular. Desde que varios estudios de espectroscopia por resonancia magnética de protones ( $^1\text{H-MRS}$ ) han demostrado un acumulo de triglicéridos intramiocelulares (IMCL) en estos pacientes, se puede pensar que con la recuperación de la distribución de la grasa hay un movimiento de triglicéridos del músculo a la periferia. Además, algunos pacientes presentan cambios de señal en médula ósea periférica en imágenes de RM, pero se desconoce su naturaleza y significado. El objetivo de este estudio es ampliar la visión de la patogénesis del síndrome mediante la valoración del sistema musculoesquelético por resonancia magnética (RM), que nos permita determinar la causa de la disminución de la masa magra con el cambio de estrategia de tratamiento, la naturaleza de las lesiones medulares, y sus interrelaciones con el síndrome.

**Metodología:** Se incluyen 30 pacientes infectados por el VIH, en TARGA con un análogo de la timidina (zidoduvina o estavudina), con lipodistrofia moderada o severa, y 10 sujetos sanos. Se realizan en todos los pacientes pruebas de laboratorio y de composición corporal, y en los pacientes y controles medidas antropométricas, estudio de  $^1\text{H-MRS}$  en los músculos sóleo y tibial anterior, y valoración del patrón medular en RM, en basal y a los 6 meses (en los pacientes con la intervención de cambio del análogo de la timidina por tenofovir disoproxil fumarato o TDF). Si hay lesiones de médula ósea se obtienen estudios de RM específicos, tomografía computarizada por emisión de fotón-tomografía computarizada (SPECT-TC) y seriada esquelética para analizar su naturaleza y distribución.

**Resultados:** Los pacientes acumulan IMCL, en relación con su lipoatrofia, y con el cambio de tratamiento estos niveles disminuyen, relacionándose con la pérdida de masa muscular. Las variaciones de IMCL se relacionan con alteraciones metabólicas, y todos los cambios y relaciones son más evidentes en el músculo tibial anterior y en los pacientes varones, destacando el protagonismo de la estavudina, que muestra más alteración en el nivel de IMCL, menos recuperación cuando se sustituye el fármaco, y una mayor relación con el síndrome metabólico. Los cambios de señal en la médula ósea acontecen en casi un 30% de los pacientes con lipodistrofia moderada o severa, la mitad en forma de leve disminución difusa de la señal, y la otra mitad en forma de lesiones focales con un patrón seroso (hiposeñal en secuencia potenciada en T1, hiperseñal en secuencia potenciada en T2 con saturación de la grasa, y sin captación de gadolinio intravenoso en la secuencia potenciada en T1 con saturación de la

grasa). Las lesiones focales se localizan en médula ósea periférica, con un patrón de atrofia serosa o degeneración gelatinosa de la médula ósea, sugestivo de ser secundario a una disminución del componente graso medular. Los cambios de señal se relacionan con el grado de lipoatrofia, con el acúmulo de IMCL y con alteraciones metabólicas en torno a la insulina. Las lesiones no se recuperan a corto plazo con el cambio de estrategia de tratamiento, pero no se muestran como indicadores de inadecuada recuperación del síndrome.

**Conclusión:** El sistema musculoesquelético participa en el síndrome con peso sobre los cambios que acontece. La disminución de la masa magra observada cuando se sustituyen análogos de la timidina por TDF, se asocia a una disminución del acúmulo de IMCL que acontece con los análogos de la timidina, y las lesiones en médula ósea son benignas, secundarias a una probable disminución del componente graso medular. El acúmulo de IMCL y las lesiones medulares son indicadores de un mayor grado de lipoatrofia, y se relacionan con el síndrome metabólico. Estudios específicos de RM se muestran como nuevas herramientas de valoración de otros compartimentos activos en el síndrome, abriendo nuevas perspectivas en la comprensión del cuadro clínico.

***Study of the musculoskeletal system through magnetic resonance of the lipodystrophy syndrome in human immunodeficiency virus-infected patients***

**Background and objectives:** Lipodystrophy represents a major adverse effect in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients on highly active antiretroviral therapy (HAART), and it is attributed to mitochondrial toxicity secondary to the antiretroviral drug action, particularly thymidine analogues. Changes in the therapy strategy can improve the syndrome with a virological control even though a lean mass decrease has been observed. Since several studies with proton magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$ -MRS) have observed intramyocellular lipids (IMCL) increase in this group of patients, we expect that with the recovery of fat distribution there is triglycerides migration from muscle to a periphery. In addition, some patients show signal changes in the peripheral bone marrow in magnetic resonance (MR) studies and, to date, their etiology and clinical significance have not been established. This study was undertaken to gain insight into the pathogenesis of the lipodystrophy syndrome, assessing the role of the musculoskeletal system by MR to understand the lean mass decrease after switching the treatment and the bone marrow lesions observed and to assess their relationship with the syndrome.

**Methodology:** Thirty HIV-infected patients treated with thymidine analogues (stavudine or azidothymidine) with moderate to severe lipodystrophy and 10 healthy controls are recruited. In all patients laboratory parameters and body composition measurements are recorded and in all patients and controls anthropometric characteristics are recorded and a  $^1\text{H}$ -MRS study is carried out in soleus and tibialis anterior muscles and bone marrow pattern evaluation by MR images at the baseline and 6 months (after switching thymidine analogues to tenofovir disoproxil fumarate or TDF in patients). When MR signal changes are observed in bone marrow, we acquire specific MR images, selective single photon emission computed tomography/computed tomography (SPECT-CT) study and complete skeletal survey X-ray exam, to assess their etiology and distribution.

**Results:** Patients present IMCL increase, which is related to the lipodystrophy; this level decreases after switching treatment and it is related to the lean mass loss. The IMCL variations are associated with some metabolic changes. All these changes and relationships are more evident in tibialis anterior muscle and in the male patients, highlighting the role of the stavudine, which shows more alteration of the IMCL levels, a poor recovery after switching this drug, and more intense relationship with the metabolic syndrome. Bone marrow signal changes are present in about 30% of HIV-infected patients with moderate to severe lipodystrophy; half show slight low MR signal intensity and the other half present foci of a serous-like pattern (low-signal on T1-weighted images, high-signal on fat-saturated T2-weighted images and no enhancement on post contrast fat-saturated T1-weighted MR images). Focal lesions are located in peripheral bone marrow, showing a serous atrophy or gelatinous transformation of the bone marrow pattern, which are possibly due to a decrease in the bone marrow fat component. A



relationship is observed between the severity of the peripheral lipoatrophy, the IMCL increase and metabolic changes on insulin. These lesions do not improve in a short time after switching the therapy strategy, although there is not evidence of inadequate lipoatrophy recovery.

**Conclusion:** The musculoskeletal system has an active role in the lipodystrophy syndrome, with impact on the changes observed. The lean mass loss observed after switching thymidine analogues to TDF may be attributed to the IMCL decrease, which is increased at the baseline in these patients, and the bone marrow lesions are benign, probably related to a decrease in the bone marrow fat component. IMCL increase and bone marrow lesions are indicators of lipoatrophy severity and they are related to the metabolic changes. Specific MR studies are shown as new methods in assessing other compartments actively involved in this syndrome and this gives new insight in understanding the clinical events in lipodystrophy.





**PRESENTACIONES**

A Milinkovic, AI Garcia, I Pérez, S Vidal, C Ayuso, M Laguno, A Leon, JL Blanco, M Martinez, M Lonca, M Larrouse, E Martinez, JM Gatell, X Tomás, J Mallolas. A pathogenesis proposal of lipoatrophy reversibility after switching from thymidine analogues to tenofovir. 10<sup>th</sup> International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV. London, UK, 6-8 November 2008. Antiviral Therapy 13 Suppl 4: A37.

AI Garcia, A Milinkovic, X Tomás, J Rios, S Vidal, J Pomés, M del Amo, J Mallolas. Bone marrow MR Imaging changes in HIV-infected subjects with lipodystrophy. 10<sup>th</sup> International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV. London, UK, 6-8 November 2008. Antiviral Therapy 13 Suppl 4: A40.

AI García, A Milinkovic, X Tomás, I Pérez, S Vidal, J Pomés, M Del Amo, J Mallolas. <sup>1</sup>H-MR spectroscopy to evaluate intramuscular lipid changes in HIV+ with lipodystrophy. 16<sup>th</sup> Annual Congress of the European Society of Musculoskeletal Radiology. Genoa, Italy, June 12-13, 2009.

AI Garcia, A Milinkovic, X Tomás, J Rios, S Vidal, J Pomés, M Del Amo, J Mallolas. Bone marrow MR Imaging changes in HIV-infected subjects with lipodystrophy. 16<sup>th</sup> Annual Congress of the European Society of Musculoskeletal Radiology. Genoa, Italy, June 12-13, 2009.

AI Garcia, A Milinkovic, I Pérez, X Tomás, S Vidal-Sicart, C Falcón, J Pomés, M Del Amo, J Mallolas. <sup>1</sup>H-MR spectroscopy to evaluate intramuscular lipid changes in HIV-patients with lipodystrophy syndrome by LCmodel. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB. Stockholm, Sweden, 1-7 May 2010.

A Milinkovic, AI García, R Sandoval, M del Amo, J Pomés, X Tomás, J Mallolas. Peripheral intermuscular adipose tissue and intramyocellular lipids: other fat compartments implicated in HIV-associated lipodystrophy changes seen on switching from thymidine analogues to tenofovir. 13<sup>th</sup> International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV. Rome, Italy, 14-16 July 2011. Antiviral Therapy 16 Suppl 2: A31.

**PUBLICACIONES**

AI Garcia, A Milinkovic, X Tomás, S Vidal-Sicart, J Pomés, M del Amo, J Mallolas. MRI signal changes of the bone marrow in HIV-infected patients with lipodystrophy: correlation with clinical parameters. Skeletal Radiol 2011, 40(10): 1295-301. DOI 10.1007/s00256-011-1147-x.

